

**CIENCIAS
NATURALES
Y EXACTAS**

**INDUCCIÓN A LA CIENCIA, LA TECNOLOGÍA
Y LA INNOVACIÓN EN LA REGIÓN CENTRO**

20° VERANO DE LA CIENCIA REGIÓN CENTRO

VOL.4 NUM.7

Índice

1. PREVALENCIA DE USO DE LOS PRINCIPALES PRODUCTOS HERBOLARIOS PARA BAJAR DE PESO EN EL ESTADO DE GUANAJUATO. Abigail Gallardo Castañeda Y Angel Josabad Alonso Castro.
2. EVALUACION DE 5 PRODUCTOS COMERCIALES DE USO CLÍNICO PARA LA DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES DE LA CLÍNICA DENTAL DEL POSGRADO DE ODONTOPEDIATRÍA DE LA UASLP. González Ortiz Adrián Alexis, Tejeda Nava Francisco Javier y Sánchez Vargas Luis Octavio.
3. A SEARCH FOR EXTENDED RADIO SOURCES IN 1.3 SR OF THE VLA SKY SURVEY (VLASS). Agueda Constanza Villarreal Hernández and Heinz Andernach.
4. CARACTERIZACION DE MUTANTES Y ESPECIES SILVESTRES DE LA FAMILIA DROSOPHILIDAE DEL CENTRO DE LA REPUBLICA. Alejandra Hernández Vicuña y Juan Rafael Riesgo Escovar.
5. EL EFECTO DE NEUROTRANSMISORES (ACETILCOLINA Y ADRENALINA) SOBRE LAS PROPIEDADES VIRULENTAS DE *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*. Esparza Guinea A. y Ventura Juárez J.
6. MANEJO DE RESIDUOS URBANOS Y SU RELACIÓN CON EL CICLO SUSTENTABILIDAD. Alejandro Suarez Sanmiguel y Máyela del Carmen Valadez Zamarrón.
7. MODIFICACIÓN QUÍMICA Y ESTRUCTURAL DE CARBÓN ACTIVADO CON NANOPARTÍCULAS METÁLICAS SINTETIZADAS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS. Alexis Olaguer Charles Cindo y Dr. Jorge Carlos Ríos Hurtado.
8. POTENCIAL DE CONTROL BIOLÓGICO DE BACTERIAS DEL SUELO DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA DEL CERRO DEL CULIACÁN. Talavera Caro Alicia Guadalupe y Gómez Luna Blanca Estela.
9. ADSORCIÓN DE CIANURO EN CARBÓN ACTIVADO ELABORADO A PARTIR DE CASCARA DE TAMARINDO. Alma Deyanira Gutiérrez Silva, Leonor Muñoz Ramírez y Claudia Verónica Reyes Guzmán.
10. DETERMINACIÓN DE LOS PUNTOS DE CARGA DE LOS CARBONES ELABORADOS DE CASCARA DE NUEZ, HUESO DE DURAZNO Y BAMBU PARA USO DE ADSORCIÓN EN EFLUENTES DE CIANURO. Alondra Lizeth Tobias López, Claudia Verónica Reyes Guzmán, Leonor Muñoz Ramírez y Sergio García Villarreal, Paola Ramírez Vaquera.
11. SÍNTESIS DE ESFERAS DE BIONANOCOMPUESTO A BASE DE ALGINATO/HALLOYSITA Y SU APLICACIÓN EN LA REMOCIÓN DE Cd (II). Alvarez Alvarez, J.A. y Padilla Ortega, E.

12. LA APLICACIÓN DE NaCl Y NaIO EN MEDIO DE CULTIVO INCREMENTA LA ASIMILACIÓN DE FOSFATO EN *Marchantia polymorpha* A TRAVÉS DE LA ACTIVIDAD DE TRASPORTADORES DEPENDIENTES SODIO. Ambar Jiménez Hernández Félix Rico Reséndiz y Alfredo Cruz Ramírez.
13. CARBONATACION DE SULFATO DE BARIO A PARTIR DE MINERAL BARITA A WHITHERITA COMO PRECURSOR PARA LA FORMACION DE FERRITAS USANDO CARBONATO DE SODIO Y CARBONATO DE POTASIO. Martínez Vallejo Ana Bertha, Treviño Vera Gloria Guadalupe y Rosales Sosa Ma. Gloria.
14. GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Erythrina coralloides* CON CONSORCIOS BACTERIANOS. Ana Claudia Lizbeth García Jaime y Victoria Hernández-Hernández.
15. EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL pH Y LA TEMPERATURA EN LA ELECTRODEPOSICIÓN DE QUERATINA EXTRAIDA DE RESIDUOS DE POLLO EN PLACAS DE ACERO AISI304. Olmos Ramírez Ana Isabel y Toledo Manuel Iván.
16. APLICACIÓN DE ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DEL CÁNCER. García Echegaray Ana Luisa y Navarro Contreras Hugo Ricardo.
17. EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE UNA MEZCLA DE COMPUESTOS FARMACÉUTICOS UTILIZANDO PLANTAS EN CONDICIONES DE HIDROPONIA. Mena Favela, A. y Alfaro de la Torre, M. C.; Zapata Morales, A.L.
18. ESTANDARIZACIÓN DEL FÁRMACO FASCAPLYSIN DURANTE LA REGENERACIÓN DE EXTREMIDAD EN *Ambystoma mexicanum*. Andrea Daumas Posada y Luis Alfredo Cruz Ramírez.
19. DETERMINACIÓN DE PARÁSITOS EN ANIMALES DE TRASPATIO EN UNA COMUNIDAD EJIDAL EN SLP. Guerra Martínez Andrea y González Hernández Milagros.
20. INMOVILIZACIÓN DE LIPASA PANCREÁTICA DE CERDO SOBRE SOPORTES DE ACERO INOXIDABLE. Andrés García Cortés y Dra. Blanca Estela García Almendarez.
21. FORMULACION DE UNA LOCION ANTI-ACNÉ CON EXTRACTO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) Y EVALUACION ANTIMICROBIANA. Anel Irán Estrada Pérez y María Rico Martínez.
22. SÍNTESIS VERDE DE MOLECULAS DE INTERÉS EN QUÍMICA MEDICINAL. Angélica Yahaira García Contreras y María del Rocío Gámez Montaña.
23. DISEÑO DE UN NANOSOPORTE MAGNÉTICO PARA INMOVILIZACIÓN DE ENZIMAS. Araís Azucena Vázquez Maldonado y Aldo Amaro Reyes
24. LIBERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN CRUCÍFERAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON BACTERIAS ACIDO-LÁCTICAS. Arantza Estefanía Olvera Ramos, Dra. Adriana Carolina Flores Gallegos.
25. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENDÓFITOS DE PLANTAS. Armando Melgarejo Mancilla y Jesús Israel Morales Jiménez.

26. PRINCIPALES PRODUCTOS HERBOLARIOS PARA BAJAR DE PESO EN EL ESTADO DE GUANAJUATO. Astrid Selene Páramo Castillo y Ángel Josabad Alonso Castro.
27. SINTESIS Y ELABORACION DE PELICULAS PLASTICAS BIODEGRADABLES. González Becerra Berenice y Corona Rivera Miguel Ángel.
28. ESTUDIO DE LA ECOLOGÍA MICROBIANA DEL RUMEN DE BOVINOS (*Bos taurus*) PARA EL AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS FIBROLÍTICOS. Brenda Soledad Martínez López y José Luis Navarrete Bolaños.
29. PUNTOS CUÁNTICOS TENSADOS Y RELAJADOS EN DISPOSITIVOS FOTOVOLTAICOS. Bravo Velázquez Carlos Alberto y Méndez García Víctor Hugo.
30. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE *AZOTOBACTER CHOROOCOCCUM* EN EL CULTIVO DE MELÓN. Cesar Iván Hernández Parez y Dr. Antonio Cardenaz Flores.
31. IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE VOLTAMETRÍA DE PULSO DIFERENCIAL EN LA CUANTIFICACIÓN DE CATECOLAMINAS EN UN MODELO DE AUTISMO EN RATAS. Cindy Miroslava Rodríguez Hernández y Osvaldo Ibáñez-Sandoval.
32. OBTENCION DE MAGHEMITA A PARTIR DE LA SINTESIS DE MAGNETITA Y SU APLICACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE NANOFERRITAS EN EL PROCESO DE ALEADO MECÁNICO. Cindy Pamela Boone Romo y Jorge Carlos Ríos Hurtado, María Gloria Rosales Sosa.
33. SÍNTESIS DE ÓXIDO DE GRAFENO SULFONADO PARA SU APLICACIÓN COMO RELLENOS EN MEMBRANAS. Cindy Paola Zapata Rodríguez y Dra. Diana Morales Acosta.
34. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE RECUBRIMIENTOS METÁLICOS BASE Ni RESISTENTES A LA CORROSIÓN Y AL DESGASTE. Claudia María Montemayor Palos y Dra. Josefina García Guerra.
35. COMPORTAMIENTO DE CRISTALES LÍQUIDOS CONFINADOS. Lemus Martínez Corina María de la Cruz y Martínez González José Adrián.
36. MODELACIÓN NUMÉRICA DE FENÓMENOS ATMOSFÉRICOS Y OCEÁNICOS. Cristian Alejandro Limón Tapia y José Noel Carbajal Pérez.
37. IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION MOLECULAR DE AISLADOS FUNGICOS ASOCIADOS A ANFIBIOS Y MAMIFEROS. Cristian Emanuel Gámez Alvarado y Juan Gualberto Colli Mull.
38. EFECTO DE LA PROLACTINA EN CIRROSIS INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO. Cuauhtémoc Medellín Luna y Bibiana Moreno Carranza.
39. PRODUCCIÓN DE MATERIALES MESOPOROSOS PARA LA REMOCIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS EN AGUA. Dalia María Díaz Flores y Dra. Araceli Jacobo Azuara.

40. EVALUACION DE DUREZA DE MATERIALES FOTOCURABLES BASADOS EN SISTEMAS EPOXI-GRAFENO: 20° VCRC. Daniel Enrique Espinosa Cardona y M.C Aida Esmeralda García Valdez.
41. CAPACIDAD PROMOTORA DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS CON BACTERIAS DE SUELO DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA CERRO DEL CULIACÁN. Daniela Guadalupe Hernández Bautista y Blanca Estela Gómez Luna
42. FUNCIONALIZACIÓN Y CONTROL DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA GENERAR MECANOTRANSDUCCIÓN EN CÉLULAS. Dávalos Ruedas, D. y Moctezuma Martiñón, R
43. OBTENCIÓN DE MAGHEMITA A PARTIR DE LA SÍNTESIS DE MAGNETITA Y SU APLICACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE NANOFERRITAS DE ZINC EN EL PROCESO DE ALEADO MECÁNICO. David Alejandro Vázquez Duron y Dr. Jorge Carlos Ríos Hurtado.
44. EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS. David Francisco Zaragoza Rodríguez y Ana Angélica Feregrino Pérez.
45. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ESPORAS MICORRÍZICAS DE ÁRBOLES NATIVOS DE CAZAHUATE (*Ipomoea murucoides*). Diana Guadalupe García Hernández y Francisco Alejo Iturvide.
46. EXPRESION Y PURIFICACION DE ADN-POLIMERASAS ORGANELARES DE *Arabidopsis thaliana*. Alva Sánchez Diana Laura, García Medel Paola Libertad y Briebe de Castro Luis Gabriel.
47. ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS ORIGINARIAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO PARA EL CONTROL DE LA HIPERGLUCEMIA. Diana Selene Regalado Moncada, Xóchitl Sofía Ramírez Gómez y Dra. Alejandra Sarahí Ramírez Segovia.
48. CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS MODIFICADAS MEDIANTE ÁNGULO DE CONTACTO Y ESPECTROSCOPIA RAMAN. Diana Sofía Gámez Rosales y María del Pilar González Muñoz.
49. ESTUDIO DE SINTESIS DEL TITANATO DE ESTRONCIO A PARTIR DE MINERAL DE CELESTITA. Dulce Alejandra Flores Medina, Manuel García Yregoi, Ma. Gloria Rosales Sosa.
50. OBTENCIÓN DE UNA CONSTRUCCIÓN PARA SILENCIAR EL GEN *SsMNT1* EN *Sporothrix schenckii*. Eduardo Moncada Hernández y Héctor Manuel Mora Montes.
51. IDENTIFICACIÓN DE CLONAS SOBREENPRESANTES DE UNA XILOSA REDUCTASA EN *Chlorella vulgaris* Y *Nannochloropsis oculata*. Ortiz Ortiz, Emelin Esperanza y Soria Guerra Ruth. Elena
52. SIMULACIÓN TERMODINÁMICA DE LA SÍNTESIS DE MAGNETITA A PARTIR DE Fe – H₂O. Emigdio Alain Hernández de la Cruz y Jesús Emilio Camporredondo Saucedo.
53. ESTUDIO DE LA REACCION POR COPRECIPITACION DE SALES DE FIERRO Y CALCIO, COMO PRECURSORES DE FERRITA DE CALCIO. Emma Enedina Morales Salazar Ma. Gloria Rosales Sosa, Gloria Guadalupe Treviño Vera y Manuel Garcia Yregoi.

54. OBTENCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS PRESENTES EN LA SEMILLA DE YACA (ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS). Torres Mena Emma Sofía y Grajales Lagunes Alicia.
55. CINÉTICA DE ADSORCIÓN Y MODELADO 3D DE PARACETAMOL EN PELLETS DE CARBÓN ACTIVADO EN SOLUCIÓN ACUOSA. Rodríguez Jonguitud Enoé y Ocampo Pérez Raúl.
56. EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS. Erick Díaz Ruiz y Ana Angélica Feregrino Pérez.
57. ANODIZADO CON INYECCION Y SIN INYECCION DE AIRE AL ALUMINIO COMERCIAL CON ELECTROLITO DE ACIDO SULFURICO H_2SO_4 . Ernesto Hinojos de Hoyos y Adrián Moisés García Lara.
58. PREPARACIÓN DE COMPUESTOS DE IRIDO CON LIGANTES SACNAC. Evani Sebastián López Santos y Crispín Silviano Cristóbal Gasga.
59. RIQUEZA Y DIVERSIDAD DE ESPECIES DE AVES EN ZONAS CONSERVADAS Y PERTURBADAS DE TRES MUNICIPIOS DE SAN LUIS POTOSÍ. Fátima Magdiel Cantera Rangel y Leonardo Chapa Vargas.
60. EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS MICROBIANOS LIGNOCELULOLÍTICOS PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS ÁRIDOS DEL NORTE DE MÉXICO. Fernando Jasso Juárez y Argel Gastélum Arellánez José Luis Hernández Flores.
61. EVALUACIÓN DE EFECTOS FITOTOXICOS DE AS, CR Y CD EN MEZQUITE: ESTUDIO PREELIMINAR PARA EL FITOMANEJO DE RESIDUOS INDUSTRIALES 20 VCRC. Francisco Javier Cruz Silva y Gustavo Cruz Jiménez.
62. SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE IRIDIO CON LIGANTES TIPO BETA-TIOCETIOMINATOS. Gabriel Silvestre Castillo y Crispín Silviano Cristóbal Gasga.
63. PROYECTO: MANEJO DE RESIDUOS URBANOS Y SU RELACIÓN CON EL CICLO DE SUSTENTABILIDAD. Gabriela Monserrath Lozano Gaspar e Ing. Mayela del Carmen Valadez Zamarrón
64. EXTRACCIÓN DE DNA ANTIGUO. Gladis Isabel Lujan García y Rafael Montiel Duarte
65. CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES OBTENIDOS DE PUNTOS DE VERIFICACIÓN DE METODOLOGÍA PROPUESTA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS. Gonzalo Hernández Guerrero y María de la Luz Pérez Rea
66. CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE MEMBRANAS DE ULTRAFILTRACIÓN MODIFICADAS, MEDIANTE ÁNGULO DE CONTACTO Y ESPECTROSCOPIA RAMAN. Goretti López de Lara Núñez y María del Pilar González Muñoz.

67. BIOPROSPECCIÓN GENÓMICA DE EXTREMÓFILOS DEL ALTIPLANO EN SAN LUIS POTOSÍ, RESERVORIO DE NUEVOS GENES DE PRODUCTOS NATURALES CON APLICACIÓN INDUSTRIAL DEL 20°VCRC. Guadalupe Angélica Muro Valdivia y Sandra Pérez Miranda.
68. PURIFICACIÓN BIOLÓGICA DE BIOGAS MEDIANTE MICROORGANISMOS METANÓGENOS HIDROGENOTRÓFICOS. Hernández Gómez Guillermo y Arriaga García Sonia Lorena.
69. ESTUDIO DINAMICO DE PROPIEDADES MECANICAS DE CELULAS HUMANAS. Héctor Alejandro Contreras Sánchez y Beatriz Morales Cruzado.
70. CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS EPÍFITAS DE FLOR Y FRUTO DE MANZANO (*Malus domestica*) Y SU POSIBLE POTENCIAL ANTAGONISTA IN VITRO CONTRA EL HONGO *Penicillium expansum*. Rivera Díaz Ingrid y Pacheco Aguilar Juan Ramiro.
71. PRODUCCIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE CEPAS AISLADAS DE AZUFRES DE MICHOACÁN. Israel Navarro Nieto y Divanery Rodríguez Gómez.
72. IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS DEL GRUPO HEMOSPORIDIO EN AVES DE LA REGIÓN DE SAN LUIS POTOSÍ. Itzel Solís Godoy y Leonardo Chapa Vargas.
73. APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER. Espinoza Vázquez Jennifer y Navarro Contreras Hugo Ricardo.
74. LOCALIZACIÓN DEL HONGO *Beauveria bassiana* EN SU ASOCIACIÓN CON LA PLANTA Medicago sativa. Jessica Guadalupe Landeros López , Areli Durón Castellanos², Iván Horacio Piña Torres², Gloria Angélica González Hernández², Israel Enrique Padilla Guerrero .
75. OBTENCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DERIVADOS DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS SUBUTILIZADOS EN EL ESTADO DE GUANAJUATO DEL 20° VCRC. Jesús Alberto Gaytán Peña y Dr. Raúl Reyes Bautista.
76. PRODUCCIÓN DE CELULASAS A PARTIR DE HONGOS AISLADOS DE LOS AZUFRES DE MICHOACÁN. Patiño González Jesús Daniel y Rodríguez Gómez Divanery.
77. IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMA DE CONTROL DE TEMPERATURA EN APARATO DE ELECTROHILADO. Jesús Eduardo Guzmán Molina y José Francisco Louvier Hernández.
78. COMPORTAMIENTO ELECTROQUIMICO DE LOS BRONCES TIPO NAB. Jesús Francisco Sifuentes Tavares y Josefina García Guerra.
79. CONDICIONAMIENTO OPERANTE A TRAVÉS DE UN PROGRAMA DE RAZÓN VARIABLE EN RATONES HEMBRA DE LA CEPA C57BL/6. Jimena Torres Cadena , Verónica López Virgen y Gerardo Rojas Piloni.
80. MUERTE CELULAR EN LA INTERACCIÓN NEUTRÓFILO-Sporothrix schenckii. Joanna Gutiérrez-Muñoz y Yolanda Romo-Lozano.

81. PRODUCCION DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACION. Jose Abraham Sosa Carrillo y Aldo Amaro Reyes
82. LA COMPLEJIDAD APLICADA A SISTEMAS SOCIALES: ANÁLISIS COEVOLUTIVO DEL MERCADO DE VALORES USA – MÉXICO. José Abraham Hernández Sánchez y Alejandro Puga Candelas.
83. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA PrimPol DE ARABIDOPSIS THALIANA ES POTENCIADA POR SSB1. José Alberto Chávez Reyes, Antolín Peralta Castro² y Luis Gabriel Briebra de Castro.
84. REGULADOR DE TEMPERATURA PARA MANTO CALEFACTOR CON USO DEL TRIAC. José Alonso Bravo Hernández y José Francisco Louvier Hernández.
85. DESALINIZACIÓN DE AGUA MEDIANTE ELECTRODEIONIZACIÓN. José Guadalupe Castañeda Castillo y Lucía Guadalupe Alvarado Montalvo.
86. PROPAGACIÓN IN VITRO DE PLANTAS NATIVAS DE LAS ZONAS ÁRIDAS DE MÉXICO. Medina Frausto José Pablo y Dr. Eugenio Pérez Molphe Balch.
87. RELACIONES ECOLÓGICAS ENTRE AVES Y PARÁSITOS HAEMOSPORIDIOS EN UN GRADIENTE AMBIENTAL EN EL CENTRO DE MÉXICO DEL 20° VCRC. Chiapa Gayosso José Roberto y Chapa Vargas Leonardo.
88. DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE FLAVONOIDEOS TOTALES DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE LA HUASTECA POTOSINA. Juan Diego Gómez Gaytán y Denisse Atenea De Loera Carrera.
89. ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN DE LA MOLÉCULA DE NAPROXENO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ SOLAR A DIFERENTES CONDICIONES DE pH. Hernández Ramírez Juana Berenice y Teresa Alejandra Razo Lazcano.
90. CARBONATACIÓN DE SULFATO DE ESTRONCIO A PARTIR DE MINERAL CELESTITA A ESTRONCIANITA COMO PRECURSOR PARA LA FORMACIÓN DE FERRITAS USANDO CARBONATO DE SODIO Y CARBONATO DE POTASIO. Moncada Guerrero Juanita Liliana, Treviño Vera Gloria Guadalupe y Rosales Sosa Ma. Gloria.
91. CARBONIZACIÓN HIDROTÉRMICA DE GLUCOSA Y CELULOSA. Herrera Medina, K.S. y Alonso Dávila, P.A.
92. EVALUACIÓN DE ÁCIDO INDOL-3-BUTÍRICO PARA PROMOCIÓN DE LA GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE HORTALIZAS. Karyme Martínez Alvarado y Yessica Torrero Garza.
93. DESARROLLO DE UN SISTEMA ELISA PARA DETECCIÓN DE AMOXICILINA EN AGUAS RESIDUALES Y ESTUDIO DE SU TOXICIDAD EN ORGANISMOS DULCÍACUÍCOLAS Olague Sotelo Katia Araceli y Chávez Vela Norma Angélica.
94. ELECTROFISIOLOGÍA DE LAS NEURONAS DE LA CAPA V EN CORTEZA MOTORA. Katia Raquel Ávila Gutiérrez, Verónica Elizabeth López Virgen y Gerardo Rojas Piloni.

95. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN POR HONGOS ENDOFITOS EN PLANTAS DE *PHASEOLUS VULGARIS*. Katia Valeria Cervantes Delgado y Adan Topiltzin Morales Vargas.
96. ANÁLISIS DEL PROCESO DE RECOCIDO EN UN ACERO BAJO CARBONO. Kevin Aarón Rodríguez Banda y Laura Guadalupe Castruita Ávila.
97. ADSORCIÓN DE CIANURO DE SODIO EN CARBÓN DE LA REGIÓN CARBONÍFERA. Kevin Daniel Borrego González y Leonor Muñoz Ramírez.
98. PRODUCCIÓN DE LACASAS Y MANGANESO PEROXIDASAS DE HONGOS AISLADOS DE MÉXICO. Laura Lizeth Vázquez Jaime y Divanery Rodríguez Gómez.
99. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENDÓFITOS DE PLANTAS. Lesly Gisell Martínez Jurado y Jesús Israel Morales Jiménez
100. EFECTO DE UNA TAREA DE APRENDIZAJE SOBRE LOS GLUCOCORTICOIDES Y LA FOSFORILACIÓN DE SU RECEPTOR. Luis Daniel Solera Elizondo y Gina Lorena Quirarte.
101. MOLIENDA DE CARBÓN ACTIVADO ELABORADO A PARTIR DE CÁSCARA DE NUEZ, HUESO DE DURAZNO Y BAMBÚ PARA LA ADSORCIÓN DE CIANURO. Luis Enrique Barajas Castillo, Claudia Verónica Reyes Guzmán y Leonor Muñoz Ramírez.
102. INGENIERÍA GENÉTICA EN *DANIO RERIO*. Luisa Fernanda Cueto Rojas y Luis Roberto Rodríguez Ortiz
103. EXPRESIÓN EN SISTEMA *E. coli* Y ANÁLISIS PARCIAL DE PROTEÍNAS DE FUSIÓN Manuel David Vaca Tello y Antonio de León Rodríguez.
104. ESTRATEGIAS MOLECULARES Y DE BIOPROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN SIMULTÁNEA DE ETANOL E HIDRÓGENO. Manuel Bermejo Chávez y Dr. Antonio De León Rodríguez.
105. SÍNTESIS VERDE DE MOLÉCULAS DE INTERÉS EN QUÍMICA MEDICINAL. Manuel Zavala Sánchez y María del Rocío Gámez Montaña.
106. ANÁLISIS DE CAMPAÑA DE SENSIBILIZACIÓN AMBIENTAL Y UN PROGRAMA PILOTO DE SEPARACIÓN DE BASURA EN INSTITUCIONES DE NIVEL BÁSICO DE MATEHUALA S.L.P Y PROPUESTA DE IMPLEMENTACIÓN DEL MISMO COMO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE CULTURA VERDE EN LA COORDINACIÓN ACADÉMICA REGIÓN ALTIPLANO. Marcela Monserrat Díaz Hernández y Beatriz Virginia Tristán Monroy.
107. PAPEL DE LA PROLACTINA Y EL SISTEMA OLFATORIO EN EL DESARROLLO DE LAS CONDUCTAS REPRODUCTIVAS. Marco Antonio Ávila Contreras y Rebeca Corona García Cabral.
108. ANÁLISIS DE CELDAS FOTOVOLTAICAS IMPLEMENTADAS EN GENERACIÓN DISTRIBUIDA. Marcos Almanza Chávez y M.I. Fernando Jurado Pérez.

- 109.EFECTOS AGUDOS DE ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES V1a-V2 DE VASOPRESINA SOBRE LA DIURESIS EN LA RATA. Santiago Nava Marcos y Quintanar Stephano Andrés.
- 110.SÍNTESIS DE NANOCOMPÓSITOS PARA APLICACIONES AMBIENTALES. María Guadalupe Flores Martínez y Eduardo Arturo Elizalde Peña.
- 111.MEDICIÓN DEL pH DEL AGUA DE LLUVIA EN LA CIUDAD DE GUADALUPE, ZACATECAS, PERIODO JUNIO - JULIO 2018. María Guadalupe Torres Aldana y Jorge Bluhm Gutiérrez.
- 112.DESARROLLO DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBAMAZEPINA EN AGUAS RESIDUALES. M.I. Cárdenas Bravo y R. Flores Ramírez.
- 113.FISIOLOGÍA DE LA GLÍA EN MODELOS MURINOS DE AUTISMO. María José Rodríguez Hernández, Francisco Emmanuel Labrada Moncada y Daniel Reyes Haro.
- 114.“LOCALIZACIÓN DEL HONGO *Beauveria bassiana* EN SU ASOCIACIÓN CON LA PLANTA *Medicago sativa*”. Noriega Vargas María Paula, Areli Durón-Castellanos, Piña Torres Iván Horacio, González Hernández Gloria Angélica y Padilla Guerrero Israel Enrique.
- 115.SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE $Zn_{(1-x-y)}Fe_xAl_yO$ PARA SU APLICACIÓN EN FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA. Marian Areli Taboada Padilla y José Elías Pérez López.
- 116.SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y TÉRMICA DE MICROGELES HÍBRIDOS DE ÁCIDO ACRÍLICO. Sánchez Gil, Mariana del Carmen y Palestino Escobedo Gabriela.
- 117.DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS DESPUÉS DE UN PROCESO DE DIGESTIÓN IN VITRO. Saucedo Lara Mariana Guadalupe y Victoria Campos Claudia Inés.
- 118.REMOCIÓN DE COLORANTES EN AGUA EMPLEANDO MATERIALES ORGANICOS. Maricela Esmeralda Guzmán y Didilia Ileana Mendoza Castillo.
- 119.CUANTIFICACIÓN DE NIVELES HORMONALES EN LA TORTUGA BLANCA QUE HABITA EN EL CARIBE MEXICANO. Jiménez Jiménez, Marina Lizbeth y Labrada Martagón, Vanessa.
- 120.SÍNTESIS DE ESFERAS QUITOSANO CON MAGNETITA. Mario Eduardo Dávila Brondo y Dr. Eduardo A. Elizalde Peña.
- 121.SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE BIOPOLÍMEROS DE POLI(L-LACTIDA) Y SUS POLI(ÉSTER-URETANOS). Mario Michael Villegas Herrera y José Eduardo Báez García.

- 122.EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS MICROBIANOS LIGNOCELULOLÍTICOS, PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS ÁRIDOS DEL NORTE DE MÉXICO. Verdín García Marisol, Dr. Ángel Gastélum Arellánez y Dr. José Luis Hernández Flores.
- 123.DETERMINACIÓN DE FLÚOR EN BEBIDAS Y LECHE INFANTILES COMERCIALES EN LOS ESTADOS DEL BAJÍO. Cisneros Rodríguez Marlene y Cilia López Virginia Gabriela.
- 124.OBTENCIÓN DE LÁTEX HÍBRIDOS DE HULE DE GUAYULE PARA DIFERENTES APLICACIONES. Martha Edith Moreno Valencia, Beatriz Elvira Reyes Vielma y María Esther Treviño Martínez.
- 125.EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD EN EMBRIONES DE PEZ CEBRA EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA CASIOPEÍNA® IIIia. Vitela Ramos Mayra Lizbeth y María del Carmen Mejía Vázquez.
- 126.METODOS NUMERICOS PARA EL PROBLEMA INVERSO EN PRUEBAS NO DESTIVAS TERMICAS. Miguel Ángel Tovar Rodríguez y Dra. Lili Guadarrama Bustos.
- 127.ESTRUCTURA PROPIEDAD DE SUSTITUYENTES ALQUILO SOBRE UN POLIÉSTER BIODEGRADABLE Y SUS POLI (ÉSTER-URETANOS). SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y DEGRADACIÓN. Mónica Orozco López y José Eduardo Báez García.
- 128.SINTESIS DE MONOMEROS EPOXICOS A PARTIR DE NOPOL™ 20° VCRC. Nadia Pérez Alvaro y Dr. Ricardo Acosta Ortiz.
- 129.CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTO DE BIZNAGA. Pérez Chávez Nalleli y Feregrino Pérez Ana Angélica
- 130.ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO DE PESTICIDAS MEDIANTE QUÍMICA COMPUTACIONAL. Omar Flores Delgado y Gabriel Herrera Pérez.
- 131.CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO MURINO DE ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE. Oscar de Jesús Reyes Delgado y Bibiana Moreno Carranza.
- 132.PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA FORMACIÓN DE LA CURVATURA DE LOS BRAZOS DE *Myrtillocactus geometrizans* UNA CACTÁCEA ARBORESCENTE. Suárez Rubio, P.; Escoto Rodríguez, M.
- 133.AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS NATIVOS DE SUELOS TRATADOS CON AGROQUÍMICOS EN DIFERENTES SITIOS DE LA ZONA MEDIA. Paulina Lira Rangel y Juan Fernando Cárdenas González.
- 134.ASTROQUÍMICA: LA QUÍMICA DEL ESPACIO. Ramiro Girón García y Miguel Ángel Trinidad Hernández.
- 135.CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE MICORRIZAS ASOCIADAS A AGAVES DE GUANAJUATO. Raúl Morales Meléndez y Juan Gualberto Colli Mull.

136. ABF1 ESTÁ IMPLICADO EN EL CICLO CELULAR Y SU SOBREEXPRESIÓN AFECTA EL SILENCIAMIENTO EN *Candida glabrata*. Loredó-Puerta Raúl Eduardo y Castaño Navarro Irene Beatriz.
137. ABSORCIÓN DE COLORANTE EMPLEANDO CARBÓN ACTIVADO A BASE DE FLAMBOYÁN: MODELAJE DE ISOTERMA. Ricardo Martínez Álvarez y Didilia Ileana Mendoza Castillo.
138. EXTRACCIÓN DE CARACTERÍSTICAS PARA IDENTIFICAR ENFERMEDADES Y PLAGAS EN HOJAS DE CUCURBITA PEPO L. Ricardo Martínez Velázquez y Elvia Ruth Palacios Hernández.
139. FORMULACIÓN DE UNA LOCIÓN ANTI-ACNÉ CON EXTRACTO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) Y EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA. Roque González Razo, María Rico Martínez.
140. POLINOMIO DE EHRHART DEL POLÍTOPO DE BASES DE UN MATROIDE *LATTICE PATH*. Rubén Abraham Moreno Segura y César Israel Hernández Vélez.
141. RIQUEZA Y ABUNDANCIA DE PEQUEÑOS MAMÍFEROS NO VOLADORES EN VEGETACIÓN SECUNDARIA DE BOSQUE TROPICAL CADUCIFOLIO DEL BAJIO MEXICANO. Benavides-García Samuel Eusebio y Ávila Aguilar Daniel.
142. CÁLCULO DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE UN POTENCIAL TIPO ESCALÓN DOBLE CONSIDERANDO CAMPO ELÉCTRICO Y DISTINTAS ALTURAS. Sara Elizabeth Solís Núñez y Juan Carlos Martínez Orozco.
143. PROYECTO LUDE-RAUM MÓDULO SIGRA PROYECT. Navarrete Arias Serafín y Laguna Estrada Martín.
144. CARACTERIZACIÓN DE CEPAS PRODUCTORAS DE SIDERÓFOROS. Sergio Alejandro García Ávila y Dra. Sandra Pérez Miranda.
145. OBTENCIÓN DE LÍNEAS TRANSFORMANTES DE *Marchantia polymorpha*. González Santibáñez Susana Jacqueline, Melissa Dipp Álvarez y Luis Alfredo Cruz Ramírez.
146. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA DE PREBIÓTICOS Y PROBIÓTICOS EN PROCESOS INFLAMATORIOS INTESTINALES EN LA RATA. Valdés Gutiérrez Tanya Verónica, Córdova Dávalos Laura Elena y Salinas Miralles Eva María.
147. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE MASAS SEPARADORAS VEHICULARES DE ACERO 1040 Y ACERO 4140 SOMETIDAS A ESFUERZO DE TORSIÓN. Ulises Jiménez Vinatier y Juan Pablo Razón González.
148. POLÍTOPO DE BASES: POLINOMIO DE EHRHART. Uriel Alejandro Salazar Martínez y César Israel Hernández Vélez.
149. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PERINATAL SOBRE LA RESPUESTA MATERNA Y LA REACTIVIDAD DE C-FOS EN LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL. Valeria Rodríguez Pacheco y Manuel Salas Alvarado.

150. CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE *PLUMBAGO PULCHELLA* EN RELACIÓN A SUS PROPIEDADES HIPOGLICEMIANTES. Vanessa del Rocío Hernández Álvarez y Claudia Isela González López.
151. DEGRADACIÓN DE AZUL DE METILENO A TRAVÉS DEL EMPLEO DE Ta₂O₅ COMO FOTOCATALIZADOR NANOPARTÍCULADO. Vania Lizeth Guerra Castillo y Esmeralda Mendoza Mendoza.
152. VALORACIÓN DE LA TOXICIDAD DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *X. nematophila*, UTILIZANDO COMO MODELO BIOLÓGICO A *C. elegans*. Verónica del Rosario Frías Negrete y Rafael Montiel Duarte, Juan Antonio Castillo González. En colaboración con: Francisco Barona Gómez, e Hilda E. Ramos Aboites.
153. INVENTARIO DE ESPECIES ARBÓREAS EN EL CERRO DEL VEINTE, IRAPUATO GUANAJUATO. Víctor Emmanuel Baltazar Rodríguez y Victoria Hernández-Hernández.
154. TRATAMIENTO TÉRMICO-QUÍMICO PARA LA ELABORACIÓN DE UN CARBÓN ACTIVADO PARA EL USO DE ADSORCIÓN DE CIANURO. Vidal Israel Carrasco Cerda, Leonor Muñoz Ramírez Claudia Verónica Reyes Guzmán, Isabel Aracely Facundo Arzola.
155. AISLAMIENTO Y RESISTENCIA A METALES DE BACTERIAS PROVENIENTES DE RESIDUOS MINEROS ZACATECANOS. Wendy Patricia Gil Sánchez y Juan Armando Flores de la Torre.
156. ADSORCIÓN DE XANTATO EN CARBÓN SUBITUMINOSO. Yinadi Yarime Castillo Lazarin, Claudia Verónica Reyes Guzmán.
157. SOBRE LA LUMINOSIDAD EMITIDA POR MÁSERES DE AGUA EN FUNCIÓN DE OTRAS VARIABLES. Víctor Miguel García Sánchez y Miguel Ángel Trinidad Hernández

PREVALENCIA DE USO DE LOS PRINCIPALES PRODUCTOS HERBOLARIOS PARA BAJAR DE PESO EN EL ESTADO DE GUANAJUATO

Abigail Gallardo Castañeda¹ Y Angel Josabad Alonso Castro ²

RESUMEN

Se tiene un índice alto de obesidad y sobrepeso en la población mexicana y la mayoría de ellos se automedican por diversas razones, entre ellas el difícil acceso a servicios de salud, surgiendo la necesidad de estudiar los productos naturales para la pérdida de peso. Con la finalidad de evaluar la prevalencia del uso de estos productos, este estudio fue llevado a cabo con personas mayores de edad en el ISSSTE de la ciudad de Guanajuato. Se obtuvo que el 29% de las personas entrevistadas consumen estos productos, lo cual sugiere una alta prevalencia del uso de productos alternativos para el tratamiento de obesidad y sobrepeso en Guanajuato.

ABSTRACT

There is a high rate of obesity and overweight in the Mexican population and most of them self-medicate for various reasons, including the difficult access to health services, arising the need to study the use of natural products for weight loss. To evaluate the prevalence of the use of these products, this study was carried out with people over 18 years old in the hospital ISSSTE located in the city of Guanajuato. It was obtained that 29% of the people interviewed consume these products, which suggest a high prevalence in the use of alternative products for the treatment of obesity and overweight in Guanajuato.

Palabras clave: producto herbolario, análisis, obesidad, sobrepeso.

INTRODUCCIÓN

La automedicación se define como la autoadministración de un medicamento no prescrito por un médico, o de forma que esta no es dirigida por el mismo. En los países en desarrollo es una práctica muy común, debido, en gran parte, al difícil acceso a los servicios de salud y a las demoras en atención que se presentan en el sistema de salud de estos países (López-Cabra, C.A., 2016).

La obesidad es una enfermedad de etiología multifactorial de curso crónico en la cual se involucran aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida. Se caracteriza por un balance positivo de energía, que ocurre cuando la ingestión de calorías excede al gasto energético, ocasionando un aumento en los depósitos de grasa corporal y, por ende, ganancia de peso (Barquera, S, 2010). La obesidad es el principal factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares (especialmente las cardiopatías y los accidentes vasculares cerebrales), hipertensión arterial, dislipidemias, enfermedades osteoarticulares y ciertos tipos de cáncer, como el de mama y próstata Astrup, A, (2008).

Según la Norma Oficial Mexicana 174 (NOM-174), la obesidad y sobrepeso son una enfermedad crónica caracterizada por el almacenamiento en exceso de tejido adiposo en el organismo, acompañada de alteraciones

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ingeniería bioquímica; Carretera Irapuato-Silao km12.5, Irapuato, Guanajuato, agc.6995@gmail.com

² Universidad de Guanajuato, División de ciencias naturales y exactas; Noria Alta S/N, Noria Alta, 36050. Guanajuato, Guanajuato, angeljosabad@ugto.mx

metabólicas, que predisponen a la presentación de trastornos que deterioran el estado de salud. La medida para conocer las condiciones de sobrepeso y obesidad es el índice de masa corporal (IMC) (Cruz, M, 2013).

En la actualidad en el mundo hay un aumento en la tendencia al uso de la medicina alternativa o complementaria para tratar sobrepeso y obesidad (Saucedo, S, 2013). En algunas regiones del mundo, estos tratamientos son más fáciles de aceptar culturalmente y de menor costo (Saucedo, S, 2013). Un porcentaje del 36%, de adultos mexicanos, especialmente mujeres, del noroeste del país, en el estado de Sonora, recurren a estos tratamientos alternativos. Llama la atención que un porcentaje tan alto de la población use productos alternativos para adelgazar, ya que sus efectos no están comprobados en su totalidad. Para perder peso, en un estudio del noroeste de México, en el estado de Sonora, los productos más referidos fueron mezclas líquidas, infusiones de yerbas, pastillas y semillas de linaza.

Los estudios encontrados sobre el tema son pocos, y realizados por periodos cortos. En este sentido, surge la necesidad de estudiar los productos naturales utilizados por la población para bajar de peso. Cuya información permitirá que la medicina alternativa, rebase los estudios descriptivos y se conviertan en una verdadera herramienta útil y confiable para el sector salud como para la población en general (Saucedo, S, 2013).

METODOLOGÍA

El protocolo del presente estudio fue aprobado por el comité de ética de la clínica hospital del ISSSTE en la ciudad de Guanajuato. Se realizaron entrevistas en la clínica hospital del ISSSTE en la ciudad de Guanajuato, las cuales fueron dirigidas a personas adultas con sobrepeso u obesidad, sin distinción de sexo. Las encuestas fueron totalmente anónimas. El consentimiento se obtuvo de forma verbal de parte de los encuestados. Las variables evaluadas fueron datos como edad, peso, estatura, datos sociodemográficos, estado civil, preguntas relacionadas con el uso y frecuencia de uso de productos herbolarios para bajar de peso para de aquí basar los resultados. El tiempo de duración de cada encuesta fue alrededor de 5 a 7 minutos por persona. Las encuestas se realizaron exitosamente del 02 de julio del 2018 al 27 de julio del 2018. Los datos fueron traspasados a Excel analizados bajo análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se realizó un estudio sociodemográfico a personas derechohabientes del ISSSTE Guanajuato con preguntas como edad, peso, estatura, datos sociodemográficos, estado civil, preguntas relacionadas con el uso y frecuencia de uso de productos herbolarios para bajar de peso con la finalidad de llevar a cabo un análisis estadístico de los datos.

Se reportó que el 29% de las personas entrevistadas consumen o consumían productos herbolarios con la finalidad de bajar de peso.

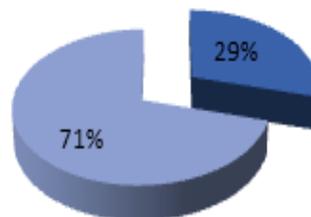


Figura 1. Gráfico del consumo de productos herbolarios en personas con sobrepeso.

Dentro del grupo de personas que consumen este tipo de productos alternativos para la pérdida de peso, se obtuvo que el 22% consumen malteadas hechas a base de extractos de hierbas, tales como té verde, cardamomo e hibisco.

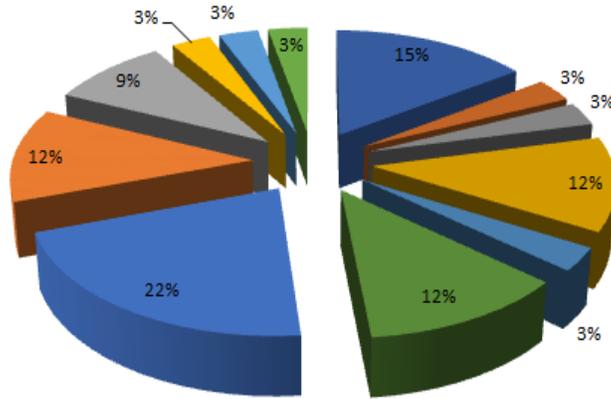


Figura 2. Gráfico de la frecuencia de productos herbolarios, el 22% consume malteadas hechas a base de hierbas, tales como té verde, cardamomo e hibisco.

Un 26% comenzó a tomar estos productos por recomendación propia y el 74% restante lo hizo por recomendación de alguien más.

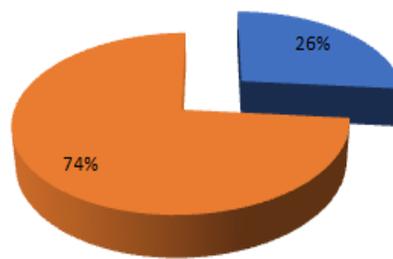


Figura 3. Gráfico del motivo de uso de productos herbolarios.

El 35% de personas que consumen productos herbolarios para la pérdida de peso es de la edad de 50 a 59 años, el 33% es de 40 a 49 años, un 15% es de 30 a 39 años, otro 15% es de 60 a 69 años, mientras que un 2% está dentro del rango de edades de 20 a 29 años de edad.

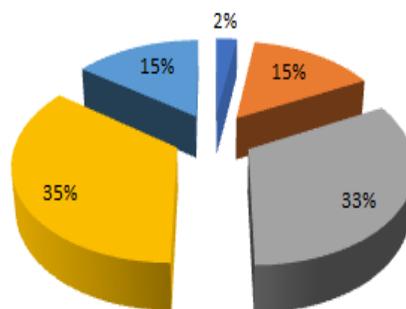


Figura 4. Gráfico de edades de los consumidores de productos herbolarios.

Se registró que el 79% de los consumidores de productos herbolarios es del género femenino, mientras que el 21% es del género masculino.

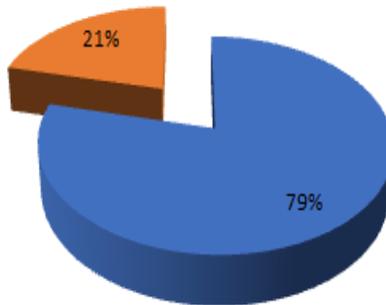


Figura 5. Gráfico de la subdivisión por género.

Se estima que el 59% de los consumidores de estos productos alternativos para la pérdida de peso está dentro de un nivel socioeconómico alto, el 35% dentro de un nivel socioeconómico medio y el 6% está dentro de un nivel bajo.

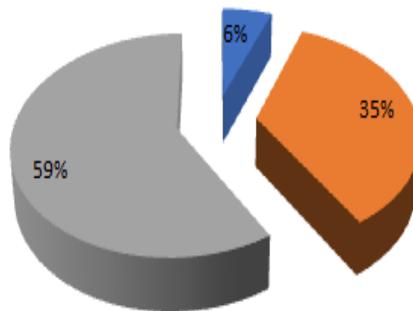


Figura 6. Gráfico del estatus socioeconómico.

Se obtuvo de las personas consumidoras de productos herbolarios que el 52% padece de obesidad, mientras que el 48% padece de sobrepeso.

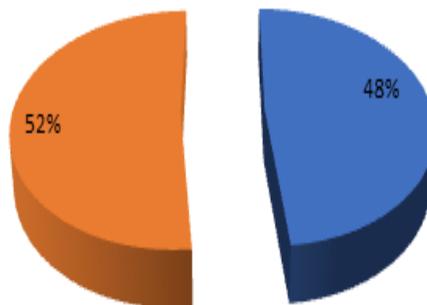


Figura 7. Gráfico de obesidad y sobrepeso.

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que existe una alta prevalencia (29%) en el uso de productos herbolarios para bajar de peso entre los derechohabientes de la clínica ISSSTE de la ciudad de Guanajuato.

BIBLIOGRAFÍA

Artículos de revista

López-Cabra, C.A., (2016). “Automedicación en estudiantes colombianos de pregrado de medicina de la Universidad del Rosario en Bogotá D. C., Colombia”, En Cienc. Quím. Farm., número 45, volumen 3, pág. 374-384.

Barquera, S, (2010). “Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención”. En Gaceta Médica de México, número 146, pág. 397-407.

Astrup, A, (2008). “Nutrition transition and its relationship to the development of obesity and related chronic diseases”. En Obes, número 9, volumen 1, pág. 48-52.

Cruz, M, (2013). “Sobrepeso y obesidad: una propuesta de abordaje desde la sociología”. En Scielo, número 25, volumen LVII.

Saucedo, S, (2013). “Productos alternativos para tratar sobrepeso y obesidad más expendidos en hermosillo, Sonora” En Biotecnia, número 2, volumen XVI.

EVALUACION DE 5 PRODUCTOS COMERCIALES DE USO CLÍNICO PARA LA DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES DE LA CLÍNICA DENTAL DEL POSGRADO DE ODONTOPEDIATRÍA DE LA UASLP.

González Ortiz Adrián Alexis, Tejeda Nava Francisco Javier y Sánchez Vargas Luis Octavio.

RESUMEN

La limpieza y desinfección de las superficies en la clínica dental es un proceso que debe realizarse entre cada paciente, consiste en la limpieza mecánica con toalla húmeda o paño con una solución de limpieza y desinfección, entre las múltiples alternativas de estos productos y entre los más comerciales, utilizados y eficaces se encuentran los que se evaluaron en este trabajo donde incluimos 5 productos: 2 mezclas de compuestos del amonio cuaternario de 5ª generación con tensoactivos y estabilizadores, uno de 3ª generación, un dióxido de cloro y el hipoclorito de sodio al 0.5%. Mediante un estudio experimental realizado en la clínica del posgrado de Odontopediatría de la UASLP se determinó la eficacia de 5 productos comerciales para la desinfección de superficies de una clínica dental como parte de las jornadas de trabajo clínico de 3 días.

ABSTRACT

In the dental clinic cleaning and disinfection of surfaces are processes to be performed between each patient, consists of mechanical cleaning with a damp towel and a cleaning and disinfection solution, among the multiple alternatives of these products are those that were evaluated in this work, we include 5 products: 2 mixtures of quaternary ammonium compounds of 5th generation with surfactants and stabilizers, one of 3rd generation, a chlorine dioxide and 0.5% sodium hypochlorite. An experimental study was carried out in the clinic of the pediatric dentistry of the UASLP to determine the efficacy of 5 commercial products for the disinfection of surfaces of a dental clinic as part of the clinical work days of 3 days.

Palabras clave: desinfectantes, control de infecciones, odontología.

INTRODUCCIÓN

La posibilidad de adquirir una infección microbiana en un ambiente clínico debe de considerarse como un peligro latente, es por eso la importancia de la desinfección como procedimiento para eliminar microorganismos de las superficies con las cuales odontólogo y paciente están en continuo contacto.(1) La recomendación más común que concierne a la limpieza y posterior desinfección de las superficies consiste en una limpieza local previa, seguida de una desinfección con alguna solución microbicida, entre las cuales se puede nombrar al hipoclorito de sodio al 5 % destacado por su eficacia, amplia disponibilidad y bajo costo (2).

Entre las superficies en la clínica odontológica con un alto riesgo de contaminación por la relación misma que tienen con el paciente y por ser superficies críticas destacan, la jeringa triple, el eyector y la escupidera, (todas pertenecientes a la categoría de superficies de contacto (3)), siendo estas por su potencial a ser contaminadas, opciones para la evaluación de soluciones desinfectantes.

Otras alternativa como el dióxido de cloro refiere una excelente capacidad biocida que sobrepasa a la del cloro, con una mejor respuesta para la eliminación de esporas (4), así como el uso de los compuestos de amonio cuaternario de últimas generaciones, tienen un papel desinfectante ideal para superficies de mobiliario clínico y planta física de centros hospitalarios, destacando su amplio espectro, alta capacidad de inactivación y baja toxicidad.(5)(1).

Todas estas, siendo soluciones controladoras de infección de superficies, en donde los profesionales mantienen íntimo contacto, destacan como opciones para su uso riguroso en la disminución de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) que pudieran presentarse en las superficies presentes en la clínica.(2).

METODOLOGIA

Se llevó a cabo un estudio experimental antes y después. Fueron estudiadas superficies de unidades dentales que cumplieron con los criterios de inclusión como fueron que las estas fueran operadas por el mismo especialista y que fueran utilizadas durante las jornadas completas del turno matutino y vespertino. Por cada superficie a estudiar se tomaron tres muestras durante tres días consecutivos: una muestra inicial (antes de implementar el protocolo), una de seguimiento y una final. Las superficies evaluadas fueron a) Punta de jeringa triple, b) Punta donde se coloca eyector desechable y c) escupidera. Los productos evaluados fueron: 1) Hipoclorito de sodio al 0.5%, 2) compuesto del amonio cuaternario de 5ª generación de la marca Alcasurf 750, 3) compuesto del amonio cuaternario de 5ª generación de la marca FD 300 Durr Dental, 4) Dioxido de Cloro marca Dioxpure y 5) compuesto del amonio cuaternario de 3ª generación de la marca Bactogem.

Los aislados e identificaciones microbiológicas fueron realizados para cada una de las muestras tomadas de cada superficie Tanto de la muestra inicial como las muestras de seguimiento, se determinaron las cuentas microbianas (UFC) recuperadas de las superficies de estudio y del cultivo primario se hizo una segunda siembra en las placas de cultivo selectivo para la identificación de los microorganismos de interés.

Selección de superficies: Una vez que las superficies fueron elegidas, se completó una ficha de datos del operador, así como de los horarios de muestreo, los pacientes y procedimientos realizados entre cada periodo de muestreo. El proceso de toma de muestra, al igual que los métodos microbiológicos, fueron estandarizados con el director del trabajo antes del inicio del estudio en un periodo de 3 días previos al estudio donde se implementó y estandarizo un riguroso control de infecciones utilizando hipoclorito de sodio al 0.5% como estándar de oro.

Una vez que el proceso estaba estandarizado, en condiciones de ambiente y temperatura controlada, de manera sistemática y en forma individual se tomaron las muestras basales. Se tomó una primera muestra con un hisopo estéril de punta de algodón previamente humedecida con agua destilada estéril frotando durante 10 repeticiones a fin de tomar una muestra representativa del total de la superficie a estudiar. Los hisopos fueron colocados en un tubo contenedor con medio de transporte de caldo de soya para ser transportados al laboratorio de Microbiología para su procesamiento en un periodo no mayor a 3 horas.

Protocolo de desinfección de superficies

Tomada la muestra basal se procedió a realizar el protocolo de desinfección de cada uno de los grupos de estudio. Con la finalidad de unificar y estandarizar el proceso se entregó en cantidades iguales a los dos investigadores aplicadores lo siguiente:

- a) Una botella de plástico sin marcas ni etiquetas con el desinfectante ya preparado, la botella solo tenía una etiqueta con un código numérico.
- b) Un tríptico de retroalimentación mencionando todas las instrucciones correctas de la desinfección de superficies clínicas.
- c) Un paquete de toallas multiusos nuevas para limpieza de las unidades dentales.
- d) Una tabla, hojas y bolígrafo para hacer anotaciones.

Posteriormente se les explicaron las siguientes instrucciones de desinfección de superficies:



- 1) Rociar la superficie a desinfectar hasta que se humedezca dicha superficie visiblemente (0.6 ml/cm²)
- 2) Realizar una limpieza mecánicamente con la toalla multiusos proporcionada, todas las superficies de cada unidad dental en varias direcciones durante un minuto y dejar húmeda la superficie durante los siguientes 3 a 5 minutos.
- 3) En caso de que después del tiempo de contacto seguía húmeda la superficie, esta se secó con una toalla multiusos limpia.
- 4) Al final de la jornada se recolocaron los datos de la muestra y el operador.

Previa aleatorización de las unidades dentales para determinar el desinfectante a usar, se procedió a realizar la desinfección rutinaria entre paciente y paciente durante la atención estomatológica del turno matutino por tres días al inicio de la jornada y entre cada paciente atendido en cada unidad dental de la clínica del posgrado de Odontopediatría de la UASLP, completando un total de 20 unidades dentales en cada una de las cuales se revisaron un promedio de 7 a 8 pacientes pediátricos atendidos por jornada de trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al observar el comportamiento de los diversos desinfectantes se observa que las zonas más colonizadas por microorganismos son la escupidera con un alto conteo de unidades formadoras de colonias, seguido de la punta de la jeringa triple y finalmente la punta donde se coloca el eyector.

Al obtenerse promedio de microorganismos, cuya información se obtuvo de la lectura de siembras en CHROMagar™ específico por tipo de microorganismo con técnica previamente descrita. Los resultados son como muestra la tabla 1. Mostrando una disminución en la aparición de los microorganismos en base al promedio de los conteos basal y final de cada día en la mayoría de los casos.

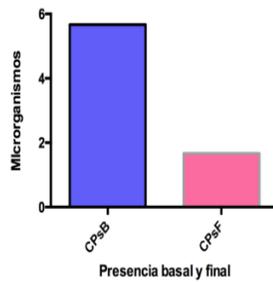
Tabla 1. Presencia por microorganismos a evaluar en cada superficie seleccionada en base al promedio de un conteo inicial por día y final

Microorganismos	Muestras					
	Punta		Eyector		Escupidera	
	Basal	Final	Basal	Final	Basal	Final
P aeruginosa	7	0	12	0	9	0
S aureus	5	8	6	9	2	8
E feacalis	4	2	8	1	9	1
Ec	2	0	4	0	0	0
KESK	4	1	9	4	13	1
P	2	0	2	0	1	0

Es importante señalar que la rutina de desinfección entre paciente y paciente con el uso de cualquier desinfectante, da como consecuencia una reducción de la presencia de microorganismos de las muestras seleccionadas como muestran las Gráficas 1 a la 3.

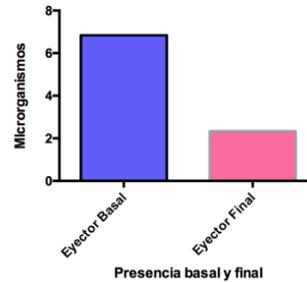
Gráfica 1

Presencia de microorganismos en la escupidera basal y final a la exposición de agentes desinfectantes



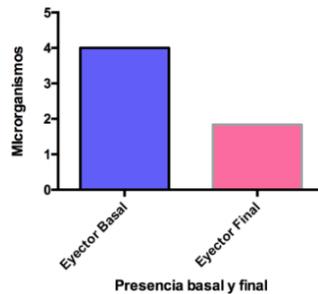
Gráfica 2

Presencia de microorganismos en la punta de eyector basal y final a la exposición de agentes desinfectantes



Gráfica 3

Presencia de microorganismos en la punta de eyector jeringa triple y final a la exposición de agentes desinfectantes

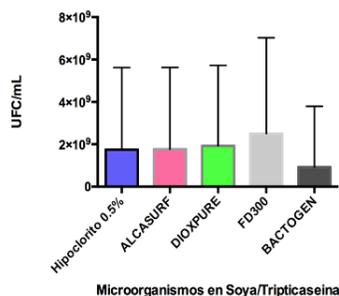


Para realizar el conteo de las unidades formadoras de colonias se sembraron las muestras obtenidas en agar soya/tripticaseína con técnica previamente descrita. Se realizaron conteos de unidades formadoras de colonia de cada hisopado por superficie por unidad previamente aleatorizada.

Los desinfectantes que se emplearon con la técnica de desinfección rutinaria dieron como resultado el promedio de unidades formadoras de colonia por cada zona de muestreo seleccionada como se muestran en las gráficas 4 a 6

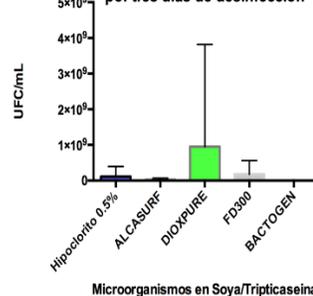
Gráfica 4

Conteo bacteriano de escupidera expuesto a cinco diferentes desinfectantes por tres días de desinfección



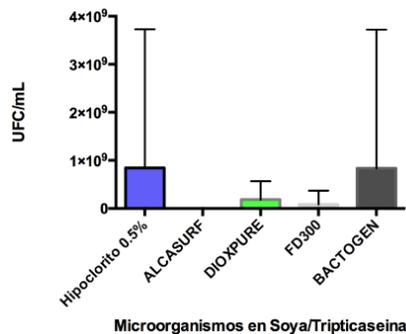
Gráfica 5

Conteo bacteriano de punta de eyector expuesto a cinco diferentes desinfectantes por tres días de desinfección



Gráfica 6

Conteo bacteriano de punta de jeringa triple expuesto a cinco diferentes desinfectantes por tres días de desinfección



CONCLUSIONES

- Un protocolo de limpieza y desinfección aplicado entre cada paciente que fue estandarizado y realizado durante 3 días de jornadas de trabajo clínico demostró ser eficaz en la reducción de las cuentas microbianas aisladas de tres superficies críticas en las unidades dentales; la punta de jeringa triple, la boquilla del eyector de succión y la escupidera.
- Los productos más eficaces en la reducción de cuentas microbianas de estas superficies fueron los compuesto del amonio cuaternario de 5ª generación de la marca Alcasurf 750 y de la marca FD 300 Durr Dental, seguido del Dióxido de Cloro marca Dioxpure y el Hipoclorito de Sodio al 0.5%.
- El producto menos eficaz fue un compuesto del amonio cuaternario de 3ª generación de la marca Bactogem.

BIBLIOGRAFIA

1. Diemedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao MI, Medel M, et al. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. Rev Chil infectología. 2017;34(2):156–74.
2. Uchikawa M, Uchikawa K, Morais F, Quartim C, Queiroz R, Angelo C. Eficacia de la desinfección con alcohol al 70% (p/v) de superficies contaminadas sin limpieza previa. Rev Latino-Am Enferm [Internet]. 2013;21(2):1–6. Available from: www.eerp.usp.br/rlae
3. BARRIOS MMBLCCSANVSGJBLD. Lo que debemos saber sobre control de infección en el consultorio dental. Rev Odontológica Los Andes. 2007;2(1):64–70.
4. Cowley. Dióxido de cloro. 2003. p. 38–46.
5. Pasquarella C, Veronesi L, Castiglia P, Liguori G, Montagna MT, Napoli C, et al. Italian multicentre study on microbial environmental contamination in dental clinics: A pilot study. Sci Total Environ [Internet]. Elsevier B.V.; 2010;408(19):4045–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.05.010>
6. Véliz E, Vergara T, Pearcy M. Importancia del proceso de limpieza y desinfección de superficies críticas en un servicio dental. Impacto de un programa de intervención. 2018;35(1):88–90.

A SEARCH FOR EXTENDED RADIO SOURCES IN 1.3 SR OF THE VLA SKY SURVEY (VLASS)

Agueda Constanza Villarreal Hernández¹ and Heinz Andernach²

RESUMEN

Reportamos resultados preliminares de una inspección visual de 4414 imágenes, cubriendo ~4260 grados cuadrados del rastreo a 3 GHz VLA Sky Survey (VLASS, época 1.1) en búsqueda de estructuras extendidas. Se colectaron más de 7600 posiciones y para una submuestra de 270 de las candidatas más prometedoras se buscó el objeto huésped en rastreos ópticos e infrarrojos, tal como en otras bases de datos públicas. Entre las 270 encontramos 9 nuevas radiogalaxias gigantes con una extensión en radio mayor a 1 Mpc, dos de ellas probablemente cuásares a un corrimiento al rojo de $z \sim 2$, y otra estuvo identificada hasta ahora erróneamente con un objeto más cercano. Aparte de varias fuentes con una radiomorfología inusual, encontramos numerosas fuentes del tipo remanente con lóbulos muy difusos en VLASS, tanto con o sin un radionúcleo. Confirmamos que la alta resolución angular y frecuencia de observación de VLASS son idóneos para la identificación óptica de radiofuentes, y a pesar de su limitada sensibilidad para estructuras extendidas, permite revelar radiogalaxias grandes basándose en sus rasgos morfológicos, irreconocibles en rastreos de peor resolución angular.

ABSTRACT

We report preliminary results of a visual inspection of ~4300 deg² covered by 4414 images of the 3-GHz VLA Sky Survey (VLASS, epoch 1.1) in search of extended radio structures. Over 7600 positions were registered, and for a subset of 270 of the most promising candidates their host objects were searched in optical and infrared surveys, as well as in other public databases. Among these 270, we found 9 new giant radio galaxies with a projected radio extent exceeding 1 Mpc, of which two are likely quasars at a redshift $z \sim 2$, and another one had hitherto been misidentified with a low-redshift host. Apart from various sources with unusual radio morphologies, we found numerous remnant-type double radio sources with very diffuse lobes in VLASS, both with and without radio cores. We confirm that the high angular resolution and observing frequency of VLASS is well suited for the optical identification of radio sources, and despite its limited sensitivity to extended emission, allows to reveal large radio galaxies based on morphological features unrecognizable in lower-resolution surveys.

Palabras Clave: rastreos en radio, radiofuentes extragalácticas, radiogalaxias

INTRODUCTION

The VLA Sky Survey (VLASS, <https://science.nrao.edu/science/surveys/vlass>, Lacy et al., in prep.) is being performed with the Jansky Very Large Array (VLA) in B-configuration at S band (2-4 GHz), giving an angular resolution of 2.5". From Sept. 2017 to Febr. 2018 (epoch 1.1) half the sky north of DEC=-40° was observed, resulting in 17,538 publicly available quicklook (QL) images covering 16,831 deg². The 1- σ noise of the QL images is ~0.13 mJy/beam, expected to reach 0.069 mJy/beam with three full sky coverages completed by 2024. While the QL images are preliminary products and will be replaced with the final "SingleEpoch" images, an inspection of ~2000 deg² of QL images around the North Celestial Pole by Andernach (2018) had shown that even the QL images have excellent capability to reveal morphological features of radio galaxies like radio cores, jets, hotspots with Mach-cone shaped tails, etc., which are hardly perceived in lower-resolution surveys like the NRAO VLA Sky Survey (NVSS, Condon et al. 1998), or the TGSS-ADR1 (Intema et al. 2017). Since recognition of such structures with automated algorithms is challenging, this has motivated us to inspect further large areas of VLASS. For the present project we selected 9 contiguous areas located at Galactic latitudes $|b| > 10^\circ$, except for some small regions near Galactic longitudes 58°, 194°, and 214°. Our 9 areas also have as little overlap with the FIRST survey (Helfand et al. 2015), since the latter has been explored extensively for optical identification of radio galaxies, e.g. within the Radio Galaxy Zoo project (Banfield et al. 2015). Table 1 lists for each area its RA and DEC range, the number of available VLASS images, followed by the number of images rejected for quality issues, the area covered by the available images, the number of positions logged and their average number per image. Note that parts of the quoted RA-DEC range will be observed in epoch 1.2 in 2019.

¹ Universidad de Guanajuato, Div. Ciencias Naturales y Exactas, Guanajuato, Gto, a_agueda@hotmail.com

² Universidad de Guanajuato, Depto. de Astronomía, DCNE, Guanajuato, Gto, heinz@astro.ugto.mx

Table 1. Sky areas inspected in VLASS

Area	RArange/h	DECrage/°	N_{img}	N_{unobs}	A/deg^2	N_{log}	$N_{\text{log}}/N_{\text{img}}$
1	00 .. 02	-10 .. -24	379	1	363.7	593	1.6
2	02 .. 04	-24 .. -36	334	-	311.2	408	1.2
3	00 .. 03	+10 .. +16	268	2	261.0	487	1.8
4	03 .. 06	+00 .. +16	719	1	709.7	962	1.3
5	03 .. 07	-00 .. -24	1196	10	1162.4	2354	2.0
6	10 .. 12	-10 .. -24	419	1	399.7	654	1.6
7	12 .. 14	-24 .. -36	332	2	309.2	692	2.1
8	14 .. 16	-10 .. -24	410	10	391.1	745	1.8
9	20 .. 24	+10 .. +16	357	3	347.7	748	2.1
Total/average	-	-	4414	-	4255.7	7643	1.7

METHOD

Each QL image covers an area of $62' \times 62'$ with 3722^2 pixels of $1''$. To display the QL images we used the program ObitView (W. Cotton, <http://www.cv.nrao.edu/~bcotton/Obit.html>), which allows to record a position on an image with a simple click, accumulating them in a file. For our search we used a $15.6''$ screen of 3480×2160 pixels at a zoom of 50%, which allowed us to view a large fraction of the full image per screen with sufficient detail. Since ObitView allows to record a position on the image with a single click, accumulating these in a log file, and deferring the measurement of angular sizes until later. Since extended radio sources are rare on VLASS images, clicking on all except the more numerous double sources smaller than $\sim 30''$ can be accomplished on average within 1 minute of real time. ObitView allows two types of position logging: for compact radio cores we performed a Gauss-fit with sub-arcsecond precision on the source, while for sources candidates without an obvious core we clicked on a position nearest to the source's geometric center. For the most promising candidates (either large angular size or peculiar shape) we employed a double click, which could be distinguished easily from the other sources in the log file. A total of ~ 7640 positions, cleaned from duplicates (due to the small overlap of $\sim 4'$ between neighboring images) were logged on the 4414 QL images.

Of the 325 double-clicked candidates, 50 had already been compiled as extended radio galaxies by Andernach (2016). For the remaining 275 objects we inspected $15' \times 15'$ NVSS images to select 145 sources which appeared as genuine radio galaxies larger than $\sim 1.5'$. Using the program ds9 (<http://ds9.si.edu>) we measured their largest angular size (LAS), along a straight line between opposite extremes of their radio extent, on the VLASS images (or occasionally on NVSS or TGSS images, when almost resolved out in VLASS). We then searched for counterparts of the radio cores within $\sim 2''$ in optical surveys (SDSS, Abolfathi et al. 2018; Pan-STARRS DR1, Flewelling et al. 2016) as well as in the mid-infrared (AllWISE, Cutri et al. 2013) using both the VizieR catalog browser (<http://vizier.u-strasbg.fr/viz-bin/VizieR>, Ochsenbein et al. 2000) and the NASA/IPAC Extragalactic Database (NED, <http://ned.ipac.caltech.edu>), resulting in matches for 105 of the 145 objects. Eight objects had a spectroscopic redshift (z_{spec}) and for the remaining ones we searched photometric redshifts (z_{phot}) for galaxies in catalogs by Beck et al. (2016), Brescia et al. (2014), Bilicki et al. (2016) and Gao et al. (2018). For star-like objects which, when radio-emitting, are highly likely to be quasars, we used redshift estimates from DiPompeo et al. (2015) and Krogager et al. (2018, their Fig. 2). We used z_{spec} , or, in its absence, an average of the z_{phot} values, to convert the LAS to the largest linear size (LLS), projected on the sky, in Mpc ($1 \text{ Mpc} = 3.09 \times 10^{22} \text{ m} = 3.26 \times 10^6 \text{ light years}$). We adopted $H_0 = 70 \text{ km s}^{-1} \text{ Mpc}^{-1}$, $\Omega_m = 0.3$ and $\Omega_\Lambda = 0.7$.

RESULTS AND DISCUSSION

Here we give only a few examples of extraordinary sources found. All images have N at the top and E on the left. Note that all sources were first seen on the VLASS images, and confirmed in NVSS and TGSS *a posteriori*.

Giant Radio Galaxies: Eleven objects turned out to be giant radio galaxies (GRGs) exceeding an LLS of 1 Mpc, of which only two were previously known. Another 20 sources with $\text{LLS} > 0.7 \text{ Mpc}$ were found. Figure 1 shows two of the largest GRGs. PKS 1449-129 (Fig. 1a) had previously been identified with 2MASX J14523554-1311144, $rK=17.0\text{m}$, at $z=0.069$. However, the radio core in the VLASS image is $\sim 7.7''$ SW of the 2MASX galaxy (marked by a red ellipse) and coincides with the QSO candidate PSO J145235.301-131120.98, $rK=19.59\text{m}$, aka AllWISE J145235.30-131120.4, the bluish starlike object in the Pan-STARRS inset of $25''$ on a side. Its WISE colors suggest $z_{\text{phot}} \sim 2.2$ (Krogager et al. 2018), thus its $\text{LAS} \sim 3.37'$ implies an LLS of $\sim 1.7 \text{ Mpc}$.

Figure 1b shows the VLASS image of GRG J0452+0247 with NVSS contours hosted by PSO J045205.47+024748.8, in a triplet of faint galaxies. No z_{phot} is available, but with a host as faint as $r=21.36m$ it should have at least $z\sim 0.5$, thus its $LAS=3.54'$ yields an LLS of at least 1.3 Mpc.

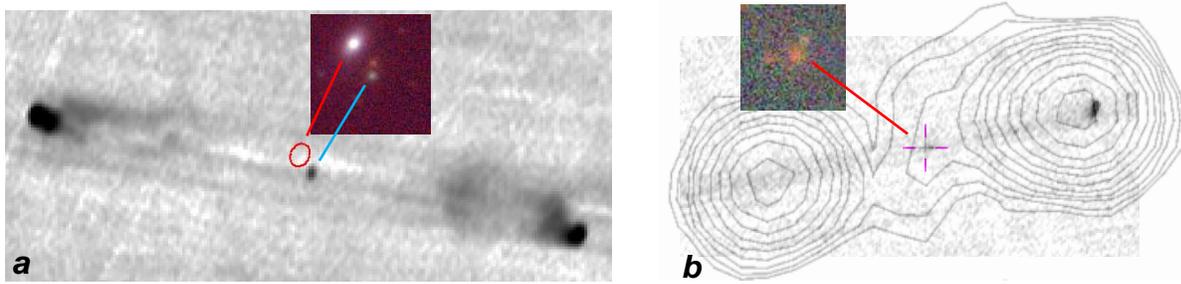


Figure 1. VLASS images of (a) J1452-1311 and (b) J0452+0247, with Pan-STARRS insets of 25" and 15"

Other examples of giants are (a) the QSO candidate AllWISE J034739.23-271223.5, barely detected but uncatalogued in Pan-STARRS with IR colors suggesting $z_{\text{phot}}\sim 2.2$, which for its LAS of 2.2' yields an LLS of 1.1 Mpc, and (b) the QSO candidate PSO J204726.628+110418.93, $rK=21.45m$, with IR colors placing it at $z_{\text{phot}}\sim 0.7$, which for a $LAS=2.43$ gives an LLS=1.04 Mpc.

Remnant double radio galaxies: These have been evasive in past radio surveys requiring novel instruments like LOFAR to find them (Mahatma et al. 2018). Surprisingly, and despite the supposedly low sensitivity of VLASS to diffuse emission we found numerous pairs of faint and diffuse emission regions (lobes), sometimes with a central radio core indicating the location of the host. Apart from a few interesting exceptions, these are relatively nearby ($z < 0.2$), with an $LAS < 3'$, and LLS < 1 Mpc. Two examples are shown in Fig. 2: (a) 2MASX J20305835+1013199, $LAS=2.97'$, $z_{\text{phot}}=0.02$, LLS ~ 73 kpc, and (b) 2MASX J22061299+1532107, $LAS=2.5'$, $z_{\text{phot}}=0.07$, LLS ~ 200 kpc. While only the latter one, lacking a radio core, complies with Mahatma et al's definition of a remnant, it is challenging to explain the absence of hotspots in the former, while the nucleus is still active.

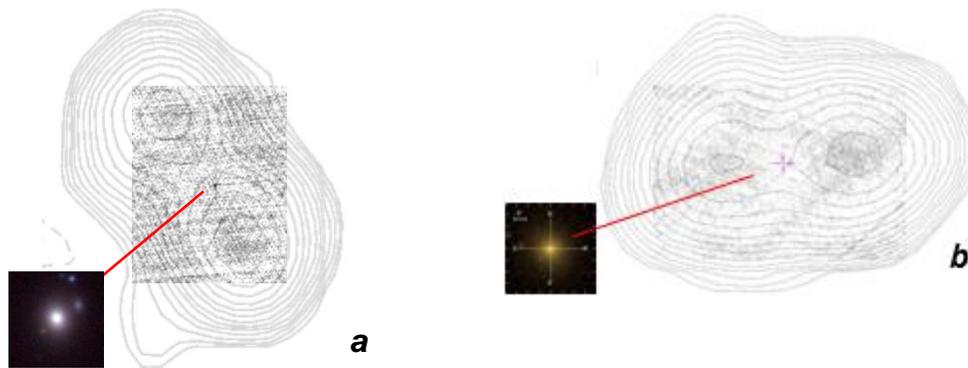


Figure 2. VLASS images of remnant radio galaxies (a) J2030+1013 and (b) J2206+1532, both with contours from NVSS, and insets of 20" from Pan-STARRS (a) and 40" from SDSS (b)

Sources with peculiar shapes: Figure 3a shows the VLASS image of J0342-0435 (4C-04.12, PKS 0339-047). Its SW lobe shows a jet-like feature, misaligned with the source major axis, terminating in a hotspot, and further bending backwards. Despite that it resides in a rather dense environment of a previously unreported X-ray emitting cluster (2RXS J034208.1-043539), it has $LAS=3.28'$, $z_{\text{phot}}=0.3$ and thus LLS=0.88 Mpc. The $rK=19.65m$ host galaxy PSO J034208.50-043542.1 is at the center of the 1' x 1' Pan-STARRS inset. Figure 3b shows the triple source J0105-2146 of $LAS=0.98'$: a central core plus three hot spots, two bright ones to the north and a weak one to the south. There is no optical or IR counterpart for any of its three radio knots. The core coincides with PSO J010545.63-214657.6 ($rK=18.31m$) aka AllWISE J010545.63-214657.5 with IR colors suggesting a quasar at $z\sim 1.5$ (Krogager et al. 2018), implying LLS=490 kpc. There is no simple explanation for the N lobe: either the N jet, upon hitting the intergalactic medium in between hotspots H1 and H2, has deviated due both E

and W, or the jet first created hotspot H1, followed by a $\sim 90^\circ$ bend due E, to create hotspot H2, suggesting a total bend of $\sim 180^\circ$. Figure 3c shows the E-W remnant-type source hosted by 2MASX J01062404-1326563 (LAS 2.5' from the TGSS-ADR1 image, $z_{\text{phot}}=0.07$, LLS=120 kpc) with a ring-shaped E lobe, while the W lobe is almost completely resolved out in VLASS. The 15" inset from Pan-STARRS shows the $rK=15.17\text{m}$ elliptical host.

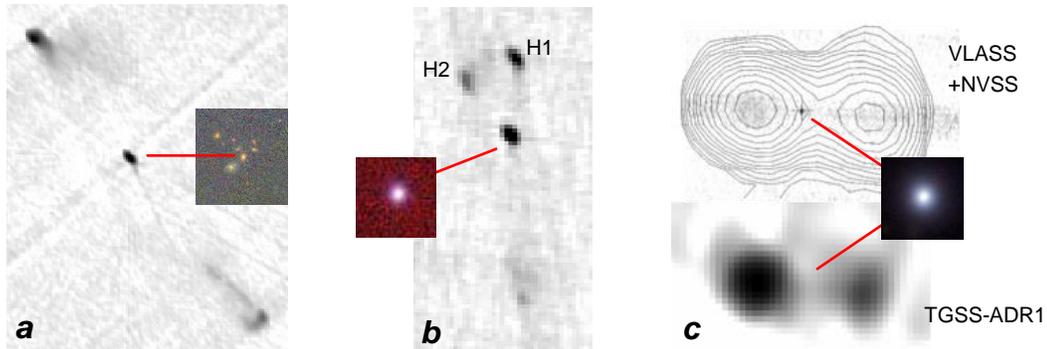


Figure 3. VLASS images of (a) J0342-0435, (b) J0105-2146, and (c) J0106-1326 with contours from NVSS and a greyscale image of TGSS-ADR, and insets of 60'', 10'' and 15'' from Pan-STARRS

The 1.6-GHz VLA image of the brightest galaxy (MCG -02-36-002, $z_{\text{spec}}=0.037$) in the cluster Abell 1836 (Stawarz et al. 2014) shows a peculiar emission ridge at the SW border of its SE lobe (Fig. 4a). The VLASS image (Fig. 4b) suggests straight jets on opposite sides of the host. It also shows that the radio peak at the SSE end of the bright ridge in the SE lobe (Fig. 4c) coincides, as shown in the 12.5" inset from Pan-STARRS, with the $r'=21.85\text{m}$ galaxy SDSS J140149.36-113904.2 which has a z_{phot} of 0.37. This suggests that the peculiar emission ridge is actually due to a tailed radio galaxy (LAS $\sim 1.1'$, LLS ~ 340 kpc) about ten times more distant than Abell 1836. Stawarz et al. (2014) classified PKS 1358-113 as ~ 6 times underluminous for its FR II morphology. Correcting now for the background source, PKS 1358-113 would be even more underluminous and asymmetric in lobe flux ratio, but more symmetric about its host.

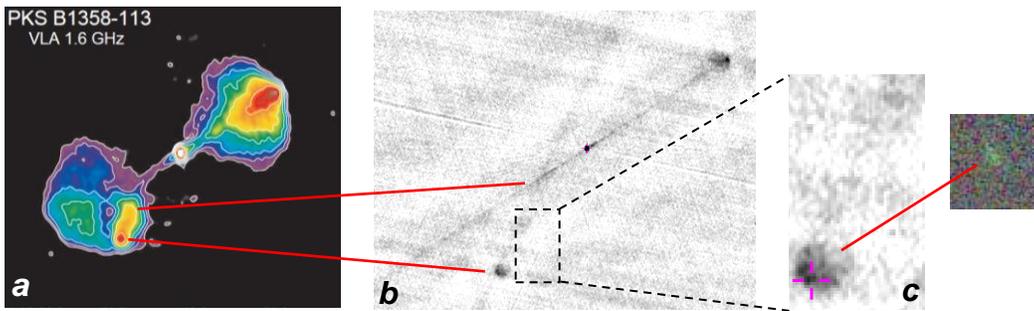


Figure 4. PKS 1358-113 in Abell 1836 at (a) 1.6 GHz; (b) in VLASS; (c) SE ridge (see text)

The nature of the remaining candidates: Finding optical counterparts for the remaining ~ 7300 radio galaxy candidates is clearly beyond the present 7-week project. To get an idea what could be the potential content of the logged positions we did a semi-automatic exploration. For the ~ 3900 Gauss-fit positions (presumably radio cores) we found ~ 100 coincidences within 1.5" in HA's compilation of radio galaxy hosts. Of the remaining 3800 positions, 1890 had matches in Pan-STARRS, and 490 had matches in SDSS. Of the SDSS objects, 93 have a z_{spec} ($z_{\text{med}}\sim 0.37$), 360 have z_{phot} from Beck et al. (2016), 322 from Brescia et al. (2014), and 136 have a z_{phot} among the QSO candidates in DiPompeo et al. (2015). Of the 3900 Gauss-fit positions, over 2300 have a match in AllWISE within 2.5", and of the latter, 664 have a z_{phot} in Bilicki et al. (2016), and ~ 600 have IR colors ($W_{12}>0.9$) indicative of quasars. Of the ~ 3400 non-Gauss-fit positions (sources without radio core in VLASS)

only ~50 had a counterpart within 1' in the RG compilation of one of us (HA). We conclude that the vast majority of the remaining candidates, if real, will be new findings.

CONCLUSIONS

Our 7-week project has shown that VLASS has a high potential of revealing large and unusual radio galaxies, as well as many others that would appear as inconspicuous and barely resolved double sources in low-resolution surveys, and that visual inspection is an efficient way to find these. We have registered the positions of extended radio sources in one quarter of all epoch-1.1 VLASS images within 75 net hours of work, implying that this task can be accomplished for the full 33,880 deg² of sky to be covered by VLASS in about 15 person-weeks. For many well-known powerful radio galaxies VLASS may reveal revised optical identifications, while many radio galaxies with undetected radio cores in VLASS can qualify as possible new remnant radio galaxies. To facilitate this type of research it is highly desirable that a postage stamp server for VLASS cutouts be offered, and that photometric redshifts for objects detected in Pan-STARRS were derived, as it covers more than twice the sky area than SDSS does. Our list of candidate positions may be useful for a variety of research projects, or as a training set for machine learning algorithms. Researchers interested in this list should contact the second author.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Amy Kimball (NRAO) for competent advice on technical details of the VLASS survey. We also thank her and Roger Coziol for useful comments on the manuscript, and I. Valdés Ochoa for help with the layout of figures. H.A. benefited from Univ. de Guanajuato grant DAIP #66/2018.

BIBLIOGRAPHY

- ABOLFATHI, B, AGUADO, D.S., AGUILAR, G., ALLENDE PRIETO, C., et al. (2018), "The 14th Data Release of the Sloan Digital Sky Survey", in *Astrophys. J. Suppl.*, 235, 42
- ANDERNACH, H. (2016). "More than one Thousand Giant Radio Galaxies", in *Science at Low Frequencies III*, Pasadena, Dec.2016, http://www.tauceiti.caltech.edu/science-at-low-frequencies-2016/slides/E/05_Andernach.pdf
- ANDERNACH, H. (2018). "A systematic search for Giant Radio Galaxies in the VLA Sky Survey (VLASS)", in *SPARCS VIII*, Penticton, Canada, <https://sites.google.com/site/2018sparcs/AndernachSPARCS8.pdf>
- BANFIELD, J.K, WONG, O.I., WILLETT, K.W., et al. (2015). "Radio Galaxy Zoo: host galaxies and radio morphologies derived from visual inspection", in *Mon. Not. Roy. astron. Soc.*, 453, 2326-2340
- BECK, R., DOBOS, L. BUDAVÁRI, T., et al. (2016). "Photometric redshifts for the SDSS Data Release 12", in *Mon. Not. Roy. astron. Soc.*, 460, 1371-1381
- BILICKI, M., PEACOCK, J.A., JARRETT, T.H., et al. (2016). "WISExSuperCOSMOS Photometric Redshift Catalog", in *Astrophys. J. Suppl.*, 225, 5
- BRESCIA, M. CAVUOTI, S., LONGO, G., DE STEFANO, V. (2014). "A catalogue of photometric redshifts for the SDSS-DR9 galaxies", in *Astron. Astrophys.*, 568, A126
- CONDON, J.J., COTTON, W.D., GREISEN, E.W., YIN, Q.F., PERLEY, R.A., TAYLOR, G.B., BRODERICK, J.J. (1998). "The NRAO VLA Sky Survey", in *Astron. J.*, 115, 1693-1716
- CUTRI, R.M., et al. (2013). "AllWISE Source Catalog", see http://wise2.ipac.caltech.edu/docs/release/allwise/expsup/sec2_1a.html
- DIPOMPEO, M.A., BOVY, J., MYERS, A.D., LANG, D. (2015). "Quasar probabilities and redshifts from WISE mid-IR through GALEX UV photometry", in *Mon. Not. Roy. astron. Soc.*, 452, 3124-3138
- FLEWELLING, H.A., MAGNIER, E.A., CHAMBERS, K.C., et al. (2016). "The Pan-STARRS1 Database and Data Products", <https://arxiv.org/abs/1612.05243>
- GAO, J., ZOU, H., ZHOU, X., KONG, X. (2018). "A Photometric Redshift Catalog Based on SCUSS, SDSS, and WISE Surveys", in *Astrophys. J.*, 862, 12

HELFAND, D.J., WHITE, R.L., BECKER, R.H. (2015). "The Last of FIRST: The Final Catalog and Source Identifications", in *Astrophys. J.*, 801, 26

INTEMA, H.T., JAGANNATHAN, P., MOOLEY, K.P. (2017). "The GMRT 150 MHz All-sky Radio Survey First Alternative Data Release TGSS ADR1", in *Astron. Astroph.*, 598, A78

KROGAGER, J.-K., GUPTA, N., NOTERDAEME, P. et al. (2018). "MALS-NOT: Identifying Radio-bright Quasars for the MeerKAT Absorption Line Survey", in *Astrophys. J. Suppl.*, 235, 10

MAHATMA, V.H., HARDCASTLE, M.J., WILLIAMS, W.L., et al. (2018). "Remnant radio-loud AGN in the Herschel-ATLAS field", in *Mon. Not. Roy. astron. Soc.*, 475, 4557-4578

OCHSENBEIN, F., BAUER, P., MARCOUT, J. (2000). "The Vizier database of astronomical catalogues", in *Astron. Astrophys. Suppl.*, 143, 23-3

STAWARZ, L., SZOSTEK, A., CHEUNG, C.C., et al. (2014). "On the Interaction of the PKS B1358-113 Radio Galaxy with the A1836 Cluster", in *Astrophys. J.*, 794, 164

CARACTERIZACION DE MUTANTES Y ESPECIES SILVESTRES DE LA FAMILIA DROSOPHILIDAE DEL CENTRO DE LA REPUBLICA.

Alejandra Hernández Vicuña¹ y Juan Rafael Riesgo Escovar²

RESUMEN.

En el siguiente trabajo se muestran las especies encontradas de la familia Drosophilidae en el centro de la República, específicamente en el estado de Querétaro. Se muestran los métodos que se utilizaron para su clasificación taxonómica como también a nivel molecular; es decir, se realizó extracción de ADN para así poder diferenciar la especie de cada mosca a través del gen mitocondrial COI (Citocromo C oxidasa subunidad I). Parte del trabajo quedo inconcluso, pero se obtuvieron suficientes resultados para poder determinar varias de las especies recolectadas.

ABSTRACT.

In this work we list the species of the family Drosophilidae collected in the center of the Republic, specifically in the state of Queretaro. The classification methods that were used for its taxonomic classification are listed as well as at the molecular level. This last was done by DNA extraction and PCR amplification in order to differentiate the species of each fly through the mitochondrial gene COI (Cytochrome C oxidase subunit I). Part of the work was not finished, .

INTRODUCCIÓN.

Drosophila se ha utilizado como un modelo principal de experimentación en la biología eucariota, particularmente en genética y desarrollo (Grimaldi,1990). Este organismo del orden díptera ocupa un papel central en el mundo de la genética y la biología. Las bases de la genética clásica se establecieron en gran medida con el estudio de esta familia. Hace más de ochenta años las investigaciones con la mosca proporcionaron las pruebas definitivas de que los genes se encuentran en los cromosomas. Y en tiempos más recientes, se realizó un esfuerzo sistemático conjunto para dilucidar la genética de *Drosophila*, y en especial los mecanismos genéticos del desarrollo embrionario y larvario (Alberts & Bray, 2006).

La familia Drosophilidae comprende más de 3341 especies descritas y distribuidas en todo el mundo ocupando una gran variedad de hábitats. Sin embargo, en México existe un bajo número de registros, probablemente el más completo sea el de Patterson y Mainland quienes señalaron la presencia de 121 especies dentro del Distrito Federal y 16 estados de la República. Con otros estudios aumenta esta cifra a aproximadamente de 150 especies (Salceda *et al.* 2009).

Una estrategia que tiene una amplia aceptación de científicos e investigadores para la identificación taxonómica de distintas formas de vida, es la técnica molecular denominada “Barcoding”, con lo cual se ha propuesto el uso de secuencias de DNA para la identificación de organismos vivos (Huala-Jimenez, *et al.*, 2013). Investigadores canadienses propusieron una secuencia de 700 nucleótidos aproximadamente del gen mitocondrial de la enzima Citocromo C oxidasa I (COI) como un identificador universal para animales (Hebert *et al.*, 2003). Esta técnica tiene como fin facilitar la tarea de identificación de especies así como contribuir a revitalizar las colecciones biológicas y acelerar el inventario de la biodiversidad (Lanteri, 2007).

En este trabajo se recolectaron moscas de la familia Drosophilidae del centro de la República, específicamente en el estado de Querétaro, y se realizó su clasificación taxonómica tradicional, además de utilizar la región de “Barcode” del gen mitocondrial de la enzima Citocromo C oxidasa I (COI) para clasificar las moscas de acuerdo a su especie. En la zona del Bajío existen diferentes especies, ya que ésta cuenta con un clima muy variado, lo que favorece la presencia y la diversidad de estos organismos.

METODOS Y MATERIALES.

RECOLECCION DE MOSCAS.

Para la recolección de las moscas se elaboraron trampas que estaban conformadas por una botella de plástico de 1.0 a 1.5 litros que en su interior contenía una mezcla homogenizada de plátano maduro con un poco de

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, 27275 Torreón, Coah., alejandravicuna@uadec.edu.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, 76230 Santiago de Querétaro, Qro. Riesgo@unam.mx

levadura para su fermentación, ya que es similar al alimento que comúnmente comen estas especies. A esta mezcla se le agrega un poco de agua. A la botella se le hace un corte curvo para que las moscas puedan entrar y dentro de esta se colocan unas ramas pequeñas de cualquier tipo para que la mosca pueda sujetarse y no ahogarse o pegarse en el alimento (Fig. 1). Estas trampas son colocadas o colgadas en los árboles y dejadas durante varios días, chequeando diariamente cada una de ellas. Se colocaron cuatro botellas en la Universidad Nacional Autónoma de México campus Juriquilla, Boulevard Juriquilla 3001, 76230, Santiago de Querétaro, Qro. 20°42'02"N 100°26'43"O / 20.700556, -100.445278. Se dejaron las botellas aproximadamente del 11 de junio del 2018 al 18 de junio del 2018. Las moscas recolectadas se trasladaron a tubos grandes con comida preparada hecha a base de plátano, agua y agarosa.

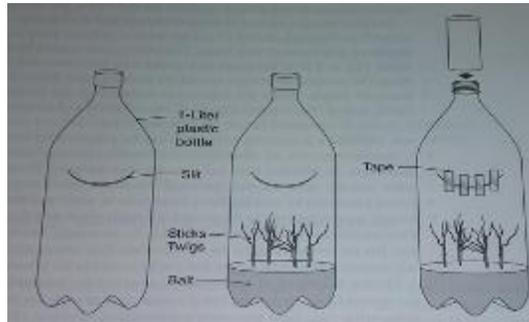


Figura 1. Preparación de botellas para recolección de moscas.

CLASIFICACIÓN TRADICIONAL TAXONÓMICA DE LAS MOSCAS.

La clasificación taxonómica de las moscas se realizó mediante la observación morfológica; se evaluó su forma y tamaño, la forma de cada parte del cuerpo así como sus alas, manchas, coloraciones, pigmentaciones, y otras características que se encuentran en la clave dicotómica correspondiente. La clave utilizada para su clasificación se puede encontrar en “The Drosophilidae of Mexico” de J.T. Patterson & G. B. Mainland.

EXTRACCIÓN DE DNA.

Se realizaron pruebas previas de extracción de ADN por medio de dos protocolos diferentes: el primero; Quick fly DNA preparation, se realizó con moscas *yellow white* (con *D. melanogaster*). Se anestesiaron cinco de estas moscas con CO₂ (Dióxido de carbono) y se depositaron en un tubo eppendorf para posteriormente colocarlas en hielo. Se realizó un buffer con los siguientes reactivos: 12 µl EDTA .5M, este reactivo funciona como quelante de Magnesio que inhibe las nucleasas para así no degradar el DNA, 1.6 µl de NaCl 5M, que funciona para dotar de sales a la solución buffer, 2.5 µl de SDS 20%; éste es un detergente aniónico muy efectivo para solubilizar proteínas, en el laboratorio se contaba solamente con SDS 10% por lo que se le agregó el doble de cantidad (5µl), 1.25 µl de Tris pH 8.0 2M; éste tiene la función de actuar como un buffer, es decir, mantiene el pH en cierto rango, en el laboratorio se contaba únicamente con un Tris de pH 8.0 1M por lo que se añadió el doble de cantidad (2.5 µl); 5 µl de Tris pH 9.2 2M que tiene la misma función que el buffer anterior, en el laboratorio solamente se contaba con Tris pH 9.2 1M por lo que nuevamente se añade el doble (10µl), se pesaron .005 g de Sacarosa que tiene la función de disgregar membranas y se aforó con agua destilada a 100 µl.

Después las moscas que se tenían en hielo se homogenizaron totalmente y por cada cien moscas se agrega 1.0 mL de solución buffer; por lo tanto, para 5 moscas se agregaron 50 µl y posteriormente se calentó el tubo (Thermomixer R, eppendorf) a 68°C por treinta minutos para desnaturalizar las proteínas. Después se centrifugó un minuto a 13,000 rpm (Biofuge fresco, Heraeus D37520) y pasamos el sobrenadante a un tubo nuevo. Se agregaron 30 µl de CH₃COOK (Acetato de potasio) 8M para precipitar el DNA y se refrigeró a

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, 27275 Torreón, Coah., alejandravicuna@uadec.edu.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, 76230 Santiago de Querétaro, Qro. Riesgo@unam.mx

4°C durante 24 horas. Posteriormente se agregaron 250 µl de etanol al 100% (de 2.5 a 3.0 del volumen) y se centrifugó por ocho minutos a 14,000 rpm. A la pastilla se le agregaron 200 µl de buffer TE y se disolvió y luego se agregaron 200 µl de fenol, agitando bien durante dos minutos. Se volvió a centrifugar por diez minutos y separamos la parte acuosa, se agregaron 100 µl de etanol al 100% y se deja el tubo en hielo durante 5 minutos. Después se centrifugó por diez minutos y nos quedamos con la pastilla a la cual agregamos 250 µl de etanol al 70% y se vuelve a centrifugar por diez minutos. Finalmente se le agregaron 20 µl de TE a la pastilla, y se disuelve en ellos, posteriormente se realizó una digestión para luego poder realizar una PCR. Este protocolo se realizó en tres ocasiones pero no obtuvimos resultados favorables, por lo cual se manejó otro protocolo: Single fly DNA preps for PCR. Este metodo consiste en la preparación de un buffer, que al realizar los cálculos adecuados a las preparaciones que se tenían en el laboratorio se realizó de la siguiente manera: 10 µl de Tris pH 8.0 1M, 2 µl de EDTA 0.5M , 5 µl de NaCl 5M, 20 µl de Triton 100x al 10% y finalmente se aforó a 1 mL con agua destilada. Se coloca una mosca en un tubo eppendorf y se homogeniza con la punta de una pipeta automática, con la que se agregan 50 µl de buffer preparado previamente. Después se agregaron 0.5 µl de proteinasa K y se calienta (Thermomixer R, eppendorf) a 60°C por treinta minutos y después se sube la temperatura a 95°C por dos minutos. Este metodo fue más efectivo por lo cual, fue el que utilizamos para el experimento, por lo tanto se realizó mosca por mosca.

PREPARACION Y ACONDICIONAMIENTO PARA PCR.

Para la preparación de PCR se utilizaron 3 µl de ADN previamente preparado, 10 µl de Buffer 2X para PCR, 1 µl de cada cebador, en este caso utilizamos COI (Citocromo C oxidasa subunidad I), y 0.25µl de la enzima Phire que es una Taq polimerasa con gran resistencia a inhibidores. El protocolo de PCR se tenía ya optimizado para amplificar con los cebadores de COI. Las condiciones utilizadas en el termociclador fueron las siguientes:

95°C por 3 minutos, y ciclos de 98°C por 10 segundos para la desnaturalización, 55°C por 20 segundos, la temperatura se reduce para permitir que los cebadores se emparejen con la plantilla de ADN complementario, 72°C por 60 segundos, la polimerasa extiende el cebador para formar una cadena de ADN nueva, se realizaron 40x (ciclos), 72°C por 5 minutos y 12°C en infinito, con una tapa caliente de la máquina de PCR a 105°C.

Después de la PCR se corrió un gel al 1% por medio de electroforesis y se observaron las bandas en una cámara de rayos UV, se cortaron y se conservaron en refrigeración (4°C). Todas las bandas obtenidas se secuencian para analizar la región deseada para identificar la especie perteneciente a cada mosca, sin embargo esta parte no se pudo realizar ya que en el laboratorio no se contaba con los reactivos necesarios para una secuenciación por razones externas al personal.

RESULTADOS.

Para todos los casos, utilizamos machos del grupo de especie repleta, los resultados de PCR para la región del gen mitocondrial COI se muestran en las siguientes figuras (Fig. 2-7).



Figura 2. Amplicon de PCR , moscas macho 1 y 2



Figura 3. Amplicon de PCR, mosca macho 3

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, 27275 Torreón, Coah., alejandravicuna@uadec.edu.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, 76230 Santiago de Querétaro, Qro. Riesgo@unam.mx



Figura 4. Amplicon de PCR, moscas macho 4, 5, 6 y 7



Figura 5. Amplicon de PCR, moscas macho 9, 10, 11, 12 y 13



Figura 6. Amplicon de PCR, mosca macho 8.



Figura 7. Amplicon de PCR, moscas macho 15 y 16

La clasificación de moscas según el manual utilizado (Fig. 8-11)



Figura 8. Drosophila Victoria.



Figura 9. Drosophila Victoria.



Figura 10. Drosophila Mojavensis



Figura 11. Drosophila melanissima y Drosophila Mulleri



Figura 12. Drosophila Simulans y Drosophila Zaprionus

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, 27275 Torreón, Coah., alejandravicuna@uadec.edu.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, 76230 Santiago de Querétaro, Qro. Riesgo@unam.mx

CONCLUSIONES.

Es importante conocer la caracterización de especies silvestres de la familia Drosophilidae en el centro de la República, no solamente de manera tradicional a través de manuales y claves, sino también a través de sus genes, para conocer con qué frecuencia estas especies se desarrollan en diferentes localidades, además de tener el conocimiento de especies que pueden ser encontradas y resultan ser invasoras como en el caso de la *D. zaprionus*. Es interesante conocer los genes que se presentan en cada especie para su caracterización, ya que gracias a estos modelos ya secuenciados en muchas especies de esta familia, se pueden realizar diversas investigaciones. El trabajo quedó inconcluso, sin embargo gran parte de este se realizó, con algunas fallas al principio, pero finalmente logramos gran parte del objetivo.

BIBLIOGRAFÍA.

- Grimaldi A. David (1990). A phylogenetic revised classification of genera in the Drosophilidae (Diptera). American Museum of Natural History. Department of Entomology.
- Alberts B., Bray D. (2006). Introducción a la biología celular, Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana
- Hebert, P., Cywinska, A., Ball, S., De Waard, J. 2003a. Biological identifications through barcodes. Proc. R. Soc. Lond. B. 270: 313–321.
- Lanteri, A. 2007. Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología. Sociedad Entomológica Argentina.
- Salceda M., Beltrán E., Adame-Reducindo, Iturbe-Chiñas (2009). “Registro de Drosophilidae en dos zonas geográficas del Estado de Guerrero, México” en Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas, Núm. 1 y 2, Vol. XXX, Octubre, [pp. 57-61].
- Huala-Jimenez, Paredes-Honorato, Rebolledo-Ranz (2013). “Evaluación y validación de secuencias del gen Citocromo C Oxidasa I (COI), para su uso mediante barcoding en *Calveritus tuberosus*” Consultado en : <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/entomologia/2013/FTBM/1378-1382.pdf>

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, 27275 Torreón, Coah., alejandravicuna@uadec.edu.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, 76230 Santiago de Querétaro, Qro. Riesgo@unam.mx

EL EFECTO DE NEUROTRANSMISORES (ACETILCOLINA Y ADRENALINA) SOBRE LAS PROPIEDADES VIRULENTAS DE *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*

Esparza Guinea A¹. y Ventura Juárez J².

RESUMEN

Entamoeba histolytica (*E. histolytica*) es el agente causal de la amebiasis intestinal la cual se calcula afecta a nivel mundial alrededor de 100 millones de personas anualmente y de ellas, llegan a morir hasta 50 mil personas. La infección amebiana en el 90% de los casos cursa como asintomática pero el parásito cuenta con características intrínsecas las cuales determinan su capacidad invasiva, dentro de las que se incluye el daño a la mucosa intestinal del hospedero, adherencia a tejidos, su citotoxicidad y su capacidad para fagocitar células y bacterias del hospedero. En este trabajo hemos analizado el efecto de la acetilcolina sobre el proceso de eritrofagocitosis por trofozoítos de *E. histolytica*. Los resultados demuestran que los trofozoítos tratados con acetilcolina a diferentes concentraciones, incrementan significativamente su capacidad eritrofagocítica (hasta en un 69%) al compararlos con trofozoítos sin tratamiento. Por otra parte, con el objetivo de evaluar el efecto citopático de la amiba en presencia de acetilcolina, se realizó un ensayo de destrucción de la monocapa de células Hep G2, donde observamos que el efecto citotóxico de *E. histolytica* aumenta significativamente al estimular a la amiba con adrenalina (33.18%) y acetilcolina (55.23%) al comparar con los grupos control. Los resultados obtenidos apoyan que la acetilcolina podría participar en la modulación positiva de los factores de virulencia de la amiba como la eritrofagocitosis y la citotoxicidad y que paso con los trofozoítos estimulados con adrenalina.

ABSTRACT

Entamoeba histolytica (*E. histolytica*) is the causative agent of intestinal amebiasis which is estimated worldwide affects around 100 million people annually and of them, up to 50 thousand people die. The amoebic infection in 90% of cases is asymptomatic but the parasite has intrinsic characteristics which determine its invasive capacity, which includes damage to the intestinal mucosa of the host, adherence to tissues, its cytotoxicity and its ability to phagocytose host cells and bacteria. In this work we have analyzed the effect of acetylcholine on the process of erythrophagocytosis by trophozoites of *E. histolytica*. Results show that trophozoites treated with acetylcholine at different concentrations, significantly increased their erythrophagocytic capacity (up to 69%) when compared to trophozoites without treatment. On the other hand, in order to evaluate the cytopathic effect of amoeba in the presence of acetylcholine, a monolayer assay of Hep G2 cells was carried out, where we observed that the cytotoxic effect of *E. histolytica* increases significantly by stimulating the amoeba with adrenaline (33.18%) and acetylcholine (55.23%) when compared to control groups. The results obtained support that acetylcholine could participate in the positive modulation of the virulence factors of the amoeba, such as erythrophagocytosis and cytotoxicity, and what happened to the trophozoites stimulated with adrenaline.

Palabras clave: *E. histolytica*, Virulencia, Acetilcolina, Adrenalina, Eritrofagocitosis, Citotoxicidad

INTRODUCCIÓN

La amebiasis es una enfermedad infecciosa causada por el protozoario *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), un parásito heterótrofo, anaerobio facultativo, con un ciclo de vida relativamente simple, actuando el humano como único huésped. Presenta dos estadios, quiste, que es la forma inmóvil, infectante y de resistencia. El trofozoíto, es la forma móvil y vegetativa. Este padecimiento afecta a un gran número de personas a nivel mundial y es considerado un problema de salud pública en zonas endémicas. De acuerdo a la OMS, la amebiasis es la tercera causa de muerte a nivel mundial por parasitosis. Las enfermedades infecciosas por parásitos son mucho más frecuentes en zonas tropicales y países en vías de desarrollo; factores como el hacinamiento, mala higiene, manejo inadecuado de

¹ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de medicina, Centro de ciencias de la salud. Av. Universidad 940, CP: 20130 Aguascalientes, Ags. alex95_e.g@hotmail.com

² Universidad Autónoma de Aguascalientes, Laboratorio de Ciencias Morfológicas, Departamento de morfología, Centro de Ciencias Básicas. Av. Universidad 940, CP: 20130 Aguascalientes, Ags. jventur@correo.uaa.mx

excretas, contaminación de alimentos, suelos, agua, fómites, entre otros, predisponen a la infección por protozoarios. La infección ocurre una vez que el huésped ingiere los quistes, estos pasan a través del tubo digestivo, sobreviven a la acidez gástrica, llegan al intestino delgado y es en el íleon terminal o colon donde se lleva a cabo el proceso de desenquistamiento. Los trofozoítos se adhieren a las células epiteliales del colon a través de proteínas llamadas lectinas, uniéndose específicamente a residuos de galactosa/ N-acetilgalactosamina. En el colon, se reproducen por fisión binaria y es aquí en donde se lleva a cabo el proceso de enquistamiento, completando el ciclo de vida cuando los quistes infecciosos se excretan al ambiente en las heces. Se estima que alrededor del 10 % de la población mundial resulta infectada por especies de *Entamoeba*. De este porcentaje, 80 a 90% de los individuos afectados cursan asintomáticos, es decir, solo el 1% de los infectados desarrollo una enfermedad sintomática, culminando en cerca de 50,000 muertes anuales. Como se ha mencionado antes, la infección amebiana tiene un resultado variable; la enfermedad puede manifestarse desde una colonización asintomática de la mucosa, diarrea y colitis invasiva, hasta formas extraintestinales como absceso hepático o infección diseminada, estas últimas cuando los trofozoítos atraviesan la submucosa y muscular del colon, alcanzando la circulación portal. Algunas de las propiedades intrínsecas del parásito que han sido asociadas al establecimiento de una enfermedad invasiva incluye su capacidad para fagocitar restos celulares bacterias y eritrocitos, lisar células del hospedero y producir proteólisis de componentes de la matriz extracelular. Un aspecto determinante en la evolución de la enfermedad son los factores ambientales y la capacidad del parásito para adaptarse y sobrevivir a entornos cambiantes lo cual es considerado un importante factor de virulencia.

MARCO TEÓRICO

El sistema nervioso central, a través de vías humorales y nerviosas, participa como un modulador de la respuesta inmune en contra de agresores tales como microorganismos patógenos, es decir, durante una infección el sistema nervioso y el sistema inmune mantienen una extensa comunicación, todo esto por parte del sistema nervioso autónomo y sus divisiones simpática y parasimpática. La innervación parasimpática de las vísceras abdominales tales como hígado, páncreas y tubo digestivo es proporcionada por medio de la división eferente del décimo nervio craneal, el nervio vago (neumogástrico) y su neurotransmisor secretado en las terminales sinápticas, la acetilcolina (Ach). Este neurotransmisor es secretado en las terminales nerviosas de la unión neuromuscular, así como en los ganglios autónomos, en las neuronas posganglionares parasimpáticas y algunas neuronas posganglionares simpáticas. La importancia del nervio vago en la regulación de los mecanismos de inflamación durante el desarrollo de abscesos hepáticos amebianos se ve reflejada al momento de realizar la vagotomía en hámster (especie susceptible a desarrollar la infección) pues se demuestra que la vagotomía produce altos niveles de citocinas pro-inflamatorias tanto en este modelo como durante la inflamación intestinal, lo que indica un efecto inhibitorio tónico del sistema nervioso parasimpático sobre el perfil pro-inflamatorio lo cual puede participar en la regulación del proceso inflamatorio durante la formación de absceso hepático amebiano (Sánchez-Alemán et al., 2015). La estimulación eléctrica del nervio vago se ha estudiado para explorar la función moduladora del nervio vago en el sistema inmune y las reducciones significativas en los niveles sistémicos de TNF- α y otras citocinas pro-inflamatorias (Corcoran, Connor, O'Keane, & Garland, 2005). Por otro lado, Kulkarni y colaboradores en 1986 reportó que el aumento de los niveles Ach en ratas inducido por el tratamiento con fisostigmina (un inhibidor reversible de la acetilcolinesterasa) incrementa la severidad de la infección por *E. histolytica* (Kulkarni & Sen, 1986). Reportes sugieren que la Ach podría inducir un aumento la virulencia de este protozooario, aunque hasta el momento se desconocen cuáles son los efectos y mecanismos involucrados en la modulación de la virulencia de *E. histolytica* por Ach, siendo este el objetivo de este trabajo. En la actualidad conocemos la importancia de la participación del sistema nervioso simpático sobre la respuesta inmune frente a agentes patógenos en este caso *E. histolytica*, es por eso, que es de suma importancia entender mecanismos involucrados en la modulación de la patogenicidad de *E. histolytica* a través de neurotransmisores como la Ach, ya que el comprender las diferencias entre una enfermedad invasiva y una enfermedad asintomática nos llevaría a proponer nuevos y mejores blancos terapéuticos.

METODOLOGÍA

Cultivo axénico de *Entamoeba histolytica*. Trofozoítos de *E. histolytica* de la cepa HM-1:IMSS fueron cultivados en condiciones axénicas en medio de cultivo Diamond (Diamond, 1961), suplementado con vitaminas (Microlab M-2310), antibacterial (Microlab MC-110) y suero bovino adulto inactivado (Microlab SU-120) a 37°C. Los trofozoítos se estimularon con adrenalina (Adr) y Ach, a una concentración 1×10^{-4} M a diferentes tiempos (0,15, 20, 30 minutos).

Ensayo de eritrofagocitosis. En una placa de 24 pocillos 5×10^4 trofozoítos de *E. histolytica* previamente estimulados con Adr y Ach se incubaron con 2.5×10^6 eritrocitos en diferentes tiempos a 37 ° C. Posteriormente las muestras se incubaron durante 10 minutos con 3,3-Diaminobenzidina (SigmaAldrich D-8001) diluida en una solución tampón estable de sustrato de peroxidasa 1X (Pierce 1855910) (1 mg / ml) después de estas células se lavaron con PBS y se fijaron con paraformaldehído (2% en PBS). Luego mediante microscopía óptica, se contaron 100 trofozoítos por condición y los eritrocitos fagocitados por estos.

Ensayo de destrucción monocapa. Células Hep G2 fueron sembradas en placas de 24 pocillos seguido a esto se adicionaron trofozoítos de *E. histolytica* tratados con Adr y Ach y fueron incubados 37 °C. Los pocillos se lavaron con PBS y se fijaron con paraformaldehído (2% en PBS). Las células se tiñeron con 0,1% de azul de metileno en buffer de boratos 10 mM y se lavó con buffer de boratos. Después de esto se utilizó 0.1 M HCl para la eliminación del azul de metileno restante. Seguido por análisis espectrofotométrico a 650 nm.

RESULTADOS

Ensayo eritrofagocitosis. Una de los indicadores de virulencia de *E. histolytica* es la fagocitosis, este proceso dependiente de la adherencia del trofozoíto a células blanco y principalmente dirigido a células que han sufrido muerte celular, eritrocitos y bacterias. La capacidad de este parásito para establecer una enfermedad invasiva ha sido asociada al proceso de eritrofagocitosis, considerado uno de los criterios más importantes para la identificación de cepas de *E. histolytica* virulentas. Con el objetivo de evaluar el efecto de la Ach sobre las propiedades de virulencia de *E. histolytica*. Se realizó el ensayo de eritrofagocitosis de trofozoítos que fueron tratados con Ach. Se muestra un incremento significativo en el número de eritrocitos fagocitados por trofozoítos que fueron estimulados con Ach a diferentes tiempos (10, 20 y 30 minutos) y concentraciones de Ach 0.1 mM (figura 2), 1 μ M (figura 3) y 10 nM (figura 4) al comparar con el grupo control de trofozoítos sin tratamiento. En la figura 1 se muestran imágenes representativas del análisis microscópico de trofozoítos de *E. histolytica* tratados con Ach a una concentración de 10 nM que posteriormente fueron interaccionados con eritrocitos en una proporción 1:50.

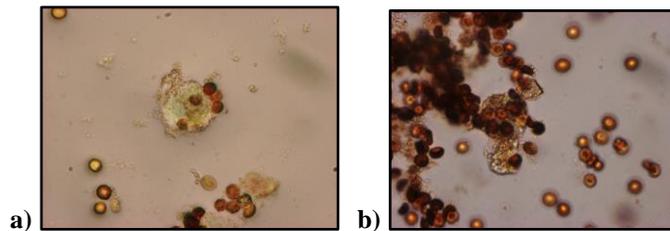


Figura 1. Eritrofagocitosis. Cuantificación de eritrocitos fagocitados por trofozoítos de *E. histolytica* a) sin estímulo y b) trofozoítos pre-tratados con Ach 10 nM durante 30 minutos. Se muestran imágenes representativas del análisis por microscopía óptica a 40x.

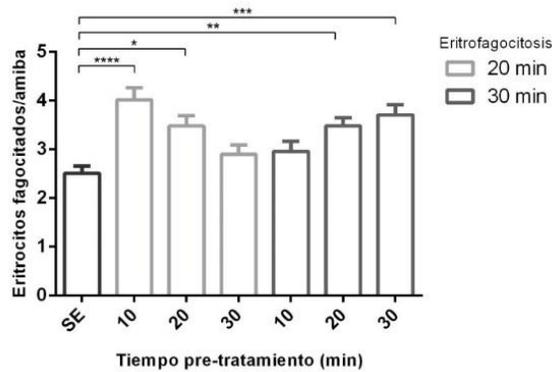


Figura 2. Eritrofagocitosis. Captación de eritrocitos por trofozoítos de *E. histolytica*. Análisis por microscopía óptica. Las comparaciones estadísticas mostraron diferencias significativas en la capacidad eritrofagocítica entre diferentes tiempos de pre-tratamiento con Ach 0.1 mM y entre tiempos de 20 y 30 minutos de incubación de eritrocitos y trofozoítos en una proporción 50 a 1. Los datos corresponden a la media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó con la prueba de Kruskal Wallis y Dunn posttest, donde los valores de * $p < 0,05$ fueron considerados significativos.

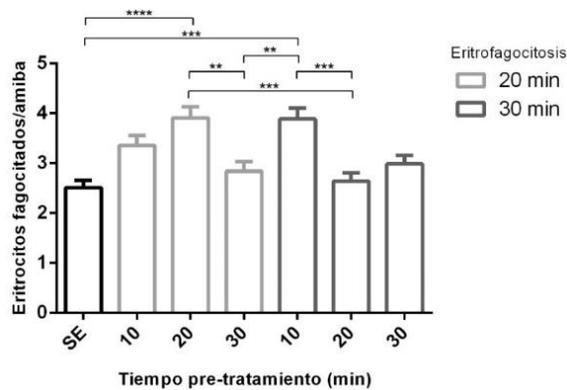


Figura 3. Eritrofagocitosis. Captación de eritrocitos por trofozoítos de *E. histolytica*. Análisis por microscopía óptica. Las comparaciones estadísticas mostraron diferencias significativas en la capacidad eritrofagocítica entre diferentes tiempos de pre-tratamiento con Ach 1 μ M y entre tiempos de 20 y 30 minutos de incubación de eritrocitos y trofozoítos en una proporción 50 a 1. Los datos corresponden a la media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó con la prueba de Kruskal Wallis y Dunn posttest, donde los valores de * $p < 0,05$ fueron considerados significativos.

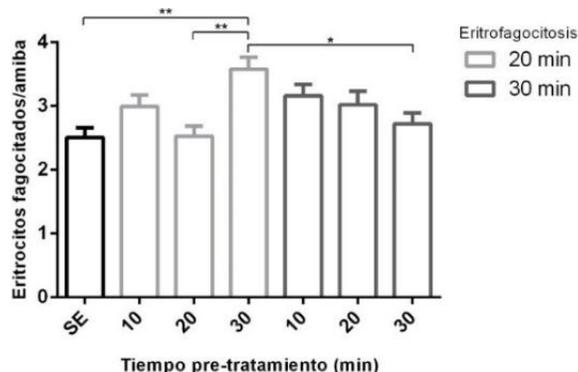


Figura 4. Eritrofagocitosis. Captación de eritrocitos por trofozoítos de *E. histolytica*. Análisis por microscopía óptica. Las comparaciones estadísticas mostraron diferencias significativas en la capacidad eritrofagocítica entre diferentes tiempos de pre-tratamiento con Ach 10 nM y entre tiempos de 20 y 30 minutos de incubación de eritrocitos y trofozoítos en una proporción 50 a 1. Los datos corresponden a la media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó con la prueba de Kruskal Wallis y Dunn posttest, donde los valores de $* p < 0,05$ fueron considerados significativos.

Ensayo de destrucción de la monocapa. Un evento esencial en la patogenicidad del microorganismo es la capacidad de invadir tejidos y causar citólisis. Para determinar la actividad citotóxica de la ameba se realizó el ensayo de destrucción de la monocapa en donde el porcentaje de destrucción basal de la monocapa por *E. histolytica* sin estímulo fue de 17.57% tomando como referencia el grupo control (sin ameba) y se puede observar incrementado significativamente el porcentaje de destrucción de la monocapa en aquellos trofozoítos que fueron tratados con Ach y Adr durante 30 minutos. Demostrando ser mayormente virulentos los trofozoítos estimulados con Adr y Ach al comparar con el control, en donde la Adr incrementa el porcentaje de la destrucción de la monocapa en un 33.18% y la Ach hasta el 55.23% lo cual se representa en la figura 5.

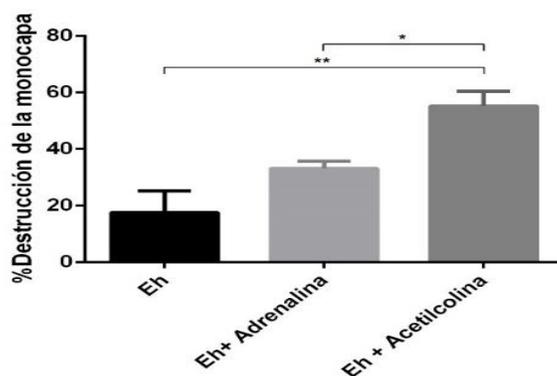


Figura 5. Ensayo de citotoxicidad. Porcentaje de destrucción de la monocapa después de la interacción con trofozoítos de *E. histolytica* tratados con Ach y Adr 0.1mM. Se incrementa significativamente la capacidad citotóxica de los trofozoítos de *E. histolytica* después de ser estimulados con Adr y Ach. Los datos corresponden a la media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó con la prueba de Kruskal Wallis y Dunn posttest, donde los valores de $* p < 0,05$ fueron considerados significativos.

DISCUSIÓN

La respuesta inmune del hospedero frente a *E. histolytica*, puede contribuir a la eliminación del parásito o favorecer la progresión de la enfermedad. Lo que dependerá de la capacidad del parásito para responder a estímulos que modifiquen su capacidad invasiva. En este trabajo se evaluó la capacidad de *E. histolytica* para responder a ACh y Ach, neurotransmisores que pudieran estar modificando la capacidad del parásito para evadir la respuesta inmune e incrementar su virulencia. Nuestros resultados demuestran que a diferentes concentraciones y tiempos de pre-tratamiento con ACh los trofozoítos de *E. histolytica* incrementan significativamente su capacidad eritrofagocítica y su citotoxicidad. Estos datos coinciden con lo ya antes reportado por el Kulkarni y colaboradores donde se ha reportado que el aumento de los niveles ACh en ratas inducido por el tratamiento con fisostigmina (un inhibidor reversible de la acetilcolinesterasa), se incrementa la severidad de la infección por *E. histolytica* en 3 de 7 cepas, sugiriendo que este neurotransmisor podría modular las propiedades virulentas de *E. histolytica*. Hasta el momento no habían sido descritos los efectos de ACh sobre las propiedades de virulencia de *E. histolytica* (Kulkarni & Sen, 1986). Otro dato que apoya que la ACh podría participar en la evolución de esta infección son los efectos que tiene sobre la respuesta inmune al unirse la ACh a receptores nicotínicos $\alpha 7$ expresados en macrófagos y otras células inmunitarias, como linfocitos, inhibe la activación del factor nuclear- κB (NF κB), lo que a su vez disminuye la producción de citocinas proinflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral (TNF) $-\alpha$, interleucina (IL) -1β y IL-6 sin afectar la producción de citocinas antiinflamatorias, como IL-10 (de Jonge et al., 2005) (Gallowitsch-Puerta & Pavlov, 2007). En conjunto esta información sugiere que la ACh no solo podría incrementar la virulencia de *E. histolytica* sino también favorecer la evolución de la infección, ya que la ACh puede inhibir la producción de citocinas pro-inflamatorias dando lugar a una respuesta inmune donde predominan citocinas antiinflamatorias como IL-10.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos apoyan que la ACh y la ADr podrían participar en la modulación positiva de los factores de virulencia de la amiba como la eritrofagocitosis y la citotóxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Corcoran, C., Connor, T. J., O'Keane, V., & Garland, M. R. (2005). The effects of vagus nerve stimulation on pro- and anti-inflammatory cytokines in humans: a preliminary report. *Neuroimmunomodulation*, 12(5), 307-309. <https://doi.org/10.1159/000087109>
- de Jonge, W. J., van der Zanden, E. P., The, F. O., Bijlsma, M. F., van Westerlo, D. J., Bennink, R. J., ... Boeckxstaens, G. E. (2005). Stimulation of the vagus nerve attenuates macrophage activation by activating the Jak2-STAT3 signaling pathway. *Nature Immunology*, 6(8), 844-851. <https://doi.org/10.1038/ni1229>
- Gallowitsch-Puerta, M., & Pavlov, V. A. (2007). Neuro-immune interactions via the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Life Sciences*, 80(24-25), 2325-2329. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.01.002>
- Kulkarni, R. B., & Sen, P. C. (1986). In vivo effect of histamine & acetylcholine on the virulence of *Entamoeba histolytica*. *The Indian Journal of Medical Research*, 84, 279-282.
- Sánchez-Alemán, E., Quintanar-Stephano, A., Escobedo, G., Campos-Esparza, M. del R., Campos-Rodríguez, R., & Ventura-Juárez, J. (2015). Vagotomy induces deregulation of the inflammatory response during the development of amoebic liver abscess in hamsters. *Neuroimmunomodulation*, 22(3), 166-180. <https://doi.org/10.1159/000362240>

MANEJO DE RESIDUOS URBANOS Y SU RELACIÓN CON EL CICLO SUSTENTABILIDAD

Alejandro Suarez Sanmiguel y Myela del Carmen Valadez Zamarrón

RESUMEN

Este proyecto se realizó pensando en la eficiencia de los residuos del Instituto. Se realizaron encuestas a los alumnos de niveles avanzado, a docentes y administrativos y alumnos de nuevo ingreso para saber qué tan informados están de los problemas que puede causar los desechos de basura o las consecuencias de no tirar la basura donde se debe. Se ocupó el software MiniTab para obtener relaciones entre los datos obtenidos de la encuesta y así realizar un análisis correccional

ABSTRACT

This project was carried out with the efficiency of the Institute's waste in mind. Surveys were conducted to advanced level students, teachers and administrators and new students to know how informed they are of the problems that can be caused by garbage or the consequences of not throwing garbage where it should. The MiniTab software was used to obtain relationships between the data obtained from the survey and thus carry out a correctional analysis

INTRODUCCIÓN

El Instituto Tecnológico Superior De Monclova Ejercito Mexicano, es una institución educativa de nivel superior de carácter que ha logrado consolidarse, contando actualmente con las carreras de nivel licenciatura: Informática, Mecánica, Industrial, Electrónica, Energías Renovables; cuya misión es formar profesionales que satisfagan las demandas de los sectores productivo, de servicio y de la sociedad, a través de la mejora continua en la calidad de la comunidad estudiantil y de uso personal. La visión de este instituto es ser un organismo líder que cumpla con las necesidades de formar con calidad excelentes profesionales de educación superior.

La presente investigación nos permitirá conocer cómo se lleva acabo el manejo de residuos en el Instituto Tecnológico, esta investigación constará de tres sectores a los cuales se les aplicará una encuesta.

El primer sector está formado por alumnos del tecnológico de 2o y 4o semestre, el segundo sector es por docentes y admirativos del instituto y el tercer sector sera aplicada a alumnos de nuevo ingreso.

Al terminar de realizar las encuestas en estos 3 sectores se vaciarán los datos a un Excel para después hacer los análisis correspondientes. Con esta investigación la Viabilidad Social podra crear un marco de trabajo cuyo propósito y misión es la separación de residuos que hay en el instituto y llevar una organización adecuada de los recursos con los que se cuenta. podra crear un marco de trabajo con el propósito y misión de la separación de los residuos y llevar la organización de los recursos con los que se cuenta.

Permite unificar a la población en proyectos sustentables para lograr que todos estén contentos con su participación, donde habra un grupo para sanciones otro grupo de vigilancia y así unificar a la gente con la que se cuenta. El desarrollo de proyectos de este tipo permite crear una cultura general dentro del tecnológico donde los alumnos podran llevar a sus casas lo que se aprendiendo durante la investigación, así como el ahorro de energía.

Ingeniería Informática, Instituto Tecnológico Superior de Monclova Ejercito Mexicano: carretera 57km 4.5 Unidad Tecnológica y universidad CP 25701 Monclova, Coahuila 6490370.
zurdo_alex97@hotmail.com

²Ingeniera Informática, Instituto Tecnológico Superior de Monclova Ejercito Mexicano: Carretera 57km 4.5 Unidad Tecnológica y Universitaria CP 257001 Monclova, Coahuila 6490370.
mayela2009@hotmail.com

MÉTODOS Y MATERIALES

Obtener datos mediante el método de encuesta personalmente para tener respuestas más verídicas. En los materiales se ocupó el software Excel para el vaciado de los resultados obtenidos además de MiniTab para obtener relaciones entre los datos de la encuesta y así realizar un análisis correccional y el resultado en alfa de Cronbach

RESULTADOS

Análisis de elementos de C1, C2, C3 Conocimiento y apreciación Matriz de correlación

	C1	C2
C2	0.603	
C3	0.545	0.909

Estadísticas totales y de elementos

Variable	Conteo total	Media	Desv.Est.
C1	79	1.5190	0.5028
C2	79	1.7595	0.4590
C3	79	1.7975	0.4350
Total	79	5.0759	1.2380

Alfa de Cronbach

Alfa

0.8612

Estadísticas de elementos omitidas

Variabl e omitida	Media total ajustada	Desv.Est. total ajustada	Correlación total ajustada por elemento	Correlación múltiple cuadrada	Alfa de Cronbach
C1	3.5570	0.8733	0.5887	0.3641	0.9515
C2	3.3165	0.8250	0.8469	0.8424	0.7010
C3	3.2785	0.8614	0.8026	0.8259	0.7507

Análisis de elementos de C1, C2, C3, C4, C5 Sustentabilidad y participación Matriz de correlación

	C1	C2	C3	C4
C2	0.940			
C3	0.340	0.405		

Ingeniería Informática, Instituto Tecnológico Superior de Monclova Ejercito Mexicano: carretera 57km 4.5 Unidad Tecnológica y universidad CP 25701 Monclova, Coahuila 6490370.

zurdo_alex97@hotmail.com

²Ingeniería Informática, Instituto Tecnológico Superior de Monclova Ejercito Mexicano: Carretera 57km 4.5 Unidad Tecnológica y Universitaria CP 257001 Monclova, Coahuila 6490370.

mayela2009@hotmail.com

C4 0.933 0.901 0.326
 C5 0.177 0.206 0.262 0.153

Contenido de la celda
 Correlación de Pearson

Estadísticas totales y de elementos

Variable	Conteo total	Media	Desv.Est.
C1	76	2.184	0.743
C2	76	2.224	0.723
C3	76	2.118	0.864
C4	76	2.158	0.784
C5	76	2.763	0.538
Total	76	11.447	2.811

Alfa de Cronbach

Alfa

0.8190

Estadísticas de elementos omitidas

Variabl e omitida	Media total ajustada	Desv.Est. total ajustada	Correlación total ajustada por elemento	Correlación múltiple cuadrada	Alfa de Cronbach
C1	9.263	2.163	0.83228	0.92364	0.71379
C2	9.224	2.164	0.86251	0.89642	0.70616
C3	9.329	2.352	0.40074	0.21043	0.85609
C4	9.289	2.147	0.79634	0.87666	0.72270
C5	8.684	2.634	0.23802	0.08407	0.86536

Desperdicios

Matriz de correlación

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
C2	0.627							
C3	1.000	0.627						
C4	0.534	0.421	0.534					
C5	0.137	0.324	0.137	0.285				
C6	0.136	0.152	0.136	0.064	0.237			
C7	0.969	0.625	0.969	0.494	0.162	0.156		
C8	0.144	-0.111	0.144	0.159	0.125	0.198	0.111	
C9	0.274	0.202	0.274	0.208	0.134	0.119	0.306	0.016

Alfa de Cronbach

Alfa
0.8043

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en el análisis, se puede observar que existe gente que les hace falta de información sobre la separación de los residuos, se mostró gran interés por parte de los alumnos y docentes por hacer campañas promoviendo la separación de residuos y señalamientos de donde va cada uno. Otro pequeño grupo pide lo que son las sanciones y vigilancia en la institución , al saber que no existe una sanción por más mínima que sea a la gente no le dará miedo de tirar la basura donde sea , al igual saber que no está siendo vigilado.

MODIFICACIÓN QUÍMICA Y ESTRUCTURAL DE CARBÓN ACTIVADO CON NANOPARTÍCULAS METÁLICAS SINTETIZADAS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS

Alexis Olaguer Charles Cindo¹ y Dr. Jorge Carlos Ríos Hurtado¹

RESUMEN

En el presente trabajo se presentan los resultados obtenidos para la obtención de composito magnético de carbón activado con nanopartículas metálicas, específicamente ferritas magnéticas. El proceso para la obtención de los productos fue la mecano-síntesis. Los resultados indicaron la formación de compositos, predominando la presencia de la ferrita y que, además, al medir las propiedades magnéticas, el comportamiento de estos fue superparamagnético. Con estas características, los productos obtenidos son capaces de ser utilizados en técnicas de hipertermia magnética para el tratamiento de cáncer.

ABSTRACT

In the present work, the results to obtain magnetic composite of activated carbon with metallic nanoparticles, specifically magnetic ferrites, are presented. The process for obtaining the products was mecano-synthesis. The results indicated the composites formation, predominating the presence of ferrite and also, when measuring the magnetic properties, the behavior was superparamagnetic. With these characteristics, the products obtained are capable of being used in magnetic hyperthermia techniques for cancer treatment.

Palabras clave: carbón activado, ferritas, mecano-síntesis

INTRODUCCIÓN

Los materiales compuestos o compositos surgen como respuesta a la demanda de nuevos sistemas con propiedades que son difíciles de reunir en un solo tipo de material. Son materiales multifásicos que conservan, al menos parcialmente, las propiedades de sus sistemas constituyentes y son diseñados para que presenten la combinación de propiedades más favorables.

Además, se conocen distintos tipos de compositos de acuerdo a su forma como lo son materiales estructurales, fibras y materiales particulados. Dentro de estos últimos se encuentran los compositos reforzados por dispersión, los cuales presentan partículas de tamaño muy pequeño (menor a 100 nm), y se distribuyen homogéneamente dentro de una matriz.

MARCO TEÓRICO

En investigaciones recientes, se ha utilizado el carbón activado como una superficie de anclaje de las ferritas. En el 2012, Shao y colaboradores lograron sintetizar directamente sobre la superficie del carbón activado, una ferrita de manganeso. En trabajos anteriores, Taylor y colaboradores en el 2012, lograron introducir partículas de ferritas en carbón activado y además, estos materiales obtenidos lo aplicaron para técnicas de hipertermia. Ai y colaboradores en el 2010, determinaron que era posible la formación de ferritas de cobalto sobre el carbón activado mediante la coprecipitación de nitratos de hierro y cobalto. Ramanujan y colaboradores, en el 2007, probaron la formación de un composito de carbón activado con ferritas, mediante un método simple, la mecano-síntesis.

Existen diversas metodologías para la incorporación de partículas de hierro, las cuales han sido ampliamente estudiadas, como son: la evaporación de una sal de hierro en presencia de una superficie activa, impregnación incipiente a temperatura ambiente empleando soluciones acuosas u orgánicas, precipitación de hierro con soluciones

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 km. 5, C.P. 25720 Monclova, Coahuila, dulcelejandracom@hotmail.com

²Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 km. 5, C.P. 25720 Monclova, Coahuila, jorgerios@uadec.edu.mx

alcalinas, y la oxidación/precipitación de hierro. También se ha encontrado que es posible introducir ferritas a superficies, mediante la técnica de mecano-síntesis.

METODOLOGÍA

Se procedió a sintetizar compositos de carbón activado/ferritas, mediante la técnica de mecano-síntesis. Este procedimiento se llevó a cabo en un molino planetario de la marca FRITSCH modelo Pulverisette 6. Cierta cantidad de los precursores (carbón activado y ferritas) se agregaron al contenedor de ágata y se colocaron en el molino a 400 rpm durante 3 horas. Cabe destacar que se probaron diferentes composiciones porcentuales de los precursores en pruebas preliminares, obteniendo con mejores resultados las composiciones presentadas en la Tabla 1. Finalmente, el producto se lavó con etanol y se dejó secar a temperatura ambiente.

Tabla 1.- Relaciones porcentuales del carbón activado y las ferritas utilizadas en el proceso de mecano-síntesis

Nombre del composito	Carbón activado	Ferrita
CA/Fe ₃ O ₄	40 %	60% de Fe ₃ O ₄
CA/Mn _{0.4} Zn _{0.6} Fe ₂ O ₄	40%	60% de Mn _{0.4} Zn _{0.6} Fe ₂ O ₄

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se comparó el difractograma del composito CA/Mn_{0.4}Zn_{0.6}Fe₂O₄ con el de la ferrita de manganeso-zinc (Figura 1), donde se puede determinar que los picos definidos para la estructura de espinela inversa siguen apareciendo. Además, se puede observar un ligero desplazamiento en los ángulos debido a la presencia del carbón activado ya que es una estructura gráfica amorfa, el cual corresponde con los resultados Ai y colaboradores en el 2010. Ellos observaron un ligero desplazamiento al generar su composito magnético con carbón activado y una ferrita de cobalto.

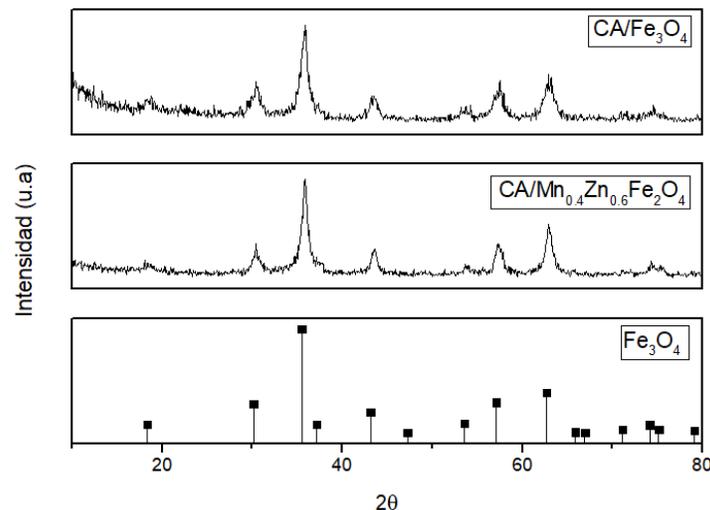


Figura 1. Patrones de difracción de Rayos X de las muestras sintetizadas.

El compuesto CA/Fe_3O_4 , formado por carbón activado y magnetita, se logra observar los picos más intensos de la magnetita, en la Figura 1. Sin embargo, también se ha demostrado que el carbón activado presenta un pico muy ancho entre 40° y 60° , el cual que se puede observar ligeramente en el difractograma del compuesto. La desaparición de los demás picos, se puede deber al solapamiento de señales por la estructura amorfa del grafito.

Una vez obtenidos los difractogramas, se procedió a determinar las propiedades magnéticas de los compositos. En la Figura 2, se presenta la magnetometría del compuesto $CA/Mn_{0.4}Zn_{0.6}Fe_2O_4$, donde a simple vista se puede observar que la muestra presenta un comportamiento superparamagnético.

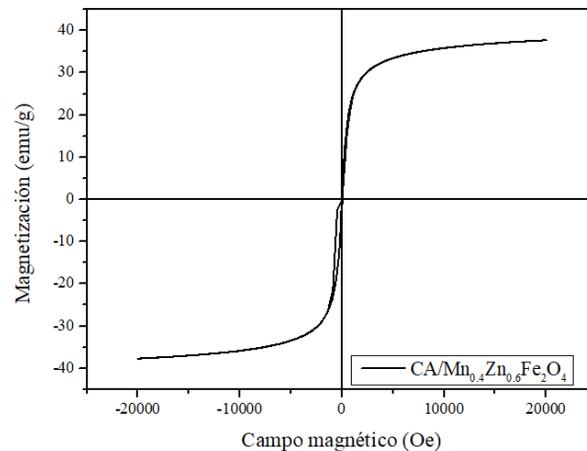


Figura 2. Magnetometría del compuesto $CA/Mn_{0.4}Zn_{0.6}Fe_2O_4$

Por otra parte, también se realizaron magnetometrías de muestra vibrante para el compuesto CA/Fe_3O_4 , con carbón activado y magnetita. La magnetometría se presenta en la Figura 3, donde se puede observar que el comportamiento magnético de la muestra es de un material superparamagnético.

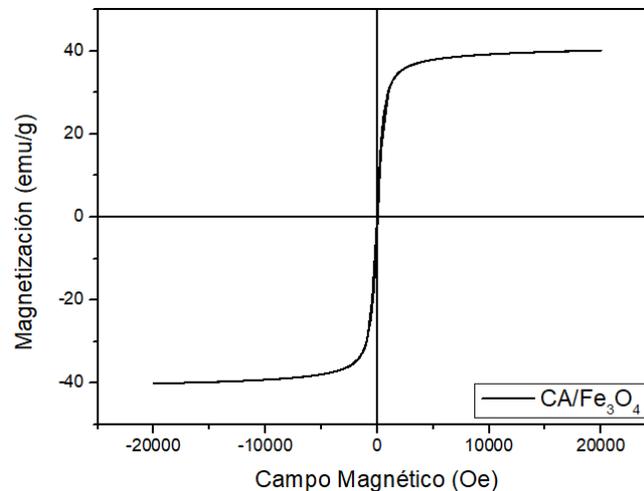


Figura 3. Magnetometría del compuesto CA/Fe_3O_4

CONCLUSIONES

Fue posible obtener compositos magnéticos de carbón activado y óxidos metálicos, específicamente ferritas magnéticas. Los compuestos presentaron propiedades estructurales correspondientes a las ferritas precursoras y al carbón activado y además, ambos compositos presentan propiedades superparamagnéticas, lo que lo hace apto para aplicaciones biomédicas, sobre todo hipertermia magnética para el tratamiento de cáncer.

REFERENCIAS

1. Mesa, L.: Materiales Compuestos (“COMPOSITES”), http://www.joseluismesarueda.com/documents/TEMA_8_001.pdf.
2. Shao, L., Ren, Z., Zhang, G., Chen, L.: Facile synthesis, characterization of a MnFe₂O₄/activated carbon magnetic composite and its effectiveness in tetracycline removal. *Mater. Chem. Phys.* 135, 16–24 (2012).
3. Taylor, A., Krupskaya, Y., Krämer, K., Füssel, S., Klingeler, R., Büchner, B., Wirth, M.P.: Cisplatin-loaded carbon-encapsulated iron nanoparticles and their in vitro effects in magnetic fluid hyperthermia. *Carbon N. Y.* 48, 2327–2334 (2010).
4. Ai, L., Huang, H., Chen, Z., Wei, X., Jiang, J.: Activated carbon/CoFe₂O₄ composites: Facile synthesis, magnetic performance and their potential application for the removal of malachite green from water. *Chem. Eng. J.* 156, 243–249 (2010).
5. Ramanujan, R.V., Purushotham, S., Chia, M.H.: Processing and characterization of activated carbon coated magnetic particles for biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. C.* 27, 659–664 (2007).
6. Castro, C.S., Guerreiro, M.C., Oliveira, L.C.A., Gonçalves, M., Anastácio, A.S., Nazzarro, M.: Iron oxide dispersed over activated carbon: Support influence on the oxidation of the model molecule methylene blue. *Appl. Catal. A Gen.* 367, 53–58 (2009).
7. Chang, Q., Lin, W., Ying, W.: Preparation of iron-impregnated granular activated carbon for arsenic removal from drinking water. *J. Hazard. Mater.* 184, 515–22 (2010).
8. Chen, W., Parette, R., Zou, J., Cannon, F.S., Dempsey, B.A.: Arsenic removal by iron-modified activated carbon. *Water Res.* 41, 1851–1858 (2007).
9. Zhang, G., Qu, J., Liu, H., Cooper, A.T., Wu, R.: CuFe₂O₄/activated carbon composite: A novel magnetic adsorbent for the removal of acid orange II and catalytic regeneration. *Chemosphere.* 68, 1058–1066 (2007).
10. Ángeles, J.F.I.: Producción y caracterización de nanoparticulas con estructura core-shell de Cu-Co basadas en mecano-síntesis por aleado mecánico, (2010).
11. Mendes, R.G., Koch, B., Bachmatiuk, A., El-Gendy, A.A., Krupskaya, Y., Springer, A., Klingeler, R., Schmidt, O., Büchner, B., Sanchez, S., Rummeli, M.H.: Synthesis and toxicity characterization of carbon coated iron oxide nanoparticles with highly defined size distributions. *Biochim. Biophys. Acta.* 1840, 160–9 (2014).

POTENCIAL DE CONTROL BIOLÓGICO DE BACTERIAS DEL SUELO DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA DEL CERRO DEL CULIACÁN

Talavera Caro Alicia Guadalupe¹ y Gómez Luna Blanca Estela²

RESUMEN

Existen microorganismos utilizados como biofertilizantes que favorecen al desarrollo de plantas facilitando la captación de nutrientes como minerales que se encuentran en el suelo, y por la formación de ciertos metabolitos que ayudan a la planta. Estas bacterias se pudieron encontrar en de la zona natural protegida del cerro del Culiacán, Guanajuato. Todas las bacterias se pusieron a prueba para demostrar su efectividad ante microorganismos que son patógenos en plantas. El objetivo de este estudio es demostrar su efectividad inhibidora por liberación de metabolitos capaces de confrontar hongos fitopatógenos y detener su crecimiento.

ABSTRACT

There are microorganisms used as biofertilizers that favor the development of plants facilitating the uptake of nutrients such as minerals found in the soil, and by the formation of certain metabolites that help the plant. These bacteria could be found in the protected natural area of Cerro del Culiacán, Guanajuato. All bacteria were tested to demonstrate their effectiveness against microorganisms that are pathogenic in plants. The objective of this study is to demonstrate its inhibitory effectiveness by the release of metabolites capable of confronting phytopathogenic fungi and stopping their growth.

Palabras clave: rizobacterias, confrontación, control biológico.

INTRODUCCIÓN

El uso de fertilizantes químicos es una problemática que se presenta actualmente en la agricultura y que ha incrementado con el paso del tiempo. Los organismos fitopatógenos han afectado a plantas en su crecimiento y son una de las principales amenazas en la producción de alimentos y en la permanencia de ecosistemas. La agricultura se ha visto afectada principalmente en las últimas décadas y los productores han tenido mas necesidad de utilizar fertilizantes químicos para tener una mayor producción y evitar pérdidas económicas (Compant *et al.*, 2005). Las bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP) son consideradas como biofertilizantes fitoestimulantes para la agricultura por favorecer la captación de nutrientes y por mejorar el crecimiento de la planta de manera directa o indirecta debido a sus diversos mecanismos tales como, producción de fitohormonas, solubilización de minerales e inhibición de microorganismos fitopatógenos por control biológico, algunas de estas rizobacterias producen exometabolitos que son tóxicos para muchos organismos, entre estos, patógenos de plantas. La producción de estas toxinas es de interés para el biocontrol, convirtiéndose en una alternativa de fertilizantes verdes (Huang *et al.*, 2014; Jousset *et al.*, 2008). El control biológico es un factor que promueve el crecimiento por la producción de sideróforos que ayudan a la solubilización de los metales reduciendo la absorción de metales tóxicos por las plantas (Dimkpa *et al.* 2009). Principalmente los sideróforos son agentes quelantes con alta afinidad por el hierro y por otros metales. Son conocidos por su capacidad de alimentar a las plantas con hierro principalmente dejando a microorganismos patógenos de plantas sin los metales disponibles (Schalk *et al.*, 2011)

Estas bacterias producen la enzima 1-aminociclopropano- 1- carboxilato desaminasa en la producción de etileno, sin embargo, la alta producción de etileno tiene un efecto negativo en las plantas y esta enzima reduce sus altas concentraciones, así restablece el sistema radicular promoviendo su elongación para la resistencia a algún estrés (Glick *et al.*, 1998).

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas Ciudad Universitaria, Carretera Torreón-Matamoros km. 7.5 C.P. 27000 Torreón Coahuila, aliciac@9704@hotmail.com

² Universidad de Guanajuato, Depto. Ing. Agroindustrial, Prolongación Río Lerma s/n C.P.38060, Celaya Guanajuato, be.gomez@ugto.mx

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de suelo. Se tomaron muestras del suelo a una profundidad de 15 cm de la base del tronco con influencia de raíces de tres árboles *Prosopis laevigata*, *Quercus deserticola* y *Embothrium coccineum* de la zona natural protegida del Cerro del Culiacán y la Gavia en la comunidad de las Cruces del municipio de Salvatierra, de esta zona se reportan 31 especies de quelicerados, 128 de insectos, 10 de anfibios, 21 especies de reptiles, 107 de aves y 46 de mamíferos, se desarrollan principalmente el bosque de encino, bosque ropical caducifolio y matorral crasicaule, reportándose un total de 92 especies.. Este muestreo fue en el año 2016.

Medio selectivo de la enzima ACC desaminasa. La muestra de suelo fue utilizada para aislar las bacterias en el medio selectivo para la actividad de la enzima ACC (Penrose y Glick, 2003), adicionado con ACC, añadiendo los siguientes reactivos para 1litro: 4g de KH_2PO_4 , 6g de Na_2HPO_4 , 0.2g de MgSO_4 , 1mg de FeSO_4 , 10 μg de H_3BO_3 , 10 μg de MnSO_4 , 50 μg de CuSO_4 , 10 μg MoO_3 , 7 μg ZnSO_4 . El medio se suplementa con ACC 3mM (SIGMA), se esterilizó y se vació en placas Petri.

Aislamiento de bacteria. Se tomaron 10g de la muestra de suelo tamizado colocados en 90ml de agua destilada (1:10), después se puso en agitación por 2 horas 30 minutos para esparcir las partículas por todo el volumen de agua, al termino de la agitación se dejó reposar para que la muestra sedimentara por 30 minutos. Se tomaron 5ml aproximadamente de sobrenadante y se sembró utilizando el sistema automatizado del Spiral Plate de manera exponencial en el medio selectivo y se pusieron a incubar a 28°C.

Preparación de medio sólido PDA. Se pesaron 200g de papa y se sometió a ebullición por 15 min en 1 litro de agua destilada, posteriormente se filtra con algodón y gasa, ajustando el volumen. Se agregó dextrosa al 2% y agar bacteriológico al 2%, se esterilizó 15 minutos a 15lb presión a 121°C. El medio estéril se vació en placas Petri.

Pruebas de control biológico. Se sembraron los hongos en placas con medio PDA colocando un disco de micelio incubados a 25°C dejándolo crecer. A partir de 48 horas se sembraron las cepas, 4 por placa, se midió el crecimiento del diámetro cada 24 horas (Victoria, 2014).

Caracterización de hongos fitopatógenos. Se tomó una parte del micelio con un asa estéril y se colocó en una gota de agua destilada, se añadió el colorante azul de metileno sobre la muestra en fresco y se dejaron por 30 minutos para que el colorante penetrara al micelio, se observó en el microscopio.

RESULTADOS

La resiembra de hongos primero fue para observar el crecimiento normal y la morfología de los hongos en las placas con medio PDA. En la caracterización de los hongos seleccionados: *Bipolaris sp.*, *Fusarium sp.*, *Phytophthora capsici*, *Rizoctonia sp.*, *Alternaria sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Helminthosporium sp.*, *Fusarium oxisporum.*, se realizó por tinción y se observó su estructura y su capacidad de esporulación mostrados en la Figura 1.



Figura 1. Tinciones de algunos de los hongos desde el objetivo 100x del microscopio. *Phytophthora capsici*, *Rizoctonia sp.*, *Helminthosporium sp.*

Tabla 1. Estructuras observadas de cada hongo en el microscopio.

Hongo	Tinción
<i>Bipolaris sp</i>	Conidióforos presentando algunas esporas.
<i>Fusarium oxisporum</i>	Hifas con septos, esporas y prosénquima.
<i>Phytophthora capsici</i>	Esporas, hifas sin septos y conidióforos.
<i>Rizoctonia sp</i>	Hifas con septos.
<i>Alternaria sp.</i>	Conidióforos y esporas.
<i>Helminthosporium sp.</i>	Hifas con septos y algunos sin septos.
<i>Colletotrichum sp</i>	Esporas e hifas.
<i>Fusarium sp</i>	Esporas y estructuras de producción de esporas.

Para realizar la prueba de la confrontación se seleccionaron 25 cepas. La selección de las cepas fue con el fin de probar la capacidad inhibidora de las cepas hacia hongos fitopatógenos midiendo la tasa de crecimiento (Figura 1) de los hongos antes y después de la siembra de la bacteria. Inicialmente se seleccionaron 8 hongos patógenos de plantas, posteriormente, se realizó el mismo proceso de medición pero ya en confrontación con las bacterias (Figura 2).

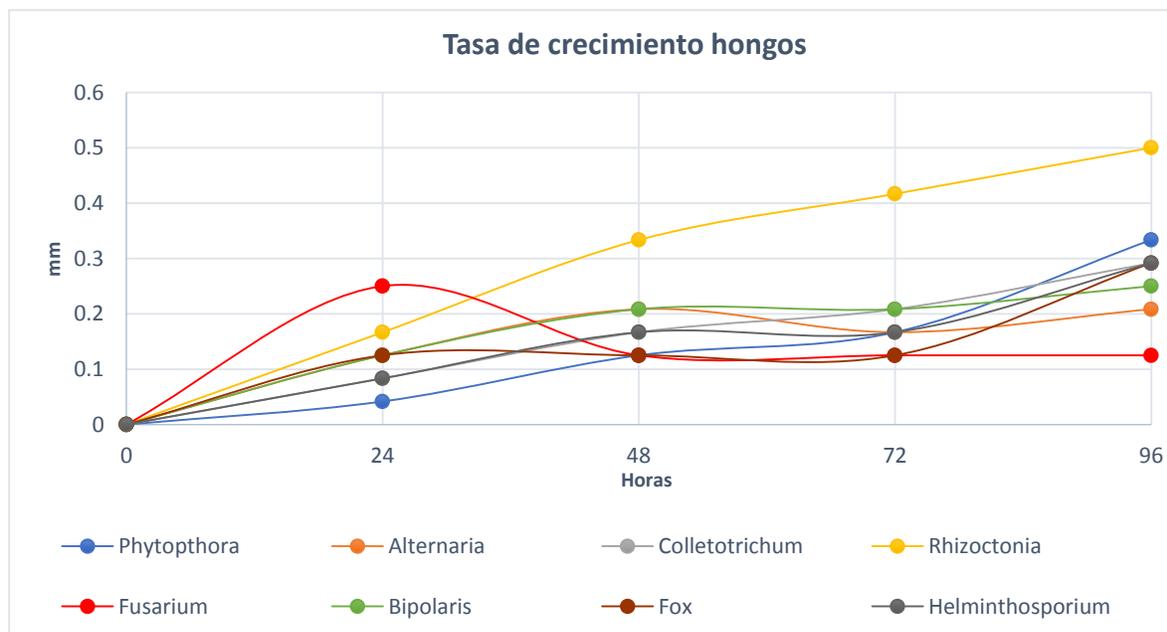


Figura 2. Medición del crecimiento de hongos en milímetros en medio PDA en presencia de las BPCP con mayor rango de horas en crecimiento. Se observó como la tasa de crecimiento fue moderada por la actividad de las cepas.

La primera confrontación fue con 10 cepas formando 3 grupos mostrados en la tabla 2. Se hizo una segunda confrontación para probar la capacidad de 15 nuevas cepas formando 4 grupos mostrados en la tabla 3.

Tabla 2. De las primeras 10 cepas se formaron grupos (un grupo por placa) para probar todas las cepas en cada hongo.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
304	302	275
254	256	313
264	265	304
113	225	254

Tabla 3. La siguiente prueba fue con 15 nuevas cepas formando 4 grupos (un grupo por placa) para probar las cepas en cada hongo.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
258	303	213	119
111	208	215	112
263	306	102	106
109	266	312	258

Después de la siembra de las cepas en el medio sólido con los hongos, se observaron cambios en morfología, color, y algunas características que fueron diferentes en la presencia de las bacterias. Las 56 confrontaciones de los 8 hongos fitopatógenos fueron diversas, ya que algunas bacterias presentaron mayor inhibición en ciertos hongos, y en algunos no eran tan efectivos o presentaban una inhibición menor, presentada en la tabla 4 y en la Figura 3 se muestra las pruebas de antibiosis.

Tabla 4. Capacidad de inhibición de las cepas en presencia del fitopatógeno, (+++) Mayor inhibición, (-) Menor inhibición, (/) Sin inhibición.

	<i>Bipolaris sp.</i>	<i>Fusarium oxisporum</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Rizoctonia sp.</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Helminthosporium sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>
+++	264,304, 225,303, 266,119	208	215,258,111, 263	313	264,313, 119,303, 306,266,	304,313, 113,304, 258,109, 111	264,225,254, 119,258	254,312
++	275,313, 265,263	254,264, 306	313,213,109	264	256,225 265,113, 111,263, 112,213, 208	302,254, 264,119, 258,263	302	113,304,2 63,258,30 3
-	254,113, 304,306, 258	275,304, 113	102,312	254,265, 113	254,302, 304,258, 106,312, 215	225,275, 106,112	304,113,256, 112,106	26,213,10 9,111,208, 306,263
/	302,256, 208,111, 258,106, 112,109	304	113,304,254, 264, 275	304,302, 225,256	275,109	265,256	313,275,265	225,302,2 56,265,21 5,266

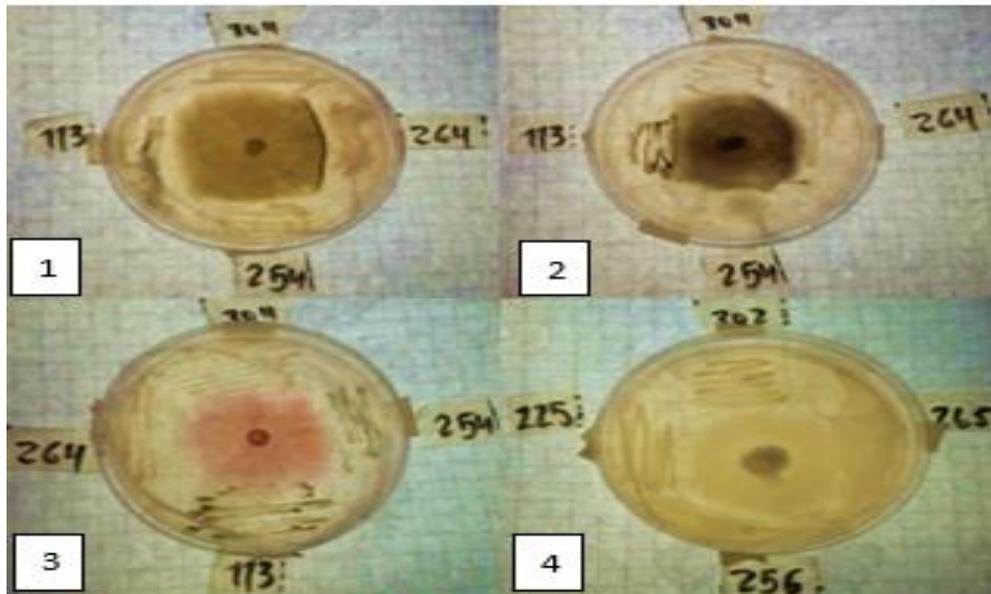


Figura 3. Prueba de control biológico de algunos de los hongos con mayor inhibición por las cepas marcadas. 1) *Helminthosporium* sp. 2) *Bipolaris* sp. 3) *Fusarium* sp. 4) *Colletotrichum* sp.

CONCLUSIÓN

En conclusión, la prueba de control biológico mostró que la mayoría de las cepas, de las cuales destacaron la 264, 119, 313 y 258, con mayor capacidad de inhibición con respecto a las demás en los microorganismos. Esto quiere decir, que hay mayor probabilidad de que tengan producción de antibióticos, péptidos con actividad antimicrobiana sideróforos, o que liberen enzimas líticas como las celulasas y quitinasas, pues se tienen pruebas de un estudio anterior de su producción con la detección de sideróforos en el medio agar CAS dando positivo a la prueba (Victoria, 2014). No obstante, también se obtuvieron resultados de cepas que presentaron una inhibición nula en algunos de los hongos, destacando las cepas 256, 304 y 109. El objetivo de demostrar que las BPCP tienen una actividad que favorece a las plantas por la confrontación que hacen frente a los hongos que se seleccionaron para este estudio fueron positivos, ya que de las 25 cepas utilizadas para la prueba, la mayoría presentaron una actividad favorable, ya sea en mayor o menor grado de efectividad. Este trabajo se realizó con el fin de encontrar una solución a la problemática presentada anteriormente del uso de fertilizantes químicos y de la pérdida de ecosistemas o en producción agrícola por microorganismos que afectan al desarrollo de plantas. Con los resultados obtenidos, se puede concluir que estas cepas tienen una aplicación como rizobacterias con un efecto promotor, capaces de ser una alternativa para las problemáticas planteadas.

BIBLIOGRAFÍA

- *Compant S. *et al.* (2005) Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects, *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), pp4951-4959.
- *Glick B. *et al.* (1998) A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria, *Journal of Theoretical Biology*, 190(1), pp63-68.
- *Huang H. *et al.* (2014) Screening and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria containing ACC deaminase from lily soil and roots, *Acta Horticulturae*, vol.1027, pp241-246.
- *Jousset A. *et al.* (2008) Secondary metabolite production facilitates establishment of rhizobacteria by reducing both protozoan predation and the competitive effects of indigenous bacteria, *Functional Ecology*, 22(4), pp714-719.
- *Victoria J. (2014) Efectividad de las rizobacterias promotoras de crecimiento aisladas de huertos de guayaba en el municipio de Salvatierra, Gto., como biofertilizante, Universidad de Guanajuato, Salvatierra, Gto., pp1-53.

ADSORCIÓN DE CIANURO EN CARBÓN ACTIVADO ELABORADO A PARTIR DE CASCARA DE TAMARINDO

Alma Deyanira Gutierrez Silva,⁽¹⁾ Leonor Muñoz Ramirez ⁽²⁾ y Claudia Veronica Reyes Guzman ⁽²⁾

RESUMEN

El carbón activado ha demostrado ser un adsorbente efectivo, para la eliminación de una amplia gama de contaminantes orgánicos e inorgánicos, disueltos en medios acuosos, o de ambientes gaseosos.

El proceso inicia con la etapa de carbonización, de modo que se logre la deshidratación de forma controlada. En el presente trabajo se llevó a cabo la elaboración de carbón a partir de cascara de tamarindo, seguido de un tratamiento físico en un horno mufla para llevarlo a la etapa de carbonización a temperaturas de 800 – 1000°C, posteriormente se puso en contacto con soluciones de cianuro, demostrando que dicho carbón es tan efectivo como el carbón mineral.

INTRODUCCION

El impacto ambiental generado por estas sustancias toxicas ha llevado a la comunidad científica a desarrollar diferentes métodos para el tratamiento de aguas y de los efluentes industriales contaminados con estas sustancias, entre los cuales están: precipitación, oxido-reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, tecnologías de membrana y recuperación por evaporación.

Sin embargo, estos métodos han resultado bastante costosos e ineficientes especialmente cuando la concentración de los metales es muy baja, además de la formación, disposición y almacenamientos de lodos y desechos, originados durante los procesos, lo cual se convierte en un problema mayor a resolver.

La bioadsorción, surge como una alternativa que llama la atención en la remoción de iones de metales pesados en los efluentes industriales, ya que, es una tecnología que permite no solo removerlos, si no también, darle un tratamiento a los desechos agrícolas que antes no tenían ninguna utilidad, además, estos materiales biosorbentes son de bajo costo y fácil adquisición.

Entre las ventajas que presenta la bioadsorción, en comparación con las técnicas convencionales se tiene: bajo costo, alta eficiencia, minimización de productos químicos y lodos biológicos, no se requieren nutrientes adicionales, regeneración de los biosorbentes, y posibilidad de recuperación de metales. Sin embargo, a pesar de las ventajas que presenta este método de remoción de metales pesados, se encuentra aún en su etapa de investigación y no se le ha transferido conocimiento tecnológico, por esta razón en la actualidad no ha sido implementado a nivel industrial. Investigaciones recientes sobre la adsorción de iones de metales pesados en aguas residuales, realizadas a nivel mundial, revelan la capacidad de adsorción de diferentes biomasa residuales como la corteza del árbol del pirul, la cáscara de tamarindo, cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*), cáscara de limón, cáscara de naranja, hoja de maíz, cáscara de maní y desechos de tallo de uva. Otro tipo de biosorbentes muy usados en la actualidad son microorganismos, como las algas, hongos y levaduras.

Características del fruto nombre científico

Tamarindus, subfamilia: *Caesalpinaide*); nativo de las sábanas secas de África tropical, se ha plantado y naturalizado extensamente en las regiones tropicales y subtropicales, de tres continentes, con gran presencia en Asia, Oceanía, América Central, el Caribe, la región norte de América del Sur y en México.

(1) estudiante de 8 semestre de la carrera IQMM

(2) investigadoras de la Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 Km 5, C.P. 25710 Monclova, Coah. leonorm68@yahoo.com.mx

Carbón activado

El adsorbente más usado para aplicaciones industriales es el carbón activado. La gran capacidad adsorbedora del carbón activado se debe a que tiene un área superficial grande, una estructura homogénea de microporos y una alta reactividad en la. El material es una estructura porosa con rangos promedio de poros de 1 nm a 1000 nm propiedad que le confiere una gran área superficial entre los 500-1500 m² /g. Cualquier material que contenga carbono puede usarse para hacer carbón activado; sin embargo, el carbón activado comercial está hecho solo de algunos materiales que contienen carbono como: madera, turba, algunos productos derivados del petróleo y cáscaras de frutos secos. El proceso de formación de carbón activado consta de un paso de carbonización en el cual la mayor parte del material que no es carbono se volatiliza por pirólisis. La estructura porosa se genera mediante un proceso de activación empleando un gas o mediante un proceso químico; en el primero un gas de activación como CO₂ o vapor de agua a altas temperaturas se usa para erosionar el material carbonizado; en la activación química el carbón es impregnado con un químico y posteriormente se quema a altas temperaturas (800 a 1000°C). La porosidad se genera debido a la corrosión de los químicos.

En la presente investigación se realizó la recolección de la cascarilla del tamarindo que es desechado una vez que es extraído la pulpa y el hueso de tal, con la finalidad de que dicha cascarilla llevarla a la etapa de tratamiento térmico y generar un carbón activado, capaz de adsorber cualquier contaminante de las aguas residuales de nuestra región, en caso particular el cianuro desechado de los efluentes mineros.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

El cianuro libre se determinó por la titulación de nitrato de plata de acuerdo al método APHA-AWWA 4500-CN. El principio básico de esta técnica es la determinación del ion cianuro por titulación con nitrato de plata para formar un complejo soluble de cianuro de plata. En el momento en que todo el cianuro está en forma de dicho complejo y existe un pequeño exceso de plata, éste es detectado por un indicador, cambiando la coloración de la solución.

Se procedió a experimentar con cáscara de tamarindo finamente molida con ayuda de un mortero, una vez que se tuvo el tamarindo molido se separaron muestras de 1, 3 y 5gr, de polvillo de tamarindo. Posteriormente se mezcló con una solución hecha con agua con ph 11 y nitrato de plata, después sobre una parrilla se colocó un vaso de precipitado con 250ml de la solución antes dicha, se encendió la parrilla y con la ayuda de un agitador se mezcló el polvillo de tamarindo y la solución.

Después con ayuda del cronómetro se tomó el tiempo cada 5, 10, 20, 30, 40y 60 min. Sacando 20ml y filtrando en vasos aparte, este procedimiento se repitió con los gramos de 3 y 5gr, exactamente igual.

Una vez terminadas las muestras y ya filtradas se procedió a titular con una solución de nitrato de plata y se tomó lectura de a los cuantos mililitros el líquido cambiaba de color.

Posteriormente con los restos de polvillo de tamarindo mezclado con la solución se filtraron y sellaron para su posterior disposición final.



RESULTADOS Y DISCUSION

Los métodos del diseño experimental han encontrado amplia aplicación en diversas disciplinas. De hecho la experimentación puede considerarse parte del proceso científico, en el diseño de experimentos se tiene que encontrar las variables claves del proceso [2], en los experimentos de adsorción de cianuro se empleó un diseño de experimentos manteniendo constante el pH 11.5 y concentraciones de cianuro y dos variable en gramos de carbón activado (1, 2) como se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Variables del proceso

pH	[CN] ppm	C.A gr
11	200	1, 2
	600	
	800	

La gráfica muestra que a diferencia de la gráfica 2. El porcentaje de adsorción fue de 37 %. Esto demuestra que el carbón tiende a saturarse, debido a la falta de poros, una las características de los carbones activados, es que adsorben y se desorben hasta que alcancen el equilibrio.

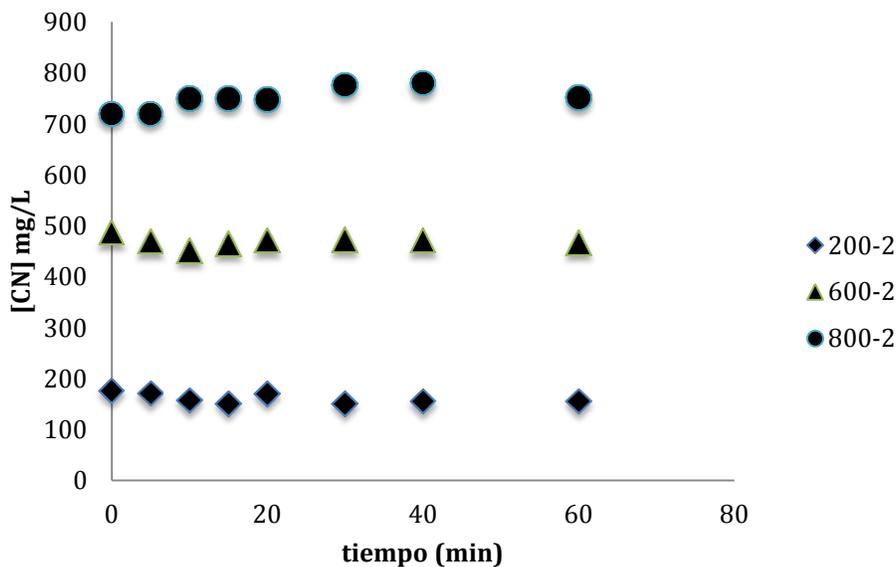


Figura A Carbón de hueso de tamarindo con 3 concentraciones de cianuro con 2 gr C.A

La Figura B muestra la adsorción de cianuro en el carbón activado después del proceso físico, con tres distintas concentraciones de cianuro, a 1 hora de adsorción, esto da como resultado, un incremento en la cantidad de cianuro removido por adsorción en el carbón hueso de tamarindo después del proceso de carbonización, en la gráfica muestra una comparación entre un carbón sin tratamiento físico (a) y con tratamiento físico (b), la figura muestra que al practicarse el proceso físico al carbón activado, a los 20 minutos hay un incremento de adsorción debido a que el carbón presenta un efecto catalítico, el mecanismo

de adsorción es un intercambio de iones entre los grupos funcionales de la superficie del carbón, como se muestra en la siguiente reacción [6] :

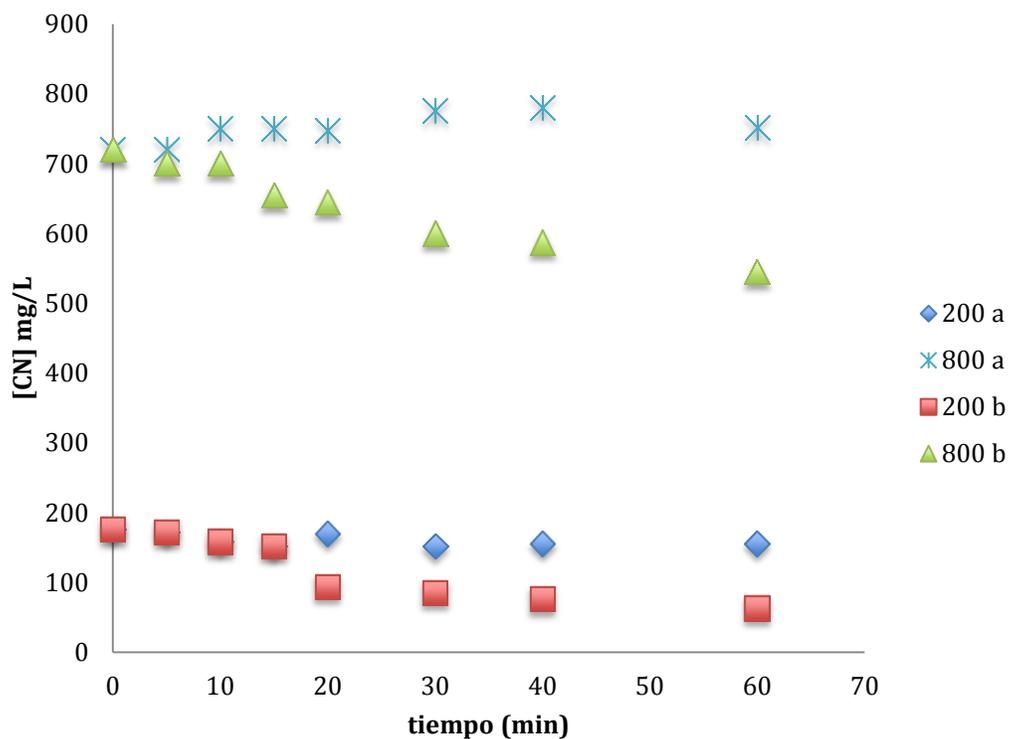


Figura 4. Muestra dos concentraciones de cianuro con 2 gr de ccc, los incisos (a) es antes del proceso físico y el inciso (b) después del proceso físico.

CONCLUSION

La adsorción de cianuro en carbón activado a pH 11, ocurre una adsorción física del cianuro en sitios positivos, así como el intercambio de iones con los distintos grupos, superficiales del carbón. Por lo tanto, los carbones básicos, tiene menos sitios ácidos, menos cargas negativas y más grupos para el intercambio iónico, lo cual ayuda a una mayor adsorción.

DETERMINACIÓN DE LOS PUNTOS DE CARGA DE LOS CARBONES ELABORADOS DE CASCARA DE NUEZ, HUESO DE DURAZNO Y BAMBU PARA USO DE ADSORCIÓN EN EFLUENTES DE CIANURO.

⁽¹⁾ Alondra Lizeth Tobias López, ⁽²⁾ Ildia Verónica Reyes Guzmán, ⁽³⁾ Leonor Muñoz Ramírez y Sergio García Villarreal, Paola Ramírez Vaquera

RESUMEN

En la presente investigación se realizó a 33 carbones activados (vegetales y minerales) una caracterización fisicoquímica con el objetivo de determinar su punto de carga cero, para ponerlo en contacto con soluciones de cianuro provenientes de una empresa minera de la región centro, las primeras pruebas del proceso determinaron que al poner en contacto los carbones 1-32 había más adsorción de dicho contaminante esto porque los puntos de carga eran más bajos que el pH de la solución y con ello comprobamos que se atrae electrostáticamente, esto debido que el pH de la solución es 11 y los puntos de carga son menores se atrae cargas negativas de la solución.

ABSTRACT

In this research was carried out to 33 activated carbons (vegetables and minerals) a physicochemical characterization with the objective of determining its point of load zero, to put in contact with solutions of cyanide from a mining company of the Center region, the first tests of the process determined that by putting in contact the carbons 1-32 had more adsorption of this pollutant because the loading points were lower than the pH of the solution and thus check that it is attracted electrostatic, This because the PH of the solution is 11 and the loading points are smaller attracts negative solution loads.

Palabras clave: adsorción, electrostáticamente, pH.

INTRODUCCIÓN

Los carbones activados (CAs) presentan alta estructura porosa que les confiere un área superficial y un volumen de porosidad elevado cuando se comparan con otros sólidos porosos, por ejemplo, las zeolitas, arcillas y sílices que presentan valores de área superficial menores a $100 \text{ m}^2/\text{g}$ y poseen como límite superior valores de área superficial de alrededor de $600 \text{ m}^2/\text{g}$ (1). Estas características hacen de estos materiales excelentes adsorbentes en diferentes procesos. Los CAs presentan, además de las características ya mencionadas, otras ventajas relevantes como la versatilidad en la fabricación, es decir, la posibilidad de modificar su estructura porosa y química superficial con base en los requerimientos establecidos en una aplicación concreta; la posibilidad de modificar de forma sencilla su conformación (polvo, grano, tela, etc.); la posibilidad de recuperar el adsorbato; la fácil regeneración, entre otras (2).

La estructura porosa del CA está formada por secciones imperfectas de láminas gráficas apiladas de tamaño pequeño, que poseen defectos estructurales, y que se entrelazan para crear una red tridimensional donde los espacios entre ellos constituyen la porosidad. Sin embargo, aunque la porosidad es la principal característica que se relaciona con la capacidad adsorbente de los carbones activados, la composición química de la superficie también juega un papel importante en la adsorción cuando se consideran interacciones específicas, ya que determina el contenido de humedad, las propiedades catalíticas, su carácter ácido o básico y la adsorción de especies polares (3,4).

Los carbones activados, se caracterizan textural y químicamente para la preparación de carbón activado se suelen emplear dos metodologías: la activación física y la activación química. En la activación química el precursor se hace

- (1) Estudiante de séptimo semestre de la carrera IQMM, Facultad de Metalurgia, alondra.tobias17@gmail.com
- (2) Investigadora de la Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 Km 5, C.P. 25710 Monclova, Coahuila clavereyes@gmail.com
- (3) Colaboradores en el proyecto.

reaccionar con un agente químico activante y suele tener lugar en una única etapa a temperaturas que pueden variar entre 673 y 923 K. Se suelen usar como agentes activantes químicos ácidos, bases y sales en estado sólido o en solución. Estos agentes activantes favorecen la deshidratación y luego una reordenación estructural a temperaturas relativamente bajas (5,6).¹

METODOLOGIA

Determinación de puntos de carga cero P.C.C.

Este método se basa en la estimación del punto de carga cero (PCC) de la superficie del carbón a partir de la medición del pH de una suspensión en la que progresivamente se incrementa la cantidad de sólido en suspensión. El procedimiento para medir el PCC del CCC es el siguiente:

1. Se colocó 25 mL de agua desionizada en un tubo de plástico de 50 mL.
2. Se midió el pH inicial del agua desionizada
3. Se agregó 0.2 g del CCC de un tamaño de partícula de malla -40 +60 en el tubo que contiene los 25 mL de agua desionizada como se muestra en la Figura 1
4. Sumergir el recipiente parcialmente en un baño a temperatura controlada para mantener el sistema a 25 °C.
5. Agitar el recipiente de forma manual periódicamente (3 - 4 veces al día).
6. Medir el pH después de 12 h.
7. Inmediatamente después de medir el pH, hacer una nueva adición de muestra (cantidad indicada en paso 3).
8. Repetir cíclicamente los pasos del 3 al 7; hasta que se obtenga un comportamiento asintótico del pH o hasta que no se observen cambios significativos en el pH.



Muestras.

Figura 1 Esquema del procedimiento del Método de titulación de masa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de los puntos de carga cero.

Este método se basa en la estimación del punto de carga cero (PCC) de la superficie del carbón a partir de la medición del pH de una suspensión en la que progresivamente se incrementa la cantidad de sólido en suspensión.

En la tabla 1 se obtuvieron los P.C.C de los carbones utilizados en la experimentación, 1-32 son variaciones de carbones vegetales que se pondrán en contacto con soluciones de cianuro, carbón 33 es un carbón mineral

Tabla I Puntos de carga cero de los carbones utilizados en la investigación.

CARBON VEGETAL	P.C.C
1	2.298
2	2.644
3	0.503
4	1.935
5	1.277
6	1.589
7	3.731
8	4.72
9	4.094
10	2.669
11	3.932
12	5.58
13	3.672
14	3.846
15	3.792
16	4.074
17	3.405
18	3.746
19	1.205
20	4.551
21	1.193
22	3.207
23	4.275
24	3.012
25	3.679
26	0
27	3.491
28	3.757
29	5.057

30	6.341
31	1.434
32	3.282
CARBON MINERAL	P.C.C
33	13.09

Hay investigaciones donde se utilizan los carbones minerales teniendo un punto de carga mayor que la solución de cianuro (pH11) por lo cual la atracción de que se lleva a cabo es que el sodio que acompaña a la solución se atrae a la superficie, en cambio en nuestra investigación probamos con carbones vegetales y comprobamos que el que se atrae electrostáticamente es el cianuro de la solución esto debido que el pH de la solución es 11 y los puntos de carga son menores se atraen cargas negativas de la solución.

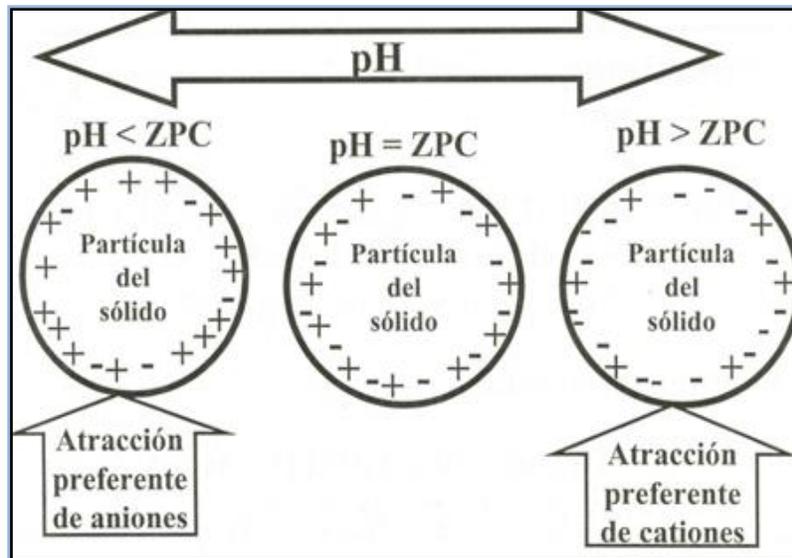


Figura 2 Esquema de representación de los P.C.C.

CONCLUSIÓN

En la determinación de los puntos de carga cero, se hicieron las determinaciones de los 33 carbones donde se puede comprobar que los carbones vegetales con puntos de carga menores que el pH de la solución atraen más rápidamente el ion cianuro de la solución

BIBLIOGRAFIA

1. Fedepalma. *Anuario estadístico 2015: La agroindustria de la palma de aceite en Colombia y el mundo*. Fedepalma.: Bogotá, 2015.
2. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. *Anuario estadístico del sector agropecuario y pesquero 2014*. Bogotá, 2014.
3. Takei, T.; Chikazawa, M. Origin of differences in heats of immersion of silicas in water. *J. Colloid Interf. Sci.* **1998**, *208*, 570-574. DOI: <https://doi.org/10.1006/jcis.1998.5880>.
4. Salame, I.; Bandosz, T. J. Surface chemistry of activated carbons combining the results of TDP, Boehm, and potentiometric titrations. *J. Colloid Interf. Sci.* **2001**, *240*, 252-288. DOI: <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7596>.
5. Boehm, H.P. Surface oxides on carbon and their analysis: A critical assessment. *Carbon*. **2002**, *40*, 145-149. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(01\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(01)00165-8).
6. Guo, J.; Chong Lua, A. Textural and chemical properties of adsorbent prepared from palm shell by phosphoric acid activation. *Mater. Chem. Phys.* **2003**, *80*, 114-119. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0254-0584\(02\)00383-8](https://doi.org/10.1016/S0254-0584(02)00383-8).

7. Jagtoyen, M.; McEnaney, B.; Stencel, J. Activated carbons from bituminous coals by reaction with H_3PO_4 : Influence of coal cleaning. *Fuel Process. Technol.* **1993**, *34*, 85- 96. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-3820\(93\)90093-J](https://doi.org/10.1016/0378-3820(93)90093-J).
8. Yoshizawa, N.; Maruyama, Y.; Yamada, Y.; Ishikawa, E.; Kobayashi, M.; Toda, Y.; Shiraishi, M. XRD evaluation of KOH activation process and influence of coal rank. *Fuel*. **2000**, *81*, 1717-1724. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0016-2361\(02\)00101-1](https://doi.org/10.1016/S0016-2361(02)00101-1).

SÍNTESIS DE ESFERAS DE BIONANOCOMPUESTO A BASE DE ALGINATO/HALLOYSITA Y SU APLICACIÓN EN LA REMOCIÓN DE Cd (II).

Alvarez Alvarez¹, J.A. y Padilla Ortega, E.²

RESUMEN

El interés en el desarrollo de nuevos adsorbentes ha ido en aumento debido a la gran problemática de la contaminación del agua. En los últimos años, los materiales bionanocompuestos han adquirido popularidad, ya que demostraron excelentes propiedades como adsorbentes y son amigables con el ambiente. Así, en este trabajo se sintetizaron bionanocompuestos basados en alginato y halloysita, y se estudió su aplicación en la remoción de Cd (II). Se logró la síntesis bionanocompuesto en forma de esferas, en las cuales el efecto de la relación alginato/halloysita demostró que con sólo un 5% de halloysita se favorecen las propiedades mecánicas de las esferas, con FTIR se identificó la formación de un nuevo enlace entre la arcilla y el polisacárido. El estudio del equilibrio de adsorción comprobó que la capacidad para adsorber Cd(II) no varió significativamente entre 5% y 50% de halloysita y que los datos experimentales siguen un comportamiento tipo Langmuir. Además, el efecto de pH en la isoterma de adsorción mostró que el aumento de pH favorece la capacidad de adsorción. Se manifestó que el mecanismo por el que se lleva la adsorción es principalmente por intercambio catiónico.

Palabras clave: Bionanocompuesto, Adsorción, halloysita, alginato

ABSTRACT

The interest in the development of new adsorbents has been increasing due to the great problem of water pollution. In recent years, bionanocomposite materials have increased their popularity, as they have shown excellent properties as adsorbents and are environmentally friendly. Thus, in this work, bionanomaterials based on alginate and halloysite were synthesized, and their application in the removal of Cd (II) were studied. Bionanomaterials synthesis was achieved in the form of spheres, in which the effect of the alginate / halloysite ratio showed that with only 5% of halloysite the mechanical properties of the spheres were augmented and with FTIR the formation of new bonds between the clay and the polysaccharide were identified. The study of the adsorption equilibrium proved that the ability to adsorb Cd (II) did not vary significantly between 5% and 50% of halloysite and that the experimental data follow a Langmuir type behavior. In addition, the effect of pH on the adsorption isotherm showed that the increase in pH enhances the adsorption capacity. It was stated that the mechanism by which adsorption is carried out is mainly by cation exchange.

INTRODUCCIÓN

Los bionanocompuestos son materiales constituidos por dos o más fases sólidas con al menos una dimensión en escala nanométrica, estos materiales se forman de la unión entre un polímero de origen natural y un sólido inorgánico. Como resultado de las interacciones a nivel nanométrico que existen entre el compuesto orgánico e inorgánico se logra que las propiedades de este nuevo material presenten una sinergia en comparación con los de partida. A diferencia de los nanocompuestos los materiales híbridos tienen la propiedad de ser biodegradables, la cual ayuda con el problema de contaminación que ha ido incrementando con el paso de tiempo, además de ser materiales renovables, algunas de las aplicaciones de estos materiales son en los implantes, liberación controlada de fármacos, el tratamiento de aguas, encapsulación de comida, entre otras cosas. (Ruiz-Hitzky, Katsuhiko, & Lvov, 2008). El Alginato es un copolímero de origen natural que se obtiene de las algas marinas marrones, estructuralmente está formado por tres bloques, dos bloques formados de homopolímeros, uno con el monómero β -D-mannuronic acid (M) y otro con el monómero α -L-guluronic acid (G), el tercer bloque está formado por heteropolímero alternado de monómeros M y G (Imeson, 2010). Entre de los sólidos inorgánicos empleados en la síntesis de materiales híbridos se encuentran las arcillas. La halloysita es una arcilla de interés en la síntesis de los híbridos gracias que es la única arcilla tubular con dualidad de carga y se encuentra en abundancia en la naturaleza, es de bajo costo y amigable con el ambiente. Está formada por capas tetraédrica:octaédrica (1:1) que ha sido enrollada debido a la temperatura que ha sido expuesta, en la parte intertubular presenta agua. En la parte exterior la arcilla se encuentra con carga negativa,

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., j.a.a.th@hotmail.com;

²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., erika.padilla@uaslp.mx.

mientras que por el interior (hueco) presenta carga positiva, esto en función del pH. La capa tetraédrica está conformada por silicatos, mientras que la capa octaédrica la forman hidróxidos de aluminio, la fórmula molecular es $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, en donde el valor de n es función de si cuenta o no con agua (Mingxian & et al., 2014). Debido a las propiedades y capacidad de adsorción que presentan estos materiales es el interés que se tienen en el empleo del material híbrido para la remoción de metales del agua, en este caso el Cd (II), ya que este es el segundo contaminante más tóxico y abundante en el agua, además de los problemas que causa como a la salud, el daño a los animales y plantas. Así, el presente trabajo tiene como objetivo la síntesis de bionanocompuesto a base de Alginato/Halloysita para la remoción de Cd (II), caracterizar los materiales resultantes, estudiar el efecto que tienen variables como pH y relación másica en el equilibrio de adsorción.

MÉTODOS Y MATERIALES

Síntesis de los de bionanocompuestos

Previo a la síntesis fue necesario preparar una solución de alginato al 2% w/v. La solución de alginato se preparó disolviendo 20 g de masa de alginato de sodio en 1 litro de agua desionizada y se colocó en agitación magnética a 200RPM y calentamiento a 60°C por 24 hrs hasta asegurar su completa disolución. Inicialmente para la síntesis de los bionanocompuestos, se colocaron en vasos de precipitado suspensiones de halloysita al 2% w/v, ésta se mantuvo en agitación durante 24 hrs y después se sometió a un tratamiento de ultrasonido para favorecer la dispersión. Se prepararon materiales con diferentes relaciones másicas (50, 70, 80, 90 y 95 % W/W) respecto al alginato y el resto es halloysita. Los materiales se nombraron según la cantidad de alginato presente, por ejemplo, el que se sintetizó con 95% de alginato y 5%w de halloysita se denominó E95%. Las soluciones de alginato y halloysita fueron mezcladas agregando lentamente el alginato a la halloysita junto con agitación constante y empleando el sonicador modelo CL-334 equipo smois vibra cell donde permaneció 10 minutos con pulsos de 10 en 10 y amplitud de 40%. Por último, las soluciones se mantuvieron aisladas y con agitación durante 3 días con temperatura de 30°C aproximadamente.

Los bionanocompuestos se prepararon en forma de perlas, las cuales se obtuvieron a partir del método de gelificación externa con 150 ml de CaCl_2 al 2%, éste se mantenía en la placa con agitación, donde goteaban la solución del bio-nanocompuesto a 6 cm de altura con la ayuda de soporte universal que sostenía la bureta; terminado el vaciado, las perlas se mantenían en la solución con la misma agitación entre 12 y 24 horas. Procedente a esto se retiró la solución de CaCl_2 de las esferas y se lavaron con agua desionizada en el Shaker orbital DLab SK 0330-pro donde permanecieron 30 minutos con agitación de 140 RPM, esto se realizó tres veces y la cuarta se mantuvo entre 12 y 24 horas con la misma agitación.

Datos experimentales del equilibrio de adsorción

Los datos de equilibrio de adsorción de los materiales de partida y las esferas del bionanocompuesto con mejor capacidad de adsorción se obtuvieron en un adsorbedor batch. Soluciones de concentraciones iniciales conocidas de Cd (II) a cierto pH y temperatura fueron preparadas a partir de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, en 40 ml de solución y 0.3 g de halloysita y para las perlas de alginato 1.5 g. Los experimentos se mantuvieron en tubos de centrifuga que se encontraban en baño termostático. Los tubos se agitaban durante 7 días en un Shaker orbital 1 vez al día a 290 RPM durante 30 minutos, después de haber sido regulado el pH a partir de soluciones de NaOH y HNO_3 . Finalmente, se tomaba muestra de solución para llevarse a analizar mediante espectroscopia de absorbancia atómica. Una vez determinadas las concentraciones iniciales y finales de Cd(II) se realizó un balance de masa para calcular la masa adsorbida: $q = \frac{v(C_0 - C_e)}{m}$ (1) donde C_0 es la concentración inicial de Cd (II) en la solución, en mg/L, C_e es la concentración de Cd (II) en equilibrio, mg/L, m es la cantidad de adsorbente utilizado, g, v es el volumen de solución en la adsorción, en L, y q es la cantidad de Cd (II) adsorbida por gramo de material, en mg/g.

Caracterización y Estabilidad

La Capacidad de intercambio catiónico (CIC) se obtuvo siguiendo el procedimiento siguiente: por triplicado se pesaron 0.5 g el material de partida y de las esferas de bionanocompuesto con mejor capacidad de adsorción totalmente secos, se depositaron en matraz Erlenmeyer de 250 ml, se le agregaron 25 ml de acetato de sodio 1 N, se agito en el Shaker orbital a 140 RPM durante 30 minutos y se mantuvieron a 25 °C esto se repitió durante tres días, posteriormente se retiró el exceso de la solución y se lavó con alcohol isopropílico, finalmente removido el alcohol

isopropílico, fue agregado 25 ml de acetato de amonio 1 N y se procedió de la misma manera que con el sodio, una vez terminado se analizó la concentración de sodio en la solución mediante espectroscopia de absorbanza atómica.

La capacidad de intercambio catiónico de los materiales de partida e híbridos se cuantificó mediante la siguiente ecuación: $CIC \left(\frac{meq}{100g} \right) = \frac{[Na^+]V100}{mPe}$ (2) Donde $[Na^+]$ es la concentración de Na^+ en la solución intercambiable, mg/L, V volumen de la solución intercambiable, L, m masa del material intercambiable, g, PE peso equivalente Na^+ (23 mg/meq).

Los materiales de partida sin y con Cd (II) adsorbido fueron llevados a un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier Thermo Scientific Nicolet is10 se obtuvieron los espectros infrarrojos de estos materiales con el objetivo de determinar qué tipo de interacción existe entre el Cd (II) y el bionanocompuesto, además de caracterizar los materiales de bionanocompuesto. Para la estabilidad las perlas se mantuvieron por 1 día a pH de 11, 7 y 5.

RESULTADOS

Caracterización

Se obtuvieron esferas de bionanocompuesto alginato/halloysita, las cuales se muestran en la figura 1. Según se observa, son esferas homogéneas y no se aprecia diferencia en el tamaño entre ellas independientemente de la relación alginato/halloysita. El tamaño puede ser influenciado por la altura a la que goteaba la solución, debido a que a mayor altura las esferas impactan con mayor velocidad en la solución de $CaCl_2$, lo que provoca desprendimiento de la gota en la solución que hace que se reduzca el tamaño.

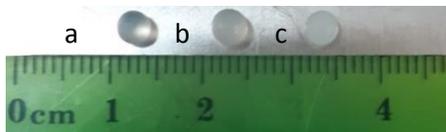


Figura 1. Esferas del gel híbrido con diferente contenido de alginato: a) alginato ; b) E95% ; c) E50%.

En la figura 2 se encuentran los resultados de la estabilidad ácida/básica de los bionanocompuestos y como se demuestra no se solubilizaron cuando se encuentran a pH ácido y/o básico, esto debido a que los grupos hidroxilo y carboxilo presentes en su estructura se encuentran entrecruzados por el catión Ca^{2+} , lo que disminuye la solubilidad y daba una de las tres propiedades importantes del alginato y permite la formación de hidrogeles. A diferencia de las esferas de los bionanocompuestos, las de alginato sí se dispersan en la solución.





Figura 2. Estabilidad de las esferas híbridas, durante un día a pH específico: a) E50% , b) E95% , c) alginato.

Para identificar las interacciones entre los materiales de partida, las esferas fueron analizadas mediante espectroscopia infrarroja, FTIR, en la figura 3a y 3b se muestran los espectros de absorbancia contra número de onda de las perlas del material híbrido sin presencia de Cd (II) y en presencia de éste, respectivamente, así como del alginato y la halloysita. En la figura 3a se muestran las bandas características de la halloysita en número de onda de 1008 cm^{-1} y 904 cm^{-1} que corresponde a extensión de Si-O y flexión de Al-O respectivamente, las bandas en 3685 cm^{-1} y 3624 cm^{-1} relacionados a extensiones de los grupos OH en su interior y en la superficie, además, en 1624 cm^{-1} vibración de tensión de grupo OH (Biao & et al, 2016). En las perlas de Alginato observamos bandas en 3242 cm^{-1} extensión del grupo OH, 1548 cm^{-1} y 1412 cm^{-1} extensión asimétrica y simétrica del grupo $-\text{COO}-$, en 1020 cm^{-1} vibración de tensión de C-O y una banda pequeña en 2926 cm^{-1} vibración de tensión CH. En los espectros de los bionanocompuestos se muestran las bandas de ambos compuestos, alginato. Más aún, la banda que corresponde al grupo carboxílico ($-\text{COO}$) muestra un corrimiento con la disminución del porcentaje de alginato a números de onda mayores, indicando la presencia de interacciones entre estos grupos y la superficie de la halloysita. En la figura 3 b se muestran los espectros de los bionanocompuestos en presencia de Cd (II), no se observa un cambio notable en este o presencia de una nueva banda, lo que puede indicar que el Cd (II) es adsorbido por atracciones débiles como las electrostáticas.

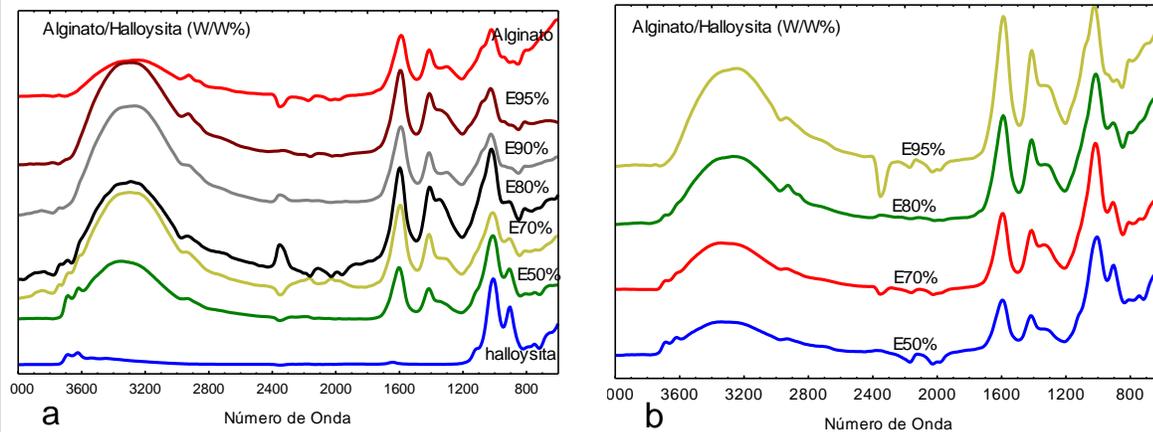


Figura 3. Espectro infrarrojo de a) bionanocompuestos sin adsorber Cd (II); b) con Cd (II) adsorbido.

La CIC de los bionanocompuestos y materiales de partida se localiza en la tabla 1 y el alginato posee una elevada capacidad de intercambio catiónico, casi 15 veces mayor a la halloysita; sin embargo, la capacidad de los materiales híbridos desde el punto de vista de la arcilla aumento 6 y 9 veces la CIC, esto gracias a la presencia del alginato, debido a los sitios activos que tienen para adsorber como los grupos funcionales del alginato, que aumentan a medida que exista mayor cantidad del biopolímero.

Tabla 1. Capacidad de intercambio catiónico a diferentes porcentajes de alginato.

Bionanocompuesto	halloysita	E50%	E95%	alginato
CIC (meq/g)	0.5 ± 0.01	3.0 ± 0.27	4.7 ± 0.04	7.7 ± 0.09

EQUILIBRIO DE ADSORCIÓN

Con el objetivo de determinar el efecto que tienen la relación alginato/halloysita en la adsorción de Cd (II), las esferas con diferente relación másica fueron agregadas a 300 ppm de Cd (II), manteniendo en todas las mismas condiciones, en la figura 4) se muestra la cantidad de Cd (II) adsorbidas por estas esferas, podemos observar la baja capacidad de adsorción que tiene por si sola la halloysita comparada con la de alginato puro que es 15 veces aproximadamente la capacidad de la halloysita, la de los materiales híbridos disminuyo en promedio 3 veces la capacidad del alginato, sin embargo desde el punto de vista de la arcilla la capacidad de adsorción se incrementa en promedio 5 veces. Además, no se observa un aumento gradual en la capacidad de adsorción conforme cambia el porcentaje de alginato en el material, para obtener el comportamiento completo de éstos materiales se eligió realizar las isotermas de adsorción de E50% y E95%. Por otro lado, en la figura 5 se muestra la masa adsorbida de Cd(II) a 300 ppm de los materiales híbridos contra la CIC y se encuentra que éstas presentan una relación lineal, es decir, al aumento de CIC mayor es la capacidad para adsorber Cd(II), este resultado podría indicar que el mecanismo de adsorción de Cd(II) sobre los bionanocompuestos, está controlado por intercambio catiónico. Los datos de equilibrio de adsorción fueron calculados a partir de la ecuación 1) y fueron interpretados a partir de la isoterma de Langmuir $q = \frac{q_m K C}{1 + K C}$ (3), donde C es la concentración de Cd (II) al equilibrio, mg/L, k es la constante de la isoterma de Langmuir, L/mg, q_m es la máxima capacidad de adsorción, mg/g. En la figura 6a y 6b se muestra esta correlación a diferente pH y porcentaje masa de alginato. Se observa que el alginato tiene alta capacidad de adsorción, cerca de 140 mg/g, a comparación que la halloysita (12.13 mg/g). En ambas figuras podemos observar que al disminuir el pH la capacidad de adsorción se reduce, esto debido a que existe una competencia en la adsorción entre H^+ y Cd (II). Estos resultados infieren que, además de la CIC de los materiales, las fuerzas electrostáticas juegan un rol importante en el mecanismo de adsorción, ya que a pH de 3 la superficie del material se encuentra muy protonada y por tal cargada positivamente y el Cd(II) es un catión, por lo que las fuerzas de repulsión aumentan, disminuyendo la capacidad de adsorción.

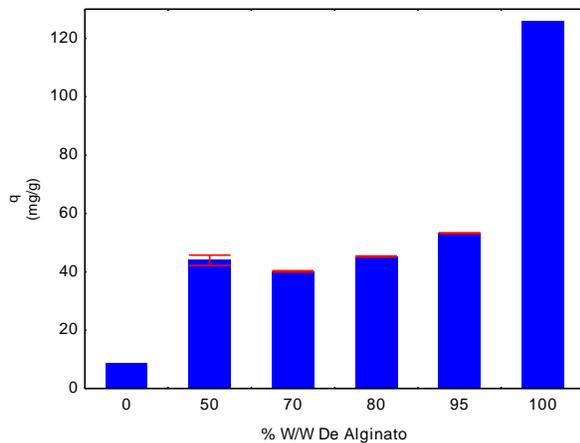


Figura 4. Adsorción de esferas de material híbrido en solución de 300 ppm Cd (II), pH= 7 y 25 °C

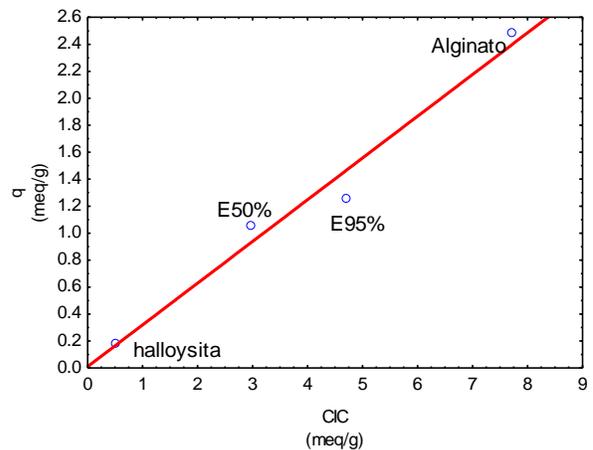


Figura 5. Adsorción a 300 ppm, pH=7 y T=25 °C contra capacidad de intercambio catiónico T=25 °C.

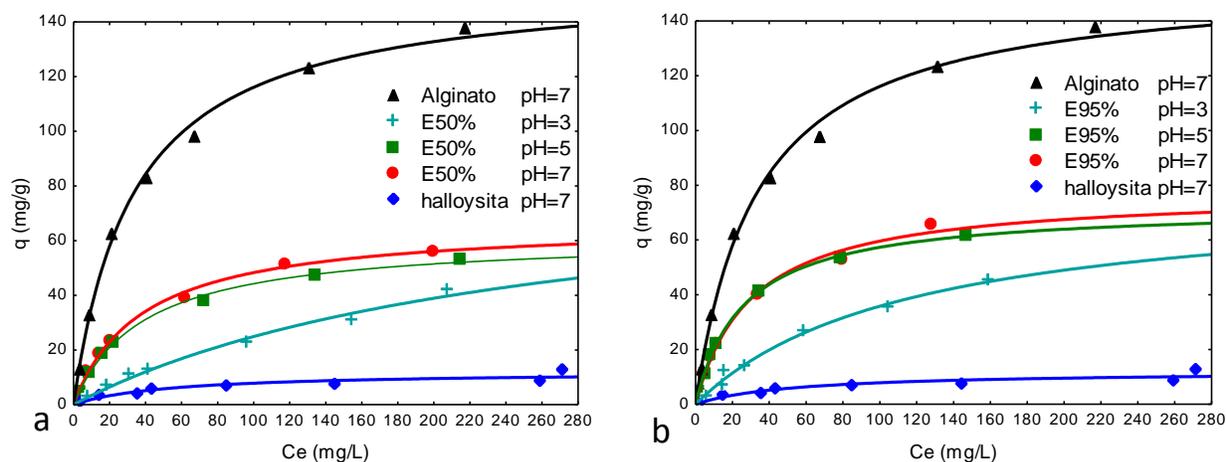


Figura 6. Efecto de pH en la isoterma de adsorción de Cd(II) a $T=25^\circ\text{C}$ sobre A) E50% y b) E95%.

CONCLUSIONES

Se logró la obtención de esferas de bionanocompuesto a partir de alginato y halloysita estables a un amplio rango de pH, con capacidad para remover compuestos tóxicos como el Cd(II). Según lo mostrado en FTIR los materiales de partida interaccionaron por atracciones electrostáticas principalmente. Los datos del equilibrio de adsorción de Cd(II), demostraron que éstos bionanocompuestos presentan hasta 9 veces más capacidad para remover Cd(II) que la halloysita, y que la masa de alginato presente en el material no dependió significativamente de la cantidad de alginato presente. Los datos de equilibrio se ajustaron a la isoterma de Langmuir, y se mostró que existe una mejor capacidad de adsorción al aumentar el pH, además de que el mecanismo de adsorción se lleva a cabo por intercambio catiónico y fuerzas electrostáticas.

BIBLIOGRAFIA

- BIAO, H., & ET AL. (2016). Effects of halloysite nanotubes on physical properties and. *Materials Science and Engineering C*, 303-310.
- IMESON, A. (2010). *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- MINGXIAN, L., & ET AL. (2014). Recent advance in research on halloysite nanotubes-polymernanocomposite. *Progress in Polymer Science*, 1498-1525.
- R, L. R. (2007). *Importancia y Aplicacion de la adsorción en la Fase Liquida*. Uniandes.
- RUIZ-HITZKY, E., KATSUHIKO, A., & LVOV, Y. (2008). *Bio-inorganic Hybrid Nanomaterial*. Federal Republic of Germany: Wiley-VCH.
- WANG, Y., & ET AL. (2014). Continuous fixed bed adsorption of Cu(II) by halloysite nanotube–alginate hybrid beads: an experimental and modelling study. *Water Science & Technology*, 192-199.

LA APLICACIÓN DE NaCl Y NaIO EN MEDIO DE CULTIVO INCREMENTA LA ASIMILACIÓN DE FOSFATO EN *Marchantia polymorpha* A TRAVÉS DE LA ACTIVIDAD DE TRANSPORTADORES DEPENDIENTES SODIO

Ambar Jiménez Hernández¹, Félix Rico Reséndiz² y Alfredo Cruz Ramírez².

RESUMEN

El fósforo es un macro-nutriente que es incorporado a diferentes compuestos orgánicos, como fosfolípidos y nucleótidos. Este elemento es captado por las raíces a través de transportadores simporte Pi/H⁺ siendo la única vía de asimilación en plantas vasculares. *Marchantia polymorpha* es una planta que pertenece a las hepáticas, recientemente se ha convertido en modelo para la investigación biológica debido a características importantes como su posición clave en la filogenia de las plantas terrestres, su fácil transformación genética, entre otras. Previamente se reportó que *M. polymorpha* tiene conservado un mecanismo de asimilación de que involucra transportadores dependientes de sodio Pi/Na⁺. Por otra parte el análisis transcripcional de la respuesta a baja disponibilidad de fósforo reveló que estos genes incrementan su expresión en condiciones de fósforo limitante. Nuestra hipótesis es que incrementando la concentración de iones sodio (Na⁺) se aumentara la asimilación de fósforo debido a la actividad de los transportadores dependientes de Na⁺. Por lo tanto, se propuso estudiar el efecto de la adición de sales de sodio (NaIO y NaCl) en la captación de fósforo. Encontrando que las sales NaCl y NaIO en medio deficiente de fósforo (-P) incrementó la cantidad de fósforo libre (Pi) por gramo de planta; mientras que en medio con suficiente fósforo (+P) no provocó un aumento significativo. Durante la estancia de investigación, se llegó a la estandarización del método para cuantificación de fósforo libre con el indicador verde malaquita, cuantificación de antocianinas y transformación genética de *M. polymorpha* utilizando la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*.

ABSTRACT

Phosphate is a nutrient that is incorporated into different organic compounds, such as phospholipids and nucleotides. This element is captured by the roots through symport transporters Pi/H⁺, being the only way of assimilation in vascular plants. *Marchantia polymorpha* is a plant that belongs to the hepatic, has recently become a model for biological research due to important characteristics such as its key position in the phylogeny of terrestrial plants, its easy genetic transformation, etc. Previously it was reported that *M. polymorpha* has conserved an assimilation mechanism that involves sodium-dependent Pi/Na⁺ transporters. On the other hand, the transcriptional analysis of the response to low phosphate availability revealed that these genes increase their expression under limiting phosphate conditions. Our hypothesis is that increasing the concentration of sodium ions (Na⁺) will increase the assimilation of phosphate due to the activity of the Na⁺ dependent transporters. Therefore, it was proposed to study the effect of the addition of sodium salts (NaIO and NaCl) on the uptake of phosphate. Finding that the NaCl and NaIO salts in phosphate deficient medium (-P) increased the amount of free phosphate (Pi) per gram of plant; while in medium with sufficient phosphate (+P) did not cause a significant increase. During the research stay, standardization of the method for quantification of free phosphate with the malachite green indicator, quantification of anthocyanins and genetic transformation of *M. polymorpha* using the bacterium *Agrobacterium tumefaciens* was reached.

Palabras clave: transportadores dependientes de sodio, *Marchantia polymorpha*, asimilación de fósforo

INTRODUCCIÓN

Desde que las plantas llegaron a la tierra se han diversificado ampliamente, alrededor de 290 mil especies vivientes que colonizaron todos los ambientes. Por otro lado, existen evidencias bioquímicas, morfológicas y genéticas que ubica a las algas verdes como el grupo del cual emergieron las plantas terrestres, específicamente las carófitas son

¹ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de ciencias Básicas; Av. Universidad # 940, Ciudad Universitaria, C. P. 20131, Aguascalientes, Ags., ambar.jimenezh@gmail.com

² Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional; Km. 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León, C.P. 36824, Irapuato, Gto.; fxricoresendiz@gmail.com y alfredo.cruz@cinvestav.mx

consideradas los parientes vivos más cercanos (Campbell & Reece, 2007). La historia de la evolución de las plantas se basa en la adaptación a un hábitat terrestre, pues conforme avanzaba el tiempo, las plantas fueron adquirieron características que las afianzaron al ambiente terrestre haciéndolas cada vez más independientes del agua tanto en las condiciones de reproducción como de dispersión (Vargas, 2011). De manera simple, las plantas terrestres pueden agruparse de acuerdo a la presencia o ausencia de un extenso sistema de tejido vascular. Las plantas no vasculares – hepáticas, antoceros y musgos- se denominan como briofitas, comparten algunas características derivadas con las plantas vasculares, como embriones multicelulares y meristemas apicales, pero carecen de innovaciones tales como las raíces y las hojas verdaderas (Campbell & Reece, 2007).

El cuerpo vegetativo de las briofitas corresponde al gametofito, que es la generación dominante con mayor diferenciación morfológica y anatómica. En el orden Marchantiales, perteneciente a las hepáticas, se presenta un gametofito taloso con ramificación dicotómica (Vargas, 2011). *Marchantia polymorpha* es una especie casi cosmopolita que se puede encontrar alrededor de zonas templadas habitadas por el hombre. En el siglo 21, aumentó el uso de esta hepática como una planta modelo para la investigación biológica debido a que ofrece muchos beneficios: ciclo de vida corto, facilidad de propagación y cruce, alta frecuencia de transformación, haploidía y recientemente un genoma secuenciado con baja redundancia genética. Las hepáticas tienen una posición central en la filogenia de las plantas terrestres, por lo que son útiles para explorar la diversidad y universalidad de diversos fenómenos biológicos desde un punto de vista evolutivo (Shimamura, 2016).

Las plantas presentan respuestas adaptativas cuando las condiciones ambientales no son favorables, como la falta de agua y nutrientes en el suelo; por ejemplo, la baja disponibilidad de fósforo en el sustrato establece un proceso de rescate que implica cambios a nivel morfológico, metabólico y fisiológico, dirigidos a aumentar la movilidad y captación del nutriente desde el sustrato, además de hacer más eficiente el uso de fosfato de la planta (Sánchez, 2006). La toma de Pi del suelo por la planta involucra la participación de transportadores membranales, cuando hay alta disponibilidad de fosfato la planta utiliza transportadores de baja afinidad para adquirirlo del medio, mientras que en condiciones de baja disponibilidad se incrementa la expresión de transportadores de alta afinidad (Rico, 2016). El fosfato del suelo es captado por las raíces de las plantas a través de un transportador simporte H^+/HPO_4^{2-} e incorporado posteriormente a diferentes compuestos orgánicos, como son: azúcares fosfato, fosfolípidos y nucleótidos (Taiz & Zeiger, 2006). Los mecanismos de transporte activo que usan Na^+ como ión motriz parecen ser un mecanismo presente en plantas adaptadas a condiciones salinas, donde el gradiente electroquímico que promueve la entrada de Na^+ puede ser utilizado para introducir nutrientes con mecanismos de alta afinidad (Rubio, 2004).

METODOLOGIA

Para analizar el efecto de Na^+ en la captación de P_i en *Marchantia polymorpha* (*tak1*), las plantas fueron sometidas a 6 tratamientos colocándolas en medio de cultivo con suficiente fósforo (+P), suplementado con NaCl y NaIO, mientras que otra parte se colocó en medio bajo condiciones de carencia de fósforo (-P), y de igual forma suplementado con NaCl y NaIO. Se utilizaron gemas germinadas de *Marchantia polymorpha* (*tak1*) colocadas en medio MS al 50% suplementado con 10 g/L de sacarosa, 8 g/L de agar y con 10 y 500 μM de K_2PO_4 para -P y +P, respectivamente. Para los medios suplementados con las sales de Na^+ , se agregó 10 micro molar de NaCl y 10 micro molar de NaIO. Las Plantas se cultivaron durante 12 y 21 días en cámaras de crecimiento Percival a 22°C y un fotoperíodo de continuo a una temperatura de 22°C. Posteriormente, se realizó la cuantificación de Pi a los 12 y 21 días utilizando el indicador Verde Malaquita. Las plantas fueron lavadas con agua Milli-Q, pesadas y maceradas con nitrógeno líquido. Se agregaron 250 μL de MES para disolver y se centrifugó a 13,200 rpm por 5 minutos. A 115 μL de solución de Molibdato (117.25 g/L $(NH_3)_6Mo_7 \cdot 4H_2O$, 3M H_2SO_4) se le adicionaron 50 μL de la muestra y 700 μL de agua Milli-Q, pasados 10 minutos se agregaron 150 μL del indicador. Dos horas después, se midió la absorbancia a 610 nm con un espectrofotómetro. A partir de los datos de absorbancias y con ayuda de la curva patrón de 0 a 500 micro molar de K_2PO_4 , se obtuvo el promedio de concentración de Pi por mg de tejido fresco.

Cuantificación de antocianinas. Las plantas sometidas a los diferentes tratamientos fueron lavadas con agua Milli-Q, pesadas y maceradas con nitrógeno líquido. Se agregaron 500 μL del buffer de extracción de antocianinas (45% metanol, 5% ácido acético y 50% agua Milli-Q para disolver. Posteriormente la muestra se centrifugó a 13,200 rpm por 15 minutos, se tomó el sobrenadante y se centrifugó nuevamente. Con el sobrenadante obtenido se midió la absorbancia a 530 y 637 nm para calcular la concentración de antocianinas por mg de tejido (ecuación 1).

$$\left(\frac{Abs_{530}}{g} F.W. \right) = [Abs_{530} - (0.25 \times Abs_{637})] \times 5 \quad (1)$$

Transformación de Marchantia polymorpha (tak1) a través de Agrobacterium tumefaciens. Se transformó mediante choque térmico la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* con los vectores MpPGW010-SPX182 y MpPGW010-SPX88, para después ser sembradas en cajas de petri con medio de cultivo selectivo (medio LB, Espectinomicina 100 mg/L). Dos días después se aplicó la técnica de PCR para comprobar la presencia del vector introducido, se pasaron a un medio líquido y se incubaron nuevamente por dos días a temperatura ambiente y agitación a 180 rpm. Posteriormente, los cultivos se centrifugaron para obtener una pastilla de *Agrobacterium*. En 50ml de medio M51C 1x suplementado con 20 g/L de sacarosa, 1 g/L de casa aminoácidos y 0.30 g/L de L-glutamina; se adicionaron 50 μ L de acetosiringona, también se agregó la pastilla de *A. tumefaciens* disuelta utilizando 1000 μ L del mismo medio, y cortes de *Marchantia polymorpha* previamente colocados en medio de inducción (medio B5 + 1% de sacarosa). Se incubaron a temperatura ambiente con agitación a 180 rpm. Después de tres días en incubación, los cortes de *M. polymorpha* fueron lavados con agua destilada estéril, para después ser lavados con antibiótico Claforán por 30 minutos. Una vez, pasado este tiempo, los cortes se colocaron en medio de regeneración con el antibiótico higromicina 10 mg/L como marcador de selección y claforán 100 mg/L para evitar el crecimiento de *A. tumefaciens*.

Análisis evolutivo de los transportadores de Pi. Se realizó una búsqueda de las proteínas relacionadas con la deficiencia de fosfato en proteomas clave distribuidos en la filogenia de las plantas utilizando el software blastP. Para disminuir los falsos positivos se filtraron los alineamientos menores a un *e-value* de 1E-30 para las embriofitas y de 1E-7 para las clorofitas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al cuantificar el Pi en *M. polymorpha* después de 12 días en los tratamientos, se encontró que las plantas que estuvieron en medio +P, +P adicionado con NaCl y +P adicionado con NaIO, presentaron poca diferencia en la concentración de Pi por miligramo de planta; sin embargo, se observó que la concentración de Pi era mayor en las plantas del medio adicionado con NaIO que en las que se encontraban en el medio adicionado con NaCl; y a su vez, estas últimas presentaban ligeramente más Pi respecto al control (figura 1). Por otro lado, las plantas que estuvieron en medio -P adicionado con NaIO presentaron 1.976 veces más fosfato que las plantas del medio -P adicionado con NaCl; y estas, presentaron 1.96 veces más Pi que las plantas del medio -P (figura 2).

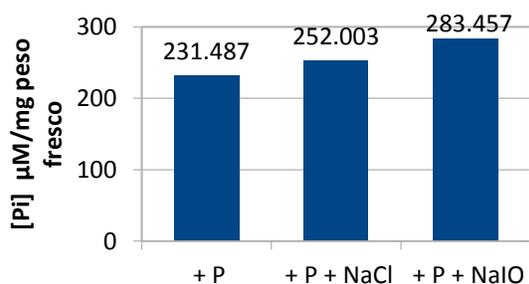


Figura 1. Promedio encontrado de la concentración de Pi por miligramo de planta en medio +P y +P adicionado con sales

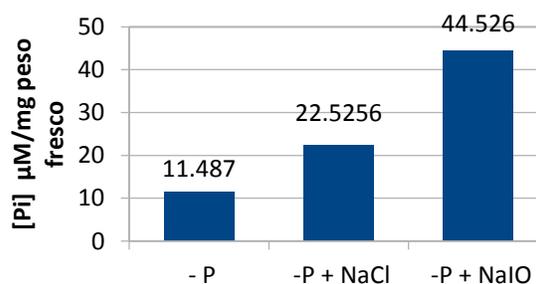


Figura 2. Promedio encontrado de la concentración de Pi por miligramo de planta en medio -P y -P adicionado con sales

Como se ha descrito en algas y en otras embriofitas como *Zostera marina* L. (Rubio, 2004), hay mecanismos de transporte activo que usan Na^+ como ión motriz, en los que el gradiente electroquímico que promueve la entrada de Na^+ puede ser utilizado para introducir nutrientes con mecanismos de alta afinidad; además, dado que en condiciones de baja disponibilidad de fosfato se incrementa la expresión de transportadores de alta afinidad, es congruente el efecto de la adición de Na^+ encontrado en las plantas colocadas en el medio con deficiencia de fosfato.

Por otro lado, al cuantificar el Pi en *M. polymorpha* después de 21 días en los tratamientos, se encontró que las plantas que estuvieron en medio +P, +P adicionado con NaCl y +P adicionado con NaIO, presentaron poca diferencia en la concentración de Pi por gramo de planta; no obstante, los medios que se adicionaron con sales se mantuvieron por arriba del medio que no las presentaba (figura 3). Por otra parte, las plantas que estuvieron en medio

-P adicionado con NaIO presentaron 2.003 veces más fosfato que las plantas del medio -P adicionado con NaCl; y estas, presentaron 1.13 veces más Pi que las plantas del medio -P (figura 4).

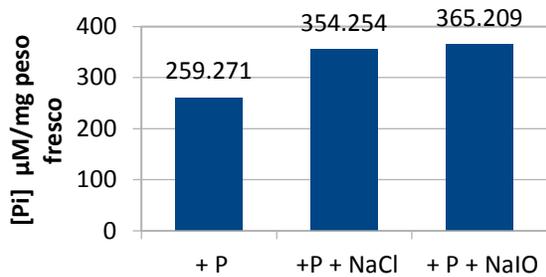


Figura 3. Promedio encontrado de la concentración de Pi por miligramo de planta en medio +P y +P adicionado con sales

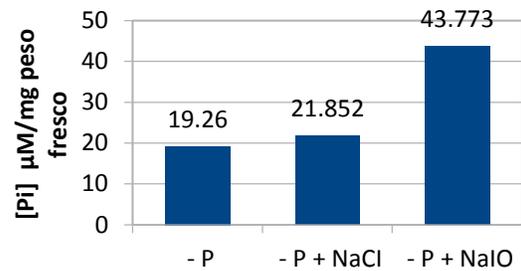


Figura 4. Promedio encontrado de la concentración de Pi por miligramo de planta en medio -P y -P adicionado con sales

Se cuantificó la presencia de antocianinas a los 12 días en incubación; sin embargo, no hubo una diferencia marcada en la concentración de antocianinas en las plantas sometidas los diferentes tratamientos. Por otro lado, en la cuantificación a los 21 días, se obtuvo un aumento en la concentración de antocianinas en las plantas incubadas en medio -P, incluyendo los adicionados con sales de sodio; esto comparado a lo que se encontró en la cuantificación a los 12 días en incubación. De acuerdo con Taiz & Zeiger (2006), cuando existe una carencia de fosfato en las plantas, las antocianinas se pueden formar en exceso provocando una coloración púrpura en las hojas; tal como se puede observar en las figuras 6, 8 y 10.



Figura 5. Plantas en medio +P con 21 días en incubación

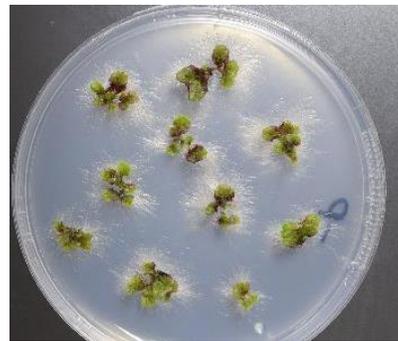


Figura 6. Plantas en medio -P con 21 días en incubación, se observa el talo con partes de color púrpura



Figura 7. Plantas en medio +P +NaCl con 21 días en incubación



Figura 8. Plantas en medio -P +NaCl con 21 días en incubación, se observa el talo con partes de color púrpura



Figura 9. Plantas en medio +P + NaIO con 21 días en incubación

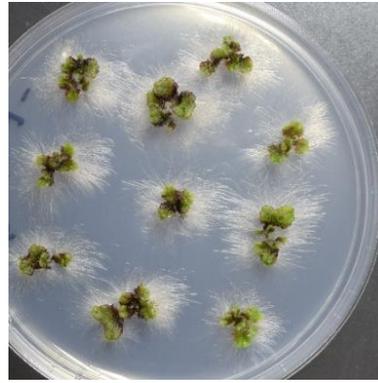


Figura 10. Plantas en medio -P + NaIO con 21 días en incubación, se observa el talo con partes de color púrpura

Respecto a la transformación de *M. polymorpha*, se realizaron observaciones a los 3 días para identificar las plantas que se mantenían verdes y mostraban desarrollo de posibles candidatos transformados, que correspondían a las plantas que posiblemente se habrían incorporado nuestro DNA de interés. Para el vector MpPGW010-SPX182 se encontró un **70.02%** en promedio de plantas tentativamente transformadas, mientras que para el vector MpPGW010-SPX88 se encontró un **86.25%** en promedio.

A continuación, se presenta la tabla 1, con el número de proteínas relacionadas con la deficiencia de fosfato y que están presentes en proteomas clave distribuidos a lo largo de la filogenia de las plantas. Después de extraer las secuencias de aminoácidos de la proteína SPX1 de distintas plantas representantes de los clados de viridiplantae, se obtuvo una hipótesis filogenética (Figura 11). La importancia de SPX1 y proteínas relacionadas es que actúan como inhibidores de PHR1 de forma dependiente de fosfato (Paz & del Pozo, 2015).

Tabla 1. Cantidad de proteínas relacionadas con la deficiencia de fosfato presentes en proteomas clave distribuidos en la filogenia de las plantas

Especie	PHR1	SPX1	PHT1
<i>Arabidopsis thaliana</i>	13	4	10
<i>Populus trichocarpa</i>	20	9	15
<i>Vitis vinifera</i>	16	5	7
<i>Medicago truncatula</i>	12	6	13
<i>Solanum lycopersicum</i>	14	5	9
<i>Zea mays</i>	16	5	13
<i>Oryza sativa</i>	16	5	14
<i>Amborella trichopoda</i>	13	3	6
<i>Selaginella moellendorffii</i>	8	4	7
<i>Marchantia polymorpha</i>	3	2	6
<i>Physcomitrella patens</i>	21	7	6
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	4	2	4
<i>Dunaliella salina</i>	3	2	0
<i>Volvox carteri</i>	5	2	1
<i>Coccomyxa subellipsoidea</i>	3	2	5
<i>Micromonas pusilla</i>	4	1	0
<i>Micromona ssp.</i>	4	2	0
<i>Ostreococcus lucimarinus</i>	3	1	0

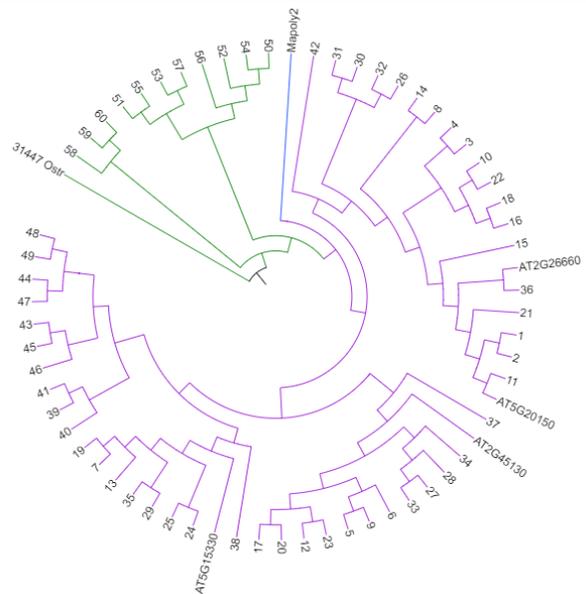


Figura 11. Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias de aminoácidos de la proteína SPX1, en verde se encuentran las algas, en morado las embriofitas y marcada en azul *Marchantia polymorpha*, la cual queda en la parte central del Reino Viridiplantae y en las embriofitas más basales.

CONCLUSIONES

- Se logró a la estandarización del método para cuantificación de fosfato libre con el indicador verde malaquita, cuantificación de antocianinas y transformación genética de *Marchantia polymorpha* utilizando la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*
- La adición de sales de sodio impacta directamente la asimilación de fosfato en ambas condiciones, sin embargo el efecto es mayor en plantas con baja disponibilidad de fosfato. Esto es probablemente debido a que en esta condición los transportadores dependientes de sodio se encuentran sobre expresados.
- El protocolo de transformación muestra alrededor de 70 % de eficiencia, tras la evaluación por PCR de las plantas regeneradas.
- Se propone transformar *M. polymorpha* y *Arabidopsis thaliana* para la sobre expresión de transportadores simporte Pi/Na⁺, para evaluar su efecto en condiciones de suficiencia de fosfato donde normalmente estos genes se expresan en niveles bajos.

BIBLIOGRAFIA

- Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2007). *Biología*. Argentina: Médica Panamericana.
- Paz, J., & del Pozo, J. C. (2015). Plantas que producen más con menos. Recuperado 10 de agosto de 2018, de <http://www.sebbm.es/revista/articulo.php?id=272&url=plantas-que-producen-mas-con-menos>
- Rico, F. (2016). *Caracterización morfo-fisiológica y molecular de la respuesta a deficiencia de fosfato en Marchantiopolymorpha (Tak-1)*. CINVESTAV, México.
- Rubio, L. (2004). *Mecanismos de transporte de nitrato, amonio y fosfato y homeostasis citoplasmática de sodio en Zostera marina L.* (Doctoral). Universidad de Málaga, España.
- Shimamura, M. (2016). Marchantiapolymorpha : Taxonomy, Phylogeny and Morphology of a Model System. *Plant and Cell Physiology*, 57(2), 230-256. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv192>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume I.
- Vargas, G. V. (2011). *Botánica General. Desde Los Musgos Hasta Los Árboles*. Costa Rica: EUNED.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen por la observación fenotípica inicial, el aporte conceptual y asesoría científica, sobre la respuesta de Marchantia a Sal, al Dr. Mario Arteaga Vázquez de la INMBIOTECA-Universidad Veracruzana, El apoyo técnico y logístico del Laboratorio del Dr. Luis Herrera Estrella del LANGEBIO-CINVESTAV, en especial a la Bióloga Araceli Oropeza Aburto. Por último, un agradecimiento especial al Comité del Verano de la Ciencia de la Región Centro por hacer posible esta colaboración.

CARBONATACION DE SULFATO DE BARIO A PARTIR DE MINERAL BARITA A WHITHERITA COMO PRECURSOR PARA LA FORMACION DE FERRITAS USANDO CARBONATO DE SODIO Y CARBONATO DE POTASIO

Martínez Vallejo Ana Bertha¹, Treviño Vera Gloria Guadalupe² y Rosales Sosa Ma. Gloria³

RESUMEN

Muestra de Barita, previamente molidas, fueron llevadas a dos etapas: lixiviación y carbonatación. En la lixiviación, se utilizó un ácido (HCl), dejándolo reaccionar por 15 minutos para eliminar impurezas como Calcio y Hierro, después el mineral se neutralizó con Hidróxido de Amonio utilizando fenolftaleína como indicador, se filtró y se dejó secar. Posteriormente, se realizó la carbonatación con Carbonato de Sodio y de Potasio, controlando ciertos parámetros. Se determinó la fracción reaccionada al precipitar con Cloruro de Bario al 10%. Finalmente, el producto se caracterizó en el Difractómetro de Rayos X.

ABSTRACT

Sample of Barite, previously ground, were taken to two stages: leaching and carbonation. In leaching, an acid (HCl) was used, allowing it to react for 15 minutes to remove impurities such as calcium and iron, then the mineral was neutralized with ammonium hydroxide using phenolphthalein as an indicator, filtered and allowed to dry. Subsequently, carbonation was carried out with Sodium and Potassium Carbonate, controlling certain parameters. The reacted fraction was determined by precipitating with 10% Barium Chloride. Finally, the product was characterized in the X-ray diffractometer.

Palabras claves: Barita, Whitherita, molino de bolas, fenolftaleína, ácido inorgánico, lixiviación, carbonatación.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con estudios fisicoquímicos previos de la carbonatación pirohidrometalúrgica del Sulfato de Bario ($BaSO_4$) y Sulfato de Estroncio ($SrSO_4$), es factible la carbonatación del $BaSO_4$ presente en el mineral de Barita. En este trabajo se utilizó el método cerámico o de conversión directa a partir del cual se llevó a cabo la carbonatación de la Barita en un medio acuoso utilizando una solución de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) en relación estequiométrica. Se partió del mineral previamente lixiviado utilizando Ácido Clorhídrico (HCl) como agente lixivante, a diferentes tiempos y a una concentración del 2 M. La carbonatación se llevó a cabo a 100 °C, y para asegurar la conversión completa se añadió un exceso de Carbonato de Sodio del 10%, así como del Carbonato de Potasio, determinando la fracción reaccionada al precipitar el ion sulfato con Cloruro de Bario al 10%. Se obtuvo una eficiencia del 92.01% de Carbonato de Bario ($BaCO_3$).

Mineral Barita ($BaSO_4$)

El Bario es abundante en la naturaleza y representa aproximadamente el 0.04% de la corteza terrestre. La Barita es el más común de los minerales que contienen bario; presenta una dureza que varía de 2.5 a 3.5; peso específico de 4.3 a 4.6; lustre vítreo, tirando a resinoso, algunas veces perlina. Su color es muy variado; blanco, blanco amarillento, gris, azul, rojo o café, café oscuro; transparente a translúcido a opaco.

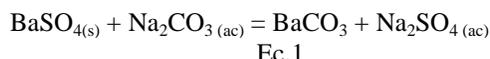
En la naturaleza la barita es la fuente principal del Bario. Este mineral comúnmente se encuentra constituido por una serie de impurezas tales como el carbonato de calcio, hierro, sulfato de estroncio, entre otros, por este motivo, para poder ser utilizado industrialmente requiere un tratamiento de eliminación de impurezas inicialmente mediante una etapa de trituración y molienda para posteriormente lixiviar el mineral obteniendo una recuperación de aproximadamente 90-97%.

¹Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila, Carretera 57 Kilómetro 5, Estancias de San Juan 25720 Monclova, Coahuila, ana_kirby24@hotmail.com

²Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila, Carretera 57 Kilómetro 5, Estancias de San Juan, Campus Universitario Autónoma de Coahuila, 25720, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

Proceso Hidrometalúrgico de obtención de carbonato de Bario

La ruta hidrometalúrgica, o proceso de conversión directa, consiste en la transformación del sulfato de Bario a carbonato de Bario en una solución acuosa de carbonato de sodio, según el equilibrio siguiente:



1.- Aplicaciones de la barita y la whiterita

La Barita se usa directamente en forma de ferritas en altavoces, en motores de corriente continua, especialmente dentro de la industria del automóvil (en elevadores de ventanilla, en motores de limpiaparabrisas o en motores de starter). También en imanes permanentes, y mayormente en máquinas de afeitar, mezcladores de café y electrodomésticos

METODOS Y MATERIALES

Previamente para obtener el carbonato de Bario, fue necesario obtener el mineral de Barita, para lo cual la Barita fue molida y tratada con ácido clorhídrico concentración 2M para la eliminación de impurezas y posteriormente neutralizada con Hidróxido de amonio para poder desechar los residuos al hacerlos amigables con el medio ambiente.

1. Molienda

Para reducir el tamaño de la partícula hasta tener una granulometría final deseada a <270 mallas se utilizó equipo que trabaja por choques, aplastamiento o desgaste. En esta etapa se llevó a cabo la disminución del tamaño de la partícula del mineral de Barita en un molino de bolas y una trituradora ambos de la marca BICO INC con el objeto de obtener el tamaño requerido con el cual se logra un aumento en el área de contacto con el lixivante.

2. Lixiviación

La lixiviación es un proceso en el cual se extrae uno o varios solutos de un sólido mediante la utilización de un disolvente líquido. Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos pueden difundirse desde el sólido a la fase líquida, lo que produce una separación de los componentes originales del sólido.

METODOLOGIA

En esta sección se presentan los métodos empleados en la realización de este trabajo de investigación:

Molienda. Etapa de disminución de tamaño de partícula del mineral

Granulometría. Se realizó un muestreo por cuarteo de mineral molido de celestita. Se colocaron 100 g de muestra en un sistema ROTAP para su análisis granulométrico. El porcentaje de cada malla se realizó por análisis gravimétrico.

Lixiviación se realizó la lixiviación del mineral con malla <270; se tomaron muestras de 50 g. La muestra se colocó en vaso de precipitado de 250 mL Se utilizó Ácido clorhídrico en concentración 2 M en agua destilada. Las muestras de digirieron durante 15 min cada una de ellas en estufa de agitación magnética; Se añadió 3 gotas de fenolftaleína como indicador y se agregó Hidróxido de amonia concentrado para la neutralización posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman No.40 y embudo buchner utilizando filtración rápida y bomba de vacío, FRANKLIN ELECTRIC Mod. 115 V, 1/8 HP, RP; 1725, en seguida se lavaron con 10 mL de agua destilada caliente, el papel filtro se colocó en un vidrio de reloj y se dejó evaporar el agua en un desecador. Las muestras secas se pesaron y se calculó la cantidad de impurezas eliminadas en el proceso.

Carbonatación. Para esta etapa, se colocaron 35 g de la muestra lixiviada y desecada en un matraz Erlenmeyer de 500 mL con una solución de carbonato de sodio calculada estequiométricamente y con un 10 % de exceso, se midió el pH debiendo estar mayor de 12, posteriormente se colocó en una parrilla de agitación magnética marca

LABTECH DAIHAN LABTECH Co. LTD, Model LMS-1003 127V 60 Hz 500W/5ª Serie No. 2016062451. Este mismo procedimiento de carbonatación se realizó para la muestra con Carbonato de Potasio.

RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación, se resumen los resultados obtenidos correspondientes a las diferentes etapas de este trabajo de investigación

1.- Trituración y molienda

Molienda. Para la etapa de disminución de tamaño de partícula del mineral se utilizó un equipo pulverizador de alta velocidad con el objeto de obtener un tamaño de partícula menor a 75 μ m. El tamaño de partícula inicial del mineral triturado fue de aproximadamente 125 μ m de diámetro.

2.- **Granulometría.** Se realizó un muestreo por cuarteo de mineral molido de Barita. Se colocaron 100 g de muestra en un sistema ROTAP para su análisis granulométrico. El porcentaje de cada malla se realizó por análisis gravimétrico.

3.- **Lixiviación.** Como fase inicial y etapa preliminar se realizó la lixiviación del mineral con malla, para eliminar impurezas propias del mineral, se llevó a cabo empleando HCl con concentraciones de 2M, con tiempos de 15 min y con agitación magnética, se tomaron 6 muestras de 50 g. La muestra se colocó en un vaso de precipitado de 250 mL con 100 mL de HCl, 2M según correspondiera a la muestra, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 1. Muestra los resultados obtenidos y porcentajes de eliminación de impurezas, con la temperatura, tiempo y concentración para las dos primeras muestras tratadas cada una de 50 g.

No. muestra	Cantidad de BaSO ₄ obtenida de la lixiviación	Cantidad de impurezas= %	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Concentración [M]
1	46.005	3.995= 7.99%	100	15	2
2	46.369	3.631 = 7.262%	100	15	2

De las pruebas preliminares de lixiviación, en los resultados de la tabla 1 se observa que en la muestra 1 con temperatura de 100 °C y 15 minutos de tratamiento y concentración 2M se eliminó la mayor cantidad de impurezas

4.- Carbonatación.

Se determinó la fracción reaccionada en un rango de tiempo de 30, 60, 90 y 120 min, haciendo precipitar con cloruro de bario al 10% el ion sulfato, sacando en cada intervalo una muestra de 3 mL agregando 25 mL de agua y añadiendo 1 mL de ácido clorhídrico concentrado para acidularla con 2 mL de cloruro de Bario al 10% y calentándola a punto de ebullición por 2 minutos, seguido de filtración con embudo Fisher y papel filtro whatman No.40, se pesó y se cuantificó. A la muestra final que contenía la totalidad del carbonato de bario convertido se filtraron con papel filtro Whatman No.40 y embudo buchner utilizando filtración rápida y bomba de vacío, FRANKLIN ELECTRIC Mod. 115 V, 1/8 HP, RPM 1725, se desecó a temperatura ambiente y se pesó. Registrando los resultados en la tabla 2. Se determinó la eficiencia de la reacción y se llevó a caracterización por DRX.

Tabla 2. Muestra los resultados obtenidos en cada carbonatación, de acuerdo a la muestra que se tomó en cada tiempo

MUESTRA	30 min	60 min	90 min	120 min	CARBONATO DE ESTRONCIO OBTENIDO	% DE RENDIMIENTO o eficiencia
1 Na ₂ CO ₃	0.0826	0.167	0.453	0.565	32.775 g	100 del % esperado
Total de Carbonato obtenidos después de 2 horas.						
2 K ₂ CO ₃	0.21	0.284	0.358	0.499	33.186 g	101
Total de Carbonato obtenido después de 2 horas.						

CARACTERIZACIÓN

Análisis inicial. Difracción de Rayos X. Para la determinación de la composición de las muestras se utilizó un Difractómetro de Rayos X D8 Advance marca Bruker. El equipo se manejó en un rango de 2θ de 20-100, con un incremento (step) de 0.020° y con un incremento de tiempo (step time) de 1.2 segundo a una temperatura de 25°C . En la figura 1 podemos apreciar el difractograma de la barita sin tratar, en la que podemos apreciar que nuestro mineral consta específicamente de carbonato de bario y sulfato de bario.

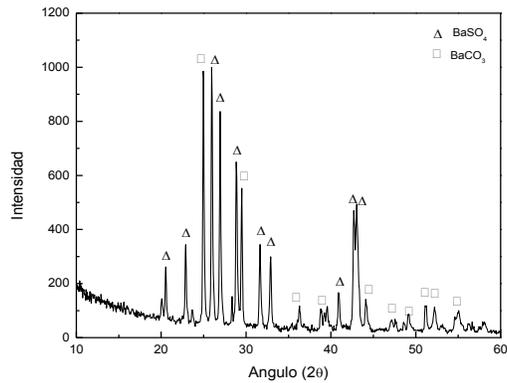


Figura 1. Patrón de difracción de Barita sin tratar

Una vez lixiviado el mineral de Barita se prosiguió a carbonatar la misma empleando soluciones de carbonato de sodio (Na_2CO_3), a temperatura ambiente por dos horas y se tomaron muestras de avance de la reacción o fracción reaccionada a los 30, 60, 90 y 120 min. Utilizando Cloruro de Bario al 10% y 1 ml. de HCl concentrado con 3 ml de muestra. El mismo tratamiento se hizo también usando carbonato de potasio para carbonatar el mineral de barita. Después las muestras de mineral de barita tratadas cada una con carbonato de sodio y carbonato de potasio, se pasaron al difractor de rayos x donde se observaron las fases presentes. En la figura 2, el difractograma en color rojo, corresponde a la barita tratada con carbonato de sodio, en este podemos encontrar que la mayoría de los picos corresponden a la fase sulfato de bario según carta 96-901-4008 software match 1.10. Los picos y sus intensidades son muy parecidos al de la barita sin carbonatar. La línea negra corresponde al difractograma de la barita lixiviada y carbonatada con carbonato de potasio, en donde podemos observar que prácticamente se presentan las mismas fases que en difractograma para la barita tratada con carbonato de sodio, por lo que concluimos que la fase predominante también en este caso es el sulfato de bario.

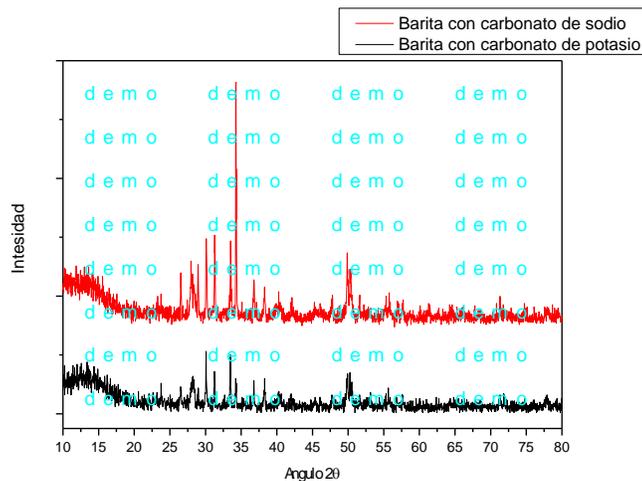


Figura 2. Patrón de difracción de la Barita carbonatada con carbonato de sodio y con carbonato de potasio

CONCLUSIONES

- 1.-El lixiviante ácido clorhídrico 2M es la concentración óptima ya que se obtiene más muestra lixiviada y más carbonato de Bario a los 15 minutos y al tratarla con carbonato de sodio y carbonato de potasio.
- 3.- La lixiviación con agitación magnética es propicia ya que se atrapan partículas de hierro en el agitador magnético, que no alcanzan a eliminarse con el agente digestor.
- 4.- La formación de carbonato de Bario es factible según el estudio termodinámico obtenido del software HSC5.1 de Química y corroborado con MEDUSA, sin embargo, si resulta difícil con estas condiciones transformar todo el sulfato de bario a carbonato de bario, esto lo podemos corroborar en los difracto gramas obtenidos de las muestras carbonatadas
- 5.- Este trabajo continuo en proceso buscando el reactivo adecuado, para eficientar el proceso de conversión total.

BIBLIOGRAFIA

- [1] México. Coordinación General de Minería. Perfil de Mercado de Barita. Dirección General de Promoción Minera, México, Agosto, (2006). 35p
- [2] http://mx.news.yahoo.com/s/27082008/38/negocios-empresa-canadiense_explotam-xico-mayor-mina-barita-mundo.html.
- [3] Hendricks C. and Amarakoom. V., Processing of Mn, Zn. Ferrites for High Frequency Switch-Mode Power Suplies, Cer Bull. 70(5) (1991) pp817
- [4] Gaona Jurado S., Sandoval D., Caneiro A,(2007). Efecto de la ruta de Síntesis en la obtención de polvos cerámicos nanométricos de hexaferritas de bario Scientia et Techica año XIII, No. 36
- [5] Sandoval D., Gaona S., Caneiro A. “Síntesis y Caracterización de Hexaferrita de Bario por el Método de Combustión”, Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales (2008); 28(1): 29-37
- [6] Facundo I., Treviño G., Rosales M., Carrillo F. y García M. “Tratamiento Químico y Térmico de la Celestita para formar Ferritas Magnéticas de Estroncio”, XXI Congreso Internacional INAGEQ, CIA, UNAM, (2010)
- [7] Camargo, R. “Estudio comparativo de algunas ferritas obtenidas por el método citrato” Tesis, (2011)
- [8] Rosales, M. Rivera, J, Rangel, Y. Dávalos, A. “Estudio de la síntesis de compuestos precursores de la ferrita de bario usando un proceso hidrotérmico”, Tesis (2017)
- [9] Perry, R. “Manual del Ingeniero Químico”, vol.III séptima edición, Editorial McGraw Hill pag.18-67

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Erythrina coralloides* CON CONSORCIOS BACTERIANOS

Ana Claudia Lizbeth García Jaime¹ y Victoria Hernández-Hernández².

RESUMEN

El Bosque Tropical Caducifolio es una comunidad vegetal prioritaria en el estado de Guanajuato para su mantenimiento, cuidado y restauración debido a su importancia y sobreexplotación. Muchas especies representativas de esta comunidad vegetal tiene algún uso para la sociedad, ya sea maderable, medicinal o comercial, un ejemplo de esto es *Erythrina coralloides* la cual tiene importancia medicinal. El propósito del estudio fue evaluar la germinación de semillas de *E. coralloides* inoculadas con un consorcio bacteriano. Después de la siembra de las semillas se observó una mayor tasa de germinación en las semillas inoculadas con el consorcio C1, además de un mayor crecimiento de la raíz e hipocótilo. Se realizó una prueba de t en el programa minitab y se observó una diferencia significativa entre los valores ($p < 0.05$). Por lo que se pudo comprobar la eficacia del consorcio C1 para promover la germinación en semillas de *E. coralloides*.

Palabras clave: Bosque Tropical Caducifolio, hipocótilo, Raíz.

ABSTRACT

The Tropical Deciduous Forest (BTC) is a priority plant community in the state of Guanajuato for its maintenance, care and restoration due to its importance and overexploitation. Many representative species of this plant community have some use for society, whether timber, medicinal or commercial, an example of this is *Erythrina coralloides* which has medicinal importance. The purpose of the study was to evaluate the germination of seeds of *E. coralloides* inoculated with a bacterial consortium. After sowing the seeds, a higher germination rate was observed in the seeds inoculated with the C1 consortium, in addition to a greater growth of the root and hypocotyl. A t test was performed in the minitab program and significant difference between the values was observed ($p < 0.05$). Therefore, the effectiveness of consortium C1 to promote seed germination in *E. coralloides* was proven.

Key words: Tropical Deciduous Forest, hypocotyl, root.

INTRODUCCIÓN

El bosque tropical caducifolio (BTC) es una vegetación propia de climas cálidos y esta dominada por especies arborescentes que pierden sus hojas en la época seca del año y ocupa aproximadamente el 8% de la superficie de la República Mexicana (Rzedowski, 2006). Gran parte de las especies del BTC presentan algún uso para la sociedad (Montúfar, 2016). El género *Erythrina* es usado en México debido a sus propiedades medicinales, los órganos vegetales más usados por la medicina tradicional son la corteza y las hojas, seguidos del fruto y las semillas, aunque en menor medida (Carranza y Blanco, 2000). Se sabe que uno de los principales procesos para el crecimiento y protección de las plantas se da a través de su relación con las rizobacterias, las cuales estimulan el crecimiento y la salud vegetal (Rojas-Solís, 2013).

Debido a la importancia del BTC como ecosistema y a la sobreexplotación a la que esta expuesto es necesario encontrar métodos que permitan protegerlo y restaurarlo, el objetivo de estudio fue la evaluación de la germinación de *E. coralloides* mediante la inoculación de un consorcio bacteriano, esto con el fin de promover la propagación de especies representativas de este tipo de vegetación.

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Laboratorio de Ecología Molecular y Bioprospección: Carretera Irapuato-Silao Km 12.5, Col. El Copal. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. ana_ak120@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Laboratorio de Ecología Molecular y Bioprospección. Departamento de Biología. Carretera Irapuato-Silao Km 12.5, Col. El Copal. Victoria Hernández Hernández. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. vihernandez@itesi.edu.mx

MARCO TEÓRICO

La diversidad biológica en México ha sido ampliamente reconocida, particularmente en el número de especies de vertebrados y plantas que habitan en su territorio, esta riqueza y complejidad se presentan también en los espacios geográfico y ecológico en que habitan estas especies. El estado de Guanajuato, por su posición geográfica forma parte de tres provincias fisiográficas y geológicas de México. La vegetación principal por debajo de los 2 000 msnm es el bosque tropical caducifolio (BTC) (Zamudio, 2012) el cual se puede desarrollar en climas secos, la temperatura media varía entre los 20 a 29°C. la precipitación varía entre los 300 y 1,200 mm de lluvia con 5 a 8 meses secos entre diciembre y mayo (Koleff et al., 2004). Este tipo de vegetación tenía una amplia distribución en el Bajío, sin embargo, debido a la actividad agrícola, se ha desplazado y ahora se encuentra muy fragmentado en localidades aisladas o se ha convertido en vegetación secundaria (Zamudio, 2012). La tasa de deforestación anual para el BTC es de entre 1.4 y 2% (Pineda-García et al., 2007).

Las plantas han desarrollado estrategias complejas para lograr su supervivencia en un medio en constante cambio. Las interacciones entre el modelo en desarrollo de cada especie y las condiciones ambientales en donde crecen son censadas y transmitidas por una compleja red de diferentes receptores (Lenton, 1998). Las bacterias presentes en la rizósfera y que presentan la propiedad de estimular el crecimiento y la salud vegetal reciben el nombre de Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (Santoyo et al., 2012). Un consorcio microbiano es un conjunto de diversas especies de microorganismos que interactúan para su mutuo beneficio. En un mismo consorcio es posible encontrar diversas funciones y habilidades metabólicas, debido a la variedad de microorganismos allí presentes, lo cual permite la realización de un trabajo en conjunto (López et al., 2003).

MÉTODOLÓGÍA

Obtención y germinación de las semillas.

Se realizó una salida de campo para la recolecta de semillas, en árboles sanos de la especie en estado de fructificación, obteniendo un aproximado de 160 semillas; y para confirmar la viabilidad de las semillas se hizo una prueba de flotabilidad (Landis, et al., 1998), y el sembrado de las semillas fue un el sustrato formado por lama, hojarasca y perla (2:1:1).

Se sembró un total de 150 semillas, las cuales fueron desinfectadas mediante una solución de hipoclorito al 11%, la mitad de las semillas se usaron como el control y los 75 restantes fueron inoculadas con el consorcio bacteriano C1 obtenido en un trabajo previo; posteriormente se realizó el riego a diario, ambos grupos de semillas fueron regados con agua, la toma de datos se llevó a cabo cada tercer día.

Análisis estadístico.

Se hizo una prueba de t de Student de comparación de medias, para observar si existen diferencias significativas en la germinación de las semillas entre el control y el consorcio con el programa estadístico de Minitab® 18.1.0

RESULTADOS

La especie en estudio pertenece a la familia Fabaceae, a continuación se presenta la descripción botánica.

Erythrina coralloides Candolle

Nombre común: Colorín, Patol

Árbol o arbusto caducifolio, mide de 7 a 10 metros de altura; copa redondeada de 6 a 8 metros de diámetro, tronco quebradizo y muy ramificado. Hojas pinnado-trifoliadas, alternas, peciolos usualmente estriados, folíolos de borde entero, cartáceo a coriáceo. Flores perfectas, solitarias o en fascículos de 2 a generalmente 3, constituyendo pseudoracimos compuestos. Cáliz campanulado o tubular, a menudo asimétrico, con margen entero o pentadentado. Androceo con 10 estambres monadelfos o diadelfos, anteras introrsas; gineceo generalmente falcado; ovario fusiforme con pubescencia variada. Semillas ovoideas de color anaranjado a rojo intenso (Figura 1).

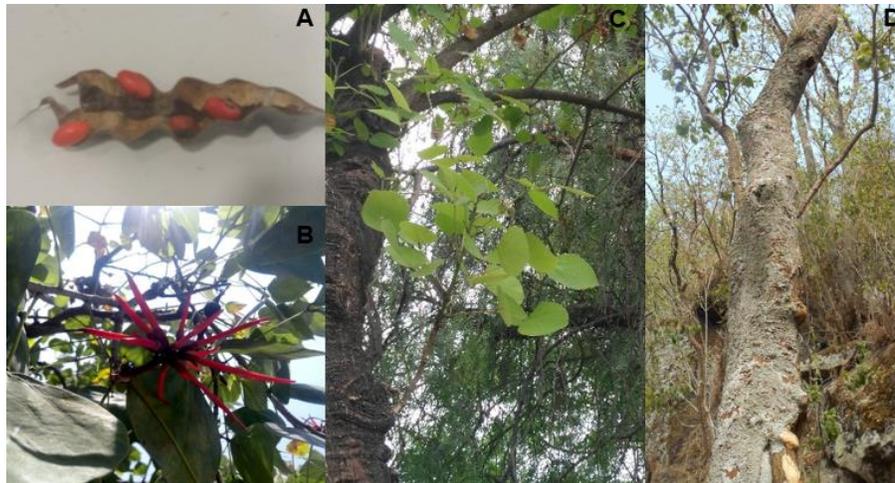


Figura 1. *Erythrina coralloides*. A. Semilla en vaina, B. Flor, C. Hoja, D. Tronco

Germinación de las semillas

En las semillas inoculadas la germinación inicio entre 14 y 16 días después de la siembra (Figura 2), está se fue incrementando hasta que se estabilizó entre los 25 y 26 días post-siembra. El mayor porcentaje de germinación en *E. coralloides* fue de un 73% en el día 30 con el consorcio 1, en cuanto al control los resultados fueron de 30% (Figura 3). Esto indica un aumento de hasta un 43% en la germinación y una aceleración del rompimiento de la testa de hasta 2 días en aquellas semillas inoculadas con el consorcio bacteriano.



Figura 2. Germinación de la semilla de *E. coralloides*

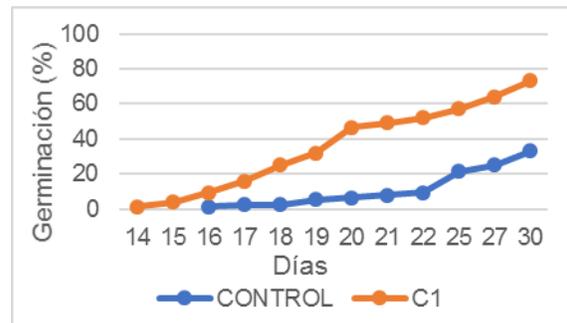


Figura 3. Porcentaje de germinación por día de *E. coralloides*

Con el fin de evaluar los efectos del consorcio C1 en el desarrollo temprano de las plántulas de la especie de estudio se realizaron mediciones de raíz e hipocótilo. El crecimiento de la raíz fue mayor en aquellas a las que se les aplico el consorcio las cuales alcanzaron una longitud promedio de 23.23 mm, 7.6 mm mayor al promedio alcanzado por el control (15.54 mm). Para el análisis estadístico se hizo una prueba de t de Student, la cual dio un valor de $p=0.03$, con lo cual se comprueba que existe una diferencia significativa entre el control y el tratamiento (Figura 4)

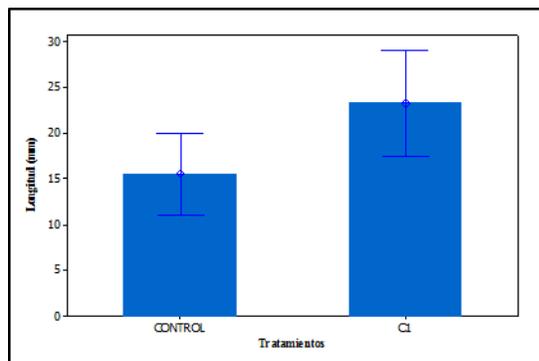


Figura 4. Tamaño de raíz de *E. coralloides*

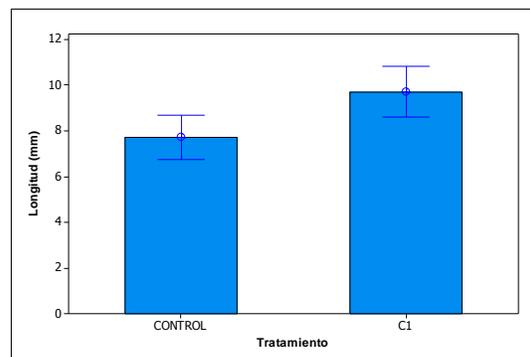


Figura 5. Longitud de hipocótilo de *E. coralloides*

En cuanto al tamaño del hipocótilo *Erythrina* presentó una diferencia entre las medias de las plántulas del tratamiento y el control (9.7 mm y 7.7 mm, respectivamente) de 1.99 mm. Al evaluar estos resultados mediante la prueba de t se encontró un valor de $p=0.008$ lo cual indica una diferencia significativa entre los promedios de ambos grupos de plántulas (Figura 5).

DISCUSIÓN

El tratamiento con el consorcio bacteriano C1 permitió alcanzar un mayor porcentaje de germinación final y una germinación más rápida en la especie estudiada, una de las características de este consorcio fue capacidad de las cepas para producir auxinas. Burgos et al. (2009) menciona que las fitohormonas pertenecientes a las auxinas contienen propiedades estimulantes de la germinación y el crecimiento ya que permiten la división celular acelerada, sobre todo al nivel del embrión de la semilla. Por otra parte, el control tuvo una germinación de más del 20%, esto es mayor a lo reportado para otras especies de la familia Fabaceae, como lo reportado por Oliva et al. (2006) En *Pithecellobium dulce* y *Samanea saman* los cuales obtuvieron una germinación menor al 20% en ensayos de germinación de semillas sin ningún tratamiento. *E. coralloides* inició la germinación a los 14 días después de la siembra y alcanzó un 73% total a los 30 días de post-siembra, esto difiere a lo encontrado por Terrones et al., (2006) que obtuvieron una tasa de germinación de 80% a los 18 días de la siembra en especies de la misma familia, así como a lo dicho por Hernández (2017) quien observó germinación a los 3 días de la siembra realizada en verano con un ambiente relativamente controlado, esto puede explicar las diferencias entre el presente estudio y el anteriormente mencionado ya que las semillas de las dos especies estudiadas se sembraron en un ambiente no controlado donde las temperaturas elevadas afectaron la germinación.

En el caso del crecimiento de la raíz y el hipocótilo se observó una clara diferencia entre el consorcio C1 y el control. Si bien se tienen pocos estudios sobre germinación y sobrevivencia de semillas de las especies de estudio con consorcios bacterianos, como el realizado por Hernández (2017) en el cual se usaron dos consorcios bacterianos para promover la germinación de dos especies (*Lysiloma microphyllum* y *Albizia occidentalis*) de la familia Fabaceae presente en el BTC, quien obtuvo un porcentaje de germinación mayor al 90% en ambas especies, se tiene el registro de que para algunas especies de la familia Fabaceae el crecimiento de estas estructuras de manera natural es lento (Moreno y Paradowska, 2009), lo cual coincide con lo observado en el control de la especie analizada en este estudio.

CONCLUSIONES

El porcentaje de germinación observado en el presente estudio mostró un incremento en las semillas inoculadas con el consorcio bacteriano obtenido, además se observó un mayor crecimiento en la raíz e hipocótilo de las plántulas resultantes en comparación con aquellas que no recibieron tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Burgos, A. M., Cenóz, P. J. y Prause, J. (2009). Efecto de la aplicación de auxinas sobre el proceso de enraizamiento de estacas de dos cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). UDO Agrícola, 539-546.
- Carranza González, E. y Blanco García, A. (2000). Bombacaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Instituto de Ecología, A. C. Centro Regional del Bajío. Facultad de Biología. Fascículo 90.
- Hernández Vaca, B. A. (2017). Germinación y sobrevivencia de especies arbóreas del bosque tropical caducifolio inoculadas con consorcios bacterianos. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, México.
- Koleff, P., Soberón, J. y Smith, A. (2004). Biodiversidad Amenazada II: Nuevas ecorregiones terrestres prioritarias del mundo. Cemex-Agrupación Sierra Madre, México, 62-68.
- Landis, T., Tinus, R. W. y Barnett, J. P. (1998). Seedling propagation. The container tree nursery manual, 166-171.
- Lenton, T. M. (1998). Aeophysiological model of marine nitrate, phosphate and atmospheric oxygen regulation. Tied to the green ocean.
- López, T., Domínguez, L. y García, J. (2003). Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario, en la producción de vinagre. Departamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV, 37-41.
- Montúfar López, A. (2016). Copal de *Bursera bipinnata*. Una resina mesoamericana de uso ritual. Instituto de Antropología e Historia, 45-77.
- Moreno, C. P. y Paradowska, K. (2009). Especies útiles de la selva baja caducifolia en las dunas costeras del centro de Veracruz. Madera y Bosques, 21-44.
- Oliva, L. L., Zarich, N., Martínez, N. Jorge, R. y Castillo, A. (2006). The P34G mutation reduces the transformin activity of K-Ras and N-Ras in NIH 3T3 cells but not of H-Ras. Unidad de Biología Celular. Centro Nacional de Microbiología, 50-62.
- Pineda-García, F., Arredondo-Amezcu, L. y Ibarra-Manríquez, G. (2007). Riqueza y diversidad de especies leñosas del bosque tropical caducifolio El Tarimo, Cuenca del Balsas, Guerrero. Revista Mexicana de Biodiversidad, 129-139.
- Rojas-Solís, D., Contreras-Pérez y Santoyo, G. (2013). Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. Biológicas, 36-41.
- Santoyo, S., Jaime, L., Plaza, M., Herrero, M., Rodríguez-Meizoso, I., Ibañez, E. y Reglero, G. (2012). Antiviral compounds obtained from microalgae commonly used as carotenoid sources. Journal of Applied Phycology, 731-741.
- Zamudio Ruiz, S. (2012). La biodiversidad de Guanajuato: Estudio de estado. Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE). México, 21-55.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se pudo desarrollar gracias al apoyo de la beca proporcionada por el programa, Verano de la Ciencia y a las instalaciones del Laboratorio de Ecología molecular y bioprospección y Xicotencatl Camacho Coronel por su apoyo.

EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DEL pH Y LA TEMPERATURA EN LA ELECTRODEPOSICIÓN DE QUERATINA EXTRAIDA DE RESIDUOS DE POLLO EN PLACAS DE ACERO AISI304.

Olmos Ramírez Ana Isabel¹ y Toledo Manuel Iván²

RESUMEN

En México la actividad agropecuaria ha cobrado gran importancia durante los últimos años como parte fundamental de la economía. La avicultura ha tenido un repunte muy importante al grado de desplazar a la carne de cerdo y de bovino, sin embargo, al aumentar la producción avícola, se ha incrementado grandes volúmenes de plumas, las cuales se consideran como un desecho altamente contaminante si no se tiene una adecuada disposición. En trabajos previos del grupo de trabajo se ha comprobado el uso de queratina extraída de plumas de pollo como inhibidor de la corrosión, sin embargo, no se cuenta con información suficiente de la influencia que tiene la temperatura y el pH en la electrodeposición de queratina, por lo cual, en este trabajo se estudió la variación de dichos parámetros en la electrodeposición de queratina en placas de acero AISI304. Los pH al cual se trabajaron fueron 4, 7 y 13 con tres temperaturas (25°C, 50°C y 80°C), la cantidad de queratina depositada se determinó por método gravimétrico. Los resultados muestran que existe una influencia de la variación del pH y la temperatura en la cantidad de queratina depositada sobre el sustrato, siendo a condiciones de pH 4 y temperatura de 25°C la que presentó mayor protección.

ABSTRACT

In Mexico, farming has gained great importance over the past years as a fundamental part of the economy. Poultry farming has had a very important rebound to the extent of moving the meat of pork and beef, however, increasing poultry production, large volumes of feathers, has increased, which are considered as a scrap highly polluting if you don't have a proper provision. In previous work group works found the use of keratin extracted from feathers of chicken as corrosion inhibitor, However, there is sufficient information of the influence that has temperature and pH on the electrodeposition of keratin, Therefore, in this work we studied the variation of these parameters in the electrodeposition of keratin in AISI304 steel plates. The pH worked which were 4, 7 and 13 with three temperatures (25° C, 50° C and 80° C), the amount of deposited keratin was determined by gravimetric method. The results show that there is an influence of the variation of pH and the temperature in the amount of keratin deposited on the substrate, being at pH 4 and temperature of 25°C the that presented greater protection.

Palabras Clave: Electrodeposición, Corrosión, temperatura, pH y Queratina.

INTRODUCCIÓN

En México la actividad agropecuaria ha cobrado gran importancia durante los últimos años como una parte fundamental de la economía y de las actividades primarias en el campo mexicano. La avicultura ha tenido un repunte muy importante al grado de desplazar a la carne de cerdo y de bovino, siendo la carne de pollo la de mayor preferencia y consumo por la población consumidora de tales productos cárnicos [1]. Sin embargo, al aumentar la producción avícola, se ha incrementado grandes volúmenes de plumas, las cuales se consideran como un desecho altamente contaminante si no se tiene una adecuada disposición.

Durante el procesado de las aves de corral se genera materiales de desecho como son: plumas, vísceras y órganos de animales sacrificados, aguas residuales del procesado y los biosólidos. La mayoría de estos subproductos

¹ Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable. Blvd. Cuitzeo de los Naranjos 401. Col. Cuitzeo de los Naranjos, C.P.36976. Abasolo Gto. isabelramirez1781296@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Departamento de Ingeniería en Energías Renovables. Blvd. Cuitzeo de los Naranjos 401. Col. Cuitzeo de los Naranjos, C.P.36976. Abasolo Gto. ivan.toledo@tecabasolo.edu.mx

pueden proporcionar nutrientes orgánicos e inorgánicos de valor si se gestionan y reciclan correctamente. Sin embargo, también dan lugar a potenciales problemas de salud ambiental y humana como fuentes de elementos, vectores para insectos y parásitos, y microorganismos patógenos [2].

Por otra parte, el fenómeno de corrosión consiste en el proceso de deterioro de materiales metálicos mediante reacciones químicas o electroquímicas, la corrosión tiene muchas repercusiones a nivel económico, ambiental, de seguridad y de conservación de materiales, por lo que su estudio y mitigación es de suma importancia. Los inhibidores de la corrosión son compuestos químicos que en pequeñas cantidades pueden retardar la degradación de metales en ambientes hostiles; los inhibidores orgánicos han sido ampliamente utilizados debido a la capacidad de estos compuestos para prevenir la corrosión en diversos ambientes corrosivo [3].

En trabajos anteriores del grupo de trabajo se evaluó el uso de queratina extraída de plumas de pollo como inhibidor de corrosión en medio básico. El estudio consistió en depositar queratina mediante la técnica de electrodeposición química a 2 V. durante 20 minutos. La cantidad de queratina depositada a dichas condiciones fue de 0.316 g, las pruebas de inhibición se realizaron mediante la técnica de curvas de polarización de Tafel obteniendo como resultados una velocidad de corrosión de 0.201797 mpy [4].

En este proyecto se estudió la influencia de pH y la temperatura en la deposición de queratina extraída de plumas de pollo con el fin de incrementar la cantidad de queratina a depositar y la relación de esta con el poder de inhibición.

MARCO TEORICO

Plumas de pollo. Las plumas contienen una alta cantidad de queratina que abarca más de un 70% de su peso. Posee un valor biológico nutricional bajo, pero tiene aplicaciones cosmetológicas, agrícolas, entre otras [4].

Queratina. La queratina está constituida principalmente por aminoácidos como son: treonina, arginina, valina y leucina con altos valores de cisteína, y con valores bajos de histidina, lisina y metionina. Los hidrolizados a partir de residuos de plumas de pollo pueden llegar a contener hasta un 88% de proteína que corresponde a la α -queratina [5]. La queratina es una proteína con cualidades como resistencia a agentes ambientales, propiedades hidrofóbicas en agua, ácidos débiles y álcalis y puede ser un disolvente orgánico y resistente al ataque de enzimas proteolíticas como es el caso de la tripsina o pepsina [6]. Existe 2 tipos de queratina las cuales son: α y β queratina que poseen estructura primaria, secundaria y terciaria. La α posee característicamente puentes de disulfuro que brinda gran resistencia, se puede encontrar en materiales como la lana de oveja, el cabello, las uñas y la piel [4].

Estructura general de la queratina. La queratina posee interacciones intermoleculares por puentes de hidrogeno, enlaces salinos que ayudan a mantener unos los aminoácidos en distintos segmentos a nivel macromolecular en las proteínas, además de tener la capacidad de transmitir las cargas a través de enlaces intermoleculares y siendo un sustrato estructural con muy buenas propiedades mecánicas [6].

Corrosión. La corrosión involucra movimiento de iones metálicos en la solución a través de zonas activas en el metal de carga positiva (cátodo) y zonas menos activas con carga negativa (ánodo) causando desgaste en materiales y estos son atacados por medios agresivos ya sean por exposición al dióxido de carbono que es el tipo de corrosión dulce, en H₂S (ácido sulfhídrico). La corrosión es un proceso mediante el cual los materiales y minerales se reducen/degradan químicamente o electroquímicamente por acción del medio en el que se encuentran, se convierten en subproductos (óxidos, hidróxidos, etc.) estables termodinámicamente, pero inestables al entrar en contacto con sustancia que destruyen las características químicas (ácidas y alcalinas) de estos, ocasionando una liberación de iones de hidrogeno [7].

MÉTODOS Y MATERIALES

Recolección de la materia prima. Se utilizaron plumas de pollo ya recolectadas con anterioridad y previamente lavadas.

Lavado y secado. Ya que las plumas usadas ya estaban previamente lavadas, se colocaron en un recipiente, posteriormente se agregaron 50ml de peróxido de hidrogeno (30%) en 4 litros de agua, dejándolo reposar por un tiempo de 30 minutos. El exceso de peróxido se eliminó realizando lavados con agua y se dejó secar a temperatura ambiente. En la figura 1 se puede apreciar el proceso de este lavado y secado de las plumas.

Reducción del tamaño de las plumas. Una vez realizado el secado de las plumas se procedió a reducir el tamaño de las muestras con ayuda de una licuadora industrial.

Hidrolisis método sulfuro de sodio. La extracción de queratina (figura 1) se realizó siguiendo el procedimiento de sulfuro de sodio descrito por Poole y colaboradores [8]. El cual se describe a continuación: agregar 5g de plumas y 50 ml de solución acuosa de 3 g de sulfuro de sodio a un frasco de polietileno de boca ancha. El frasco con la mezcla se tapó y se sujetó sobre una plataforma móvil donde se agito la mezcla por un día a temperatura ambiente. La suspensión obtenida se filtró con papel filtro, el filtrado se recogió en un frasco de vidrio de 500 ml, al cual se le adició 2.5 ml de peróxido de hidrogeno al 30%. El recipiente se tapó y se agito por 50 minutos a temperatura ambiente. Luego la mezcla anterior se acidifico hasta obtener pH 4.8 adicionando ácido sulfúrico al 20%. La solución formada se decantó por 48 horas y posteriormente se filtró. El sólido se lavó con 50 ml de agua destilada, la mezcla de filtrado y el agua de lavado se neutralizo con hidróxido de sodio diluido (hasta pH 7) y se dejó reposar por 48 horas. La suspensión se filtró, y el sólido se lavó con 50 ml de agua destilada, el filtrado se agito por 3 horas y se decantó por un día. Hecho esto se filtró la suspensión en papel filtro y el filtrado se aforo a 200 ml. Esta es la solución acuosa de queratina obtenida.

Caracterización de queratina por espectrofotometría. Los análisis espectrofotométricos se realizaron con la ayuda del espectrofotómetro UV-Vis (RoHs UV-500PC) en un rango de longitud de onda de 190-900 nm con el fin de determinar la presencia de otros compuestos en la solución.

Deposición de queratina sobre la placa AISI304. La deposición de queratina (figura 2) se realizó mediante la técnica de electrodeposición a diferentes valores de pH y temperatura (tabla1), para lo cual se utilizó como ánodo una placa de aluminio y como cátodo una placa de acero inoxidable AISI304. La deposición se llevó acabo a un potencial de 2 V. por un periodo de exposición de 20 minutos. A continuación, se extrajo la placa y se colocó a 60°C durante 15 minutos.

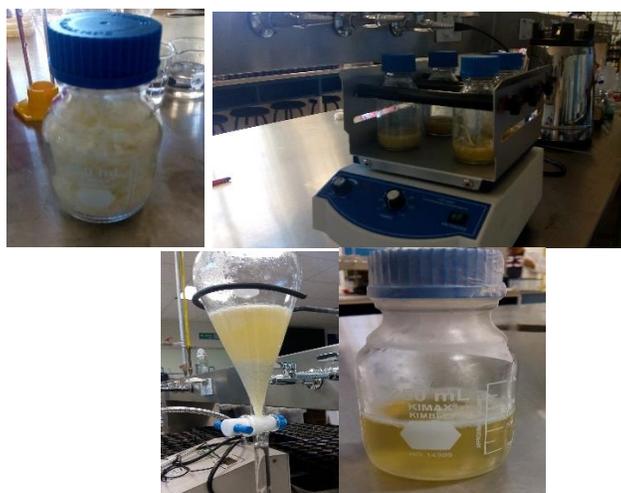


Figura 1. Extracción de queratina mediante Hidrolisis

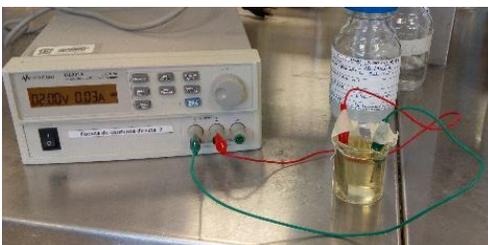


Figura 2. Electrodeposición.

Tabla 1. Valores de las variables para la electrodeposición.

	Variables	
	pH	Temperatura (°C)
Prueba 1	7	52
Prueba 2	4	25
Prueba 3	13.3	80

RESULTADOS

Caracterización de queratina por espectrofotometría. En la figura 3 se muestra el espectro de absorción de la queratina absorbida. Se puede observar un pico de absorción a una longitud de onda de 300nm, un poco desplazado a lo reportado en bibliografía el cual es de 280nm. Este desplazamiento pudo deberse a condiciones de análisis como impurezas presentes en la muestra y equipo de medición.

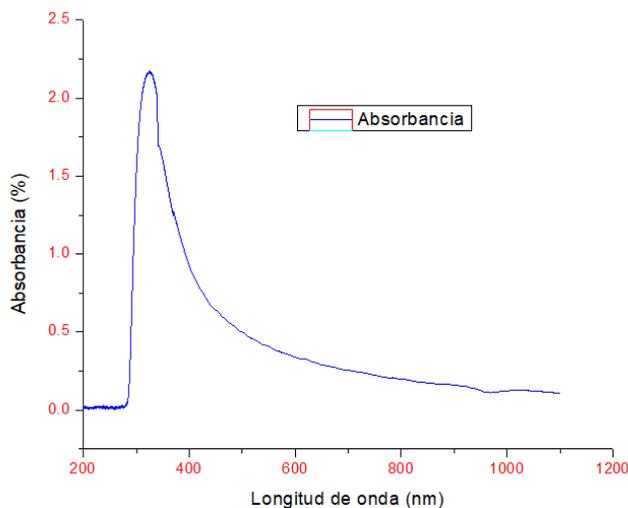


Figura 3. Espectro de absorción UV-Vis de la solución de queratina extraída.

Para la determinación de la cantidad de queratina depositada sobre el sustrato, se pesaron cada una de las placas antes y después del tratamiento electroquímico. La deposición en cada placa fue diferente, debido a las modificaciones que se les hicieron en las dos variables, tal como se muestra en una tabla 1. En la tabla 2 se puede observar los pesos obtenidos antes y después de la electrodeposición y la diferencia que hay en cada uno de ellos.

Tabla 2. Diferencia de los pesos de las placas después de la electrodeposición.

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
W0 (gr)	1.7360	1.8307	1.7755	1.7364
w1 (gr)	1.7365	1.8300	1.7752	1.7362
Diferencia (gr)	0.0005	-0.0007	-0.0003	-0.0002

Como se puede observar en la tabla 2, las diferencias entre los pesos de la prueba 2, 3 y 4 son negativos, aparentando que no se había depositado queratina sobre las placas, para corroborar esto, se realizó una prueba de herrumbre, con lo cual se demostró que efectivamente se había depositado cierta cantidad de queratina debido a que al sumergirla en ácido esta presentaba poco desgaste en comparación con el blanco (placa sin recubrir). Por lo cual el peso negativo obtenido pudo haberse debido a errores de pesado o de equipo. Cabe mencionar que para la prueba 4 la electrodeposición se realizó con un voltaje inicial de 30 V finalizando con 2 V debido a errores en el proceso, por lo que dicha placa posterior al tratamiento de deposición presentaba aspectos de quemadura; por lo cual, se optó por realizar otra prueba con el mismo pH y la misma temperatura sin excluir dicha placa para la prueba de herrumbre.

La prueba de Herrumbre consistió en pesar las placas antes y después del tratamiento con ácido sulfúrico 1M (H_2SO_4) por un tiempo de 150 minutos (Figura 4). Tras transcurrir este tiempo se enjuagaron y se secaron a temperatura ambiente para posteriormente realizar el proceso de pesado. La figura 5 muestra las placas de acero posterior al tratamiento, se puede observar que las prueba 2 y 3 (tabla 1) fue la que presentó mayor protección contra la corrosión en comparación a la placa sin previo tratamiento, dicho resultado se puede corroborar con los datos obtenidos en a tabla 3.



Figura 4. Placas sumergidas solución para prueba de Herrumbre.

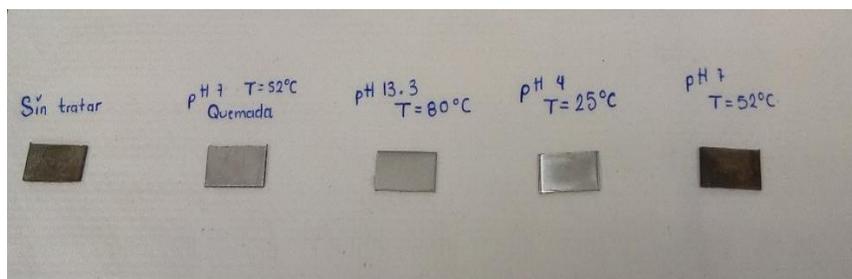


Figura 5. Visualización de las placas después de la prueba de herrumbre.

Tabla 3. Diferencia de pesos de las pruebas después del Herrumbre.

	pH 7	pH 7	pH 4	pH 13.3	Sin tratar
--	------	------	------	---------	------------

	52°C (Quemada)	52°C	25°C	80°C	
w1 (gr)	1.7206	1.7362	1.8300	1.7752	1.6820
w2 (gr)	1.7196	1.7284	1.8300	1.7751	1.6722
Desgaste (gr)	0.0010	0.0078	0.00	0.0001	0.0098

En la tabla 3 se puede observar las diferencias de peso de las placas, la placa tratada a pH 4 no presenta diferencia de peso, lo cual nos dice que la velocidad de corrosión es muy mínima.

CONCLUSIONES

La temperatura y el pH tienen una influencia sobre la deposición de queratina en placas de acero AISI304. A condiciones de electrodeposición a pH =4 y T= 25°C se observó menor velocidad de corrosión en medio ácido. A condiciones de pH=7 y T=52°C se observa mayor velocidad de corrosión en comparación a cada una de las placas recubiertas con queratina.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Instituto Tecnológico Superior de Abasolo por el préstamo de las instalaciones para la realización del proyecto y a la secretaria de Innovación, Ciencia y Educación Superior por la beca obtenida en el programa el Verano de la Ciencia Región Centro.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Pérez S. F., Hernández F.E., Montoya G.L., Melgoza S.D. and Jiménez S. D. (2014). Aportaciones en Ciencias Sociales: Económicas y Humanidades. Universidad Autónoma de Chapingo. ISBN: 978-607-12-0354-0.
- [2] Charles Michael Williams. Gestión de residuos de aves de corral en los países en desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/poultry/Environment.html>. Fecha de consulta: mayo 2017.
- [3] Mohammed H., Othman A., Ahmed A., Al-Amieryb, Yasmin K., Al-Majedyb, Abdul Amir H., Kadhuma, Mohamada A. B., Tayser S. G. 2018. Synthesis and characterization of a novel organic corrosion inhibitor for mild steel in 1 M hydrochloric acid. Results in Physics 8, 728–733.
- [4] Tafoya M.A., Toledo, I., & Ambrosio, J. (2018). Evaluación de queratina extraída de plumas de pollo como inhibidor de corrosión (Tesis de pregrado, Licenciatura). Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, México.
- [5] Machuca Loja, G., Madrid Celi, B., & Sanmartin Galvan, D. (2016). Queratina a partir de la hidrólisis enzimática de harina de plumas de pollo, utilizando queratinasas producidas por *Bacillus subtilis*. *Unemi*, 9(20), 50–58. Retrieved from file:///C:/Users/SUKASABOSQUE/Downloads/Dialnet-QueratinaAPartirDeLaHidrolisisEnzimaticaDeHarinaDe-5774759.pdf
- [6] Quintero-curvelo, G. A., Huertas-díaz, W. A., & Ortega-david, E. (2017). Artículo de investigación Procesamiento de plumas de pollo para la obtención de queratina Processing of chicken feathers to obtain keratin Resumen, 81–87.
- [7] Hernández-Alvarado, L. A., Lomelí, M. A., Hernández, L. S., Miranda, J. M., Narváez, L., Díaz, I., Escudero, M. L. (2014). Caracterización y comportamiento frente a la corrosión de recubrimientos de ácido fítico, obtenidos por conversión química, sobre sustratos de magnesio en solución fisiológica. *Revista de Metalurgia (Madrid)*, 50(2), 1–8. <https://doi.org/10.3989/revmetalm.012>
- [8] Poole, A. J., & Church, J. S. (2015). The effects of physical and chemical treatments on Na2S produced feather keratin films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 99–108.

APLICACIÓN DE ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DEL CÁNCER

García Echegaray Ana Luisa ¹ y Navarro Contreras Hugo Ricardo ²

RESUMEN

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial y fue responsable de 8,8 millones de muertes en el año 2015. En todo el mundo, casi 1 de cada 6 muertes es debida a un cáncer. El inaccesible diagnóstico y tratamiento, es común en algunos pacientes en etapas primeras o incluso últimas, por lo que la estimación del nivel de ácido siálico (AS) en saliva puede ser útil como un biomarcador de enfermedades relacionadas con células cancerígenas, en este caso el cervicouterino.

Este estudio demuestra la viabilidad de la espectroscopía Raman con superficie mejorada (SERS) respecto a la cuantificación de ácido siálico presente en saliva de pacientes sanos y enfermos utilizando nanopartículas de plata.

Palabras clave: Ácido siálico, SERS, Cáncer.

ABSTRACT

Cancer is the second leading cause of death worldwide and was responsible for 8.8 million deaths in the year 2015. Around the world, nearly 1 in 6 deaths are due to cancer. The inaccessible diagnosis and treatment, is common in some patients in early or even late stages. So the estimation of the level of sialic acid (AS) in saliva can be useful as a biomarker of diseases related to cancer cells, in this case cervical cancer.

This study demonstrates the viability of Raman spectroscopy with improved surface (SERS) with respect to the quantification of sialic acid present in saliva of healthy and sick patients using silver nanoparticles.

Keywords: Sialic acid, SERS, Cancer

INTRODUCCIÓN

Los ácidos siálicos comprenden una familia de más de 50 carbohidratos naturales que son derivados del ácido neuramínico de nueve carbonos (ácido 5-amino-3,5-didesoxi-d-glicero-d-galactononulónico). Una rama de la familia de ácido siálico está N-acetilada para formar ácidos N-acetilneuramínicos, que son la forma más común de ácido siálico en humanos. (Ekaterina Vinogradova et al., 2014) Los niveles de ácido siálico (SA) presentes en saliva son importantes para el diagnóstico y análisis de diferentes enfermedades malignas. Los glucanos sialilados están implicados en muchos procesos biológicos, su expresión por las células tumorales a menudo se asocia con una mayor agresividad y potencial metastásico de los tumores.

La combinación de la nanotecnología con la espectroscopía de vibración molecular, la espectroscopía de dispersión Raman mejorada en la superficie (SERS) posee ventajas inherentes en especificidad molecular y alta sensibilidad que se origina a partir de nanoestructuras plasmónicas. Dado que la espectroscopía SERS puede proporcionar información molecular rica para comprender la interacción biomolecular, el metabolismo celular y los cambios aberrantes en los biomarcadores durante los procesos biológicos, esta técnica se ha utilizado ampliamente para investigar biofluidos, células, tejidos órganos e incluso in vivo. Especialmente, se ha demostrado un gran interés en el diagnóstico precoz, la identificación de los márgenes tumorales y la evaluación terapéutica. (Liang et al., 2018).

El cáncer cervicouterino es el cuarto cáncer más común entre las mujeres a nivel mundial, cuando se detecta en una etapa temprana, la tasa de supervivencia de cinco años para las mujeres con cáncer cervicouterino invasivo es del 92%. Alrededor del 46% de las mujeres con cáncer cervicouterino son diagnosticadas en una etapa temprana. Si el cáncer cervicouterino se ha diseminado a los tejidos o órganos circundantes y/o a los

¹Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Autónoma de Coahuila, carretera Torreón-Matamoros km 7.5, C.P. 27000, Torreón, Coahuila, analuisa00@live.com.mx; ²Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT), Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Álvaro Obregón 64, San Luis Potosí, S.L.P. 78000., MEXICO; ³Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Chapultepec 1570, Col. Privadas del Pedregal, C.P 78295, San Luis Potosí, S.L.P, hnavarro@uaslp.mx.

ganglios linfáticos regionales, la tasa de supervivencia de 5 años es de 57%. Si el cáncer se ha diseminado a una parte lejana del cuerpo, la tasa de supervivencia de 5 años es del 17%..

METODOLOGIA.

Síntesis de nanopartículas esféricas de plata por el método de Turkevich.

1. Se prepararon 7.5ml. de solución de nitrato de plata (AgNO_3) a 2.5mM con agua desionizada.
2. Posteriormente se elevó la temperatura en cada tiempo teniendo un control hasta llegar a los 95°C .
3. Se prepararon 7.5ml. de solución de citrato trisódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 2.5mM. y se introdujo en la solución.
4. La solución tornó a un color amarillo claro e inmediatamente se presentaron diferentes colores tales como naranja y café hasta por último llegar a un color gris lechoso.

Síntesis de nanopartículas en forma de “semillas” de oro por el método de Turkevich.

1. Se prepararon 10ml de ácido tetracloroáurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) partiendo de una solución madre.
2. Después, se introdujo a la placa de metal, controlando la temperatura hasta el punto de ebullición aproximadamente a 95°C .
3. Posteriormente se prepararon 10 ml. de la solución citrato trisódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
4. Cuando se observaron las burbujas por el punto de ebullición, inmediatamente se le agregó el citrato trisódico pasando por las paredes del vial.
5. Por último se observaron cambios de color café oscuro a un color rojo vino.

Lavado de nanopartículas.

1. Primeramente se filtró la solución únicamente una vez para mejorar resultados por medio de un sistema de filtrado utilizando papel filtro (marca Whatman) y bomba de vacío.
2. Posteriormente se colocó la solución en un tubo falcón hasta su máxima capacidad y se llevó a centrifugación por aproximadamente 3 minutos.
3. Se retiró el sobrenadante, dejando únicamente el precipitado de las partículas.
4. Se lleno el tubo con 5 ml. de agua desionizada y se llevó nuevamente a centrifugar durante aproximadamente 3 minutos
5. Se retiró el sobrenadante con cuidado de no retirar el precipitado y se introdujo 5ml de agua desionizada
6. Por último se colocó una pequeña muestra diluida con agua desionizada en el equipo DLS, para observar el tamaño de las nanopartículas.

Equipo Dispersión dinámica de luz, DLS (Marca Malvern Zetasizer Nanoseries).

1. Se depositó en celdillas de plástico las nanopartículas de plata y oro disueltas en agua desionizada.
2. Posteriormente se midió el tamaño de nuestras nanopartículas de Ag y Au.
3. Para tener mejores resultados también se midió el potencial zeta.
4. Por último se interpretaron nuestros resultados.

Equipo espectroscopía UV-VIS (Marca Red Tide USB650 Fiber Optic Spectrometer).

1. Se depositó en dos celdillas de plástico disueltas en agua desionizada nuestras muestras de nanopartículas de Ag y Au respectivamente.
2. Se observaron los plasmones superficiales. Para el oro esto se produce a longitudes de onda en torno a 520 nm mientras que para la plata está en torno a 420 nm (Murray & Barnes, 2007).
3. Al finalizar la medición se interpretaron los resultados.

[Escriba aquí]

Equipo de *Microscopía* Electrónica de Transmisión de Barrido STEM (Marca Helios G4 CX)

1. Se utilizaron dos rejillas Foamvar de 200 mallas con recubrimiento de carbono.
2. Se colocaron con micropipeta las AgNps y AuNps en las rejillas respectivamente, y se dejaron secar.
3. Se depositaron las rejillas en el STEM.
4. Por último, se observó la morfología.

Equipo Espectroscopia Raman SERS. (Marca Xplora plus-Horiba)

1. Se colocaron en diferentes orificios del sustrato de aluminio, las AgNps, AuNps disueltas en agua desionizada, así como también las disoluciones de ácido siálico, y las salivas a medir.
2. Se enfocó con el objetivo 10x, se utilizó el láser de 532 nm , en un rango de 800-1800, en 20s con una rejilla de 1800 gr/mm
3. Se interpretaron resultados.

Lavado de salivas en Centrífuga (Marca DLAB)

1. Se toman las muestras de saliva previamente colocadas en tubos eppendorf. y se equilibra la centrifuga.
2. Se centrifuga durante 10 min la muestra.
3. Para cada muestra de saliva se utilizan pipetas diferentes, después se retira el sobrenadante y se coloca en otro tubo eppendorf previamente etiquetado..
4. Por último se desecha la biomasa ya que es ahí donde se encuentran diversos componentes de la saliva que no necesitamos.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

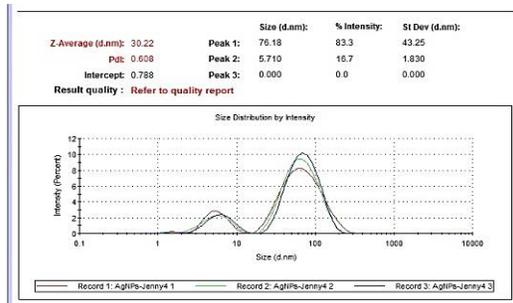


Fig 1. Tamaño de AgNps,

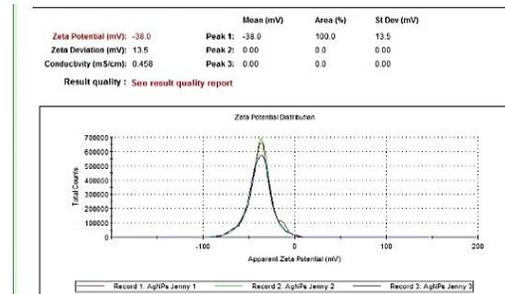


Fig.2 Potencial Z de AgNps,

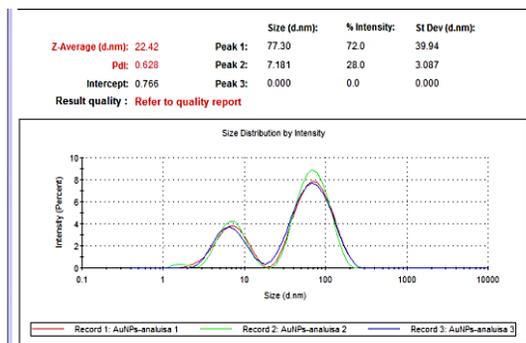


Fig.3 Tamaño de AuNps,

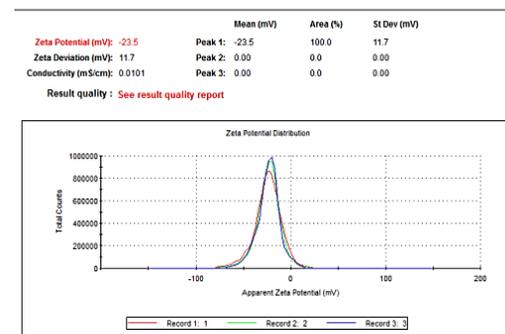


Fig.4 Potencial Z de AuNps

[Escriba aquí]

Resultados DLS.

Como observamos en la Fig.1 El 83.3% es correspondiente al tamaño de 76.18nm. En la fig.2 señala que el 100% corresponde a un potencial z de -38.0.

En la fig.3 se demuestra que el 72% correspondiente al tamaño es de 77.30nm., así como también en la figura.4 señala que el 100% corresponde al potencial z de -23.5.

Resultados Uv-Vis.

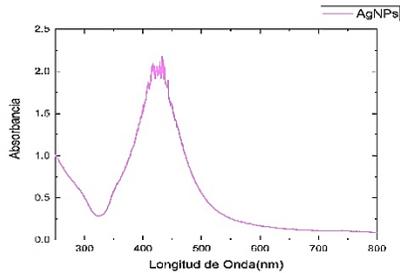


Fig.5 Plasmon de resonancia obtenido de AgNps.

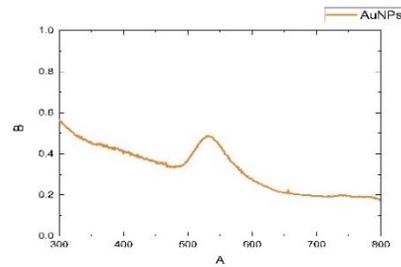


Fig.6 Plasmon de resonancia obtenido de AuNps

Como se muestra en la fig.5, la longitud de onda se encuentra en aprox. 420nm y en la fig.6 se encuentra en 530nm. Por lo cual es una correcta medición

Resultados Stem.



Fig.7 Morfología de AgNPs

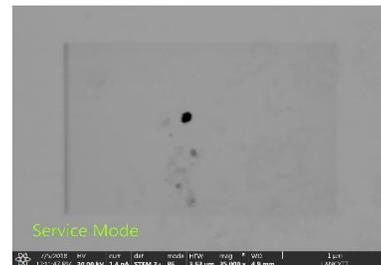


Fig.8 Morfología de AuNPs

Se observo morfología cuasi esférica en las AgNps y en forma de semillas en las de Au.

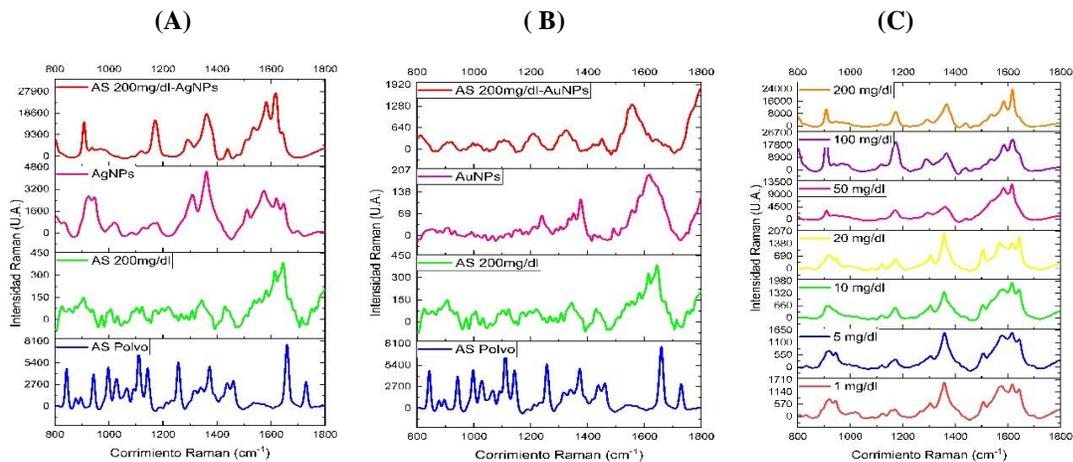


Fig.9 (A,B) Curvas de calibración especificando el ácido siálico en polvo y las soluciones de AgNps y AuNps respectivamente. (C) Calibración de ácido siálico y AgNps en diferentes concentraciones.

[Escriba aquí]

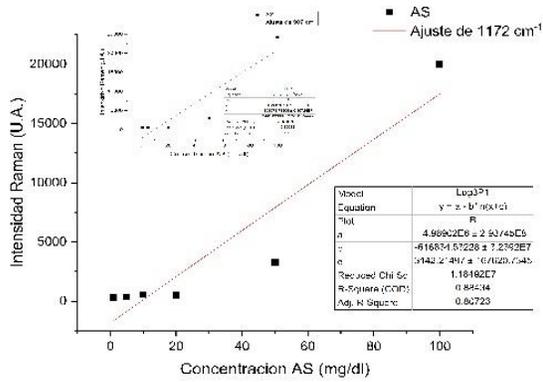


Fig.10 Ajuste en la curva del pico 907cm^{-1} , 1172cm^{-1}

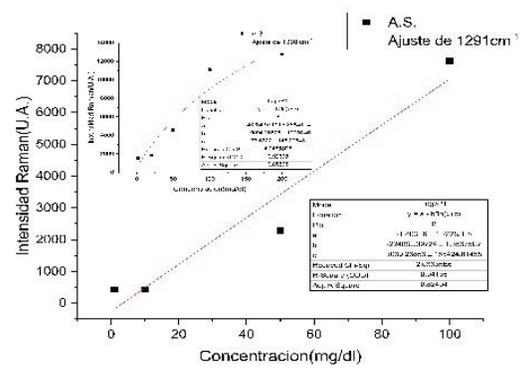


Fig.11 Ajuste en la curva del pico 1291cm^{-1} , 1360cm^{-1}

En las imágenes se señala el ajuste de la curva mediante el programa Origin, utilizando la formula $y = a \cdot b^{\ln(x+c)}$, Arriba de .6 se indica buen ajuste, en este caso se observó de .8 lo cual corresponde a un correcto ajuste.

Resultados de salivas.

Tabla 1. Resultados de la paciente (1) con cáncer cervicouterino etapa IIIB

ñPACIENTE	PROMEDIO (AS)
(1)	26.4144

Tabla 2. Resultados de la paciente (2) con cáncer cervicouterino etapa IIIA

PACIENTE	PROMEDIO (AS)
(2)	15.777

Tabla 3. Resultados de la paciente (3) con cáncer cervicouterino etapa IIA

PACIENTE	PROMEDIO (AS)
(3)	13.9219

Tabla 4. Resultados de la paciente (4) siendo la demostración de mi propia saliva sin antecedentes de cáncer.

PACIENTE	PROMEDIO (AS)
(4)	6.7229

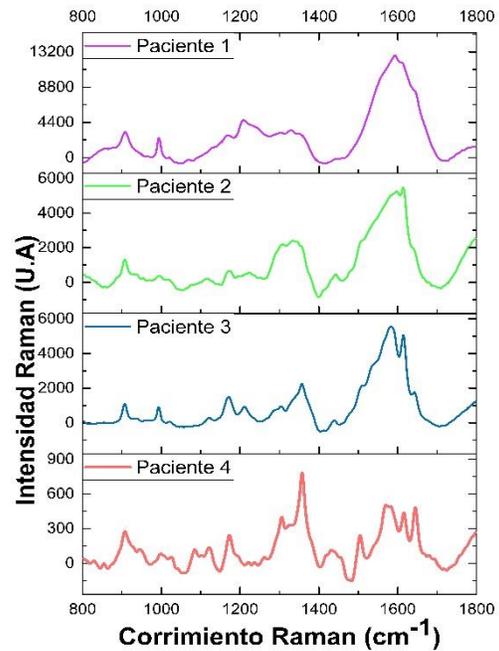


Fig.1 Espectroscopia Raman en pacientes enfermos (1, 2 y 3) y sanos (4)

Se ha reportado en estudios anteriores, que en el promedio de la cantidad de ácido siálico en pacientes mayor a 12.6 mg/dl existe presencia de algún tipo de cáncer en este caso cervicouterino.

En la Tabla 4, se representa el promedio de mi propia saliva, considerando el rango, se determina que no hay algún tipo de cáncer.

Se utilizaron las AgNps debido a que mejoran la técnica del SERS y las AuNps no amplifican mucho con el ácido siálico.

CONCLUSIÓN.

En conclusión, el análisis del ácido siálico por SERS tiene varias ventajas, tales como rapidez, bajo costo, no invasivo y posee una potencial aplicación clínica. Como los resultados lo indican, entre mayor número promedio de ácido siálico a partir del rango 12.6, mayor es la etapa de cáncer en la que se encuentra el paciente. La simplicidad de esta prueba puede ayudar a reducir muertes en diferentes tipos de cáncer y a su vez en distintas edades en pacientes.

BIBLIOGRAFIA.

Ekaterina Vinogradova, Raman Spectroscopy 2014, 45, 9, 730-735.

Liang, L., Shen, Y., Zhang, J., Xu, S., Xu, W., Liang, C., & Han, B. (2018). *Identificación del cáncer de mama a través del análisis espectroscópico de la expresión del ácido siálico de la membrana celular*. Analytical Chimica Acta.

Hagiwara, A., Kanemitsu, K., & Torii, T. (2016). *El nivel de ácido siálico es significativamente elevado en la fracción proteica enriquecida con IgM en sueros de pacientes con cáncer*. Journal Of Immunoassay And Immunochemistry, 38(2), 127-139.

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE UNA MEZCLA DE COMPUESTOS FARMACÉUTICOS UTILIZANDO PLANTAS EN CONDICIONES DE HIDROPONIA

Mena Favela, A.¹ y Alfaro de la Torre, M. C.²; Zapata Morales, A.L.²

RESUMEN

En este estudio se analizó la eficiencia de remoción de naproxeno y diclofenaco en mezcla en diferentes concentraciones utilizando *Cyperus papyrus* y *Typha spp.* Se realizaron cinéticas de remoción de los fármacos en la mezcla, por las plantas y se evaluó el efecto que tiene el fármaco en la planta con respecto al crecimiento y el desarrollo de la raíz. Dentro de los resultados en cada una de las mezclas tanto en *C. papyrus* y *Typha spp.* se obtuvieron eficiencias de remoción de 85% para naproxeno y de 76% para diclofenaco expuesto a una mezcla de 7.5 y 4 mg/L respectivamente, en aproximadamente 40 horas. Los resultados obtenidos con las plantas en estudio demuestran la viabilidad de utilizar estas plantas para remover fármacos, contaminantes emergentes presentes en las aguas residuales en México.

ABSTRACT

In this study, the removal efficiency of naproxen and diclofenac in mixture at different concentrations was analyzed using *Cyperus papyrus* and *Typha spp.* Kinetics of drug removal in the mixture were made by the plants and the effect of the drug on the plants was analyzed with regard to their growth and root development. Within the results in each of the mixtures in both *C. papyrus* and *Typha spp.*, the removal efficiencies obtained for naproxen was 85% and for diclofenac was 76% for a mixture of 7.5 and 4 mg/L respectively in approximately 40h. The results obtained with the plants in this study show the potential of these plants to remove pharmaceuticals, emergent contaminants found in the Mexican wastewaters.

Palabras claves: fitorremediación, contaminantes emergentes, plantas macrófitas

INTRODUCCION

Actualmente existe una seria preocupación por la presencia de contaminantes emergentes como los fármacos debido a que se han detectado en aguas subterráneas, plantas de tratamiento de aguas residuales y suministros de agua. La mayoría de estos no se encuentran regulados pero están propuestos a una regulación futura dependiendo de los resultados de las investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud de los seres vivos y los resultados de los programas de monitoreo. Para la mayoría de estos contaminantes no hay datos disponibles de la incidencia, el riesgo y los datos ecotoxicológicos; además en muchos países el consumo de fármacos se suscita en toneladas por años por lo que es difícil predecir con exactitud el efecto que puede tener en la salud de los seres humanos y organismos acuáticos. De los fármacos, los de mayor preocupación son los antibióticos pero también se incluyen analgésicos/antinflamatorios, antiepilépticos, anticonceptivos, esteroides, etc. (Tejada y col., 2014). Para la eliminación de estos contaminantes, del agua, se han propuesto diversas técnicas, una es la fitorremediación nombre que se le da a los procesos basados en el uso de plantas y los microorganismos de la rizósfera asociados para eliminar, remover, reducir, mineralizar, volatilizar, transformar, estabilizar o contener productos químicos tóxicos en los cuerpos de agua y en los efluentes contaminados. Para la fitorremediación se han propuesto diversas plantas, entre ellas el papiro o *Cyperus papyrus* que es una planta macrófita y acuática, tiene la capacidad de vivir flotando en el interior del agua. Actualmente es utilizada por su capacidad de rizofiltración para eliminar metales pesados (níquel, mercurio y cromo), y se ha utilizado en la degradación de compuestos orgánicos y fenólicos para generar subproductos menos tóxicos o no tóxicos. Lo anterior convierte a la planta en una de las más adecuadas para la

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Torreón, Blvd Torreón-Matamoros Km. 7.5. 27276 Coahuila, MEXICO, andrea-favela@hotmail.com; ²Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Dr. Manuel Nava 6, Zona Universitaria, C. P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P., MEXICO, alfaroca@uaslp.mx; ana.zapata.m91@gmail.com

fitorremediación de aguas residuales (Hernández y col., 2017). También se ha utilizado tule o *Typha spp.*, la cual tiene características morfológicas bastante homogéneas, se trata de una planta acuática halófila, con sistema radicular arraigado en el suelo de humedales, y tiene una estructura vegetativa que emerge por encima de la lámina de agua; por esa razón también se denominan macrófitas emergentes. Dadas las características de las plantas mencionadas, se pueden aplicar en el tratamiento de aguas residuales, por ejemplo con el uso en humedales construidos en sistemas acuáticos en flotación inducida, optimizando el papel filtrante de su sistema radicular (Curt y col., 1999). Un estudio previo realizado con *C. papyrus*, señala una remoción del 99% de naproxeno cuando se encuentra a una concentración de 5mg/L y 98% de remoción para diclofenaco (5 mg/L), pero al realizar una mezcla de estos fármacos con relación 5:5 (mg/L) el porcentaje de remoción disminuye hasta un 25% mientras que la de naproxeno se mantiene (Gamez y Alfaro, 2017). La precisión en el comportamiento de estas plantas cuando se les expone a una mezcla de fármacos es lo que motiva este trabajo.

OBJETIVO

Evaluar la eficiencia de remoción de diclofenaco y naproxeno en mezcla, utilizando las plantas *Cyperus papyrus* y *Typha spp.*, como método para tratamiento de aguas residuales.

METODOLOGÍA

Se obtuvieron plantas de *Cyperus Papyrus* y *Typha spp.*, del vivero de la Facultad de Ciencias Químicas (UASLP, San Luis Potosí, S.L.P). Las plantas se propagaron creciendo en una solución nutritiva (15N:30P:15K) y en soporte de piedra tezontle, para favorecer el crecimiento de nuevos brotes. Se seleccionaron plantas de cierta altura (>15cm) para la experimentación, las cuales fueron identificadas con códigos, antes de la exposición de las plantas con la mezcla de fármacos, se procedió a lavarlas con una solución de hipoclorito de sodio (2%) y agua, se midió la altura y tamaño de raíz de cada una de ellas. Posteriormente estas se colocaron en matraces Erlenmeyer forrados con aluminio para evitar contacto con la luz y en la boca se aplicó algodón cubierto en gasa para evitar evaporación y dar soporte a la planta. Las plantas fueron expuestas a una mezcla de fármacos en soluciones de concentración conocida (3 plantas/unidad experimental); la solución conteniendo o no los fármacos también contenía una mezcla nutritiva (1mM NH₄⁺, 1.5mM K⁺, 0.125mM PO₄³⁻, 0.25mM Ca²⁺; Loredó-Portales, 2011).

Las concentraciones utilizadas para la experimentación con diferentes mezclas se obtuvo a partir de un diseño de superficie de respuesta (Diseño experimental, programa Minitab, 2018) en el cual se propuso como concentración mínima 2 mg/L para diclofenaco y máxima de 5 mg/L, para naproxeno la concentración mínima propuesta fue de 5 mg/L y máxima de 12 mg/L. En la Tabla 1 se indican las concentraciones para las diferentes mezclas a las cuales se expusieron las plantas de *Cyperus papyrus* y *Typha spp.*

Tabla 1. Concentración de diclofenaco y naproxeno en la solución experimental

MEZCLA	DICLOFENACO (mg/L)	NAPROXENO (mg/L)
1	4.0	7.5
2	3.0	10.8
3	2.0	8.0

La determinación de la concentración de diclofenaco y naproxeno en las soluciones se realizó por Espectrofotometría UV/Vis (Shimadzu UV-1800). El método colorimétrico para diclofenaco se basa en una reacción del fármaco con cloruro de hierro (III) que se reduce a Fe(II) que reacciona con Hexacianoferrato de potasio (III) formando un producto de color azul que se puede medir espectrofotométricamente en 710 nm (Barry y col., 2009). El método para la determinación de naproxeno se basa en la formación un complejo amarillo de pares de iones entre naproxeno y un colorante ácido de sulfoftaleína y azul de bromotimol. Los complejos resultantes se midieron a 226 nm. La curva de calibración de naproxeno fue de 0-20 mg/L y para diclofenaco de 0-10 mg/L. Se realizó un primer experimento con una mezcla de 4mg/L de diclofenaco y 7.5 mg/L de naproxeno para conocer la tolerancia de *C. papyrus* a concentraciones con alta concentración de diclofenaco que parece ser el fármaco más tóxico para las plantas.

Después se continuó con la cinética de remoción de las otras dos mezclas propuestas. Se realizó una prueba con diferentes proporciones de nutrientes, sin fármacos, a las cuales se expusieron las plantas para evaluar la composición nutritiva que mejor favorece el desarrollo de *C. papyrus*, estudio que no se había determinado más que para *Typha spp.*; en la tabla 2 se indican las proporciones de nutrientes que se utilizaron.

Tabla 2. Composición de las soluciones nutritivas empleadas en la propagación de las plantas *C. papyrus*

Solución propuesta por Loredo (2011)	Solución de Hoagland (1950)
1mM NH ₄ ⁺ + 1.5mM K ⁺ + 0.125mM PO ₄ ³⁻ + 0.25mM Ca ₂ ⁺	1mM NH ₄ ⁺ + 58mM K ⁺ + 5mM Ca ₂ ⁺ + 0.046mM H ₃ BO ₃

Las plantas (3 plantas/unidad experimental) se expusieron a las concentraciones indicadas en la Tabla 2 pero también a concentraciones conteniendo solo el 50% de NH₄⁺ para observar el efecto de limitación de Nitrógeno sobre el desarrollo de las plantas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El comportamiento de la cinética de remoción para la mezcla diclofenaco (4 mg/L) y naproxeno (7.5 mg/L) se observa en la Figura 1, donde se muestra que a partir de las 36 horas la remoción para ambos fármacos es máxima. La eficiencia de remoción fue de 75.7% para diclofenaco y de 84.9% para naproxeno.

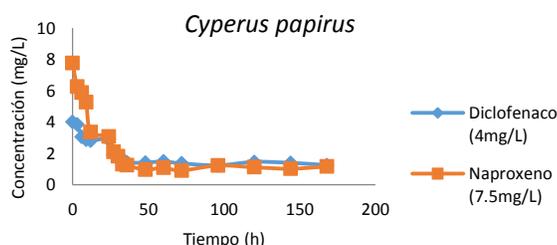


Figura 1. Cinética de remoción de los fármacos en mezcla

El efecto de la mezcla sobre el desarrollo de las plantas de *C. papyrus* se muestra en las Figuras 2 y 3. Como se observa, las plantas expuesta a la mezcla de diclofenaco y naproxeno no presentan efectos negativos y muestran mayor desarrollo al compararlas con las plantas no expuestas lo cual sugiere que posiblemente están utilizando al fármaco como una fuente de carbono.

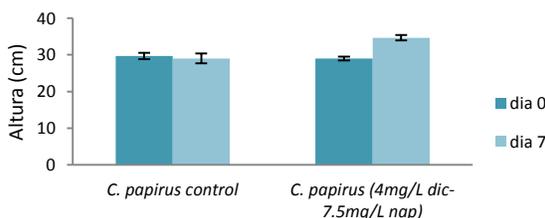


Figura 2. Efecto de los fármacos en la altura de *C. papyrus*

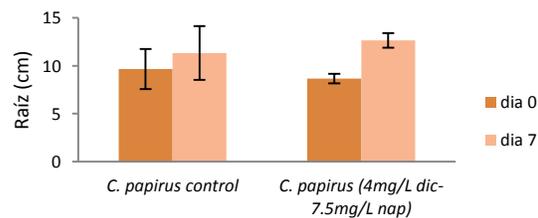


Figura 3. Efecto de los fármacos sobre el desarrollo de la raíz de *C. papyrus*

Las figuras 4 y 5 muestran la cinética de remoción de la mezcla de fármacos (3mg/L diclofenaco y 10.8mg/L naproxeno), se observa que a partir de las 60 horas la remoción para ambos fármacos es máxima.

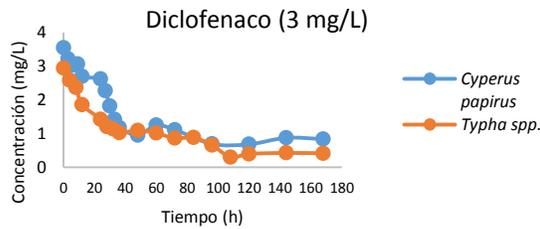


Figura 4. Cinética de remoción de diclofenaco (3mg/L) por las plantas

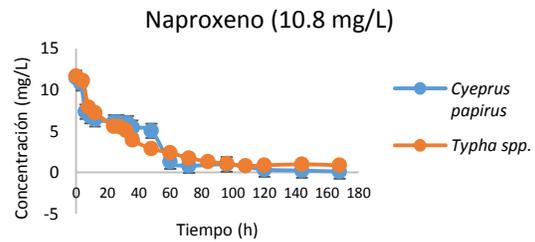


Figura 5. Cinética de remoción de naproxeno (10.8mg/L) por las plantas

Las figuras 6 y 7 muestran la cinética de remoción de la mezcla de fármacos (2mg/L diclofenaco y 8mg/L naproxeno), se observa que a partir de las 60 horas la remoción para ambos fármacos es máxima. La Tabla 3 muestran los porcentajes de remoción los que indican que *C. papyrus* remueve mejor el naproxeno; en el caso de diclofenaco la remoción es mejor con *Typha spp.*

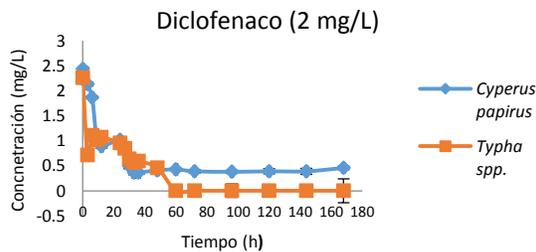


Figura 6. Cinética de remoción de diclofenaco (2mg/L) por las plantas

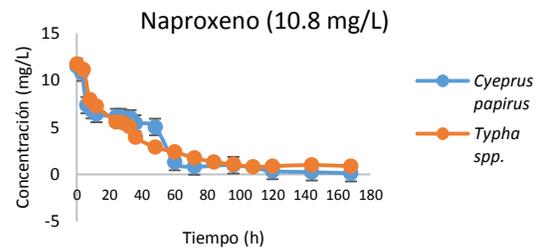


Figura 7. Cinética de remoción de naproxeno (8mg/L) por las plantas

Tabla 3. Porcentaje de remoción de los fármacos por las plantas

Planta	% de remoción de Diclofenaco	% de remoción de Naproxeno
Mezcla: 3 mg/L de Diclofenaco y 10.8 mg/L de Naproxeno		
<i>Cyperus papyrus</i>	76.5	98.9
<i>Typha spp</i>	85.9	92.6
Mezcla: 2 mg/L de Diclofenaco y 8 mg/L de Naproxeno		
<i>Cyperus papyrus</i>	81.2	~100
<i>Typha spp</i>	99.9	99.9

En la Figura 8 se muestra el efecto que causó la mezcla de fármacos sobre el desarrollo de las plantas, mostrando que en todos los casos se favoreció el crecimiento de ellas, pero en el caso de *Thypha spp.* se obtuvo un mayor crecimiento, aunque la diferencia entre el control y las plantas expuestas a los fármacos no es significativa.

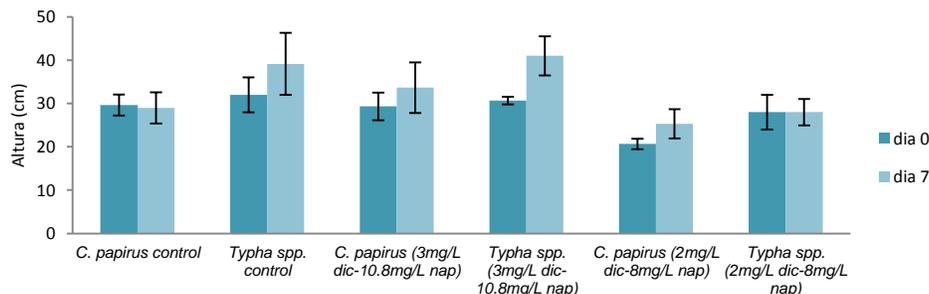


Figura 8. Efecto de los fármacos sobre el desarrollo de las plantas

La Figura 9 muestra el efecto que tuvo la mezcla de fármacos sobre el desarrollo de la raíz de las plantas, en la mayoría de ellas se obtuvo un efecto positivo, observando mejores resultados de crecimiento en *Typha spp.*, aunque la diferencia entre el control y las plantas expuestas no es significativa.

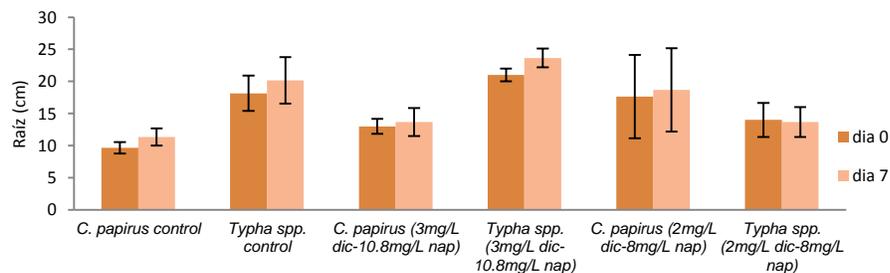


Figura 9. Efecto de los fármacos sobre el desarrollo de la raíz de las plantas

La propagación de las plantas en medios nutritivos es muy importantes dentro de los resultados que se obtuvieron al probar dos soluciones diferentes y dos limitada de nitrógeno (Figura 10) podemos observar que la cantidad de clorofila disminuyó en la mayoría de los casos; en las Figuras (11 y 12) se muestra que los nutrientes propiciaron el crecimiento de las plantas y su raíz.

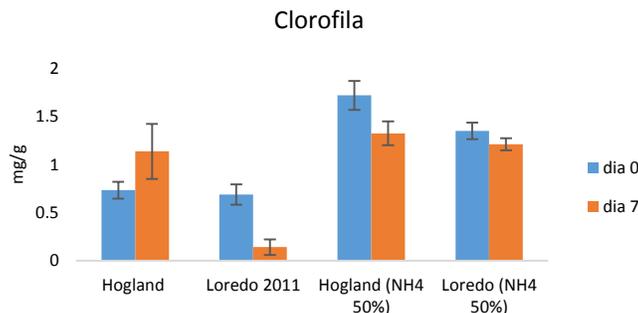


Figura 10. Cantidad de clorofila en *C. papyrus* en las distintas soluciones nutritivas

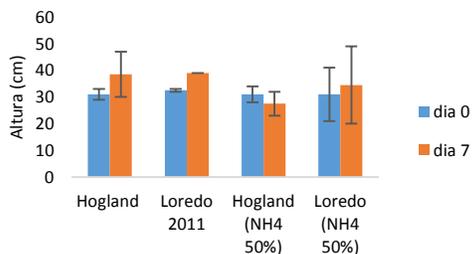


Figura 11. Efecto de los nutrientes en la altura de *C.papyrus*

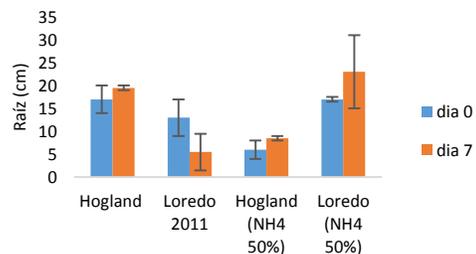


Figura 12. Efecto de los nutrientes en la raíz de *C.papyrus*

CONCLUSIÓN

El estudio cinético de la remoción de naproxeno y diclofenaco en las distintas mezclas mostró que ambas plantas remueven Naproxeno con mayor eficiencia que Diclofenaco, aunque *C. papyrus* remueve Naproxeno con mayor eficiencia *Typha spp.*, mientras que esta última remueve Diclofenaco con mayor eficiencia que papiro. No se observan efectos negativos sobre el desarrollo de las plantas con las mezclas utilizadas de fármacos. En cuanto a los nutrientes requeridos por papiro, la composición de la solución de Hogland parece ser la más apropiada.

BIBLIOGRAFÍA

CURT, D., MUÑOZ, D. & BEASCOECHEA, E. (1999). Fitodepuración, filtros de macrófitas en flotación (Manual). Universidad Politécnica de Madrid, pp. 91-95.

GAMEZ, N., & ALFARO, M.C. (2017). Evaluación de la capacidad de remoción de diclofenaco y naproxeno, solos o en mezcla utilizando plantas. Reporte de Verano de la Ciencias, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.

HERNANDEZ, L.F., MERCADO, A. & GÓMEZ, D.E. (2017). Filtración de agua mediante recursos naturales. Universidad Pontificia Bolivariana. Centro de Investigación para el Desarrollo y la Innovación, pp. 188-190.

LOREDO PORTALEZ, R. Evaluación de un humedal construido de flujo subsuperficial para la remoción de Pb y Cd mediante plantas de *Typha latifolia*. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas, Facultad de Ciencias Químicas, UASLP. Dic 2, 2011.

TEJEDA, C., QUIÑONEZ, E. & PEÑA, M. (2014). Contaminantes emergentes en aguas: metabolitos de fármacos, Revisión. Universidad Militar de Nueva Granada, Facultad de Ciencias Básicas, Núm. 1, Vol. X, Abril-Mayo, pp. 80-101.

ESTANDARIZACIÓN DEL FÁRMACO FASCAPLYSIN DURANTE LA REGENERACIÓN DE EXTREMIDAD EN *Ambystoma mexicanum*

Andrea Daumas Posada¹ y Luis Alfredo Cruz Ramírez²

RESUMEN

Los urodelos son un grupo de anfibios los cuales, en su mayoría, poseen gran capacidad de regeneración de extremidades. *Ambystoma mexicanum* es uno de los organismos con mayor capacidad regenerativa y para el cual se han desarrollado técnicas moleculares, por lo cual sirve como modelo de estudio para la regeneración. La regulación de esta cualidad está relacionada con la regulación del ciclo celular y las oscilaciones de las diversas CDK. La inhibición de cdk4 se ha propuesto como tratamiento para el cáncer. En este trabajo, se buscó la estandarización del faspaplysin, un inhibidor de cdk4, en *Ambystoma mexicanum*. Para esto, se inyectaron diversas concentraciones del fármaco y se hizo un seguimiento fotográfico para observar el fenotipo durante la regeneración de una extremidad amputada.

ABSTRACT

Urodels are a group of amphibians which, most of them, possess great capacity of limb regeneration. *Ambystoma mexicanum* is one of the organisms with greater regenerative capacity and for which molecular techniques have been developed, which is why it serves as a study model for regeneration. The regulation of this quality is related to the regulation of the cell cycle and the oscillations of the various CDKs. The inhibition of cdk4 has been proposed as a treatment for cancer. In this work, the standardization of faspaplysin, an inhibitor of cdk4, in *Ambystoma mexicanum* was sought. For this, various concentrations of the drug were injected and a photographic follow-up was performed to observe the phenotype during the regeneration of an amputated limb.

Palabras clave: *Ambystoma mexicanum*, regeneración, ciclo celular, Faspaplysin.

INTRODUCCIÓN

Las salamandras son un tipo de anfibio pertenecientes al orden de los urodelos (urodela) o caudados (caudata) (Dubois et al, 2012). Muchos anfibios comienzan su vida como larvas acuáticas y posteriormente sufren unos procesos de metamorfosis que los hace aptos para vivir en tierra. No obstante, no todas las salamandras se convierten en animales terrestres. Un ejemplo de esto son los axolotes los cuales, en su mayoría, viven toda su vida en la forma acuática que tuvieron desde juveniles. A esto se le llama pedomorfosis. Estas salamandras acuáticas poseen gran capacidad para sanar y regenerarse (Gresens J., 2004). El axolote mexicano, *Ambystoma mexicanum*, es una especie endémica de México de los sistemas acuáticos de Xochimilco y Chalco y se encuentra en peligro crítico de extinción debido a la reducción de su hábitat natural, a la contaminación del mismo y a la presencia de especies depredadoras como la tilapia (IUCN, 2018). Desde 1864 ha sido reproducido en laboratorio como modelo de investigación para fenómenos de reprogramación nuclear, la embriología de la inducción de células germinales, procesamiento neuronal de la retina y regeneración. Debido a la facilidad para reproducir a *A. mexicanum* en el laboratorio, se han desarrollado una gran variedad de herramientas moleculares para esta especie (Nowoshilow S. et al, 2018).

Los urodelos son los únicos vertebrados tetrápodos que pueden regenerar sus extremidades, cola, tejido cardíaco, médula espinal, cristalino y retina. Algunas características de los procesos de regeneración de las salamandras son similares a los procesos de regeneración de las puntas de los dígitos de ratón, lo cual ha motivado la idea de que los mamíferos poseen algún mecanismo genético latente para la regeneración de extremidades el cual podría ser activado. La regeneración de extremidades en urodelos se puede dividir en dos fases: la formación del blastema de acumulación y el desarrollo del blastema. La primera fase se caracteriza por la migración de células epiteliales adyacentes al corte para cerrar la herida, la generación de células de blastema por histólisis mediante enzimas proteolíticas y liberación de células progenitoras residentes o des diferenciadas (derivadas de células de Schwann, fibroblastos dérmicos, células esqueléticas y miogénicas) y, finalmente, la migración y acumulación de las células del blastema debajo de la Capa epidérmica apical o AEC (apical epithelial cap). El blastema de acumulación es

1 Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, C.P. 76010, Querétaro, Qro, mandydp96@gmail.com.

2 Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), LANGEBIO; Km. 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León 36824 Irapuato Gto., alfredo.cruz@cinvestav.mx

avasacular y no posee inervación. Mientras las células progenitoras del blastema se están formando en el blastema de acumulación, estas entran al ciclo celular y sintetizan DNA poseyendo un índice mitótico bajo. Esto sugiere que durante la formación del blastema de acumulación una gran proporción de células en desdiferenciación se detienen en la fase G2 del ciclo celular. La segunda etapa se caracteriza por la coordinación del crecimiento del blastema, morfogénesis y diferenciación celular para reemplazar la extremidad amputada. El comienzo de esta fase coincide con la inervación y vascularización del tejido. Las células indiferenciadas del blastema responden a diferentes señales que darán lugar a los diversos linajes celulares propios de cada tejido. Tanto los elementos esqueléticos de muñones/yemas de extremidades de urodelos como los blastemas se diferencian de manera anterior a posterior (Chimal-Monroy J. et al, 2011; Stocum D., 2017).

El ciclo celular es un proceso altamente regulado. Dentro de sus principales reguladores se encuentran las proteínas ciclinas y las quinasas dependientes de ciclinas (cdk) las cuales forman complejos entre sí para poder ejercer su función. Además, la actividad de las cdk depende de su fosforilación y desfosforilación de sitios conservados (Giacinti C. et al, 2006; Lew D. et al, 1996). Los complejos ciclina/cdk orquestan el avance del ciclo celular por medio la sucesión de los distintos complejos. Las ciclinas tipo D y E, asociadas a cdk4/cdk6 y cdk2 respectivamente, median el paso entre la fase G1 y la S, mientras que las ciclinas A y B, asociadas a cdk2 y cdk1 respectivamente, median la progresión a través de las fases S/G2/M. Las ciclinas tipo D son las primeras en participar en la progresión del ciclo celular y el ensamble ciclina D/cdk4 (cdk6) se ve estimulado por señales mitogénicas, citosinas inhibitorias, contacto célula-célula, entre otros. Dentro del ciclo celular, se ha demostrado que pRb sirve como reguladora de la entrada y salida del punto de restricción (R) y G0. Su hipo fosforilación provoca la salida del ciclo celular y por el contrario su fosforilación la continuación del ciclo celular. La fosforilación de pRb sucede primeramente en G1 por acción del complejo D1/cdk4 (cdk6) (Giacinti C. et al, 2006). Múltiples estudios sugieren que la desregulación de la actividad de cdk4 puede desembocar en el desarrollo de cáncer por lo que se ha sugerido la inhibición de cdk4 como posible tratamiento contra este padecimiento. Existen inhibidores propios de la célula como p16^{INK4a} la cual inhibe la actividad quinasa de tal manera que pRb no es fosforilada y se produce un arresto celular en G1 (Sherr C. J. et al, 2016). Existen otros inhibidores tales como palbociclib y el faspaplysin. Éste último es un pigmento rojo extraído de organismos marinos, como las esponjas *Faspaplysinopsis* y tunicados *Didemnum*, el cual está compuesto por un indol y un oxindol unidos mediante dos enlaces covalentes (2,2 y 1,3). Es uno de los pocos inhibidores específicos de cdk4 mediante su unión al bolsillo de ATP de la quinasa. Se han reportado 27 análogos del faspaplysin y descrito múltiples propiedades para estos como inhibición de la angiogénesis, antibacteriana y citotoxicidad contra varias líneas celulares de cáncer. El faspaplysin ha sido considerado para ensayos terapéuticos, aunque su uso como anticancerígeno se ha visto limitado debido su toxicidad hacia células normales por su capacidad como agente intercalante del DNA (Aubry C. et al, 2009; Swartz K. et al, 2012; Yan X. et al, 2011).

Objetivos

Principal:

- Estandarización del fármaco faspaplysin durante la regeneración de extremidad en *Ambystoma mexicanum*.

Particulares:

- Probar diferentes concentraciones del fármaco estudiado durante la regeneración de extremidad en *Ambystoma mexicanum*.
- Observar el fenotipo en las diferentes etapas de regeneración, resultante del fármaco.
- Elaborar un seguimiento fotográfico de la regeneración de la extremidad post aplicación del fármaco durante 35 días.

MARCO TEÓRICO

El faspaplysin ha sido evaluado en otros modelos. Yan X. et al evaluaron, en modelos animales, la capacidad para causar muerte por apoptosis en células tumorales y su actividad anti angiogénica. Para esto fue utilizado un modelo de sarcoma de ratón. Shawrtz K. et al propusieron un método para determinar la concentración y estabilidad del faspaplysin en plasma de ratón, como herramienta para evaluar su farmacocinética y continuar con evaluaciones terapéuticas. También, Taek-In Oh et al evaluaron el efecto anti cancerígeno en células de cáncer pulmonar, estableciendo algunas proteínas como blanco del faspaplysin.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se seleccionaron 5 ejemplares de *Ambystoma mexicanum* con fenotipo silvestre de 8 a 8.5 cm de longitud, independiente de ser macho o hembra. Tres de los individuos se designaron para evaluar las concentraciones del fármaco seleccionado, fascaplysin, y los dos restantes se utilizaron como sujetos control. El ensayo se realizó por duplicado, es decir se utilizaron un total de 10 ejemplares. Previo a realizar la amputación de cada organismo, estos fueron anestesiados mediante sumersión completa en una solución de benzocaína al 0.01M. El tiempo de sumersión fue de aproximadamente 8 minutos por individuo. Para asegurar que se encontraran anestesiados se presionó ligeramente la parte proximal dorsal de la cola, prolongando el tiempo de sumersión si existía alguna respuesta de movimiento. Todos los ejemplares fueron amputados a la mitad del pseudopodio (zeugopodio) derecho anterior con bisturí. Inmediatamente después de la amputación se fotografió la extremidad para establecer el día cero de la regeneración. El seguimiento fotográfico de la regeneración se llevó a cabo con un estereoscopio Leica con los objetivos 8x y 16x durante 35 días. Las concentraciones del fármaco establecidas para ser inyectadas fueron 20 mg/kg (FSC20), 10 mg/kg (FSC10) y 5 mg/kg.(FSC5). El primer control se dejó sin inyectar y se etiquetó como “sin vehículo” o SV. El segundo control se inyectó con una solución de DMSO-NaCl. El volumen inyectado fue calculado de acuerdo al peso de cada organismo. La inyección se realizó de manera intramuscular durante seis días.

RESULTADOS y DISCUSIÓN



Figura 1. SV(3.7). Día 22 de la regeneración.



Figura 2. SV(3.7). Día 29 de la regeneración.



Figura 3. SV(3.51). Día 22 de la regeneración.



Figura 4. SV(3.51). Día 29 de la regeneración.



Figura 5. DMSO(3.63). Día 22 de la regeneración.



Figura 6. DMSO(3.63). Día 29 de la regeneración.



Figura 7. DMSO(3.88). Día 22 de la regeneración.



Figura 8. DMSO (3.88). Día 29 de la regeneración.

En todas las figuras el valor entre paréntesis corresponde al peso en gramos de cada individuo. Cada par de fotografías (izquierda a derecha) corresponde al mismo individuo en diferentes etapas de la regeneración de la extremidad amputada. En todos los sujetos control (Figuras 1- 8) se puede observar que existe semejanza en el proceso de regeneración de las extremidades amputadas. En el día 22 de la regeneración (Figuras 1, 3, 5 y 7) ya se puede apreciar la aparición de ligeros clivajes en el blastema además de vascularización y zonas sin cromatóforos que pueden corresponder a los elementos esqueléticos. Únicamente en el segundo control con DMSO (DMSO 3.88, Figura 7) existe un ligero retraso en la diferenciación celular y morfogénesis de los dígitos. Debido a que el primer control de DMSO (DMSO 3.63, Figura 5) posee mayor semejanza a los controles sin vehículo (Figuras 1 y 3), se toman como propias del individuo las características del segundo control de DMSO (el retraso en la diferenciación) y no a causa del vehículo. En el día 29 de la regeneración (Figuras 2, 4, 6 y 8) ya es evidente la aparición de los cuatro dígitos aun cuando no se encuentren completamente separados. En este punto, el segundo control de DMSO (Figura 8) ya posee el mismo grado de diferenciación, sin haber importado su aparente retraso en el día 22 de la regeneración.



Figura 9. FSC5(3.2). Día 22 de la regeneración.



Figura 10. FSC5(3.2). día 29 de la regeneración.



Figura 11. FSC5 (3.45). Día 22 de la regeneración.



Figura 12. FSC5(3.45). Día 29 de la regeneración.



Figura 13. FSC10(3.22). Día 22 de la regeneración.



Figura 14. FSC10(3.22). Día 29 de la regeneración.



Figura 15. FSC10(4.06). Día 22 de la regeneración.



Figura 16. FSC10(4.06). Día 29 de la regeneración.

Para los tratamientos FSC5 (Figuras 9 y 11) y FSC10 (Figuras 13 y 15) se puede observar que al día 22 de la regeneración existe una diferencia notable en cuanto al tamaño del blastema respecto a los controles, siendo más grande en los tratamientos. Incluso, el tamaño del blastema en los tratamientos FSC10 es aún mayor que en los de FSC5. Esta diferencia en la velocidad de morfogénesis de los dígitos respecto a los controles persiste en el día 29 de la regeneración tanto para FSC5 (Figuras 10 y 12) como para FSC10 (Figuras 14 y 16) puesto que, aunque existe el clivaje en el blastema, este no es tan marcado y existe una menor cantidad de cromatóforos en los tratamientos. No obstante, hay vascularización, lo cual es propio de la etapa de morfogénesis y diferenciación celular.



Figura 17. FSC20(3.5). Día 6 de la regeneración.



Figura 18. FSC20(3.54). Día 5 de la regeneración.

Ninguno de los sujetos inyectados con fascalpysin a una concentración de 20 mg/kg llegó a los 22 días de la regeneración. El segundo control de FSC20 (Figura 18) murió al quinto día de la regeneración por hidrocéloma, presentando hemorragias subcutáneas dispersas por el cuerpo. El primer control de FSC20 (Figura 17) muere al séptimo día de la regeneración por hidrocéloma sin presentar hemorragias subcutáneas. Debido a la muerte prematura no es posible comparar el efecto en el fenotipo con los sujetos de FSC5 y FSC10.

CONCLUSIONES

Es necesario repetir las pruebas con FSC20 para poder establecer el fenotipo que produce en la regeneración, descartar al fármaco fascalpysin como la causa del hidrocéloma y finalmente poder comparar con las otras dos concentraciones. Hasta entonces se terminará la estandarización del fármaco fascalpysin durante la regeneración de extremidad de *Ambystoma mexicanum*. No obstante, se observa un retraso en la regeneración de la extremidad independientemente de la concentración.

BIBLIOGRAFÍA

- Aubry C., Wilson A.J., Emmerson D., Murphy E., Chan Y. Y., Dickens M. P., García M. D., Jenkins P. R., Mahale S., & Chaudhuri B. (2009). Fascaplysin-inspired diindolyls as selective inhibitors of CDK4/cyclin D1 en *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Núm 17, [pp. 6073–6084].
- Chimal-Monroy, J., Correa-Gallegos D., & Galván-Hernández C. (2011). Regeneración. PUIS, UNAM. [Recuperado el 23 de julio 2018] Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/235226028_Regeneracion
- Dubois A., & Raffaëli J. (2012). A new ergotaxonomy of the order Urodela Duméril, 1805 (Amphibia, Batrachia) en *International Journal of Batrachology*, Núm 28, Vol. 3-4 [pp. 77-161].
- Giacinti C., & Giordano A. (2006). Rb and cell cycle progression en *Oncogene Nature*. Núm 25, [pp.5220-5227].
- Gressen J. (2004). An Introduction to the Mexican Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) en *LabAnimal Nature*, Núm 9, Vol. 33 [pp. 41-47].
- Lew D. J., & Kornbluth S. (1996). Regulatory roles of cyclin dependent kinase phosphorylation in cell cycle control en *Current Opinion in Cell Biology*, Núm 8, [pp. 795-804].
- Sherr C. J., Beach D., & Shapiro G. I. (2016). Targeting cdk4 and cdk6: from discovery to therapy en *Cancer Discov.*, Núm 6, Vol. 4 [pp. 353-367].
- Stocum D. (2017). Mechanisms of urodel limb regeneration en *Wiley Regeneration open Access*, Núm 4 [pp. 159-200].
- Swartz K.H., Valeriote F.A., Media J., Johnson T.A., Tenney K., Crews P., & Shaw J. (2012). Development and Validation of a Simple Method for the Detection of Fascaplysin in Plasma en *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, Núm 6, Vol. 3.
- Taek-In Oh , Yoon-Mi Lee, Taek-Jin Nam , Young-San Ko , Shinmee Mah , Jinhee Kim, Younghoon Kim, Rallabandi Harikrishna Reddy, Young Jun Kim, Sungwoo Hong, & Ji-Hong Lim. (2017). Fascaplysin Exerts Anti-Cancer Effects through the Downregulation of Survivin and HIF-1 α and Inhibition of VEGFR2 and TRKA en *International Journal of Molecular Science*, Núm 18, Vol. 10.
- The IUCN Red List of Threatened Species. (2018). *Ambystoma mexicanum*. Consultada en <http://www.iucnredlist.org/details/1095/0> (fecha de consulta 24-07-2018)
- Yan X., Chen H., Lu X., Wang F., Xu W., Jin H., & Zhu P. (2011). Fascaplysin exert anti-tumor effects through apoptotic and anti-angiogenesis pathways in sarcoma mice model en *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Núm 43, [pp. 251-259].

DETERMINACIÓN DE PARÁSITOS EN ANIMALES DE TRASPATIO EN UNA COMUNIDAD EJIDAL EN SLP.

Guerra Martínez Andrea¹ y González Hernández Milagros²

RESUMEN

Los animales domésticos de traspatio usualmente carecen de un manejo higiénico en cuanto a alimentación y corrales se refiere. Es por ello que a este tipo de crianza suele asociarse la presencia de enfermedades infecciosas provocadas por diferentes agentes encontrados en el medio donde habitan. El presente documento pretende determinar la prevalencia de parásitos en heces recolectadas de animales de traspatio en ejidos del municipio de Soledad de Graciano Sánchez, SLP realizando exámenes coprológicos (utilizando método de flotación y método de Mc Master) con el fin de conocer la carga parasitaria, brindar un diagnóstico oportuno y de ser necesario, ofrecer tratamiento adecuado así como medidas profilácticas para evitar incidencia de estos parásitos.

ABSTRACT

Backyard pets usually lack of hygienic management in feeding and barnyards. That's why this type of breeding is usually associated with the presence of infectious diseases caused by different agents found in the environment where they live. This document aims to determine the prevalence of parasites in stools collected from backyard animals in commons of the municipality of Soledad de Graciano Sánchez, SLP, performing coprological examinations (using flotation method and Mc Master method) in order to know the parasite load, provide an opportune diagnosis and if necessary, offer adequate treatment as well as prophylactic measures to avoid incidence of these parasites.

Palabras clave: Parasitología veterinaria, endoparásitos, traspatio, ejido

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los animales alberga una o varias especies de parásitos, los cuales se nutren a expensas de su hospedero sin que ésta relación implique la destrucción de su organismo. (Quiroz Romero, 2003) Sin embargo, la poca o nula aplicación de medidas de higiene en la crianza de traspatio suele aumentar la incidencia de endoparásitos principalmente en el tracto gastrointestinal de los animales pudiendo provocar enfermedades que si no son detectadas y tratadas a tiempo desencadenan problemas graves de salud afectando la producción animal y por consiguiente la economía de sus propietarios.

Dado que gran parte de los habitantes en comunidades ejidales poseen animales utilizados para autosatisfacer sus necesidades alimentarias, la crianza de traspatio en estas localidades es más frecuente que las grandes explotaciones ganaderas, por lo tanto la prevalencia de parásitos en estos animales puede verse aumentada dependiendo de factores como: falta de limpieza en camas, corrales, bebederos y comederos, la cantidad de animales confinados en determinado espacio así como la procedencia de los mismos, planes de desparasitación inexistentes o la temporada del año en la que se realiza el muestreo; ya que al disminuir o aumentar la humedad en el ambiente los resultados pueden variar.

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Calle la Goma #732 Col. Ampliación Lázaro Cárdenas, CP: 27390, Torreón, Coahuila. andrewar@hotmail.es

²Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Km 14.5 Carretera San Luis Potosí – Matehuala Ejido palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí. milagros.gonzalez@uaslp.mx

Los parásitos de importancia en medicina veterinaria están considerados en los siguientes grupos: *Phylum Protozoa*, *Phylum Ciliophora*, *Phylum Platyhelminthes*, *Phylum Acantocephala*, *Phylum Nematoda*, *Phylum Arthropoda*, *Phylum Pentastomida* (Quiroz Romero, 2003), sin embargo sólo algunos de ellos se encuentran en una determinada zona geográfica ya que las condiciones climáticas para el desarrollo parasitario no son iguales para todos los grupos.

El objetivo del presente estudio fue determinar la carga parasitaria en animales de traspatio incluidos bovinos, equinos, cerdos, ovinos, caprinos, aves y conejos en dos comunidades del municipio de Soledad de Graciano Sánchez en el estado de San Luis Potosí, para ofrecer a los dueños un diagnóstico oportuno así como recomendaciones de control y sugerencias de tratamiento en caso de ser necesario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de la zona de estudio: El estudio se llevó a cabo en dos comunidades ejidales del municipio de Soledad de Graciano Sánchez en el estado de San Luis Potosí, las cuáles fueron: Ejido Palma de la cruz y Ejido el Huizache. El municipio de Soledad de Graciano Sánchez representa el 0.41 % de la superficie del estado, colindando al norte con los municipios de San Luis Potosí y Villa Hidalgo; al este con los municipios de Villa Hidalgo, Armadillo de los Infante y Cerro de San Pedro; al sur con los municipios de Cerro de San Pedro y San Luis Potosí; al oeste con el municipio de San Luis Potosí. El clima predominante es seco templado con una temperatura media anual de 18.1 °C, la temperatura cálida comprende los meses de marzo a octubre y el período frío de noviembre a febrero. Su precipitación pluvial es de 294.6 mm al año. (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática INEGI, 1995).

Épocas de estudio. La recolección de muestras se realizó durante el verano (fechas comprendidas del 11 de junio al 06 de julio de 2018) con una temperatura promedio de 20° C y precipitaciones frecuentes.

Sitios de estudio: Se seleccionaron un total de 16 viviendas al azar de personas que quisieran participar en el estudio en los dos ejidos obteniendo un total de 124 muestras que incluían heces de bovinos, equinos, cerdos, ovinos, caprinos, aves y conejos.

Método de recolección de muestras. Las colectas se realizaron directamente del animal o tomando las heces más frescas encontradas en el piso (aprox. 5 gr) utilizando guantes de látex y guantes de palpación rectal evitando contaminación de las muestras con otros elementos presentes en los corrales.

Conservación, separación e identificación de muestras: Las heces recolectadas eran almacenadas momentáneamente en una hielera por un lapso no mayor 2 horas y posteriormente conservadas a 4°C en un refrigerador dentro del laboratorio de histología veterinaria en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP. Las muestras fueron separadas e identificadas de acuerdo al ejido, al propietario o en su defecto al número de vivienda de origen, a la especie del animal y al nombre, número de arete o señas particulares.

Manejo y estudio de muestras: Para trabajar con las muestras se utilizó solución de NaCl al 1.18% la cual fue hecha por mí dentro del mismo laboratorio. Los exámenes coprológicos fueron realizados en un plazo no mayor a 3 días posteriores a la recolección de las muestras y se hicieron tomando un aproximado de 2 gr. de heces empleando método de flotación (cualitativo) para heces de aves y de conejos y método de Mc. Master (cuantitativo) para heces de bovinos, equinos, cerdos, ovinos y caprinos. Posteriormente las muestras fueron observadas a microscopio para hacer un conteo estimado de ooquistes o huevecillos por gramo de heces.

Presentación de datos. Los datos obtenidos se registraron en una bitácora señalando fecha de toma de muestra, propietario de los animales, especie, su identificación y finalmente la carga parasitaria estimada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo un total de 124 muestras de heces recolectadas entre las cuales se incluyen: 74 de bovinos, 19 de cerdos, 11 de ovinos, 10 de equinos, 5 de aves, 4 de cabras y 1 de conejo, en las cuales se encontraron 4 diferentes endoparásitos: Coccidias (Figura 1), Estróngilos (Figuras 2 y 3), Hymenolepis (Figura 4) y Trichuris (Figura 5).



Figura 1. Ooquiste de coccidia encontrado en conejo



Figura 2. Ooquiste de Strongyloide encontrado en equino



Figura 3. Huevecillo de Stringylido encontrado en borrego



Figura 4. Huevecillo de Hymenolepis (fuente: dreamstime.com)



Figura 5. Huevecillos de Trichuris encontrados en cerdo

A pesar de existir carga parasitaria, la cantidad de animales con diagnóstico negativo fue en promedio mayor que la cantidad de diagnósticos positivos presentándose también casos en los que un mismo animal era hospedero de dos tipos de parásitos. Se concluyó un total de 74 muestras negativas, 39 muestras con Coccidias, 12 muestras con Estróngilos, 2 muestras con Trichuris y 1 con Hymenolepis. (Figura 6).

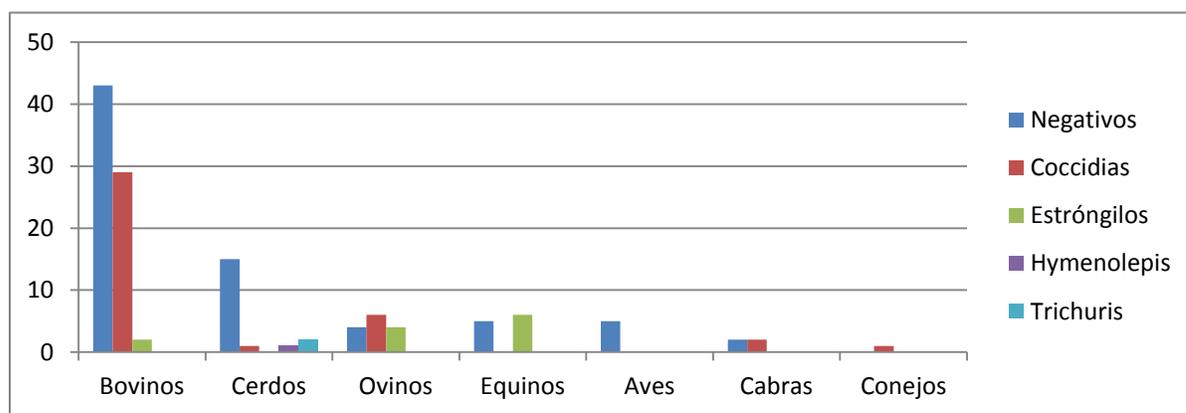


Figura 6. Resultados de diagnósticos negativos y positivos

De acuerdo a los resultados totales de ooquistes o huevecillos de cada parásito por gramo de heces encontrados se obtuvieron promedios de carga parasitaria por especie (Tabla 1).

Tabla. 1. Promedio de carga parasitaria por especie

	COCCIDIAS	STRONGYLOIDES	STRONGYLIDOS	HYMENOLEPIS	TRICHURIS
BOVINOS	275.51	-	50	-	-
CERDOS	100	-	-	50	4700
OVINOS	183.33	600.33	1175	-	-
EQUINOS	-	150	300	-	-
AVES	-	-	-	-	-
CABRAS	300	-	-	-	-
CONEJOS	*Debido a que para las heces de conejo se empleó un método cualitativo y no cuantitativo no se obtuvo un conteo exacto de ooquistes por gramo de heces de Coccidias*				

CONCLUSIONES

Dado que la carga parasitaria en los animales muestreados no indicó infestación en ningún caso, únicamente se sugirió a los propietarios continuar con la limpieza de corrales, cambio periódico (una vez al mes) de camas sobre todo en temporadas de lluvia así como vigilar limpieza en comederos y bebederos. También, si deseaban desparasitar a sus animales se adjuntaron a los reportes entregados los nombres de medicamentos sugeridos con dosis y vía de administración tomando en cuenta la especie y el tiempo de retiro.

Para desparasitar contra coccidias, se recomendó Sulfatrim inyectable en bovinos, cerdos, cabras y conejos. En ovinos se recomendó Baycox ovino.

Para desparasitar contra estróngilos se recomendó Albendazol en bovinos y ovinos. En equinos se sugirió Iverful pasta.

Para desparasitar cerdos contra Trichuris se recomendó Albendazol y para Hymenolepis al ser un parásito que portan los roedores, únicamente se hizo la recomendación de controlar la fauna nociva en los corrales mediante trampas para evitar que contaminen el alimento y/o el agua.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática INEGI. (1995). Cuaderno Estadístico Municipal. Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí. Recuperado en Julio de 2018, de http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/municipios/cuad_est/1996/slp/sol/702825924973_1.pdf
2. Quiroz Romero, H. (2003). Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México, D.F.: Editorial Limusa.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida y por darme sabiduría y el valor para ir tras mis sueños.

A mi familia, por ser siempre mi fortaleza y brindarme incondicionalmente su apoyo en todo lo que realizo.

A mi Alma Mater, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna por la oportunidad de movilidad brindada; especialmente al Dr. Horacio Hernández Hernández, quien me dio a conocer la existencia del Verano de la Ciencia y me motivó a salir de mi estado de origen a participar en el proyecto.

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por abrirme las puertas de tan importante casa de estudios; especialmente a la Dra. Milagros González Hernández por compartir sus conocimientos conmigo y por brindarme la oportunidad de adquirir nuevas experiencias y aprendizajes.

Al CONACYT, por su interés y apoyo a jóvenes investigadores.

A la familia Padrón Segura, quienes estuvieron conmigo acompañándome durante las 6 semanas que duró mi estancia en SLP brindándome su linda hospitalidad y su gran apoyo.

INMOVILIZACIÓN DE LIPASA PANCREÁTICA DE CERDO SOBRE SOPORTES DE ACERO INOXIDABLE

Andrés García Cortés ¹ y Dra. Blanca Estela García Almendarez ²

RESUMEN

Las industrias están adoptando prácticas que mejoren la calidad de sus productos sin poner en riesgo la salud de sus consumidores o el medio ambiente. Las enzimas ofrecen reacciones altamente específicas por lo que no generan residuos secundarios, un reto importante es evitar que las enzimas se desechen terminado el proceso ya que al fungir como catalizadores se pueden reutilizar. Una solución es la inmovilización de enzimas a través de soportes para impedir que la enzima se mezcle con el medio. Se inmovilizó enzima lipasa sobre soportes de acero inoxidable y se cuantificó la cantidad de enzima adherida, así como su actividad enzimática que se comparó con la enzima libre....

ABSTRACT

Industries are adopting practices that improve the quality of their products without jeopardizing the health of their consumers or the environment. Enzymes offer highly specific reactions, so they do not generate secondary waste, an important challenge is to avoid that the enzymes are thrown away because as a catalyst they can be reused. One solution is the immobilization of enzymes through supports to prevent the enzyme from mixing with the medium. Enzyme lipase was immobilized on stainless steel supports and quantified the amount of enzyme adhered as well as its enzymatic activity that was compared with the free enzyme...

Palabras Clave: Inmovilización enzimática, lipasa, acero inoxidable.

INTRODUCCIÓN

Los procesos biotecnológicos han ido reemplazado a los métodos tradicionales de producción en las industrias debido a sus múltiples ventajas, sin embargo uno de los mayores desafíos que presenta es la reducción de costos. La inmovilización de enzimas nos permite reutilizar los biocatalizadores que de otra manera serían desechados; por definición es la fijación física de biocatalizadores, enzimas o células con el fin de catalizar una reacción específica sin pérdida de la actividad catalítica con el uso repetido, esto se dio en el marco de la 1^{ra} Conferencia de Ingeniería de Enzimas en Henniker, New Hampshire (1971). Entre las ventajas encontramos la reutilización del biocatalizador, una mejora en la estabilidad y la actividad enzimática, facilita la separación entre el catalizador y los productos, minimiza la contaminación y en general es un proceso más fácil de controlar (Eş, Vieira, & Amaral, 2015). Los primeros logros en la industria fueron obtenidos por Chibata y colab. en 1969 cuando lograron producir ácido-L-aspartico y ácido-L-málico con una vida media de la enzima de 65 días a 50°C a nivel de planta piloto (Chibata, 1979), a partir de ahí las publicaciones académicas y patentes han sido constantes. Para la producción de jarabe de alta fructuosa por parte de la compañía Clinton Corn Producing (U.S.3788945A, 1970) y más recientemente en China, la Universidad Agrícola del Noreste patentó un aparato para preparar aceite de soya utilizando enzimas inmovilizadas (CN202390423U, 2012)

Existen diferentes técnicas para realizar la inmovilización, para su selección influyen factores como las condiciones de operación, la escala y sobre todo el costo y tiempo que lleva la técnica seleccionada. La adsorción física ocurre en fuerzas intermoleculares débiles como las fuerzas de Van der Waals, la interacción dipolo-dipolo y los puentes de hidrogeno, es una de las técnicas más utilizadas en la industria por lo simple, barato y sencillo del método, además permite la reutilización del soporte aunque no ofrece alta estabilidad y puede causar la pérdida de biomoléculas inmovilizadas durante el lavado y la operación (Cao, 2006). La encapsulación se basa en el atrapamiento de la biomolécula en una matriz polimérica. La principal ventaja de esta técnica es que la matriz es permeable a compuestos de bajo peso molecular y es común su aplicación para inmovilizar células vegetales. El enlazamiento

1. Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas; Blvd. Venustiano Carranza s/n Col Republica Oriente C.P 25280 Saltillo, Coahuila, andresgarciacortes@uadec.edu.mx
2. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas, Centro Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro. blancag@uaq.mx

covalente está basado en la formación de un enlace entre la biomolécula y el material que servirá de soporte y permite una fuerte unión entre ambos, esto le confiere alta resistencia al calor, facilita el contacto entre la enzima y el sustrato. Sin embargo el movimiento de la enzima puede quedar limitado y su actividad enzimática disminuye, no obstante es uno de los métodos más utilizados y sencillos de realizar; el entrecruzamiento es una técnica de inmovilización que combina el atrapamiento y el enlazamiento covalente y hace uso de agentes de entrecruzamiento como el glutaraldehído y genipino (Eş et al., 2015).

Asimismo los materiales de soporte para realizar la inmovilización son varios y al igual que las técnicas su elección se ve influenciada por las condiciones de reacción y los costos de producción, el soporte ideal debe permitir una fácil separación entre el portador de la enzima y el medio, además de encontrarse aprobado para su uso en la industria específica. El colágeno se utiliza debido a su biocompatibilidad, disponibilidad en la naturaleza y su habilidad para atrapar células, sin embargo su purificación resulta muy costosa para utilizarse como material de soporte; el quitosano se obtiene de la desacetilación de la quitina, esta se encuentra abundantemente en conchas, hongos e insectos y puede formar hidrogeles por entrecruzamiento con el glutaraldehído y el glutamato. Principalmente se ha utilizado en las industrias de alimentos y de farmacia (Eş et al., 2015).

El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad de la enzima lipasa, que es la responsable de catalizar la reacción de los lípidos en los alimentos, en soportes de acero inoxidable con el fin de obtener sabores lácteos. Se seleccionó el método de entrecruzamiento debido a que se requiere de un enlace fuerte entre la enzima y el soporte para resistir los lavados con soluciones a los que fueron sometidos. Como matriz de entrecruzamiento se utilizaron genipino y quitosano y se realizaron pretratamientos al acero para permitir la unión de funciones orgánicas en su superficie sobre las cuales se unirá la lipasa.

MÉTODOS Y MATERIALES

Lavado de las placas:

Para la inmovilización se utilizaron placas de acero inoxidable 304 terminado 2B de 3 cm de ancho y 3 cm de largo y 1 mm de espesor las cuales se limpiaron siguiendo la metodología propuesta por Barbes *et al.*, (2008) que consiste en lavados con un sonicador 70% de amplitud dentro de un frasco se colocan las placas con distintos solventes que se especifican en la Tabla 1.

Tabla 1. Lavados de placas

Solvente	Tiempo (min)
Acetona	5
Agua 50 °C	5
Hexano	15
Agua 50 °C	15
Étanol	20
Agua 50°C	20

Activación de los grupos funcionales:

Una vez lavadas las placas se sumergieron una solución piraña (2.7:1 v/v de H₂SO₄ y H₂O₂ al 30%) precalentada a 90 °C y se dejaron durante 30 minutos a baño maría dentro de la campana de extracción. La solución piraña además de retirar residuos orgánicos de la superficie del acero deja expuestos los grupos hidroxilo con los que el quitosano se unirá covalentemente. Después de que se sumergieron se enjuagaron las placas tres veces con agua destilada seguida de metanol. Por último se colocaron dentro de un frasco de tinción y se secaron en un horno a 150 °C por 50 minutos, se debe tener cuidado especial en no exponer las placas al ambiente para evitar que absorban humedad debido a que el tratamiento las vuelve altamente hidrofílicas (Benvenuto et al., 2015).

Aplicación de la solución de quitosano, genipino y lipasa:

Cuando las placas se encontraron secas se registró su peso y se cubrieron con una solución de quitosano al 2% en ácido acético 0.35 M previamente sonicada a amplitud 40% por 20 minutos, se dejaron sumergidas en un agitador oscilante durante 1 hora dentro de un frasco de tinción, al termino se recuperó el quitosano y se cubrieron con una solución de hidróxido de amonio y etanol 4:1 por 12 horas para gelificar el genipino que se adhirió a la placa, se lavaron con un buffer de fosfato citrato pH 7 por 4 veces durante 1 hora y nuevamente se secaron a 150 °C durante 50 minutos, se registró el peso para obtener la cantidad de quitosano que se adhirió a las placas.

Se preparó una solución de genipino al 0.5% en 5 mL de dimetilsulfoxido y se llevó a 50 mL con buffer citrato fosfato, esta solución se agregó al frasco con las placas hasta cubrir las completamente y se dejó en agitación oscilante durante 3 horas al termino se enjuagaron las placas 3 veces con buffer citrato fosfato y se añadió la lipasa en solución al 1% disuelta en buffer y se dejó 12 horas. El genipino ayuda a reforzar la matriz de entrecruzamiento para la inmovilización permitiendo un mejor enlazamiento entre la lipasa y el soporte, la figura 1 muestra la estructura hipotética de la red de genipino con quitosano y lipasa. El contenido de proteínas de la lipasa se analizó mediante el método de Bradford (que se explica en la siguiente sección) previo a que se sumergieran las placas y después la solución de lipasa se recuperó para analizarse y encontrar la cantidad de proteína que se enlazó por diferencia entre los resultados de los análisis de Bradford.

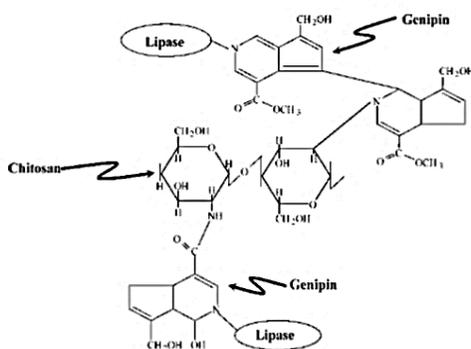


Figura 1. Red de quitosano, genipino y lipasa entrecruzada.

Cuantificación de proteínas mediante el método de Bradford:

El método de Bradford sirve para estimar la concentración de proteínas, es una técnica más rápida, simple y más sensible que el otros métodos, además de ser menos sensible a interferencias de otros componentes distintos a las proteínas, se basa en el enlace entre la parte aniónica del azul de Coomassie G-250 y la proteína, que tiene una absorbancia máxima a 590 nm, así se puede estimar la cantidad de proteína midiendo la absorbancia (A_{595}) de la solución (Walker, 2002).

Se prepara el reactivo azul disolviendo 100 mg de azul de Coomassie G-250 en 50 mL de etanol al 95%, la solución se mezcla con 100 mL de ácido fosfórico 85% y se lleva a 1 L con agua destilada, se filtra la solución y se almacena en una botella ámbar a temperatura ambiente, si se llega a formar un precipitado el reactivo se filtra antes de usar nuevamente.

El estándar de BSA (Albúmina de suero bovino por sus siglas en inglés) se prepara con una concentración de 100 µg/mL en agua destilada y se almacena a -20°C, la absorbancia de 1 mg/mL de BSA.

Para la determinación de la cantidad de lipasa se realizaron dos diluciones (1/10 y 1:1) con una solución de NaCl de las muestras de la enzima antes y después de su uso. Se tomaron tres repeticiones de 100 µL de la enzima, se mezclaron con 1 mL de reactivo azul y se midió su absorbancia en un espectrofotómetro a 595 nm, los resultados se encuentran en la sección correspondiente.

Determinación de la actividad enzimática:

Se determinó la actividad enzimática de las placas con lipasa inmovilizada y se comparó con la actividad de la enzima libre a 0.6557 mg inmovilizados, se utilizó 4-nitrofenilpalmitato como sustrato y se midió su absorbancia a 410 nm siguiendo la metodología de Gupta, Rathi, & Gupta (2002) para clarificar la solución antes de su lectura. Una vez colocado el 4-nitrofenilpalmitato con las placas en un vaso se incubó a 37 °C durante 15 minutos, se tomaron 5 mL de cada vaso y se agregaron 100 µL de tritón X-100 a cada uno y se agitó. La reacción se detuvo con un baño de hielo, se tomaron 200 µL de cada muestra y se llevaron a medir al espectrofotómetro comparando la actividad de la enzima libre y la enzima inmovilizada midiendo la cantidad de p-nitrofenol producido en cada caso.

RESULTADOS

En la tabla 2 se muestran los pesos antes y después del tratamiento con quitosano y la cantidad que se enlazó a las mismas.

Tabla 2. Pesos de las placas con quitosano enlazado

Placa	Peso de la placa (g)	Peso después del tratamiento (g)	quitosano enlazado (g)
1	6.3322	6.3382	0.006
2	6.4683	6.4716	0.0033

En la figura 2 se puede apreciar como es el producto final de la placa con la enzima inmovilizada, los resultados de la cuantificación de proteínas de Bradford (figura 3 y tabla 3) muestran que se logró entrecruzar 0.2113 mg en 0.006 g de quitosano donde la lipasa inmovilizada es la resta de la lipasa sobrenadante menos la lipasa libre.



Figura 2 Placa con lipasa inmovilizada

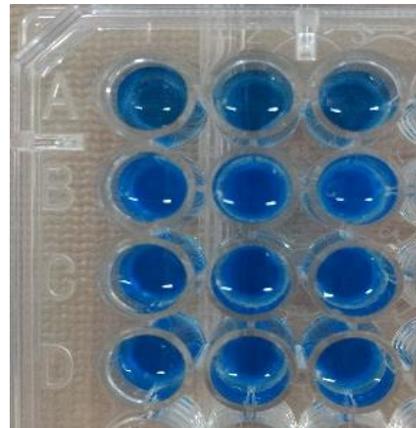


Figura 3 microplaca con la enzima sobrenadante y la enzima libre

Tabla 3. Resultados del análisis Bradford en dilución 1:1

MUESTRAS	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio	Absorbancia corregida	Desviación estándar	Concentración de proteína (mg/mL)
Blanco	0.628	0.567	0.584	0.593	0	0.03148015	0
Lipasa libre 1:1	1.76	1.852	1.909	1.840	1.247	0.0752	1.64900648
Lipasa sobrenadante 1:1	1.692	1.651	1.7	1.681	1.088	0.0263	1.43770307

Los resultados del análisis de actividad enzimática mostraron que la lipasa libre produjo 7337.04 nM de p-Nitrofenol mientras que la enzima inmovilizada produjo 18855.56 nM mostrando una mayor actividad en comparación a la enzima libre.

CONCLUSIONES

Con la inmovilización de la enzima se puede garantizar su reutilización. Se logró encontrar la concentración 0.211303406 mg de proteína y se conoció el proceso de inmovilización enzimática. Sin embargo, es necesario realizar más pruebas modificando el método para encontrar un tratamiento óptimo que enlace una mayor cantidad de enzima sin perder la actividad enzimática conseguida además de encontrar la vida útil de la enzima reutilizándola. Hasta ahora se obtuvieron datos significativos acerca de sus condiciones y comparación con su contraparte libre. El tiempo de vida medio reportará resultados más exactos sobre la viabilidad de la inmovilización en este uso particular para poder ser escalado a nivel piloto.

BIBLIOGRAFÍA

- Barbes, L., Salmain, M., & Stanciu, G. (2008). A Technique To Immobilize Trypsin on Stainless Steel in Order To Prevent Biofilms Formation. *Pubs.Ub.Ro, IX*(June), 25–29. Recuperado a partir de <http://www.pubs.ub.ro/dwnl.php?id=CSCC6200809V04S01A0004>
- Benvenuto, P., Neves, M. A. D., Blaszykowski, C., Romaschin, A., Chung, T., Kim, S. R., & Thompson, M. (2015). Adlayer-mediated antibody immobilization to stainless steel for potential application to endothelial progenitor cell capture. *Langmuir, 31*(19), 5423–5431. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00812>
- Cao, L. (2006). *Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principles, Application and Design*. <https://doi.org/10.1201/9783527607082>
- Chibata, I. (1979). Chemistry for the Welfare of Mankind. En *Chemistry for the Welfare of Mankind* (pp. 667–675). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-022007-9.50038-4>
- Eş, I., Vieira, J. D. G., & Amaral, A. C. (2015). Principles, techniques, and applications of biocatalyst immobilization for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology, 99*(5), 2065–2082. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6390-y>
- Gupta, N., Rathi, P., & Gupta, R. (2002). Simplified para-nitrophenyl palmitate assay for lipases and esterases. *Analytical Biochemistry, 311*(1), 98–99. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(02\)00379-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(02)00379-2)
- Thompson, K., Johnson, R., & Lloyd, N. (1970). *U.S.3788945A*. U.S.A.: United States Patent Office.
- Walker, J. M. (2002). *The Protein Protocols Handbook*. Humana Press. <https://doi.org/10.1385/1592591698>
- Xiuqing, Z., Dandan, L., Yangjiang, L., Lianzhou, & Baokun, Q. (2012). *CN202390423U*. China: State Intellectual Property Office.

FORMULACION DE UNA LOCION ANTI-ACNÉ CON EXTRACTO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) Y EVALUACION ANTIMICROBIANA.

Anel Irán Estrada Pérez¹ y María Rico Martínez²

RESUMEN

Se evaluaron las propiedades antimicrobianas del ajo (*Allium sativum*) con el fin de determinar si éste contiene compuestos con capacidad antimicrobiana contra las bacterias capaz de eliminar las bacterias que habitan la piel del rostro, de esta forma extraer los compuestos bactericidas que se utilizarán en la formulación de una loción anti-acné.

ABSTRACT

The antimicrobial properties of garlic (*Allium sativum*) were evaluated in order to determine if it contains compounds with antimicrobial capacity against the bacteria that can eliminate the bacteria that lives at the skin of the face, in this way extract the bacterial compounds that are used in the formulation of an anti-acne lotion.

Palabras Clave: ajo, *allium sativum*, acné.

INTRODUCCION

La piel es una membrana fibroelástica, de estructura compleja que da cobertura y protección a los tejidos profundos, y recibe impresiones del mundo externo al cual está continuamente expuesta (Dearborn, 1992). Es el órgano más grande que poseemos como humanos y cumple con las funciones de ser una barrera física de permeabilidad, protección contra los agentes infecciosos, termorregulación, sensaciones, protección contra la luz UV, reparación de heridas, regeneración y apariencia física externa (Fitzpatrick, 2008).

El acné vulgar es otro nombre para el acné común. Este es un problema cutáneo común, puede deberse a distintos factores como: genéticos, hormonales, temperatura, medio ambiente, alimentación, entre otros. Se presenta especialmente en adolescentes, pero puede persistir y agravarse a medida que se llega a la edad adulta. Esta clase de acné se caracteriza principalmente por la presencia de puntos blancos y puntos negros, el acné es producido cuando un poro está completamente bloqueado, atrapando el sebo, las bacterias y las células muertas de la piel, propiciando un medio de crecimiento adecuado para distintas bacterias, principalmente *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermis* (Acton, 2012).

El ajo es una de las plantas más utilizadas para prevención y tratamiento de enfermedades; pertenece al género *Allium* y contiene una gran variedad de compuestos sulfurados a los cuales se les atribuye su actividad biológica. Contiene alicina, que es el compuesto mayoritario presente en el ajo, esta sustancia se forma por la acción de la enzima alinasa, presente en la cubierta, cuando actúa sobre la aliina que forma parte de los dientes de ajo, estas dos sustancias se encuentran en compartimentos diferentes dentro de la célula, por eso es necesario que el ajo sea partido

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas; Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad Universitaria, Ejido El Águila, C.P: 27276, Torreón, Coahuila, iranest16@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, Instituto Tecnológico Superior de Abasolo; Cuitzeo de 401 Cuitzeo de los Naranjos, Los Naranjos, C.P: 36976, Abasolo, Guanajuato.

o machacado para que se produzca la formación de alicina. Sus propiedades antimicrobianas se confirmaron frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y otros patógenos (Domingo, 2003).

Existen distintos tratamientos anti-acné, ya sean químicos o naturales, estos en diversas presentaciones; las más comunes pueden ser fármacos, cremas, lociones, entre otros. Los extractos fueron realizados con metanol y acetato de etilo, debido a sus propiedades de extraer sustancias, por un lado el metanol es polar así que se utiliza para extraer compuestos apolares, por el contrario tenemos al acetato de metilo que se caracteriza por ser un disolvente apolar y se utiliza para extraer compuestos polares; en este caso se elige una loción con extracto de ajo por presentar algunas ventajas, entre ellas que es de fácil uso, ya incluye el ingrediente activo, por lo tanto se ahorra tiempo, es un remedio natural y por su formulación, base Beeler, es recomendada para aplicar en el rostro y en todos los tipos de pieles, ya que permite paso de exudados y no macera lesiones. Esta base se caracteriza por ser una emulsión consistente, con buena extensibilidad y altamente evanescente, es menos grasosa y más fluida, por lo tanto es de uso preferente en el rostro, es adecuada para incorporar activos ácidos e incompatible con cremas no iónicas.

METODOLOGIA

Se realizó la toma de muestra de la microbiota que se encuentra en la piel. Se tuvieron tres individuos del Bajío con edades de 20 – 40 años, a estos mismos se les aplicó en la mejilla izquierda ajo machacado y en la derecha jabón, se esperó durante 1 minuto, una vez terminado el tiempo se enjuagó. Con un hisopo completamente estéril y húmedo, se tomó muestra de la superficie de la piel antes y después de los tratamientos con ajo y jabón. Las muestras tomadas fueron inoculadas en agar nutritivo y PDA, se dejaron incubar a temperatura ambiente durante 24 horas. Las colonias que crecieron fueron contabilizadas y aisladas.

Obtención de extracto. Se secaron rebanadas de ajo en un horno a temperatura de 55 – 60 °C durante 8 horas. Se pulverizó el ajo deshidratado, obteniendo un polvo fino, este fue suspendido en acetato de etilo o alcohol metílico.

Actividad bactericida por antibiograma. En cajas Petri con las bacterias aisladas se colocaron discos con 10 µL de los extractos de acetato de etilo y metanol, de los solventes utilizados (blanco) y los antibióticos gentamicina y estreptomycin (control positivo). Se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas y se midió el halo de inhibición.

Desarrollo de formulación. Se desarrolló a partir de la base de Beeler, añadiéndose 1 g de cera blanca, 10g de propilenglicol, 2g de lauril sulfato sódico, 100g de agua destilada y sustituyendo 15g de ácido cetílico por 15g de lanolina. Se realizó una segunda formulación con la misma fórmula, pero esta vez reemplazando la lanolina por 15g de ácido oleico.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las siguientes tablas se muestran las colonias obtenidas antes y después de la aplicación del ajo y el jabón.

Tabla. 1. Cantidad de colonias en individuo 1

	Antes	Después
Jabón	3	2
Ajo	3	2

Tabla. 2. Cantidad de colonias en individuo 2

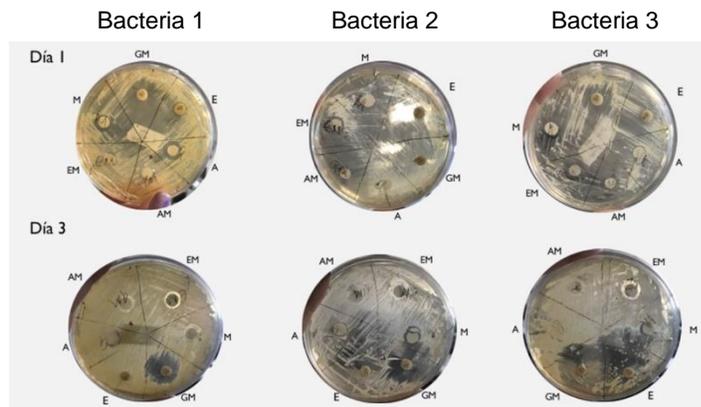
	Antes	Después
Jabón	3	2
Ajo	3	3

Tabla. 3. Cantidad de colonias en individuo 3

	Antes	Después
Jabón	2	2
Ajo	3	2

Se observó que en los individuos 2 y 3 el experimento no fue tan efectivo como en el individuo 1 ya que estos individuos presentaban acné hormonal, el individuo 1 presentaba acné vulgar. También se considera como factor, que el jabón y el ajo se dejaron durante un minuto, lo cual no permitió que actuaran como debían; por otro lado, respecto al jabón, no se le permitió hacer su efecto, ya que la acción limpiadora se lleva a cabo mediante la espuma que se produce; y respecto al ajo, se consideró que se debió permitir que actuara a mayor profundidad sobre la piel.

Tras tomar las muestras de antes y después del ajo y jabón, se aislaron 4 cepas en las cuales se realizó el antibiograma (Fig 1.), pudiendo observar resultados en sólo tres.



GM: gentamicina
E: eritromicina
M: metanol
A: acetato de etilo
EM: extracto de metanol
AM: extracto de acetato de etilo

Tabla 4. Acotaciones antibiograma

Figura 1. Halos de inhibición en tres cepas distintas

El objetivo de realizar esta prueba, fue comprobar que los extractos eran capaces de eliminar las bacterias obtenidas del rostro de los individuos. Se pudo observar en el primer día de las 3 distintas bacterias que tanto los extractos como los solventes produjeron un halo de inhibición, lo cual pudo ser sólo efecto de los solventes, pero esto fue descartado en el día 3, que los halos de los solventes se redujeron y los de los extractos se mantuvieron del mismo tamaño. También se pudo observar que los extractos tuvieron distinta efectividad contra las bacterias.

Bacteria 1: el extracto de acetato de etilo fue más eficaz, esto se pudo comprobar observando que el halo del extracto de etilo era más amplio que el del extracto de metanol.

Bacteria 2: el halo del extracto de acetato de etilo fue más amplio, por lo tanto, más eficaz contra la bacteria.

Bacteria 3: el extracto de metanol fue más efectivo contra la bacteria, obteniendo un halo más grande que el del extracto de acetato de etilo.

La formulación de la loción fue mediante base de Beeler, debido a que se sustituyó el alcohol cetílico por lanolina se obtuvo un ungüento, y ya que el objetivo era obtener una fórmula líquida, se realizó la segunda formulación reemplazando la lanolina por ácido oleico, obteniéndose una fórmula líquida de dos fases.

El motivo por el que se obtuvo esta fórmula al sustituir con ácido oleico, se debió a que la estructura química de este es muy parecida a la del ingrediente original (alcohol cetílico).

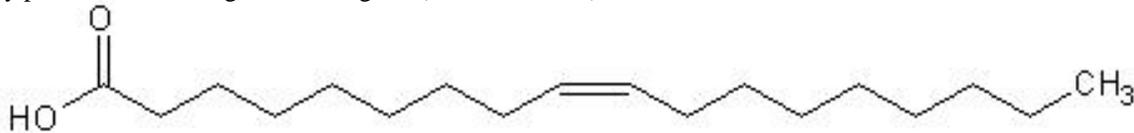


Figura 3. Estructura química del ácido oleico

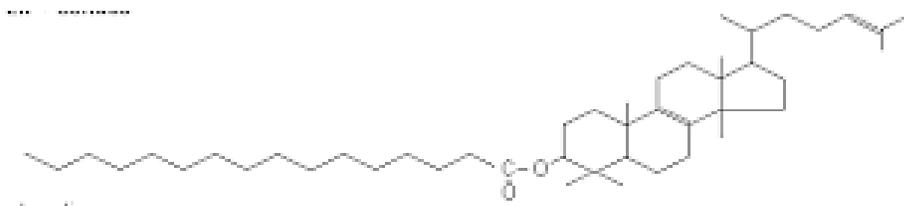


Figura 2. Estructura química de la lanolina

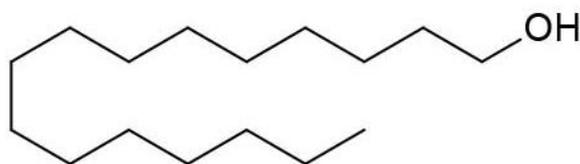


Figura 4. Estructura química del alcohol cetílico

CONCLUSIONES

Las colonias utilizadas fueron obtenidas de un individuo que presentaba acné vulgar, en estas cepas se realizaron antibiogramas, en los cuales se pudieron observar distintos resultados. El extracto de acetato de etilo se mostró más eficaz al observar los halos de inhibición en las cepas 1 y 2, a comparación del extracto metanólico que mostró mayor acción en la cepa 3. Lo cual nos lleva a concluir que a diferencia del metanol, el acetato de etilo logró extraer más sustancias con propiedades antimicrobianas.

BIBLIOGRAFIA

CRUZ, A. (2002). Acné, México: Selector Editorial.

PERALTA, R., VIVAS, E. (1997). Piel y alergias, Madrid: Ediciones Díaz de Santos.

FITZPATRICK, T. (2003). Dermatología en medicina general, Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

ACTON, A. (2012). Acne Vulgaris: New Insights for the Healthcare Professional, Atlanta: Scholarly Editions.

LAFUENTE, S., BURGUETE, M., ALTAVA, B. (1997). Introducción a la química orgánica, Castellón de la Plana: Publicaciones de la Universidad Jaime I.

BIANCHINI, F., y VAINIO, H. (2001). *Allium* Vegetables and Organosulfur Compounds: Do They Help Prevent Cancer?. *Environmental Health Perspectives*, 100(9), 893-902.

DOMINGO, D., y LÓPEZ-BREA, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Rev Esp Quimioterap*, 16(4), 385-393.

SÍNTESIS VERDE DE MOLECULAS DE INTERÉS EN QUÍMICA MEDICINAL

Angélica Yahaira García Contreras¹ y María del Rocío Gámez Montaña²

RESUMEN

En este trabajo, se describe la síntesis de imidazo[1,2-*a*]piridinas mediante una reacción de multicomponentes basada en isonitrilo (RMC-I) de tipo Groebke-Blackburn-Bienaymé (GBB-3CR). El objetivo es analizar el efecto de sustituyentes en el componente aldehído, utilizando benzaldehídos (**5 a-c**) con diferente patrón de sustitución, así como 2-aminopiridina (**6**) y *tert*-butylisonitrilo (**7**), usando EtOH como disolvente y NH₄Cl como catalizador verde, e irradiación por ultrasonido (USI) como fuente de calentamiento.

ABSTRACT

In this work, the synthesis of imidazo [1,2-*a*] pyridines is described by a multicomponent reaction based on isonitrile (MCR-I) of the Groebke-Blackburn-Bienaymé type (GBB-3CR). The objective is to analyze the effect of substituents on the aldehyde component, using benzaldehydes (**5 a-c**) with different substitution, as well as 2-aminopyridine (**6**) and *tert*-butylisonitrile (**7**), using EtOH as solvent and NH₄Cl as green catalyst, and ultrasound irradiation (USI) as source of heating.

Palabras clave: Imidazo[1,2-*a*]piridinas, Reacciones de multicomponentes (RMC), reacción de Groebke-Blackburn-Bienaymé (GBB-3CR)

INTRODUCCION

Las reacciones multicomponentes, (RMC) son reacciones en donde participan al menos tres reactivos para formar un producto final que contiene todos o la mayoría de los átomos de los materiales de partida. Las reacciones de multicomponentes presentan múltiples ventajas en comparación con las síntesis convencionales ya que nos permite ahorrar tiempo y costos con alta convergencia y economía atómica por lo cual se ha introducido como una poderosa estrategia para la síntesis de compuestos heterocíclicos complejos. (Akalai, 2016)

Existe una gran variedad de RMC, sin embargo las reacciones de multicomponentes basadas en isonitrilos (RMC-I) juegan un papel fundamental para la síntesis de heterociclos nitrogenados. La historia del desarrollo de las RMC-I se haya estrictamente ligada a los estudios de reactividad de los isonitrilos. Este grupo funcional se caracteriza por tener la capacidad de reaccionar con electrófilos y nucleófilos. (Akalai, 2016)

Un tipo de RMC-I es la reacción de Groebke-Blackburn-Bienayme (GBB-3CR), fue descubierta de forma independiente en 1998 por tres grupos de investigación; Katrin Groebke (Suiza), Christopher Blackburn (Cambridge, EE. UU.) y Hugues Bienayme (Francia). La reacción de GBB-3CR es una reacción de tres componentes que implica una reacción entre un aldehído (**1**), 2-aminoazinas (**2**) y un isonitrilo (**3**) en presencia de un catalizador que generalmente es un ácido de Lewis o de Bronsted, para proporcionar derivados de imidazol (**4**) altamente sustituidos y fusionados. (Nisha Devi, 2015)

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas; Blvd. Venustiano Carranza e Ing. José Cárdenas Valdez, s/n, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, angie3101g@gmail.com

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas; Noria Alta, S/N, C.P. 36050, Guanajuato, Guanajuato, rogammo@gmail.com

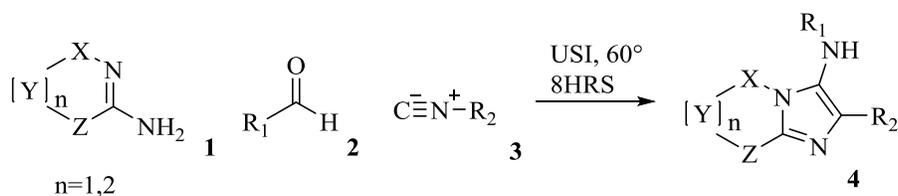


Figura 1. Esquema general de la reacción de GBB-3CR

Las imidazo[1,2-a]piridinas se considera como un núcleo privilegiado en la química medicinal, el cual se encuentra presente en una gran variedad de compuestos bioactivos. Algunos fármacos que describen propiedades biológicas importantes: tratamiento para la osteoporosis, enfermedades del corazón, enfermedades gástricas, analgésicas y antivirales. (**Figura 2**).

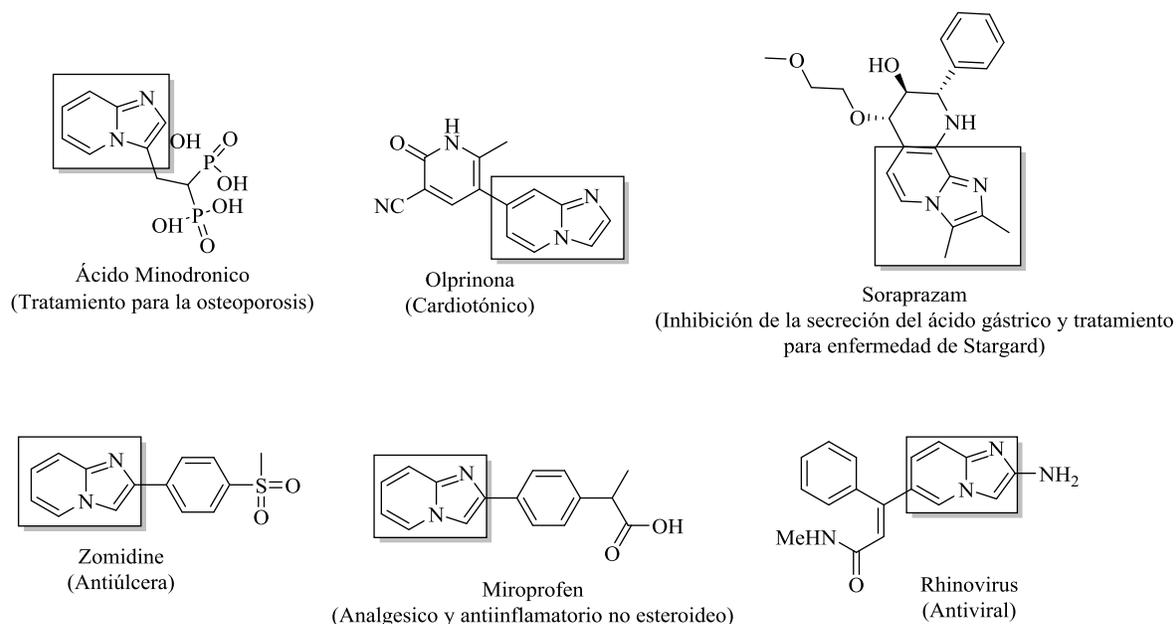


Figura 2. Fármacos que contienen el núcleo de Imidazo[1,2-a]piridinas

MATERIALES Y MÉTODOS

Las reacciones se llevaron a cabo en sonicación en un equipo Branson 1510 que trabaja a una frecuencia de 42 kHz. La reacción se monitoreo mediante cromatografía en capa fina (c.c.f) en placas de silica-gel soportadas en aluminio, para el revelado del producto, se utilizó una lámpara UV, 254 nm / 365 nm de 6 watts, modelo UVGL-58. Se utilizó un rota vapor Buchi R-3 para la evaporación de los disolventes. La purificación de los productos se realizó mediante cromatografía flash utilizando silica-gel (230-400 mesh) como fase estacionaria y como fase móvil se utilizaron diferentes mezclas de hexano y acetato de etilo (Hex/AcOEt).

Procedimiento general. En un tubo de microondas se disolvió el aldehído correspondiente (**5a-c**)(1.0 equiv.), en Etanol (1.0 M), posteriormente se adiciono la 2-aminopiridina (**6**) (1.05 equiv.) y *tert*-butil isonitrilo (**7**) (1.2 equiv.), se adicionó NH₄Cl (20% mol) como catalizador, seguido de esto, se hizo reaccionar en el sonicador durante 8 h, la reacción fue monitoreada cada 2 h por c.c.f. Al finalizar la reacción, el crudo de reacción se soportó en silica en un matraz bola de 25mL, y se purificó por cromatografía flash para obtener el producto puro (**8a-c**).

RESULTADOS

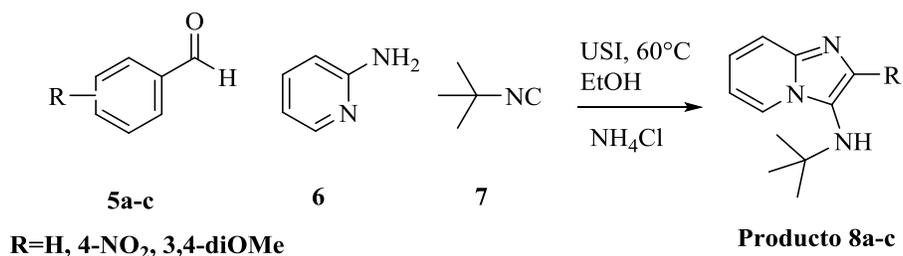


Figura 3. Esquema general de síntesis

Tabla 1. Rendimiento de los experimentos realizados.

Experimento	Aldehído	Tiempo (h)	Producto	Rendimiento (%)
1		8		84
2		8		80
3		8		87

[a] 1.0 equiv. of aldehído (**5a-c**), 1.05 equiv. de 2-aminopiridina (**6**), 1.2 equiv. de *tert*-butil isonitrilo (**7**), 20% mol NH_4Cl . en EtOH (1.0 M) a 60 °C por 8 h.

En la **Tabla 1** se muestran los rendimientos obtenidos de los compuestos **8 a-c** (80-87%), no se observó un efecto significativo en el rendimiento variando la naturaleza estructural y electrónica del componente aldehído. Se observó la fluorescencia de los productos (**Fig. 5**) sometidas por la luz UV a 365 nm, se observa que el grupo nitro (grupo electro-atractor) tiene efecto en las propiedades fluorescentes de los compuestos sintetizados ya que se observa un abatimiento de la fluorescencia en el compuesto que tiene en su estructura el grupo nitro. El 3,4 dimetoxibenzaldehído (**5c**) y el benzaldehído (**5a**) se observó fluorescencia azul. A continuación se describe el mecanismo de reacción para la formación de los productos **8a-c**.



Figura 4. Producto sin irradiación de UV

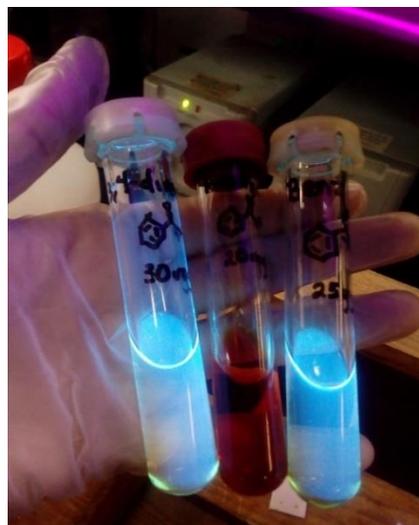


Figura 5. Producto fluorescente irradiando a 365 nm

En la primera etapa, del mecanismo el aldehído (**5a-c**) y la 2-aminopiridina (**6**) reaccionan inicialmente para la formación de la imina (**9a-c**), que se produce a través de la condensación de ambos componentes, seguido de la activación de la imina (**10a-c**) por parte del protón del ácido de Bronsted (NH_4Cl), posteriormente ocurre una ciclo adición [4+1] (no concertada) entre la imina (que contiene tanto un electrófilo como un nucleófilo) y el *tert*-butilisonitrilo (**7**) (que se comporta como un carbenoide de vinilideno) para dar el intermediario (**11a-c**). Que posteriormente mediante un desplazamiento 1,3 de protón conduce a los aminoimidazoles aromáticos finales (**8a-c**).

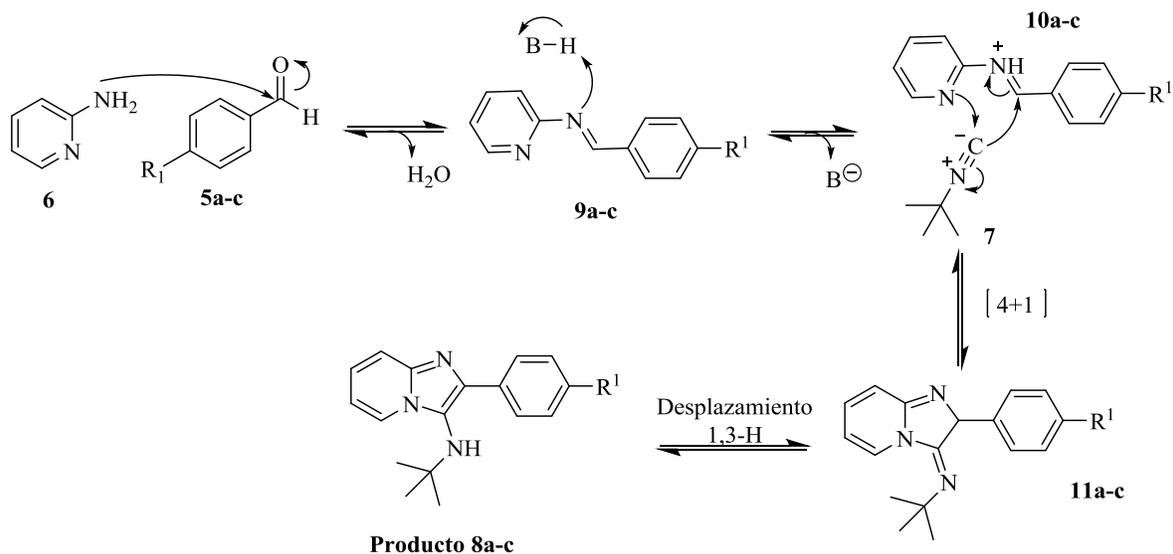


Figura 6. Mecanismo de reacción

CONCLUSIONES

La metodología empleada nos permitió sintetizar análogos de imidazo[1,2-*a*]piridinas mediante la estrategia de sintética basada en la RMC-I GBB-3CR usando EtOH como disolvente y NH₄Cl como catalizador y USI como fuente de irradiación. Se observó que los aldehídos (**5a-c**) no tienen un efecto significativo en el rendimiento de la reacción (81-88%) además se observó que el grupo nitro abate la fluorescencia por ser un grupo fuertemente electroattractor. Los compuestos sintetizados son ejemplos de moléculas híbridas, que contienen el núcleo imidazo[1,2-*a*]piridinas, los cuales se han reportado que son importantes en el área de química medicinal, así como en óptica, en el desarrollo de quimio sensores y sondas fluorescentes en bioimagen.

BIBLIOGRAFÍA

Documento sitio web

Akalai, K. (19 de septiembre de 2016). *Depósito de la investigación*. Obtenido de Universidad de Sevilla: <https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/50474/Akalai%2C%20Kaoutar.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Artículos de revista

Nisha Devi, R. K. (2015). Diversity-oriented synthesis of fused-imidazole derivatives via. *Elsevier*, 183-232.

a) Pharande, S. G.; Rentería-Gómez, M.A.; Gámez-Montaña, R. *New J. Chem.* **2018**, 42, 11294-11298. b) Avarez-Rodríguez, N.V.; Islas-Jácome, A.; Rentería-Gómez, A.; Cárdenas-Galindo, L.E.; Unnamatla, M. V. B.; Gámez-Montaña, R. *New J. Chem.* **2018**, 42, 1600-1603. c) Unnamatla, M. V. B.; Islas-Jácome, A.; Rentería-Gómez, Á.; Conejo, A.S.; Mahanandaiah, K.; Jiménez-Halla, J. O. C.; Conejo, A.S.; Velusami, J.; Ramos-Ortiz, G.; Gámez-Montaña, R. *New J. Chem.* **2017**, 41, 9, 3450-3459.

a) Unnamatla, M. B.; Islas-Jácome, A.; Quezada-Soto, A.; Ramírez-López, S. C.; Flores-Álamo, M.; Gámez-Montaña, R. *J. Org. Chem.* 2016, 81, 10576-10583. b) Rentería-Gómez, A.; Islas-Jácome, A.; Cruz-Jiménez, A. E.; Manzano-Velázquez, J. C.; Rojas-Lima, S.; Jiménez-Halla, J. O. C.; Gámez-Montaña, R. *ACS Omega.* **2016**, 1, 943-951. c) Pharande, G. S.; Corrales-Escobosa, A. R.; Gámez-Montaña, R.; *Green Chem.*, **2016**, 19, 1259.

Alexander Dömling, A.; Wang, W.; Wang, K. *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 3083-3135

Dömling, A. *Chem. Rev.* 2006, 106, 17.

Shaaban, S.; Abdel-Wahab, B. F. *Molecular Diversity* **2015**, 20 (1), 233-254.

DISEÑO DE UN NANOSOPORTE MAGNÉTICO PARA INMOVILIZACIÓN DE ENZIMAS

Arais Azucena Vazquez Maldonado¹ y Aldo Amaro Reyes²

RESUMEN

La amilasa es una enzima que cataliza la división de 1,4 – alfa-glicósido en el interior de la molécula de los polisacáridos de los vegetales y animales, provocando la despolimerización del almidón a dextrina, y del glicógeno, a azúcar sencillo (glucosa). En este trabajo se realizó la inmovilización de la enzima amilasa obtenida por fermentación sólida del hongo *Aspergillus niger*, el extracto fue analizado para actividad por DNS. La inmovilización se llevó a cabo por unión covalente usando nanopartículas magnéticas recubiertas de quitosano (NPMQ) obtenido por coprecipitación, Los grupos de soporte hidroxilo y amino de las NPMQ se activaron usando genipina. Dando un 6.1% de inmovilización con una eficiencia de 27.054% y un rendimiento de 31.474%.

ABSTRACT

Amylase is an enzyme that catalyzes the division of 1,4-alpha-glycoside into the molecule of the polysaccharides of plants and animals, causing the depolymerization of starch to dextrin, and glycogen, to simple sugar (glucose). In this work the immobilization of the amylase enzyme obtained by solid fermentation of the fungus *Aspergillus niger* was performed, the extract was analyzed for activity by DNS. The immobilization was carried out by covalent binding using magnetic chitosan coated nanoparticles (NPMQ) obtained by coprecipitation, the hydroxyl and amino support groups of the NPMQ were activated using genipin. Giving a 6.1% immobilization with an efficiency of 27.054% a yield of 31.474%.

Palabras claves: Nanopartículas, magnetita, amilasa, quitosano, genipina

INTRODUCCION

En los últimos años, la biotecnología ha experimentado grandes avances, frente a sus aplicaciones industriales. Los procesos catalizados por enzimas en las industrias son cada día más numerosos. Las enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas, y son conocidas por su extraordinaria especificidad y su poder catalítico bajo condiciones no severas. Estas características defieren las enzimas de los catalizadores hechos por el hombre. Las enzimas catalizan miles de reacciones químicas que constituyen el metabolismo de las células, son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas (Nelson & Cox, 2015). Capaces de acelerar reacciones químicas específicas en un medio acuoso, bajo condiciones en las que los catalizadores no biológicos serían incapaces de realizar iguales funciones. Gran parte de sus propiedades catalíticas radica en el alto grado de especialización que presentan respecto al sustrato (Franco Vera, 2007; Marangoni, 2003; Mildvan, 1974). La amilasa es una enzima que cataliza la división de 1,4 – alfa-glicósido en el interior de la molécula de los polisacáridos de los vegetales y animales, provocando la despolimerización del almidón a dextrina, y del glicógeno, a azúcar sencillo (glucosa).

Las nanopartículas magnéticas (NPM) preparadas a partir de hierro (Fe^{+2} y Fe^{+3}) comúnmente se producen por coprecipitación. Estas poseen diversas aplicaciones como en la biorremediación de aguas para remover metales pesados (Cu^{+2} , Pb^{+2} , etc.) (Li, Elliott, & Zhang, 2006; Peng et al., 2010; Sun, Li, Cao, Zhang, & Wang, 2006); en el ámbito clínico para diagnóstico y en industrias biotecnológicas para la recuperación de enzimas como celulasas y amilasa (Osuna et al., 2012; Park et al., 2005). A menudo se utiliza el recubrimiento que aumenta la vida útil de las NPM. Una opción que se ha implementado es el revestimiento con quitosán (Dinçer & Telefoncu, 2007; Kaushik et

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Calzada Antonio Narro #1923, Col. Buenavista, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila.
araisazucenavazquezmaldonado@gmail.com

² Universidad Autónoma de Querétaro, Departamento de Biotecnología, Cerro de las Campanas s/n, Col. Las Campanas, C.P. 76010, Querétaro, Querétaro.
aldo.amaro@uaq.edu.mx

al., 2008; Lai, Zhang, & Han, 2008). Las nanopartículas magnéticas recubiertas con quitosán están siendo usadas en una amplia variedad de aplicaciones, como en la industria farmacéutica, ingeniería de tejidos, biosensores, inmovilización de enzimas y tratamiento de aguas residuales (Bhinder & Dadra, 2009; Datta, Christena, & Rajaram, 2013; Hou, Dong, Ye, & Chen, 2014; Jia et al., 2002). La inmovilización es un paso clave en la aplicación de amilasas en los procesos biotecnológicos (Zhao, Lei, Zhang, Wang, & Jiang, 2010). La inmovilización significa la asociación de los biocatalizadores con una matriz insoluble, de tal manera que se puedan retener para su reutilización (D'souza, 1999). Además, la inmovilización a menudo ayuda a incrementar la estabilidad de las enzimas. La selección inadecuada de técnicas de inmovilización puede causar daños en la conformación de las biomoléculas, llevando a la inactivación de éstas (Arya, Datta, & Malhotra, 2008). Los métodos de inmovilización incluyen adsorción y atrapamiento (técnicas físicas), así como unión covalente y entrecruzamiento (técnicas de inmovilización química).

Las enzimas inmovilizadas presentan varias ventajas sobre su contraparte en solución. Permiten un uso continuo, reutilización y control de las concentraciones de proteína empleada. Asimismo, es viable mejorar la estabilidad y actividad de la enzima, por ello la magnetita es sintetizada con una matriz de quitosano donde se ha comprobado que la relación molar 2:1 de Fe^{+2} y Fe^{+3} es la más efectiva, ya que muestra mejores propiedades magnéticas. Se realizan pruebas para verificar la cantidad de enzima retenida por el soporte magnético debido a las interacciones que formarán entre la matriz de quitosano del soporte y la enzima.

METODOLOGIA

La Síntesis de nanopartículas magnéticas se llevó a cabo por el método de coprecipitación usando una relación 2:1 de cloruro ferroso (Fe^{+2}) y cloruro férrico (Fe^{+3}) con quitosano de bajo peso molecular y ácido acético al 1% a 60 °C, se utilizó hidróxido de amonio con etanol en una relación 4:1 para la precipitación. Se obtuvo el extracto enzimático por filtración con el equipo millipore, posteriormente se realizó la determinación de proteínas totales por el método de Biuret y actividad enzimática por DNS. Para el proceso de inmovilización se utilizó 300 mg de NPMQ, 100 μL de genipina y 260 μL de extracto enzimático por 2 horas a 100 rpm y se centrifugó a 13000 rpm por 10 minutos y se lavó las muestras. Se realizó DNS a las muestras inmovilizadas y sobrenadantes para calcular el porcentaje de inmovilización y rendimiento.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las nanopartículas magnéticas (NPM) preparadas a partir de hierro (Fe^{+2} y Fe^{+3}) se producen por coprecipitación. Estas poseen diversas aplicaciones como en la biorremediación de aguas para remover metales pesados (Cu^{+2} , Pb^{+2} , etc.) (Peng et al., 2010). En el ámbito clínico para diagnóstico y en la industria biotecnológica para la recuperación de enzimas como celulasas y lipasas, en el ámbito clínico son utilizadas para resonancia magnética (Osuna et al., 2012) (Fang et al., 2012). En la Fig. 1 Se muestra las nanopartículas magnéticas de magnetita recubiertas con quitosán.



Figura 1. Nanopartículas magnéticas de magnetita con recubrimiento de quitosán

Los resultados de la determinación de proteínas totales por el método de Biuret nos muestra un total de proteínas de 162.393 mg/mL en el extracto enzimático del hongo *Aspergillus niger* (tabla 1). El método Biuret generalmente se usa para determinar la proteína total como método de referencia. En comparación con otros métodos, el método Biuret tiene las ventajas de una operación fácil, una precisión excelente y menos interferencia. El principio de este método es que el enlace peptídico de los residuos de aminoácidos y dos iones de cobre (Cu^{2+}) pueden formar un complejo púrpura en estado alcalino, y la oscuridad del color es proporcional al contenido de proteína en la muestra (Zheng, Wu, He, Yang, & Yang, 2017)

Tabla 1; Cantidad de proteína del extracto enzimático del hongo *Aspergillus niger*.

Tubos	Absorbancia Triplicado			Promedio	Cantidad de proteína		Proteína total
Blanco	0.055	0.076	0.067	0.066	0.2564	mg/mL	
Dil 1:10	0.127	0.135	0.123	0.128	16.2393	mg/mL	162.393 mg/mL

La Tabla 2 muestra los resultados de la cantidad de amilasa inmovilizada en el soporte, la actividad enzimática y el rendimiento de la inmovilización son importantes en el proceso, la inmovilización se llevó a cabo utilizando genipina como agentes de acoplamiento. Los valores muestran un 31.4 % para el rendimiento de la inmovilización, con una eficiencia de 27% y un 6% de actividad inmovilizada. Una actividad menos específica podría significar una parcial inactivación de la amilasa durante la inmovilización covalente debida.

Tabla 2: Proceso de inmovilización de la enzima amilasa en nanopartículas magnéticas con genipina como agente de acoplamiento.

	Amilasa (mM)
Actividad con Soporte Inmovilizado del Extracto del hongo <i>Aspergillus niger</i>	1.6527
Actividad Inmovilizada	6.109
Rendimiento %	31.474
Eficiencia %	27.054

CONCLUSIONES

Nanopartículas magnéticas recubiertas de quitosano obtenidas por el método de coprecipitación se aplicó con éxito para Inmovilización amilasa de *A. niger* utilizando gen como agentes de acoplamiento. La mayor actividad enzimática tuvo un valor de 6.109 mM; las propiedades cinéticas de la enzima cambiaron después del proceso de inmovilización, eso podría significar que la inmovilización de enlace covalente es efectiva y los derivados de la amilasa inmovilizada en NPMQ tiene un gran potencial para uso comercial debido a la simplicidad de su preparación y separación magnética.

BIBLIOGRAFIA

- Arya, S. K., Datta, M., & Malhotra, B. D. (2008). Recent advances in cholesterol biosensor. *Biosensors and bioelectronics*, 23(7), 1083-1100.
- Bhinder, S. S., & Dadra, P. (2009). Application of nanostructures and new nanoparticles as advanced biomaterials. *Asian J Chem*, 21, 167-171.
- D'souza, S. (1999). Immobilized enzymes in bioprocess. *Current Science*, 69-79.
- Datta, S., Christena, L. R., & Rajaram, Y. R. S. (2013). Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *3 Biotech*, 3(1), 1-9.
- Dinçer, A., & Telefoncu, A. (2007). Improving the stability of cellulase by immobilization on modified polyvinyl alcohol coated chitosan beads. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 45(1), 10-14.
- Fang, C., Kievit, F. M., Veisoh, O., Stephen, Z. R., Wang, T., Lee, D., . . . Zhang, M. (2012). Fabrication of magnetic nanoparticles with controllable drug loading and release through a simple assembly approach. *Journal of controlled release*, 162(1), 233-241.
- Franco Vera, L. (2007). Enzimas: qué son y para que sirven. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 101(2), 399-417.
- Hou, J., Dong, G., Ye, Y., & Chen, V. (2014). Laccase immobilization on titania nanoparticles and titania-functionalized membranes. *Journal of Membrane Science*, 452, 229-240.

- Jia, J., Wang, B., Wu, A., Cheng, G., Li, Z., & Dong, S. (2002). A method to construct a third-generation horseradish peroxidase biosensor: Self-assembling gold nanoparticles to three-dimensional sol-gel network. *Analytical Chemistry*, 74(9), 2217-2223.
- Kaushik, A., Khan, R., Solanki, P. R., Pandey, P., Alam, J., Ahmad, S., & Malhotra, B. (2008). Iron oxide nanoparticles-chitosan composite based glucose biosensor. *Biosensors and bioelectronics*, 24(4), 676-683.
- Lai, G.-S., Zhang, H.-L., & Han, D.-Y. (2008). Electrocatalytic oxidation and voltammetric determination of dopamine at a Nafion/carbon-coated iron nanoparticles-chitosan composite film modified electrode. *Microchimica Acta*, 160(1-2), 233-239.
- Li, X.-q., Elliott, D. W., & Zhang, W.-x. (2006). Zero-valent iron nanoparticles for abatement of environmental pollutants: materials and engineering aspects. *Critical reviews in solid state and materials sciences*, 31(4), 111-122.
- Marangoni, A. G. (2003). *Enzyme kinetics: a modern approach*: John Wiley & Sons.
- Mildvan, A. S. (1974). Mechanism of enzyme action. *Annual review of biochemistry*, 43(1), 357-399.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2015). *Lehninger: principios de bioquímica*.
- Osuna, Y., Gregorio-Jauregui, K. M., Gaona-Lozano, J. G., de la Garza-Rodríguez, I. M., Ilyna, A., Barriga-Castro, E. D., . . . López, R. G. (2012). Chitosan-coated magnetic nanoparticles with low chitosan content prepared in one-step. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 103.
- Park, J., Lee, E., Hwang, N. M., Kang, M., Kim, S. C., Hwang, Y., . . . Park, J. H. (2005). One- nanometer- scale size- controlled synthesis of monodisperse magnetic Iron oxide nanoparticles. *Angewandte Chemie*, 117(19), 2932-2937.
- Peng, Q., Liu, Y., Zeng, G., Xu, W., Yang, C., & Zhang, J. (2010). Biosorption of copper (II) by immobilizing *Saccharomyces cerevisiae* on the surface of chitosan-coated magnetic nanoparticles from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 676-682.
- Sun, Y.-P., Li, X.-q., Cao, J., Zhang, W.-x., & Wang, H. P. (2006). Characterization of zero-valent iron nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, 120(1-3), 47-56.
- Zhao, Z., Lei, W., Zhang, X., Wang, B., & Jiang, H. (2010). ZnO-based amperometric enzyme biosensors. *Sensors*, 10(2), 1216-1231.
- Zheng, K., Wu, L., He, Z., Yang, B., & Yang, Y. (2017). Measurement of the total protein in serum by biuret method with uncertainty evaluation. *Measurement*, 112, 16-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2017.08.013>

LIBERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN CRUCÍFERAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON BACTERIAS ACIDO-LÁCTICAS

Arantza Estefanía Olvera Ramos¹, Dra. Adriana Carolina Flores Gallegos²

RESUMEN

Las cepas *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus brevis* fueron inoculadas en brócoli durante 10 días, en la búsqueda de un producto fermentado, que aprovechara las propiedades del vegetal crudo y aumentara los beneficios a la salud. Durante ese periodo se estuvo registrando la producción de ácido láctico, acidez, y viabilidad celular. Posteriormente se comparó actividad antioxidante, concentración de nutrientes minerales y cantidad de polifenoles presentes. La cepa *Lactobacillus brevis*, presentó una mayor concentración de polifenoles tanto hidrolizables como condensados, así como altos niveles de antioxidantes; mientras que *Lactococcus lactis* produjo mayor cantidad de ácido láctico debido a su naturaleza homofermentativa.

ABSTRACT

The strains *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus brevis* were inoculated in broccoli for 10 days, with the aim of the creation of a fermented product, which will draw on the properties of the raw vegetable and increase the health benefits. During this period, lactic acid production, acidity, and cell viability were recorded. Subsequently, antioxidant activity, concentration of mineral nutrients and amount of polyphenols present were compared. The strain *Lactobacillus brevis* showed a higher concentration of both hydrolysable and condensed polyphenols, as well as high levels of antioxidants; whereas *Lactococcus lactis* produced a greater amount of lactic acid due to its homofermentative nature.

Palabras clave: brócoli, fermentación láctica, bacterias ácido lácticas, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus brevis*.

INTRODUCCIÓN

Las crucíferas son una excelente fuente alimenticia de fitoquímicos incluyendo glucosinolatos, fenoles, y otros antioxidantes como vitaminas (C, K1, etc.) así como minerales esenciales para la dieta (Ca, Mg, Na, K, Fe, Zn, etc.) (D. A. Moreno, Carvajal, López-Berenguer, & García-Viguera, 2006). En México, la producción de brócoli ha tenido un auge importante, encabezando el quinto lugar en producción a nivel mundial (Cessa, 2018). Este vegetal es bien conocido por ser una buena fuente de minerales, así como de poseer un gran contenido de antioxidantes. Lamentablemente, los métodos convencionales de cocina, afecta la cantidad total de contenido fenólico del brócoli, desaprovechándose algunas propiedades que el vegetal podría contribuir a la dieta. (D. A. Moreno et al., 2006).

La fermentación es uno de los más antiguos procesos de bio-preservación, consiste en la transformación de materiales crudos en productos utilizando microorganismos o enzimas (Bogsan & Nero, 2015). Al utilizar microorganismos con propiedades antagonistas y contener metabolitos antimicrobiales, se busca que la vida útil de los productos aumente, así como que las mismas propiedades organolépticas se conserven. Las bacterias ácido lácticas cubren un papel importante en la industria de alimentos fermentados (Valencia Hernández, 2015), ya que al producir ácidos orgánicos, dióxido de carbono, entre otros compuestos, su actividad inhibitoria se puede considerar alta y se emplean comúnmente en alimentos funcionales como en el caso de los probióticos. El propósito del presente trabajo fue la realización de un producto fermentado de brócoli, registrando la actividad de dos cepas de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus brevis* y *Lactococcus lactis*), con el fin de comparar sus respectivas respuestas durante y posterior al proceso de fermentación.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas; Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Col. República Oriente 25280, Saltillo, Coahuila. arantza_olvera@uadec.edu.mx

² Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos; Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Col. República Oriente 25280, Saltillo, Coahuila. carolinaflores@uadec.edu.mx

MÉTODOS Y MATERIALES

Preparación del inoculo: Cepas de *Lactobacillus brevis* y *Lactococcus lactis* bajo el código de 3M1 Y 3M8 respectivamente, aisladas del aguamiel, fueron utilizadas para este proyecto. Se inocularon en agar MRS y se dejaron incubando por 48 horas a 37 °C. Posteriormente se pasó a recuperar el botón celular mediante 3 lavados con solución fisiológica y centrifugando a 4°C, 6000 rpm por 6 minutos. Se extrajeron 200 µl de la solución, para leer en un espectrómetro EPOCH. Se ajustó la concentración a 1×10^8 CFU/ml en 35 ml de salmuera preparada al 6%, utilizando la escala de McFarland.

Fermentación: 2 kg de brócoli fueron lavados desinfectados y triturados en un procesador de comida convencional para poder homogenizar el vegetal y ser depositados en frascos. Se utilizaron en total 24 frascos de vidrio de 4 onzas, donde 70 gramos de brócoli fueron introducidos en cada uno, con 35 ml de salmuera al 6% que fue anteriormente inoculada. 12 frascos fueron inoculados con la cepa 3M1 y los 12 restantes con la cepa 3M8, dejándose incubar por 10 días a temperatura ambiente. Durante el proceso de fermentación se determinó pH, se monitoreo la producción de ácido láctico y viabilidad celular al día 0,2,4,6,8 y 10.

Determinación de pH y concentración de ácido láctico: El pH se determinó con un pH-metro, midiendo directamente en la muestra, mientras que, para la concentración de ácido láctico, se realizaron titulaciones con NaOH al 0.1 N, en 10 ml de muestra. Como indicador para la titulación se utilizaron 2 gotas de fenolftaleína.

Viabilidad celular: Se tomaron 5 gramos de muestra, para realizar disoluciones hasta la concentración de 1×10^6 , cultivando 10 µl en agar MRS, a las concentraciones de 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 y 1×10^6 , donde se dejaba incubar por 24 horas y posteriormente se llevaba a cabo un conteo para aproximar población celular.

Contenido de cenizas: 4 gramos de muestra se colocaron en crisoles y se pasó a descomponer la materia orgánica con ayuda de un mechero de bunsen. Se colocaron las muestras en una mufla a 550°C por 3 horas y después de enfriarse se calculó diferencia de pesos.

Cuantificación de polifenoles: Se liofilizaron muestras del día 0 al día 6, se pulverizaron y se tomaron 400 mg con 2 ml de una solución de metanol al 70%. Las soluciones se llevaron a sonicar 5 minutos y centrifugar a 4°C, 600 rpm por 6 minutos. Se tomó la fase líquida y se hicieron disoluciones 1:50 con solución de metanol al 70%. Estas disoluciones pasaron por dos pruebas, cuantificación de polifenoles condensados y cuantificación de polifenoles hidrolizables. Para la primera se utilizo 100 µl de un reactivo férrico y 3 ml de una solución de HCl con Butanol al 10% con 500 µl de muestra. Se llevó a baño metabólico por una hora a 100°C y se leyó en espectrofotómetro EPOCH. Para la segunda prueba, se utilizaron 2 reactivos, 20 µl de Folin-Ciocalteu, 20 µl de una disolución de carbonato sódico con 20 µl de la muestra. Se agito en la microplaca por 5 minutos y se completó con 125 µl de agua destilada. Se paso a leer la absorbancia en espectrofotómetro EPOCH.

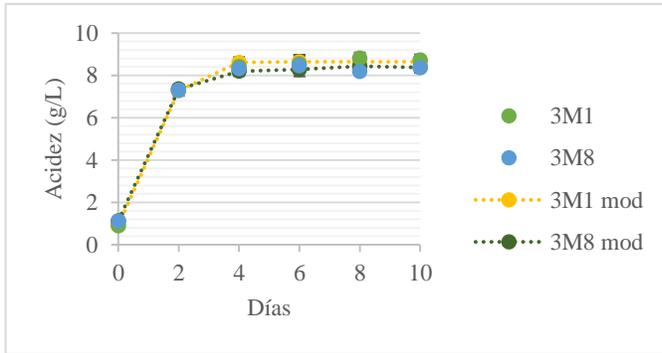
Antioxidantes: A partir de las disoluciones 1:50 con metanol al 70% se realizaron tres pruebas, DPPH y FRAP. Para las dos pruebas se llevó a cabo una metodología parecida a Mesa-Vanegas et al., 2010.

RESULTADOS

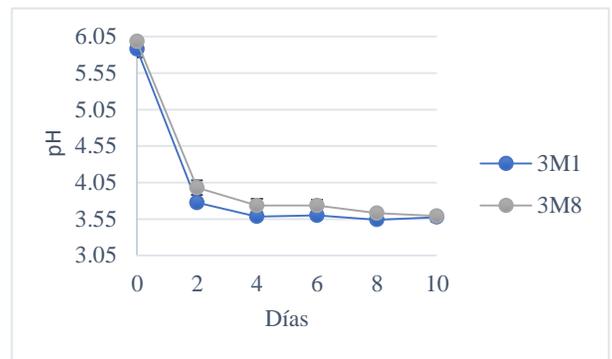
Producción de ácido láctico y comportamiento del pH

El comportamiento que siguen las dos cepas es muy parecido en cuanto a la cantidad de ácido láctico que producen (Gráfica 1). A partir del día dos, hay un aumento drástico y los días siguientes se mantiene en los mismos rangos. Para obtener parámetros comparables de las dos cepas, seguimos un modelo matemático no estructurado (Vázquez & Murado 2008) (1), donde se puede observar que la tasa de producción máxima por hora y la máxima cantidad de ácido láctico producido es mayor en la cepa 3M8 ($V_m=1.205$ g/l h y $L_m=9.667$ g/l correspondientemente), siendo ésta *Lactococcus lactis*, que pertenece al grupo de bacterias homolácticas fermentativas.

Grafica 1. Producción de ácido láctico



Grafica 2. Comportamiento pH



En contraste la cepa 3M1, *Lactobacillus brevis*, al pertenecer al grupo de bacterias hetero fermentativas, produce menos cantidad de ácido láctico. (Parra Huertas, 2010). Comparando el pH (Gráfica 2), en el día dos la acidez de la cepa aumenta, debido a la producción de ácidos orgánicos, siendo el principal ácido producido ácido láctico, pero también se espera la presencia de ácido acético, por parte de la cepa 3M1, siendo esta la que presenta mayor acidez a lo largo de la cinética. (Parra Huertas, 2010) En diversas literaturas, esta reportada la caída drástica de pH a partir de las 24 horas, parecido a como sucede en este caso. (Nydia, 2006 , Palani et al., 2016). λ_1 en la ecuación, representa la producción de ácido en la fase lag.

$$L = \frac{Lm}{1 + \exp\left(2 + \frac{4Vml}{Lm}(\lambda_1 - t)\right)} \quad (1)$$

Viabilidad celular

La cepa 3M8, correspondiente a *Lactococcus lactis*, presenta un mayor crecimiento celular que la 3M1, correspondiente a *Lactobacillus brevis*, correspondiendo el día dos, como el de mayor crecimiento o fase exponencial de ambas cepas. A partir del día 3, crece la tasa de lisis celular de manera acelerada como se puede observar en la gráfica 3.

Grafica 3. Crecimiento celular durante fermentación

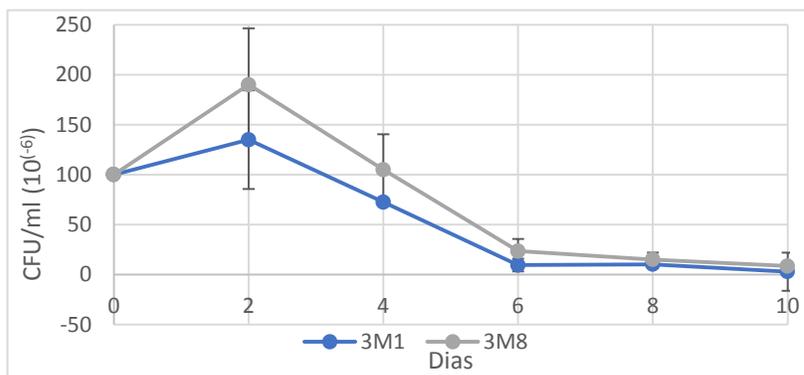
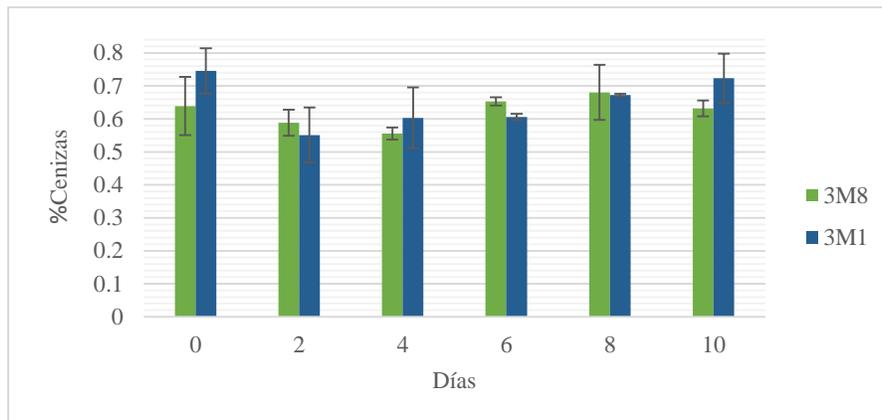


Figura 1. Crecimiento celular

Contenido de cenizas



Grafica 4. Porcentaje de cenizas

De acuerdo con la gráfica 4, se puede observar que el porcentaje de minerales presentes en el brócoli fermentado empezó alto los primeros días en ambas cepas, y presenta una caída no tan significativa durante los días 2 y 4 de la fermentación. A partir del día 6 ambas cepas presentan un crecimiento menor, manteniendo los niveles muy estables, durante todo el resto del proceso. De acuerdo con Moreno et. al , 2007, los nutrientes minerales que tienen mayor presencia en el brócoli son el Magnesio, Calcio, Sodio y Potasio, la influencia de estos en frutas y vegetales en la dieta, es crucial para la salud, y en ambas cepas se encuentra un comportamiento similar durante la fermentación.

Cuantificación de polifenoles:

De acuerdo con las pruebas realizadas, en la tabla 1 y tabla 2 se puede observar que el brócoli, contiene mayor cantidad de taninos condensados que hidrolizables. En el día dos se puede observar un aumento en la concentración de taninos condensados en la cepa 3M1, siendo el día máximo de concentración para la cepa 3M8, el día 4. Analizando la cantidad de taninos hidrolizables durante el proceso, se aprecia que la cepa 3M1, mantuvo los niveles altos en comparación con el día 0, mientras que la cepa 3M8, presenta una ligera caída a partir del día 4 de fermentación. La importancia del monitoreo de polifenoles presentes en alimentos no solo está relacionada con el estudio de su absorción o utilidad fisiológica, sino que de igual modo representan parámetros de calidad (Drewnowski & Gómez, 2000). Las dos cepas muestran respuestas diferentes conforme pasa los días, siendo la 3M1 la que mejor respuesta obtuvo en los niveles de polifenoles hidrolizables, y ambas cepas un comportamiento similar en polifenoles condensados conocidos por tener una gran actividad antioxidante, trayendo consigo grandes beneficios a la salud por su actividad antibacteriana y anticarcinogénica. (Álvarez et. al., 2012)

Tabla 1. Cuantificación polifenoles condensados

Día	3M1		3M8	
	g/l	\hat{c}_1	g/L	\hat{c}_2
0	3.1375	1.47903168	3.1791667	0.7129994
2	2.97083333	0.7719249	4.6791667	1.4201062
4	3.97083333	1.71473394	3.0958333	1.3022550
6	3.34583333	0.71299934	2.9291667	0.8308505

Tabla 2. Cuantificación de polifenoles hidrolizables

Día	3M1		3M8	
	g/l	\hat{c}_1	g/L	\hat{c}_2
0	0.272	0.14142136	0.742	0.24041631
2	0.942	0.35355339	0.832	0.08485281
4	0.892	0.11313708	0.502	0.12727922
6	0.912	0.16970563	0.452	0.08485281

Antioxidantes

Se aplicaron dos métodos para valorar la capacidad antioxidante de nuestra muestra. El ensayo DPPH, cuantifica la capacidad captadora de radicales libres de los extractos, de acuerdo con la coloración que presenta (Mesa-Vanegas et al., 2010). En la tabla 3, se puede observar una gran actividad inhibitoria por parte de las dos cepas, encontrándose en el día 6 una alta concentración de antioxidantes, mientras que en los días anteriores mantiene los niveles relativamente bajos. La cepa 3M1 correspondiente a *Lactobacillus brevis*, obtuvo una mejor respuesta que la cepa 3M8, *Lactococcus lactis*, en la primera prueba, pero al observar la tabla 4., se puede observar una dinámica similar en ambas cepas, durante la prueba FRAP mostrando mayor capacidad reductora, en este caso del hierro férrico, para el día 6. Las diferencias entre ambas cepas muestran que *Lactobacillus brevis* obtuvo mejor respuesta en ambas pruebas, mostrando niveles muy altos en comparación con el tiempo 0.

Tabla 3. Prueba DPPH para antioxidantes					Tabla 4. Prueba FRAP para antioxidantes				
Dia	3M1		3M8		Dia	3M1		3M8	
	g/l	$\hat{\sigma}_1$	g/L	$\hat{\sigma}_2$		g/l	$\hat{\sigma}_1$	g/L	$\hat{\sigma}_2$
0	0.847368	0.018608	1.189474	0.093040	0	2.157627	0.395500	2.458475	0.185765
2	1.228947	0.260513	1.057895	0.093040	2	2.606780	0.347561	2.543220	0.257675
4	0.886842	0.000000	0.913158	0.521026	4	2.140678	0.083894	2.924576	0.017977
6	1.715789	0.130257	1.426316	0.130257	6	3.780508	0.053932	3.000847	0.065917

CONCLUSIONES

Comparando las dos cepas, *Lactococcus lactis*, obtuvo una mayor producción de ácido láctico debido a sus propiedades homofermentativas. La presencia de este compuesto asegura una mayor preservación en los alimentos al ser un agente inhibidor del deterioro bacteriano en una gran variedad de alimentos procesados. (Song et. al., 2017). *Lactobacillus brevis* presenta una mejor respuesta a la concentración de taninos hidrolizables, mientras que en polifenoles condensados se obtuvieron resultados similares en ambas cepas. De igual manera, *Lactobacillus brevis* presenta una mejor respuesta en ambas pruebas para antioxidantes, mostrando un poder reductor mayor y capacidad por captar radicales libres de los extractos. Los niveles de nutrientes minerales en ambas cepas fueron similares durante todo el proceso, no teniendo una mayor influencia durante la fermentación. Cabe mencionar, que *Lactococcus lactis*, presentó un mayor crecimiento celular en comparación con *Lactobacillus brevis*, sin embargo, su desempeño como productor de antioxidantes y polifenoles es considerablemente mayor que *Lactococcus lactis*.

BIBLIOGRAFIA

- Álvarez, E., De la Rosa, A., López, J., Vázquez, A. & Wall, A. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*, 6(2), 84–93. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>
- Bogsan, C. S., & Nero, L. A. (2015). *Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals* (Vol. 27). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-23177-8>
- Cessa, R. (2018). México, quinto productor mundial de brocoli (1). León, Gto: *El economista*. <https://www.economista.com.mx/opinion/Mexico-quinto-productor-mundial-de-brocoli-I-20180404-0116.html>
- Drewnowski, A., Gómez, C. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *American Journal of*

Clinical Nutrition 72:1424-1435.

- Mesa-Vanegas, M., Gaviria, C., Cardona, F., Sáez-Vega, J., Trujillo, S. B., & Rojano, B. (2010). Antioxidant activity and total phenols content from some species of *Calophyllum* genus. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(2), 13–26. Recuperado de <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77956865797&partnerID=40&md5=b8d884008fb0aa039e3e61f2e341f80c>
- Moreno, D. A., Carvajal, M., López-Berenguer, C., & García-Viguera, C. (2006). Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1508–1522. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.003>
- Moreno, D. A., López-Berenguer, C., & García-Viguera, C. (2007). Effects of stir-fry cooking with different edible oils on the phytochemical composition of broccoli. *Journal of food science*, 72(1), 64–68. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00213.x>
- Nydia, O. (2006). Contenido de sulforafano en fermentados de brócoli, 10–18.
- Palani, K., Harbaum-Piayda, B., Meske, D., Keppler, J. K., Bockelmann, W., Heller, K. J., & Schwarz, K. (2016). Influence of fermentation on glucosinolates and glucobrassicin degradation products in sauerkraut. *Food Chemistry*, 190, 755–762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.012>
- Song, A. A. L., In, L. L. A., Lim, S. H. E., & Rahim, R. A. (2017). A review on *Lactococcus lactis*: From food to factory. *Microbial Cell Factories*, 16(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0669-x>
- Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias, R. A. P. (2010). Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Ingresar a La Revista*, 8(1), 93–105. <https://doi.org/1692-3561>
- Valencia Hernández, L. J. (2015). Evaluación de la actividad fungistática in vitro de bacterias ácido lácticas contra especies de *Fusarium* causantes de pudrición basal en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw), 125. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/48675/>
- Vázquez, J.A. & Murado, M.A. (2008) Unstructured mathematical model for biomass, lactic acid and bacteriocin productions by lactic acid bacteria in batch fermentation. *J. Chem Technol Biotechnol* 83, 91-96

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENDÓFITOS DE PLANTAS

Armando Melgarejo Mancilla¹ y Jesús Israel Morales Jiménez²

RESUMEN

Los endófitos de plantas son microorganismos que viven en el tejido de las plantas durante una etapa o en la totalidad de la vida de la misma, sin causar síntomas aparentes o infecciones. Los hongos endófitos de plantas se caracterizan por establecer una simbiosis de por vida con su hospedero, sin causar ninguna enfermedad. En este sistema en equilibrio, la planta proporciona nutrientes y protección al hongo, mientras que los endófitos producen sustancias bioactivas que potencian el crecimiento de la planta y contribuyen a su supervivencia. Los mangles contienen una gran diversidad de microorganismos que podrían ser de interés biotecnológico. En este proyecto se extrajeron hongos endófitos de mangles de la región de la sierra Madre Oriental. Se realizaron análisis moleculares y filogenéticos que permitieron la identificación de cepas fúngicas como *Alternaria*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, entre otros.

ABSTRACT

Plant endophytes are microorganisms that live in vegetal tissue during the total or partial life time of the plant, without causing any symptom or infection. Fungi endophytes are characteristic for the symbiosis that they form with their host without causing any disease. In this role the plant provides nutrients and protection and in return the endophyte produces bioactive compounds that enhance the plant growth and survival. Mangroves are plants with a great diversity of microorganisms with biotechnology applications. Due to this, in this project were extracted endophytes from mangroves of the “Sierra Madre Oriental.” Molecular and phylogenetic analyzes were done to this endophytes, allowing the identification of fungal strains such as *Alternaria*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, among others.

Palabras clave: Endófitos, mangles, bioactivo & hongo.

INTRODUCCIÓN

Los endófitos de plantas son microorganismos que viven en el tejido de las plantas durante una etapa o en la totalidad de la vida de la misma, sin causar síntomas aparentes o infecciones. Los endófitos son una nueva fuente microbiana para la producción de compuestos & metabolitos secundarios, para la investigación y para el desarrollo de nuevos productos (Shou-jie y col; 2018).

Los hongos endófitos de plantas son microorganismos que establecen una simbiosis de por vida con su hospedero, sin causar ninguna enfermedad. Estos hongos son de interés biotecnológico debido a su uso como fuente de compuestos bioactivos y de nuevos constituyentes como alcaloides, terpenos, esteroides, quinonas, lignanos y fenoles (Zhang, y otros, 2006 & Yu, y otros, 2010). La relación entre estos organismos depende de un equilibrio entre la virulencia del hongo y el sistema de defensa de la planta. En este sistema en equilibrio, la planta proporciona nutrientes y protección al hongo, mientras que los endófitos producen sustancias bioactivas que potencian el crecimiento de la planta y contribuyen a su supervivencia (Sun, y otros, 2014). No obstante, de las 300,000 especies de plantas de alto orden que existen en la tierra, las cuáles cada una hospeda mínimo 1 endófito, solo unas cuantas han sido estudiadas y extraído los compuestos activos. Por lo tanto, se presenta una oportunidad para desarrollar estudios enfocados en el aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios (Strobel y otros, 2004).

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Biotecnología, Cerro de las Campanas S/N, Las Campanas, 76010, Santiago de Querétaro, Qro, armema2410@gmail.com

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Ciencias Ambientales; Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4 sección, 78216, San Luis Potosí S.L.P., jesus.morales@ipicyt.edu.mx

Los manglares son un ecosistema importantes en los biomas tropicales, que ocupan millones de hectáreas de costa a nivel mundial. Debido a su localización cuenta con una gran disponibilidad de agua que permite una amplia diversidad de plantas y árboles. Los mangles contienen una gran diversidad de microorganismos, que han sido identificados gracias a estudios metagenómicos (Holguin, y otros, 2006). No obstante, se estima que solo el 5% de estos microorganismos han sido descritos, abriendo un potencial biotecnológico para el estudio y aislamiento de hongos endófitos en estas plantas (Castro, y otros, 2018).

MÉTODOS Y MATERIALES

Recolección de muestras vegetales

Las muestras fueron obtenidas de la región sur de San Luis Potosí. Esta zona corresponde a la región semi-seca de San Luis, con temperaturas promedio oscilantes entre 8-32°C y una precipitación anual de 950 mm. La zona de recolección no recibe cuidado y se encuentre cerca de la sierra Madre Oriental. Las muestras vegetales de interés recolectadas fueron hojas de la familia de los mangles (Rothen y otros, 2017)

Aislamiento fúngico

Las muestras vegetales se trataron máximo 48 horas después de ser sustraídas. Se lavaron las muestras con agua destilada y jabón. Posteriormente se limpiaron con una solución de etanol al 70% por 1 min (3 veces), con una solución de hipoclorito al 10% por 1 min y un último lavado de agua destilada. Bajo flujo laminar, el tejido vegetal sanitizado se cortó en pedazos de 1-2 mm y se inoculó en medio sólido PDA (Silvani y otros, 2008). Treinta fragmentos de tejido vegetal de cada muestra fueron incubados a 37°C sin luz. Los hongos emergentes, se inocularon en PDA a pH= 7 y se incubaron a 25°C sin luz. Finalmente las colonias obtenidas se almacenaron en tubos con medio líquido a 4°C (Rothen, y otros, 2017).

Identificación molecular

Para realizar la identificación molecular, se extrajo DNA de todos los hongos aislados, se amplificó y secuenció. El material genético se extrajo de acuerdo a lo propuesto por Suárez, 2005 con modificaciones. Se tomó micelio (0.2g) y se adicionó a una solución de lisis (50mM Tris-HCl pH= 7,5; 50 mM EDTA; 2% de SDS y 1% de Na₂SO₃) con perlas de lisis. Se maceró y agitó por 5 min. Fue incubado a 60°C por 5 min y se indució un choque térmico a -70°C por 15 min. Se descongeló la muestra a 60°C por 2 min y se centrifugó a 14,000 rpm por 30 min. Se adicionaron 200 µL de agua destilada y centrifugó a 14,000 rpm por 5 min. Al sobrenadante se le adicionó 200 µL de Fenol-cloroformo/Isoamílico (1:1) y se centrifugo a 14,000 rpm por 10 min. El sobrenadante se mezcló con 1 mL de isopropanol al 100% a -20°C por 2 horas y se centrifugo a 14,000 rpm por 5 min a 4°C. Se recuperó el precipitado para ser lavado con etanol al 100% y centrifugado a 14,000 rpm por 10 min a 6°C. Finalmente el precipitado se lavó con una solución de etanol al 70% y se centrifugo a 14,00 rpm por 10 min a 6°C. El precipitado se secó a 25°C en un flujo laminar y se almacenó con 50 µL de agua estéril (Suárez Contreras, 2005).

La región ITS del rDNA se amplificó por PCR con cebadores ITS4 e ITS5. La PCR se realizó en un volumen de 25 µL de una mezcla con 1 µL de DNA genómico, 0.2 µL de Taq polimerasa, 1 µL de cada cebador a 200 µM, 1 µL de dNTP's, 2 µL de MgCl₂, 2.5 µL de amortiguador & 16.3 µL de agua para PCR. Los parámetros del termociclador se programaron para 1 ciclo de desnaturalización a 98°C por 15s, hibridación a 54 °C por 30s, extensión a 72°C y una extensión final a 72°C por 10 min. La secuenciación fue realizada en otro instituto (Aveskamp y otros, 2010).

Las secuencias obtenidas se compararon con secuencias presentes en el GenBank. Posteriormente estas secuencias se sometieron a un análisis filogenético molecular. Las secuencias se alinearon con el programa ClustalX versión 2.1 (Rothen, y otros, 2017). El alineamiento se sometió a un análisis de "neighbor-joining" por el método heurístico y los árboles filogenéticos se infirieron con el programa Mega X (Tamura y otros, 2013). El soporte de los nodos obtenidos se calculó por medio del análisis de Bootstrap con 1000 replicas.

RESULTADOS

De las hojas de mangles, se lograron extraer 37 hongos endófitos con diferentes morfologías. De los cuáles se extrajo DNA, se amplificó la región ITS y se secuenciaron para su identificación molecular. En la figura 1 se analizó la muestra 2CHPC. Por medio de un análisis bioinformática se pudo identificar que la muestra pertenece al género *Alternaria*, no obstante la secuencia analizada de la región ITS no fue suficiente para identificar la especie, por lo que para fines de este trabajo se reportará como *Alternaria sp.*

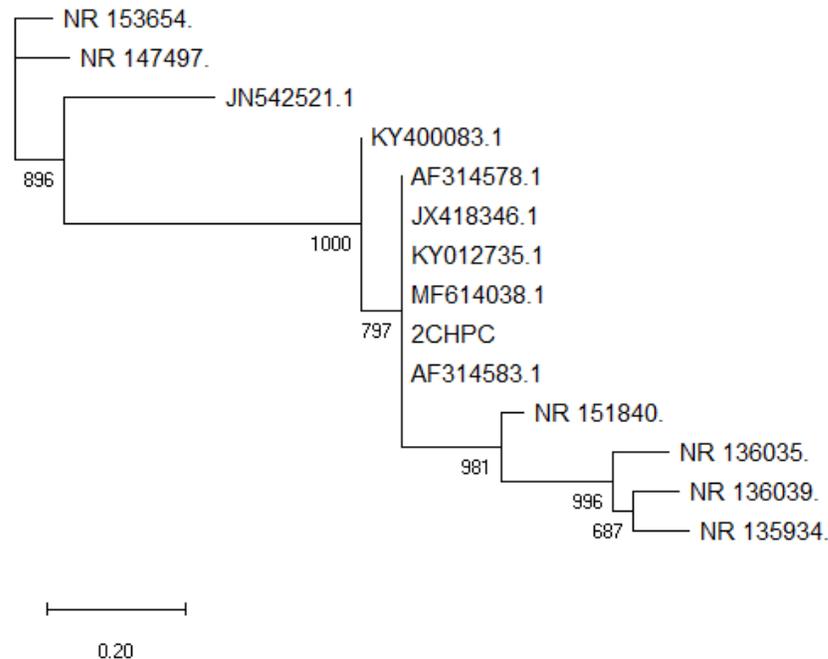


Figura 1. Árbol filogenético general de las familias y clases a las que pertenecen las cepas fúngicas del presente trabajo construido por el método de máxima verosimilitud (-ln L: -1936.59896) empleando las secuencias de los ITS. La secuencia de las regiones ITS de *Curvularia coicicola* (JN542521) se usó como grupo externo. El modelo GTR. La barra representa el 1% de divergencia estimada entre las secuencias. Los valores de "bootstrap" $\geq 50\%$ se indican sobre los nodos ancestrales.

La muestra H2SA1 (Figura 2) se sometió a un análisis bioinformática y a un alineamiento de secuencia que permitió la construcción del árbol filogenético. Por medio del método del "vecino más cercano" se logró identificar que el hongo endófito se trataba del género *Nigrospora* y de la especie *sphaerica*. Ahmed y col, 2014 reportan el uso de este hongo endófito para la extracción de Nigrosphaerin A, un compuesto antihistamínico y con actividad antifúngica con gran potencial biotecnológico.

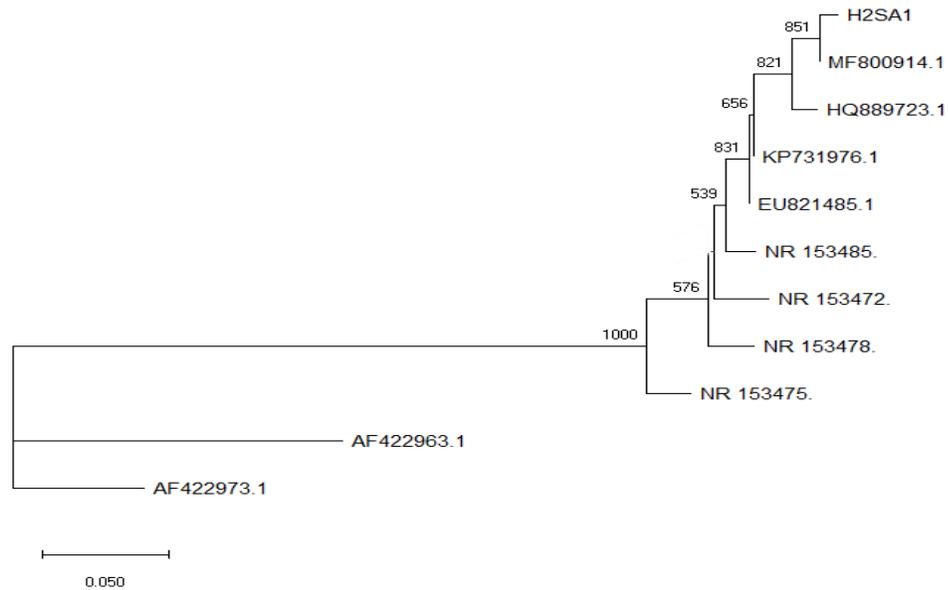


Figura 2. Árbol filogenético general de las familias y clases a las que pertenecen las cepas fúngicas del presente trabajo construido por el método de máxima verosimilitud (-ln L: -1735.02210) empleando las secuencias de los ITS. La secuencia de las regiones ITS de *Koorchaloma spartinicola* (AF422963) se usó como grupo externo. El TN93 +G ($\alpha = 0.561$ para la distribución gamma). La barra representa el 1% de divergencia estimada entre las secuencias. Los valores de “bootstrap” $\geq 50\%$ se indican sobre los nodos ancestrales.

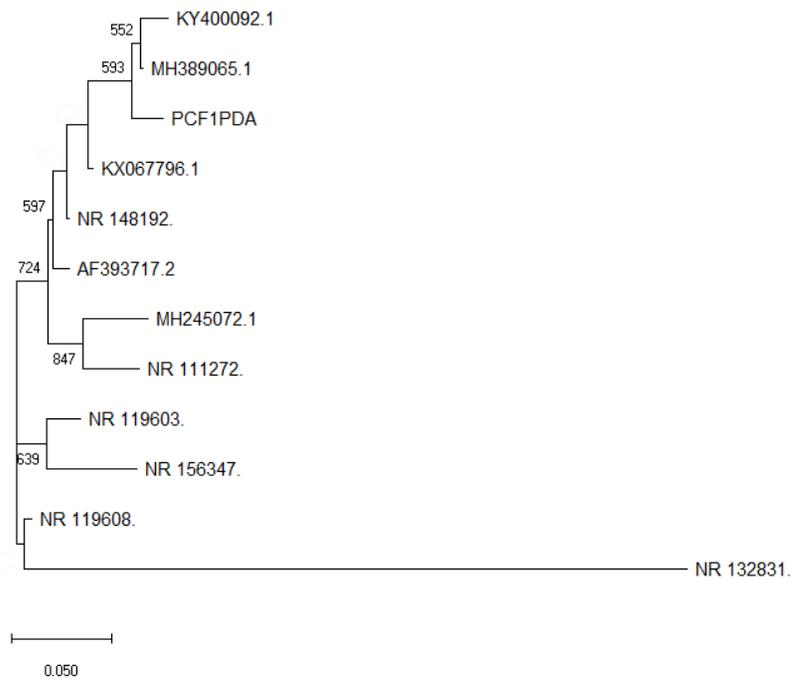


Figura 3. Árbol filogenético general de las familias y clases a las que pertenecen las cepas fúngicas del presente trabajo construido por el método de máxima verosimilitud (-ln L: -1865.03772) empleando las secuencias de los ITS. La secuencia de las regiones ITS de *Antennariella placitae* (NR132831) se usó como grupo externo. El modelo GTR +G ($\alpha = 0.359$ para la distribución gamma). La barra representa el 1% de divergencia estimada entre las secuencias. Los valores de “bootstrap” $\geq 50\%$ se indican sobre los nodos ancestrales.

La muestra PCF1PDA presente en el árbol filogenético de la Figura 3 pertenece al género *Cladosporium*, que logró identificarse por medio del método de máxima verosimilitud, utilizando el modelo del “vecino más cercano.” La secuencia analizada no presenta la claridad para identificar la especie por lo tanto se reportará como *Cladosporium* sp.

CONCLUSIONES

Los mangles son organismos que presentan una simbiosis con diversos hongos endófitos entre los cuales encontramos *Alternaria*, *Cladosporium*, *Nigrospora*, etc. Por lo tanto, la extracción de compuestos activos de estos hongos es un nicho de interés biotecnológico que requiere de mayor investigación

BIBLIOGRAFÍA

- Aveskamp, M., De Gruyter, J., Woudenberg, J., Verkley, G., & Grous, P. (2010). Highlights of the didymellaceae: a polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 1-60.
- Castro, R. A., Dourado, M. N., Almeida, J. R., Lacava, P. T., Nave, A. N., Itamar, S. d., . . . Quecine, M. C. (2018). Mangrove endophyte promotes reforestation tree (*Acacia polyphylla*) growth. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 59-66.
- Holguin, A., González, Z. B., Bashan, A., Mendoza, A., Amador, A., & A.Y., B. (2006). Mangrove health in an arid environment encroached by urban development—a case study. *Science Total Environment*, 363(1), 260-274.
- Rothen, C., Miranda, V., Aranda-Rickert, A., Fracchia, S., & Rodríguez, M. (2017). Characterization of dark septate endophyte fungi associated with cultivated soybean at two growth stages. *Applied Soil Ecology*, 120, 62-69.
- Shou-jie, L., Xuan, Z., Xiang-hua, W., & Chang-qi, Z. (2018). Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1-68.
- Silvani, V., Fracchia, S., Fernández, I., Pégola, M., & Godeas, A. (2008). A simple method to obtain endophytic microorganisms from field-collected roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 1259-1263.
- Strobel, G., Daisy, B., & Harper, J. (2004). Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*, 67, 257-268.
- Suárez Contreras, L. Y. (2005). EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DEL ADN DE *Moniliophthora roreri* HONGO QUE ATACA EL CACAO, EN NORTE DE SANTANDER. *Revista Respuestas*, 4-8.
- Sun, J., Lin, X., Zhou, X., Wan, J., Zhang, T., Yang, B., . . . Liu, Y. (2014). new alkenyl phenol and benzaldehyde derivatives from endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. AcBC2 isolated from the Chinese mangrove plant *Aegiceras corniculatum*. *Journal of Antibiotics*, 67, 451-457.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology Evolution*, 30, 2725-2729.
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, W., Sun, P., & Qin, L. (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, 165, 437-439.
- Zhang, H., Song, Y., & Tan, R. (2006). Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23, 753-771.

PRINCIPALES PRODUCTOS HERBOLARIOS PARA BAJAR DE PESO EN EL ESTADO DE GUANAJUATO

Astrid Selene Páramo Castillo¹ y Ángel Josabad Alonso Castro²

RESUMEN

En el presente estudio se buscaron los principales productos herbolarios utilizados para bajar de peso en el Estado de Guanajuato entre pacientes con sobrepeso y obesidad. Las encuestas fueron realizadas a personas con sobrepeso y obesidad en la ciudad de Salamanca, Gto. El cuestionario incluía preguntas socioeconómicas, sociodemográficas y su percepción y uso de productos a base de plantas medicinales para bajar de peso. Se registró un uso del 42% de productos para bajar de peso en un rango de edad de 20 a 77 años, y un mayor uso en personas pertenecientes a la categoría C del nivel socioeconómico.

ABSTRACT

In the present study, the main herbal products used to lose weight in the State of Guanajuato among overweight and obese patients were searched. Surveys were carried out on overweight and obese people in the city of Salamanca, Gto. The questionnaire included socioeconomic, sociodemographic questions and their perception and use of products based on medicinal plants to lose weight. There was a 42% use of products to lose weight in an age range of 20 to 77 years, and a greater use in people belonging to category C of the socioeconomic level.

Palabras clave: Índice de Masa Corporal, Sobrepeso, Obesidad, Productos Herbolarios.

INTRODUCCIÓN

La nutrición a lo largo del curso de la vida es una de las principales determinantes de la salud, del desempeño físico y mental y de la productividad. El sobrepeso y la obesidad son actualmente serios problema de salud pública en la población infantil y adulta en México y en el mundo. Esta problemática se manifiesta con un número elevado de casos y sus múltiples consecuencias, entre las cuales se incluye diabetes tipo 2, cáncer de endometrio, de mama y de colon, hipertensión, dislipidemia, accidente cerebrovascular, enfermedad del hígado y la vesícula, artrosis, entre otros^[1, 2].

En el estado de Guanajuato la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos de 20 años y más es de 71.3% para las mujeres y de 65.6% en los hombres. Es un hecho que en el Estado de Guanajuato, la carga de enfermedades no transmisibles (ENT) continúa en aumento^[1]. Es conocido que esta población afectada busca soluciones alternativas ante esta problemática. El uso de medicina herbolaria es una herramienta en uso para tratar diferentes afecciones entre las que se incluye el sobrepeso y la obesidad^[3]. Sin embargo, se desconoce la incidencia de uso de productos herbolarios para bajar de peso en el estado de Guanajuato.

En el presente trabajo se estudió el número de personas con un Índice de Masa Corporal mayor a 25 que consumen productos herbolarios para bajar de peso en la ciudad de Salamanca, Guanajuato. Así como también se obtuvieron los principales productos consumidos para dicho fin. Con el objetivo de determinar el consumo de productos para bajar de peso en una población al azar, y analizar si el consumo de ellos está relacionado con el sobrepeso y la obesidad a partir del índice de masa corporal.

¹ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas; Noria Alta S/N, Noria Alta, C.P. 36050, Guanajuato, Gto., as.paramocastillo@ugto.mx

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas; Noria Alta S/N, Noria Alta, C.P. 36050, Guanajuato, Gto., angeljosabad@ugto.mx

MÉTODOS Y MATERIALES

Para la selección poblacional se realizó un muestreo aleatorio simple en el que participaron 135 personas. Se utilizó un instrumento en línea constituido por 21 ítems, basado en el cuestionario para la aplicación de la regla AMAI 2018 y la tabla de clasificación socioeconómica^[4].

Las variables sociodemográficas fueron: escolaridad, estado civil, sexo, edad (en un rango de 20 a 77 años), estatura y peso; para la clasificación socioeconómica se tuvo en cuenta la descripción habitacional, el uso de carros, el trabajo y la escolaridad; en el consumo de productos para bajar de peso, se consideró el tipo de producto, la razón de consumo, la percepción de los resultados, el tiempo de consumo, y quién recomendó su uso. El Índice de Masa Corporal ($IMC = \text{peso}/\text{talla}^2$, kg/m^2) fue medido de acuerdo a la metodología del Instituto Mexicano del Seguro Social. El criterio de clasificación del IMC se realizó utilizando el propuesto por el IMS: se indica sobrepeso y obesidad cuando este es mayor a $25 \text{ kg}/\text{m}^2$.

RESULTADOS

La población encuestada se distinguió de la siguiente manera: 23% con IMC menor a 25 y 77% con IMC mayor a 25; de este último, 58% no consumen productos herbolarios para bajar de peso y 42% sí consumen productos herbolarios para bajar de peso.

En el caso de los que sí consumen productos herbolarios para bajar de peso: 25% pertenecen a un nivel socioeconómico clase A/B, 23% a un nivel clase C+, 39% a un nivel clase C, 9% a un nivel clase C-, 2% a un nivel clase D+ y 2% a un nivel clase D (Figura 1).

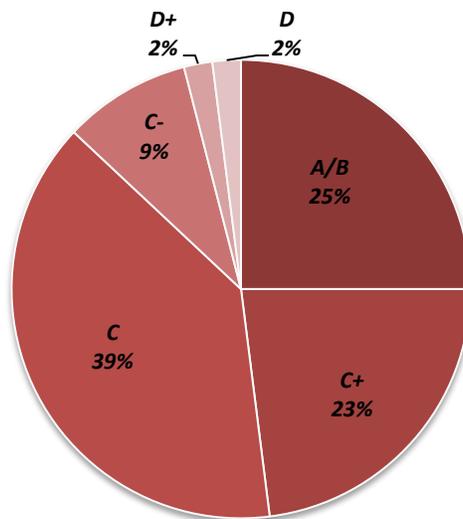


Figura 1. Relación de personas que consumen productos herbolarios con el nivel socioeconómico

Los datos socioeconómicos y sociodemográficos al que pertenecen los participantes que sí consumen productos herbolarios para adelgazar, son clasificados como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Datos obtenidos según el Nivel Socioeconómico y Sociodemográfico

	<i>Edad Promedio</i>	<i>Género</i>	<i>Escolaridad</i>	<i>Estado Civil</i>	<i>IMC</i>	<i>Enfermedades Relacionadas</i>
<i>Nivel A/B</i>	43 ± 15 años	73% Mujeres 27% Hombres	18% Posgrado 64% Licenciatura 9% Preparatoria 9% Secundaria	91% Casado 9% Soltero	31 ± 0	36% Diabetes 64% Otra
<i>Nivel C+</i>	47 ± 16 años	80% Mujeres 20% Hombres	10% Posgrado 50% Licenciatura 30% Preparatoria 10% Secundaria	60% Casado 40% Soltero	31 ± 0	10% Diabetes 20% Hipertensión 70% Otra
<i>Nivel C</i>	46 ± 15 años	88% Mujeres 12% Hombres	41% Licenciatura 24% Preparatoria 24% Secundaria 11% Primaria	47% Casado 18% Unión libre 23% Divorciado 12% Soltero	31 ± 0	18% Diabetes 29% Hipertensión 53% Otra
<i>Nivel C-</i>	49 ± 16 años	75% Mujeres 25% Hombres	25% Licenciatura 25% Preparatoria 50% Secundaria	100% Casado	32 ± 0	25% Diabetes 50% Hipertensión 25% Otra
<i>Nivel D+</i>	46 ± 0 años	100% Mujeres	100% Primaria	100% Casado	30 ± 0	100% Diabetes
<i>Nivel D</i>	62 ± 0 años	100% Mujeres	100% Secundaria	100% Casado	34 ± 0	100% Diabetes

Los cinco productos que son más consumidos en la ciudad de Salamanca, Gto para bajar de peso se enlistan a continuación:

- Omnilife
- Herbalife
- Jugo verde
- Garcinia cambogia
- Licuados y tés naturales (por ejemplo, alcachofa, vinagre de manzana, licuado de papaya, etc.).

CONCLUSIONES

El uso de productos a base de plantas medicinales es una práctica común entre personas con sobrepeso y obesidad en el estado de Guanajuato.

BIBLIOGRAFÍA

- 1] Ortiz Aldana, Francisco Ignacio (2018). “Estrategia Estatal para la Prevención y el Control del Sobrepeso, la Obesidad y la Diabetes” en Gto: Orgullo y Compromiso de Todos. Consultada en: <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/adulto/descargas/pdf/EstrategiaSODGuanajuato.pdf> (fecha de consulta 08-08-2018).
- 2] Division of Nutrition, Physical Activity and Obesity (2015). “The Health Effects of Overweight and Obesity”, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Atlanta, USA. Consultada en: <https://www.cdc.gov/healthyweight/effects/index.html> (fecha de consulta 09-09-18).
- 3] Blachly White, Linda; Foster, Steven (2002). “El recetario herbolario: las mejores alternativas naturales a los medicamentos”, USA: Editorial Rodale.
- 4] Niveles Socioeconómicos (2018). “Cuestionario para la aplicación de la regla AMAI 2018 y tabla de clasificación”, Inteligencia aplicada a decisiones.

SINTESIS Y ELABORACION DE PELICULAS PLASTICAS BIODEGRADABLES

González Becerra Berenice¹, Corona Rivera Miguel Ángel²

RESUMEN

La presente investigación propone una opción para sustituir los empaques plásticos derivados del petróleo con películas plásticas biodegradables. Empleando mucilago, ácido acrílico como el monómero y quitosano (biopolímero) como agente antimicrobiano. Un estudio sobre la composición ideal para la obtención de una película de optimas características es realizado. Así mismo, las pruebas realizadas fueron: porcentaje de hinchamiento, el análisis FTIR y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Poniendo a prueba la capacidad de degradación de estas, en donde se obtuvo el comportamiento de hidrogel para las películas con mayor composición de ácido acrílico y quitosano. Utilizando los espectros obtenidos por el análisis FTIR para demostrar la polimerización del ácido acrílico en cada película y mediante la técnica de análisis DSC se encontraron las temperaturas de transformación del material. Finalmente, los estudios a futuro se enfocan en la película S/M 20, ya que posee características visualmente optimas, como espesor, elasticidad y flexibilidad.

ABSTRACT

In the present investigation an option is proposed to replace the plastic packaging derived from petroleum with biodegradable plastic films. Using mucilage, acrylic acid as the monomer and chitosan (biopolymer) as antimicrobial agent. A study on the ideal composition for obtaining a film with excellent characteristics is carried out. Likewise, the tests carried out were: percentage of swelling, the analysis in Infrared Spectroscopy (FTIR) and Differential Scanning Calorimetry (DSC). Testing the degradation capacity of these, where the behavior of hydrogel was obtained for films with higher composition of acrylic acid and chitosan. Using the spectra obtained by the FTIR analysis to demonstrate the polymerization of the acrylic acid in each film and by means of the DSC analysis technique, the transformation temperatures of the material were found. Finally, future studies focus on the film S / M 20, since it has optically optimal characteristics, such as thickness, elasticity and flexibility.

Palabras Clave: Biopolímero, Película plástica, Mucilago, Polimerización.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los plásticos son utilizados en múltiples propósitos. En su mayoría son producidos para tener una vida útil corta y estos se vuelven un problema al ser desechados. Por lo que, el tiempo que tardan en degradarse no se compara con la rapidez en la que son producidos. Un ejemplo, es la formación bruta de capital fijo para la fabricación de plásticos en México. Según cifras del INEGI, en el 2008 se invirtió aproximadamente 5 millones de pesos corrientes y para el 2015 esta cifra aumento 6 veces, invirtiendo 30 millones de pesos. Visto de otro modo, la oferta y demanda de productos plásticos incremento significativamente en estos últimos años. Tomando en cuenta el tiempo promedio de la vida útil de un objeto plástico, para el 2018 existe un aumento de residuos del 17%, comparado con el 2008. Actualmente, en México se recolectan diariamente 86 mil 343 toneladas de basura. Es decir, 760 gramos por persona. (INEGI, 2017). Así mismo, el Foro Económico Mundial (World Economic Forum) advirtió que, de continuar con el uso de popotes y otros materiales de plástico, en 2050 habrá más plástico que peces en el mar. (MACARTHUR, 2016)

Por lo tanto, una acción oportuna a esta problemática es la sustitución de los plásticos convencionales por los plásticos de origen orgánico. Los cuales prometen un tiempo de degradación corto y no generan algún tipo de contaminación. En los primeros avances se implementó el almidón para crear películas plásticas biodegradables; Por su disponibilidad en productos como yuca, maíz, papa y otros tubérculos. Sin embargo, las películas a base solo de almidón presentan limitaciones en sus propiedades mecánicas, ya que estas no soportan los esfuerzos a que usualmente son sometidas. (CORONA, 2015). Por otra parte, la invención del mucilago (M) de nopal, la chía, entre otras semillas han presentado otra alternativa para la creación de películas plásticas biodegradables. Las cuales, proponen una solución para sustituir los empaques de alimentos convencionales por empaques biodegradables.

¹Instituto Tecnológico de Celaya, Ingeniería Química, Antonio García Cubas 600, Fovissste, C.P: 38010, Celaya, Guanajuato, 14030088@itcelaya.edu.mx

²Coordinación Académica Región Altiplano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera Cedral Km. 5+600, Ejido San José de las Trojes, C.P. 78700, miguel.corona@uaslp.mx

En esta investigación, se presenta la síntesis y elaboración de películas plásticas biodegradables por el método cast a base de mucilago (biopolímero) obtenido de una variedad de semilla, ácido acrílico (AAc) como el monómero responsable de la polimerización y quitosano (biopolímero), además que actúa como agente antibacterial (MINA, 2013). Asimismo, el quitosano posee propiedades como plastificante. El mucilago se obtiene térmicamente por dos métodos, uno es por medio de la precipitación con metanol (SALINAS, 2014) y el segundo método es el secado a 60°C del mucilago.

METODOLOGÍA

Se caracterizó el mucilago obtenido por ambos métodos, en el primer método se utilizó una proporción 10:1 en peso (semilla/agua destilada), a una temperatura de 90°C por 2 horas en agitación continua, separando los restos de semillas, finalmente la solución obtenida se dejó secando durante 12 horas a 60°C. En el segundo método, el mucilago obtenido de la solución semilla/agua destilada, se precipita con metanol en una relación 1:1. Donde, se extrajo la mayor cantidad de la materia viscosa. Dejando secar durante 12 horas a 60°C.

Para la elaboración de la película, el mucilago seco obtenido se disolvió en agua destilada en proporción 100:1 (agua-mucilago). Una vez disuelto, se agregó 0.5% del iniciador V-50 (2,2'-Azobis (2-metil-propionamida) dihidroclorado), con respecto a los gramos totales de ácido acrílico. La proporción de quitosano y ácido acrílico que se utilizaron en todas las películas elaboradas fue de 9:1 (ácido acrílico-quitosano), esta mezcla se añadió al mucilago disuelto con el iniciador, dejándolo reaccionar en agitación continua por una hora. Donde se observó un cambio inmediato de coloración, debido a la polimerización del ácido acrílico. Las cantidades que se utilizaron para cada película se presentan en la Tabla 1. La mezcla polimérica se dejó reaccionar en agitación continua por una hora y finalmente, para obtener las películas se dejó reposar y secar en un refractario de vidrio de 20 cm x 20 cm, el cual sirvió como molde para las películas, durante un tiempo aproximado de 15 horas a 40°C.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las películas elaboradas con mucilago precipitado con metanol llevan la nomenclatura (P/M) y las películas con mucilago sin precipitar con metanol (S/M), según la composición de cada una de las películas varía en 10, 20 o 30 gramos totales de quitosano, ácido acrílico y 2 gramos de mucilago (Tabla 1). En la Figura 1 se muestran fragmentos de área de 2 cm x 2 cm provenientes de las películas elaboradas con mucilago sin precipitar con metanol.

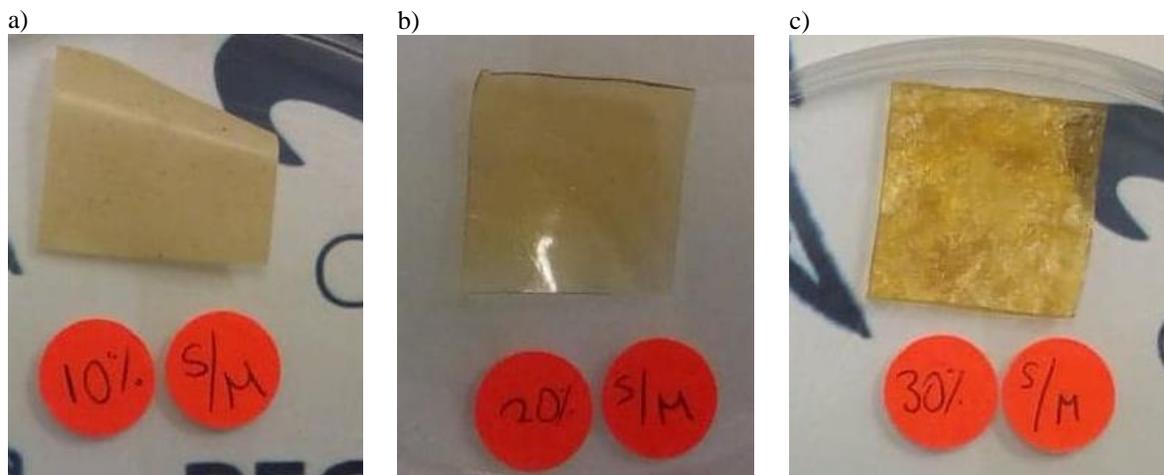


Figura 1. Películas elaboradas con mucilago sin precipitar con metanol, a) 10 gramos totales (S/M 10), b) 20 gramos totales (S/M 20) y c) 30 gramos totales (S/M 30).

Para cada una de las películas se llevó a cabo pruebas de hinchamiento, esta se realizó para evaluar la cantidad de agua absorbida y la posible solubilidad y/o degradación de las películas en agua. Primero, todas las muestras se

recortaron para tener un área de las películas de 2 cm x 2 cm, se pesaron y luego se sumergieron en agua dentro de una caja Petri a temperatura ambiente. Después de 3 horas, las muestras se tomaron, se secaron sobre papel absorbente y se pesaron. En base a los resultados de los distintos pesos obtenidos, los porcentajes de hinchamiento de las películas se determinaron con la ecuación 1 (CONZATTI, 2018). Los porcentajes de hinchamiento de cada película se muestran en la Tabla 2.

$$\% \text{ Hinchamiento} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (1)$$

Con los resultados de hinchamiento obtenidos, se observa que a mayor cantidad de mucilago las películas tienen un mayor hinchamiento, por lo que suponemos que este biopolímero funciona como un agente plastificante, el cual hace más flexible la red de las películas y facilita la entrada del agua a dicha red, por otro lado se observa que el método de obtención del mucilago si afecta el hinchamiento, por lo que las películas con el mucilago (S/M 10) tienen casi el doble de hinchamiento que las películas con el mucilago (P/M 10), por lo que se cree que el mucilago (S/M) tiene una cantidad mayor de oligómeros (cadenas poliméricas de diferentes tamaños) que hace más flexible la red de las películas. Además, se observó que a mayor cantidad de ácido acrílico y quitosano se obtienen películas más rígidas, esta propiedad es debido a la mayor cantidad de ácido acrílico adicionado ya que es el único monómero que polimeriza, mientras que el quitosano y mucilagos son biopolímeros que actúan como entrecruzante físicos y/o plastificante, por lo que se obtienen películas más flexibles con las composiciones P/M 20 y S/M 20, las cuales pueden ser utilizadas en un futuro como empaques biodegradables.

Tabla 1. Composiciones de las películas en cantidades expresadas peso (gramos).

Nomenclatura de la película	Mucilago	Quitosano	Ácido acrílico	Iniciador
P/M 10	2	1	9	0.0045
P/M 20	2	2	18	0.09
P/M 30	2	3	27	0.135
S/M 10	2	1	9	0.0045
S/M 20	2	2	18	0.09
S/M 30	2	3	27	0.135

Tabla 2. Porcentajes de hinchamiento obtenidos de cada película.

Película	Peso inicial	Peso final	% hinchamiento
P/M 10	0.0664	0.2304	264.9879
P/M 20	0.4001	0.8052	101.2496
P/M 30	0.4431	1.0994	148.1155
S/M 10	0.0301	0.1946	546.5116
S/M 20	0.2648	0.6542	147.0543
S/M 30	0.7515	1.5286	103.4065

Durante las pruebas de hinchamiento las películas se permanecieron en agua por varios días. Después del séptimo día las películas de 30 gramos totales presentaron aparición de hongos, un comportamiento esperado en materia orgánica. Esto se muestra en la Figura 2 c).

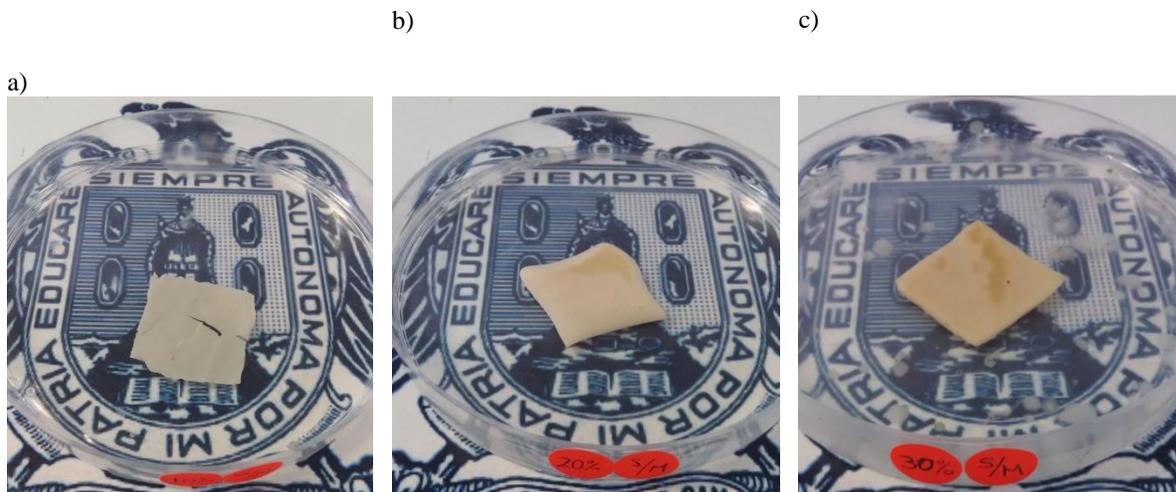


Figura 2. Pruebas de hinchamiento en las películas elaboradas con mucilago sin precipitar con metanol, a) 10 gramos totales (S/M 10), b) 20 gramos totales (S/M 20) y c) 30 gramos totales (S/M 30).

En la Figura 3 se muestra el análisis mediante espectroscopia infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) de la película de S/M 20. Donde se observan bandas características presentes en todas las películas donde hubo polimerización (cambio de coloración durante la reacción). Como lo es, en el caso de la región 1700 cm^{-1} , la cual es característica del enlace C=O. De igual manera, en la región 2925 cm^{-1} , donde se representa un enlace C-H por encontrarse entre $3000\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$. (PAVIA, 2009) Además de la presencia de NH_2 proveniente del quitosano, se aprecia el estiramiento del enlace H-N-H en la región de $3400\text{ a }3300\text{ cm}^{-1}$. La cual, se traslapa con la banda del enlace O-H presente por la región 3500 cm^{-1} . Los picos adicionales en el espectro en la región $1400\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ representan la región de huella dactilar, las cuales se presentaron en todas las películas. Sin embargo, los picos en 1402 y 1034 cm^{-1} se presentaron en el análisis FTIR del mucilago, los cuales se conservan visibles en cada película después de la polimerización.

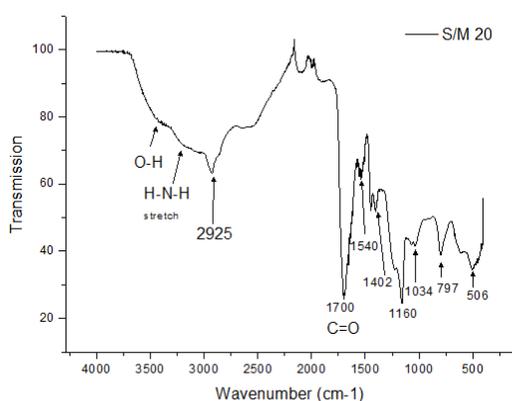


Figura 3. Espectro obtenido de la película de S/M 20 (Mucilago sin precipitar con metanol, 20 g totales).

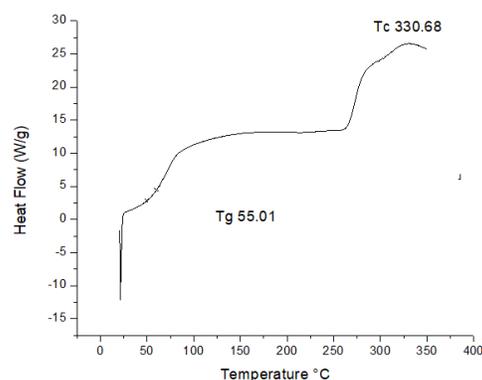


Figura 4. Termograma del mucilago sin precipitar con metanol obtenido por la técnica DSC.

Se realizó un análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) al mucilago obtenido con y sin precipitar con metanol, con el propósito de obtener información sobre las temperaturas a las que el material tiene cambios en su estructura. En la Figura 4 se muestra el termograma obtenido de este análisis, donde la T_g (temperatura de transición vítrea) se ubica en los 55.01 °C.

Después de la transición vítrea, los polímeros tienen mucha maleabilidad. Nunca se quedan en una posición durante mucho tiempo. Pero cuando alcanzan la temperatura adecuada, emiten la energía suficiente para moverse en arreglos muy ordenados, que se llaman cristales. La temperatura en el punto más alto del pico generalmente se considera la temperatura de cristalización, dicho pico en el termograma mostrado se encuentra a 330.68 °C.

CONCLUSIONES

Durante las pruebas de hinchamiento las películas absorbieron agua en un tiempo corto, durante el reposo en agua no se disolvieron, hubo crecimiento de hongos, pero al evaporarse el agua de la caja Petri, las películas volvían a sus dimensiones iniciales, sin embargo, al repetirse este proceso las películas se encogieron sin recuperar su dimensión inicial. Por lo que, las películas poseen características de hidrogel. No obstante, las películas que estaban compuestas por una cantidad mayor de mucilago no presentaron una reducción en sus dimensiones. En cambio, a mayor cantidad de quitosano y ácido acrílico si se observó una reducción en sus dimensiones originales. Por otra parte, en los espectros obtenidos por análisis FTIR no se presentaron bandas en la región 1680-1620 cm⁻¹, región que es característica del estiramiento de C=C, dicho enlace presente en la molécula del ácido acrílico, por lo que al polimerizarse a poliácido acrílico este cambia su estructura conservando todos sus demás enlaces como C-H, O-H, C-C y C=O, desapareciendo el enlace C=C. Lo cual significa que al no estar presente en los espectros FTIR de las películas indica que se llevó con éxito la polimerización. Por otra parte, las temperaturas de transformación del mucilago obtenidas por la técnica DSC ayudan a predecir las temperaturas de transición vítrea y de cristalización de las películas, en donde a una temperatura de 55.01°C (T_g) se espera que las moléculas de la película pierdan su organización y esta se vuelva con una característica gomosa. Después de pasar la T_g el pico más alto en el termograma indica ser una liberación de calor (formándose cristales) por parte de la muestra (mucilago). Teniendo en cuenta que existe la temperatura de transición vítrea y de cristalización en el mucilago y de igual manera en las películas, indica que estas son de un carácter semi-cristalino.

BIBLIOGRAFIA

- CONZATTI, G. E. (2018). Surface functionalization of plasticized chitosan films through PNIPAM grafting via UV and plasma graft polymerization. *European Polymer Journal*, 1-26.
- CORONA, J. L. (2015). Características térmicas, reológicas y estructurales de almidón de sorgo adicionado con mucilago de nopal. *Instituto Politécnico Nacional. Centro de desarrollo de productos bióticos*, 1-3.
- INEGI. (2017). Perfil de la fabricación de productos de plástico. *Censos economicos (2014)*, págs. VIII, 36 p
Recuerado de:
internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/702825092894.pdf.
- MACARTHUR, E. (Enero de 2016). The New Plastics Economy: Rethinking the future of plastics. *World Economic Forum*, pág. 34 Recuperado de: www3.weforum.org/docs/WEF_The_New_Plastics_Economy.pdf.
- MINA ESCOBAR, A. E. (2013). Funcionalización electroquímica y tribológica de películas de quitosano en fosfato tricálcico depositados en acero 316L. *Facultad de Ingeniería. Scielo*, vol.22 no.35.
- PAVIA, D. L. (2009). *Introduction to spectroscopy*. Brooks/Cole, Cengage Learning.
- SALINAS, V. (2014). Caracterización de películas comestibles a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) y evaluación de su aplicación como recubrimiento comestible en ciruela (*Prunus salicina L.*) para su

conservación en fresco. *Ingeniería Química-Bioingeniería. Facultad de estudios superiores Cuautitlán*, 149.

TORRES, L. (2005). Estudio reológico del mucilago de nopal y su efecto sinérgico con otros hidrocoloides de uso alimenticio. *Universidad Autónoma de México. Facultad de Química Departamento de Alimentos y Biotecnología*, 10-12.

ESTUDIO DE LA ECOLOGÍA MICROBIANA DEL RUMEN DE BOVINOS (*Bos taurus*) PARA EL AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS FIBROLÍTICOS

Brenda Soledad Martínez López¹ y José Luis Navarrete Bolaños²

RESUMEN

El incremento de la digestibilidad o valor nutritivo de los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales para la producción sustentable de ganado ha sido un tema de investigación durante los últimos años y modular la fermentación ruminal para favorecer la cría de ganado mediante la incorporación de microorganismos en la alimentación uno de los objetivos. En este trabajo, se estudió la ecología microbiana de rumen de bovinos (*Bos taurus*) para aislar, evaluar y seleccionar microorganismos nativos que mejoren la digestibilidad de los rastrojos de maíz, sorgo y avena (principales residuos agrícolas producidos en México) e incrementen la síntesis de ácidos grasos volátiles

ABSTRACT

The increase of the digestibility or nutritional value of crop residues and agroindustrial subproducts for sustainable production of livestock, has been a research topic in recent years and modulate the ruminal fermentation to favor the breeding of livestock by incorporating microorganisms in the feed has one of the goals. In this work, the microbial ecology of bovine rumen (*Bos taurus*) was studied to isolate, evaluate and select native microorganisms that improve the digestibility of maize, sorghum and oat stubbles (main agricultural residues produced in Mexico) and increase the synthesis of volatile fatty acids.

Palabras clave: rumen, microorganismos fibrolíticos, residuos agrícolas

INTRODUCCIÓN

En todo el mundo, cada año son generadas toneladas de subproductos agroindustriales y residuos de cosechas, la mayoría de las cuales se eliminan quemando o enterrando, causando contaminación ambiental. La generación de desechos en la agricultura no se puede evitar, pues es la consecuencia de la demanda directa o indirecta de satisfacer la necesidad de alimentos para la población humana, pero la contaminación ambiental asociada con estos desechos puede reducirse si se utiliza como alimento para los rumiantes, porque tiene un valor nutricional lo suficientemente alto como para ser considerado como un recurso para aumentar la producción ganadera. Los animales rumiantes pueden utilizar carbohidratos fibrosos como fuente de energía debido a una relación simbiótica entre los microorganismos presentes en rumen. Los resultados han demostrado que el uso de enzimas fibrolíticas exógenas es una forma de mejorar la digestibilidad de la fibra. En consecuencia, su uso se ha extendido a subproductos agroindustriales y residuos de cultivos con resultados positivos, pero solo en aquellos residuos que presentan bajo contenido de lignina debido a que la lignina es uno de los principales factores limitantes en la digestión de carbohidratos fibrosos. En este trabajo, se estudió la ecología microbiana del rumen para seleccionar una cepa nativa que podría aumentar el valor nutritivo de los principales residuos agrícolas: maíz, sorgo y avena producidos en México, que se consideran forraje de baja calidad para alimentar ganado porque contienen concentraciones significativas de lignina. El objetivo final fue encontrar una cepa nativa que se pueda utilizar como suplemento alimenticio que modula la actividad ruminal para mejorar la fermentación de carbohidratos no solubles en forrajes de baja calidad por la microbiota nativa e incrementar tanto la rentabilidad como la sostenibilidad de la actividad ganadera.

¹ Universidad de Guanajuato campus Celaya-Salvatierra Ing. Javier Barros Sierra 201, C.P: 38140 Celaya, Gto. bs.martinezlopez@ugto.mx

² Instituto tecnológico de Celaya Antonio García Cubas 600, Fovissste, C.P: 38010 Celaya, Gto. jlnb@itc.mx

METODOLOGIA

Materiales

Residuos agrícolas

Rastrojos de maíz, sorgo y avena obtenidos de tres diferentes localidades cerca de Celaya, Guanajuato México, de la cosecha 2016 fueron preparados (molidos a un tamaño de partícula de 1 mm en un molino de discos Thomas Scientific Model 4) y usados para evaluar el cambio en la digestibilidad *in vitro* asociada a la actividad metabólica de microorganismos nativos del rumen.

Ganado y obtención de muestra

Muestras de fluido ruminal de bovinos *Bos taurus* de libre pastoreo y provistos de cánula permanente del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y mejoramiento animal de Ajuchitlan, Querétaro México, y de bovinos recién sacrificados del rastro municipal de Celaya, Guanajuato México, fueron colectadas e inmediatamente sumergidas en una solución tampón de fosfato 1X (PBS) reducido en oxígeno con 0.025 g/L de Na2Cisteína para favorecer condiciones anaeróbicas. Todas las muestras fueron filtradas y colectadas las fases líquida y sólida bajo gasificación con nitrógeno para favorecer condiciones anaeróbicas y almacenadas hasta su procesamiento.

Métodos

Aislamiento

Muestras de fluido ruminal líquido y sólido fueron colocadas dentro de una cámara de anaerobiosis (Modelo 818-GB, Plas-Labs Inc, Lansing, MI, USA). Alícuotas de cada muestra fueron tomadas y diluidas secuencialmente desde 10⁻¹ hasta 10⁻⁴. 20 L de cada dilución fueron colocadas en la superficie de medio de cultivo sólido específicos (Tabla I) contenidos en placas Petri y esparcidos por extensión con varilla de vidrio. Las cajas Petri inoculadas fueron incubadas a 39 (±1) °C por 24, 48 y 72 horas en incubadora anaerobia (Nuair, CO2 incubator, modelo UN-5510, Plymouth, MN, USA). Finalizado el tiempo de incubación, las cajas fueron analizadas, tomada muestra de las diferentes colonias desarrolladas e inoculadas cajas Petri conteniendo nuevos medios de cultivo e inoculadas en ambiente anaeróbico a 39 (±1) °C por 24, 48 y 72 horas. El procedimiento se repitió hasta obtener cultivos axénicos en cada caja Petri.

Tabla I Composición (mL/L o g/L de agua destilada) de medios de cultivos utilizados para la aislación de bacterias fibrolíticas (M1, M2, M3 y M4).

Ingredientes	M1	M2	M3	M4
Solución A ^a	166	166	166	166
Solución B ^b	166	166	166	166
Fluido ruminal clarificado ^b	200	200	200	200
Mezcla de ácidos grasos volátiles ^a	0.62	0.62	0.62	0.62
Vitaminas A ^c	0.02	0.02	0.02	0.02
Vitaminas B ^c	0.05	0.05	0.05	0.05
Vitaminas C ^c	0.05	0.05	0.05	0.05
Resazurina	0.01	0.01	0.01	0.01
Extracto de Levadura	0.5	0.5	0.5	0.5
Tryptona	0.5	0.5	0.5	0.5
Agar Bacteriológico	15	15	15	15
Celulosa Microcristalina	100	-	-	-
Rastrojo de maíz	-	100	-	-
Rastrojo de sorgo	-	-	100	-
Rastrojo de Avena	-	-	-	100
Solución reductora				

- a. Macy y col., 1982. Solución A: NaCl 5.4 g/L, KH₂PO₄ 2.7 g/L, CaCl₂·2H₂O 0.159 g/L, MgCl₂·6H₂O 0.12 g/L, MnCl₂·6H₂O 0.06 g/L, CoCl₂·6H₂O 0.006 g/L, (NH₄)₂SO₄ 5.4 g/L,. Solución B K₂HPO₄ 2.7 g/L
- b. Grubb y Dehoritym 1976. Mezcla de ácidos grasos volátiles: acético 5.80 mM, propiónico 1.60 mM, butírico 0.86 mM, n-valerico 0.18 mM, isovalérico 0.18 mM isobutirico 0.18 mM, ac DL-a-metilbutírico 0.18 mM
- c. Modificado Scott y Dehority 1964, Vitaminas A: piridoxina clorhidrato 0.1 mg/mL, riboflavina 0.1 mg/mL, tiamina clorhidrato 0.1 mg/mL, nicotinamina 0.1 mg/mL, Ca-D- pantotenato 0.1 mg/mL y ác. p-aminobenzoico 5x10⁻³mg/mL. Vitaminas B: vitamina B12 0.25 mg/mL. Vitaminas C: ácido. fólico 0.5 mg/mL, biotina 0.5 mg/mL esterilizada por filtración.

Identificación morfológica

Cada cultivo axénico fue evaluado bajo criterios morfológicos: Morfología colonial (tamaño, elevación, consistencia) y Morfología celular (bacillos, cocos, tinción de gram), para evitar duplicidad entre los cultivos

Identificación molecular

ADN genómico fue extraído de cada cultivo axénico, para la amplificación del gen ribosomal 16S se utilizó un par de oligonucleótidos universales 27F [5'-AGAGTTTGAT(C/T)(A/C)TGGCTCAG-3'] y 1492R (5'-TACCTTGTTACGACTT-3'). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador T1 (Biometra GmbH, Göttingen, Germany), se programó un ciclo inicial de desnaturalización de 94 °C durante 3 min, seguido de 30 ciclos de desnaturalización de 94 °C durante 1 min, alineamiento a 50 °C durante 1 min y extensión de 72 °C durante 1.5 min y una extensión final a 72 °C durante 10 min. Las secuencias se obtuvieron de Macrogen Inc. (Seúl, Corea del sur).

La secuencia consenso, se obtuvo con el programa Bioedit la cual fue comparada con las secuencias originales con el programa CLUSTAL X 2.0, posteriormente se empleó el algoritmo Nucleotide-nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del National Center of Biotechnology Information (NCBI) para comparar las secuencias consenso con la base de datos para identificar cada cultivo axénico.

La historia evolutiva se dedujo utilizando la máxima verosimilitud (ML) y los métodos de inferencia Bayesianos Para seleccionar un modelo de sustitución de nucleótidos, se implementó el criterio de información bayesiano y se realizó un análisis de ML (MEGA versión 6.0, Tamura et al., 2013). Los árboles iniciales para la búsqueda heurística se obtuvieron aplicando el método de unión de vecinos a una matriz de distancias por pares, estimada utilizando el enfoque de máxima verosimilitud compuesta. Los árboles fueron bootstrap, con 1,000 réplicas de cada secuencia, para evaluar la confiabilidad de las topologías de árboles. Las reconstrucciones filogenéticas Bayesianas se compusieron con el programa MrBayes 3.2 (Ronquist et al., 2012).

RESULTADOS Y DISCUSION

Estudios de ecología microbiana4

El rumen es un sistema que favorece el crecimiento y permanencia de distintos géneros bacterianos anaerobios, dependiendo de la dieta serán los géneros predominantes si la dieta es rica en fibra se favorecerá el crecimiento de bacterias con capacidad fibrolítica. De las muestras de fluido ruminal se aislaron 40 cultivos axenicos (X₁, X₂, X₃, ... , X₄₀) (Figura 1), solo dieciocho cepas (X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆, X₇, X₈, X₉, X₁₀, X₁₁, X₁₂, X₁₃, X₁₄, X₁₅, X₁₆, X₁₇, X₁₈) fueron propagadas satisfactoriamente en condiciones de laboratorio, cuatro (X₁, X₂, X₄, X₁₅) mostraron capacidad para sintetizar enzimas lignolíticas y celulolíticas. El análisis filogenético agrupo a las diecisiete bacterias en el género bacillus, esto debido a la que la técnica de aislamiento fue dirigida a microorganismos fibrolíticos.

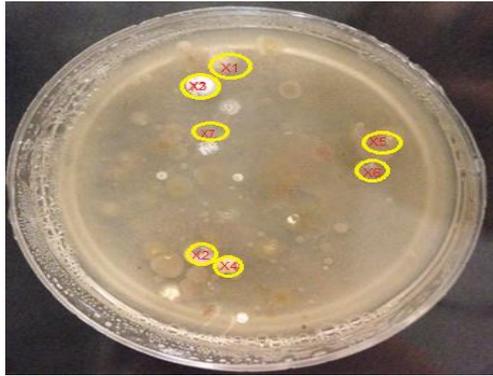


Figura 1 Imagen macroscópica de bacterias aisladas del rumen

Análisis e identificación parcial de microorganismos fibrolíticos

Los cultivos axénicos en cajas Petri obtenidos de fluido ruminal de rumen de bovinos mostraron ser colonias redondas o irregulares, de coloraciones amarillas, beige, perla, blanco, elevación plana y consistencia mucosa o suave (Tabla 2). Se aislaron ocho bacterias (X₁, X₂, X₃, X₄, X₆, X₁₀, X₁₂, X₁₃) del medio de cultivo que contenía como principal fuente de carbono celulosa microcristalina, cinco (X₅, X₇, X₈, X₁₁, X₁₄) de rastrojo de maíz, tres (X₁₅, X₁₆, X₁₈) de rastrojo de sorgo y una (X₁₇) de rastrojo de avena.

Tabla 2 Características macroscópicas de los cultivos axénicos aislados del rumen

Cepa	Morfología colonial	Morfología celular
X ₁	Forma irregular, borde ondulado, elevación plana, superficie brillante, color crema, consistencia cremosa	Bacillus gram +
X ₂	Forma regular, borde ondulado, elevación plana, superficie brillante, color blanco, elevación plana, cremosa	Bacillus gram +
X ₃	Forma circulares, elevación convexa, color beige brillante, con bordes redondeados, apariencia lisa y consistencia suave	Cocos gram +
X ₄	Forma circulares, elevación convexa, color beige opaco, con bordes redondeados, apariencia lisa, consistencia seca	Bacillus gram -
X ₅	Forma circular, elevación plana, color beige translúcido, con bordes redondeados, apariencia lisa y consistencia suave	Bacillus gram +
X ₆	Forma circulares, elevación convexa, color beige opaco, con bordes redondeados, apariencia lisa, consistencia seca	Bacillus gram -
X ₇	Forma irregular, borde ondulado, elevación plana, superficie brillante, color crema, consistencia cremosa	Bacillus gram +
X ₈	Forma circular, elevación plana, color blanco translúcido y opaco, bordes lobulados, de apariencia lisa, consistencia suave.	Bacillus gram +
X ₉	Forma irregular, elevación plana, color beige opaco y halo beige translúcido, bordes lobulados, de apariencia rizoide, consistencia mucosa.	Bacillus gram +
X ₁₀	Forma irregular, borde aserrado, elevación plana, superficie opaca, color beige consistencia cremosa.	Bacillus gram +
X ₁₁	Forma irregular, borde ondulado, color café elevación convexa, superficie opaca, consistencia seca	Bacillus gram +
X ₁₂	Forma irregular, color amarillo translúcido brillante, con bordes lobulados formando colonias individuales, elevación plana de apariencia rizoide, consistencia mucosa.	Bacillus gram +
X ₁₃	Forma irregular individuales, color beige/amarillo, con bordes lobulados e irregulares, elevación plana, de apariencia rizoide los bordes, consistencia mucosa	Bacillus gram +

X ₁₄	Forma irregular individuales, color blanco mate, con bordes redondeados, elevación plana, de apariencia rizoide, consistencia mucosa	Bacillus gram +
X ₁₅	Forma irregular, color beige translúcido opaco, con bordes rectos, elevación plana, de apariencia lisa, consistencia mucosa.	Bacillus gram +
X ₁₆	Forma irregular, borde ondulado, elevación plana, superficie opaca, consistencia seca.	Bacillus gram +
X ₁₇	Forma circular, color blanco translúcido, con bordes redondeados, elevación plana de apariencia lisa, consistencia seca parecen manchas sobre el agar	Bacillus gram +
X ₁₈	Colonias circulares (D<= 1mm) color perla cremoso y brillante, con bordes redondeados, elevación convexa, de apariencia lisa y consistencia suave	No aplica

Las cepas fueron identificadas por medio de la amplificación y posterior secuenciación del gen ribosomal 16S, las secuencias fueron comparadas con la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI-GenBank) para asignar la identidad de cada cepa (Tabla IX)

CONCLUSIONES

Actualmente las investigaciones dirigidas hacia la eficiencia en ganancia de peso y producción de leche en rumiantes han sido orientadas al uso de microorganismos de alimentación directa, donde se han demostrado aumentos en la ganancia diaria en peso, mejora en la producción de leche en vacas lecheras así como en la salud del ganado. Sin embargo, los microorganismos empleados no son nativos del rumen y solo pueden ser utilizados para mejorar o mantener niveles de pH que no causen acidosis ruminal. Con base en esto, se cree que las cepas nativas son más eficientes porque están naturalmente adaptadas a éste microambiente, por ello, bacterias del contenido ruminal de *Bos taurus* fueron aisladas y propagadas en condiciones de laboratorio, para evaluar su potencial como microorganismos de alimentación directa. Las bacterias aisladas fueron identificadas y clasificadas dentro del género *bacillus*, por el método de aislamiento.

Tres cepas axénicas nativas de rumen (*Bacillus thermoamylovorans*, *Lysinibacillus fusiformis* y *Paenibacillus ehimensis*), mostraron eficiencia en la síntesis de enzimas fibrolíticas, sin embargo, *L. fusiformis* fue la cepa seleccionada por su mayor capacidad como modulador ruminal.

BIBLIOGRAFIA

Macy JM, Farrand JR, Montgomery L. (1982). Cellulolytic and non-cellulolytic bacteria in rat gastrointestinal tracts. Appl Environ Microbiol 44:1428-1434

Grubb TC Jr (1976) Adaptiveness of foraging in the cattle egret. Wilson Bull 88:145-148.

Scott HW, Dehority BA. Vitamin requirements of several cellulolytic rumen bacteria. J Bacteriol. 1965

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Luis Nabarrete Bolaños por aceptarme para trabajar en este proyecto y apoyarme para ampliar mi conocimiento, habilidades y mi crecimiento personal-

A la M. en C Marcela Guadalupe Téllez Martínez por asesorarme en este proyecto y aportar su conocimiento en esta área y así poder complementar mi conocimiento sobre el tema.

PUNTOS CUÁNTICOS TENSADOS Y RELAJADOS EN DISPOSITIVOS FOTOVOLTAICOS

Bravo Velazquez Carlos Alberto¹ y Méndez García Víctor Hugo²

RESUMEN

En la actualidad, uno de los principales retos a los que se enfrenta el ser humano, es la obtención de energía de manera limpia, sustentable y eficiente. Este documento presenta una novedosa forma de desarrollar celdas fotovoltaicas utilizando las propiedades de confinamiento de los puntos cuánticos auto-ensamblados, los cuales son depositados a través de una moderna técnica de crecimiento denominada Epitaxia de Haces Moleculares (MBE) en la que se busca crecer Arseniuro de Indio (InAs) sobre Arseniuro de Galio (GaAs) de forma que se logre crear nano-islas utilizando su compatibilidad cristalina. Estas nano-estructuras fueron caracterizadas a través de varias técnicas como el Reflexión de Electrones de Alta Energía (RHEED), Fotoluminiscencia y Respuesta Voltaje-Corriente.

ABSTRACT

Now in days, one of the main challenges the humanity deals with is obtaining a clean, sustainable and efficient energy. This document presents a novel way to develop third generation photovoltaic cells using the confinement properties of the self-assembled quantum dot, which are deposited through a modern growth technique called Molecular Beam Epitaxy (MBE) in which it is required to grow Indium Arsenide (InAs) on Gallium Arsenide (GaAs) in order to create nano-islands using its crystalline compatibility. These nano-structures are studied through several techniques such as the High Energy Electron Reflection (RHEED) and Voltage-Current Response.

Palabras Clave: MBE, Puntos Cuánticos, Autoensamble, RHEED, Fotoluminiscencia, Respuesta I-V.

INTRODUCCIÓN

La electrodinámica cuántica (QED) estudia la interacción entre la luz y la materia en el nivel más fundamental en el que los cuantos individuales de luz (fotones) y las entidades únicas de la materia (emisores cuánticos) se acoplan de forma controlable. Fundada por Paul Dirac en la década de 1920, la teoría de la QED abarca intrigantes fenómenos cuánticos como los estados de superposición cuántica y el entrelazamiento, esta ha demostrado ser notablemente precisa. El progreso en los experimentos de QED con átomos y fotones ha basado su investigación en la espectroscopia atómica.

En paralelo con el desarrollo de la QED atómica, los principales esfuerzos de investigación se han centrado en alternativas de estado sólido. Los sistemas de estado sólido tienen la ventaja experimental de que las elaboradas técnicas experimentales necesarias para atrapar y enfriar átomos individuales no son necesarias. Tanto el emisor como el entorno óptico pueden diseñarse para mejorar el acoplamiento fotón-emisor y en consecuencia, dos disciplinas de investigación diferentes se han fusionado en QED de estado sólido. El primero es la investigación en ciencia de materiales, que ha desarrollado métodos para sintetizar emisores de fotones sólidos de estado sólido con excelentes propiedades ópticas. En particular, el descubrimiento de la fotoluminiscencia de puntos cuánticos auto-ensamblados incrustados en GaAs, donde las heteroestructuras atómicamente lisas se pueden cultivar con epitaxia de haces moleculares, fue el primero de una serie de grandes avances. Desde entonces, los métodos de crecimiento se han desarrollado enormemente y hoy en día los puntos cuánticos se pueden adaptar para tener excelentes propiedades ópticas. El segundo es la investigación nano-fotónica donde el entorno óptico del emisor está diseñado por métodos de nano-fabricación, que se basa en la idea original de Purcell de que los procesos de radiación no son propiedades inmutables del emisor, sino que pueden ser controlados por el entorno.

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de Investigación en Comunicación Óptica, Av. Karakorum #1470 Lomas 4a. Sección, C.P. 78210 San Luis Potosí, SLP México. carlos.alberto.bravo.velazquez@gmail.com

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Av. Sierra Leona #550, Col. Lomas 2ª Sección, C.P. 78210, San Luis Potosí, SLP México. vyktormen@gmail.com

La existencia de un espectro electrónico discreto y anarmónico es el requisito previo para muchos experimentos de óptica cuántica ya que permite generar fotones individuales cuando un electrón experimenta una transición entre dos niveles. Una elección obvia es un solo átomo, que representa un sistema cuántico limpio con estados electrónicos discretos. La capacidad de crear estados electrónicos discretos en un sistema de estado sólido permite una gama de nuevas oportunidades para experimentos integrados de óptica cuántica, y esto se puede lograr en un punto cuántico.

Un punto cuántico es un "átomo artificial" semiconductor que consta de decenas de miles de átomos, tiene propiedades ópticas similares a los átomos individuales debido al confinamiento cuántico de electrones a una escala de longitud nanométrica.

Una de las ventajas experimentales importantes de los puntos cuánticos es que están hechos de materiales semiconductores para los cuales se ha desarrollado una gran cantidad de tecnología de crecimiento y procesamiento en las últimas décadas. Sofisticados procedimientos de crecimiento de cristales combinados con métodos de procesamiento de semiconductores como la litografía por haz de electrones, grabado y deposición constituyen las plataformas más comunes de nano-fabricación que construyen un importante progreso experimental dentro de la nano-fotónica cuántica de las últimas décadas.

Dado que los semiconductores son muy sensibles a las impurezas y defectos, los puntos cuánticos se fabrican mediante métodos epitaxiales como la epitaxia de haz molecular, donde las estructuras se desarrollan con precisión de monocapa en condiciones de ultra alto vacío. El enfoque más común para los puntos cuánticos InGaAs es el método Stranski-Krastanov que se basa en el auto-ensamble de puntos cuánticos InAs o InGaAs en una superficie GaAs debido a la constante reticular 7% mayor de InAs en comparación con la de GaAs. Como consecuencia, solo una fina capa humectante de InAs puede depositarse sobre GaAs antes de que la tensión se relaje mediante la nucleación de puntos cuánticos en forma de islas ubicadas al azar. (Lodahl, Mahmoodian, & Stobbe, 2015).

MARCO TEORICO

Para comprender mejor los procesos y técnicas necesarias para el desarrollo del proyecto, a continuación se hará una pequeña descripción de cada uno de los métodos tanto de creación como de caracterización, estas descripciones corresponderán a MBE, RHEED, respuesta I-V, Fotoluminiscencia así como el funcionamiento básico de una celda solar de puntos cuánticos.

MBE: La Epitaxia de Haces Moleculares no es solo una tecnología de películas delgadas de semiconductores compuestos sino que también se puede usar para el crecimiento de semiconductores elementales. Recientemente, MBE ha encontrado aplicaciones en áreas donde el espesor de capa, los perfiles de dopaje o las heteroestructuras son difíciles de producir con técnicas convencionales. Además del crecimiento de materiales semiconductores, MBE también puede utilizarse para el crecimiento de películas aislantes y monocristalinas.

La epitaxia de haces moleculares tiene lugar en alto vacío o ultra alto vacío (10^{-8} - 10^{-12} Torr). El aspecto más importante de MBE es la velocidad de deposición (típicamente menos de 3.000 nm por hora) que permite que las películas crezcan epitaxialmente. La ausencia de gases portadores así como el entorno de ultra alto vacío dan como resultado la pureza más alta alcanzable de las películas crecidas. (Parker, 1985)

RHEED: La técnica proporciona una herramienta de diagnóstico muy sensible pero simple para observar los cambios en la estructura cristalina de las capas superficiales en función de los parámetros de crecimiento. Es posible obtener información sobre la estructura de la superficie y su microestructura. Los patrones RHEED se pueden usar fácilmente para determinar la malla unitaria de la disposición atómica en la superficie que se está monitoreando. La linealidad de un patrón RHEED es una clara indicación de una superficie plana. Para cualquier rugosidad en la superficie del cristal, el haz de electrones se difractará mediante la disposición atómica tridimensional dentro de la aspereza y se observará un patrón de difracción característico de la estructura en crecimiento. (Parker, 1985)

Para el tópico desarrollado en este trabajo, se ha utilizado un modelo matemático desarrollado por el Dr. V. H. Méndez García con el cual es posible ver la transición de la dimensionalidad en tiempo real durante el crecimiento y autoensamble de los puntos cuánticos. Derivado de una ecuación de difusión en superficies durante el crecimiento

por epitaxia molecular, el modelo matemático es descrito por la ecuación 1), y será usada más adelante para estudiar los resultados.

$$I(t) = \Delta I(1 - e^{k_m(t-H_c)}) \quad (1)$$

Siendo I(t) la intensidad tomada de la pantalla RHEED, la cual se propone, es función del tiempo, ΔI corresponde a una medida de transporte de masa entre capas usado para comparar la rugosidad en la película. K_m es una relación constante de velocidad la cual es proporcional a la raíz cuadrada de la longitud de difusión de los adatomos de la superficie rugosa y por último H_c el espesor crítico de formación de puntos cuánticos. (Eugenio Lopez, y otros, 2018)

Respuesta I-V: La respuesta Corriente-Voltaje del dispositivo, nos permite conocer la eficiencia que éste desempeña, pudiendo utilizar este parámetro como una medida del éxito de la creación de la muestra.

Para este proceso, se ocupa un instrumento de 2 puntas, con el cual se administra un voltaje a la celda y se mide su respuesta en corriente. Ya que es un material dopado, se espera que su respuesta sea de tipo diodo y no Óhmica como un simple conductor.

La eficiencia de una célula solar (η , Ecuación 2)), es el porcentaje de potencia convertida en energía eléctrica de la luz solar total absorbida por un panel, cuando una célula solar está conectada a un circuito eléctrico. Este término se calcula usando la relación del punto de potencia máxima, P_m , dividido entre la luz que llega a la celda, irradiación (E , en W/m^2), bajo condiciones estándar (STC) y el área superficial de la célula solar (A_c en m^2). (Wikipedia, 2018)

$$\eta = \frac{P_m}{E \times A_c} \quad (2)$$

Celda Solar de Puntos Cuánticos: La idea de implementar Puntos Cuánticos en celdas solares es porque con ello se generan bandas intermedias de energía que permiten incrementar la captura de fotones, y con ello aumentar la fotocorriente. En teoría, con la introducción de multicapas intermedias, es posible llegar a una eficiencia de hasta el 63%. Los niveles discretos de los estados confinados de los puntos cuánticos pueden ser útiles para conformar bandas intermedias. (Mercado Ornelas & Mendez García, 2018)

MÉTODO EXPERIMENTAL

A través de la técnica de Epitaxia por Haces Moleculares, se creció una muestra de multicapas de puntos cuánticos de InAs sobre un sustrato de GaAs (100). Sus tapas se doparán de forma n-p para darle características de un dispositivo fotovoltaico.

Tabla. 1. Un resumen de los sucesos acontecidos durante el proceso de crecimiento se muestran en la tabla.

1	La muestra ha sido previamente preparada (Se ha introducido en el sistema, degasado y posteriormente introducido en la cámara de crecimiento), también se han acomodado los parámetros necesarios (temperaturas y presiones) para poder realizar el proceso. $P_{As} = 6.6 \times 10^{-7}$ $P_{Ga} = 6.0 \times 10^{-5}$ $P_{In} = 6.0 \times 10^{-8}$ $P_{Ion} = 6.6 \times 10^{-10}$ $P_{Well} = 1 \times 10^{-17}$
2	Sobre el sustrato se crea una capa de Silicio y Galio, es decir una capa dopada tipo n.
3	Inicia el crecimiento de la primera capa de puntos cuánticos, se abren los shooters de In y As, durante 54 segundos según lo observado en la pantalla RHEED, ya que se distingue la aparición de los Chevrons característicos del patrón de difracción de puntos cuánticos.
4	La temperatura de la muestra es disminuida de manera repentina después del crecimiento de la primera capa para evitar que los puntos cuánticos se difundan súbitamente en el material.
5	Volvemos a elevar la temperatura de la muestra y crecemos una capa de protección de GaAs, Abrimos los shooters de cada elemento durante 54 segundos, según lo previsto en las calibraciones.
6	Repetimos los procesos de crecimiento de capa de puntos cuánticos, siendo una capa de puntos cuánticos InAs y una de protección GaAs, habiendo un cambio repentino de temperatura entre cada una para evitar la difusión. La última capa de protección es creada en 1 minuto y 5 segundos. Formamos 4 capas de puntos cuánticos en total.
7	Por último, para formar una tapa tipo p, es abierto el shooter de Be para dopar la última capa, el dopaje dura 18 segundos. La temperatura de la muestra es reducida notablemente y termina el proceso de crecimiento.

De esta forma es como se ha construido una estructura de multicapas de puntos cuánticos, justo como se muestra en la Figura 1.

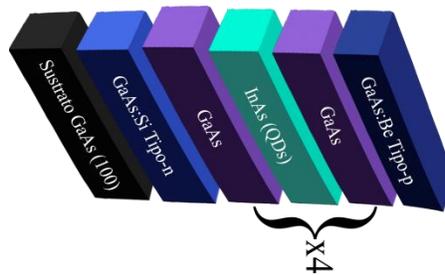


Figura 1. Estructura final del proceso de crecimiento de puntos cuánticos de InAs sobre GaAs.

RESULTADOS

Determinar el éxito del experimento no es para nada trivial, la calidad de la muestra resultante depende de su estructura atómica, es decir, de la formación exitosa de los puntos cuánticos los cuales están en el orden de los nanómetros y por tanto dificulta su cuantificación.

Sin embargo, existe una serie de técnicas que nos permiten visualizar de manera indirecta las características de nuestro espécimen, estas técnicas se han realizado en ella y sus resultados son mostrados a continuación.

RHEED

Esta técnica in situ descrita anteriormente nos permite monitorear en tiempo real el crecimiento de la muestra. En la creación de los puntos cuánticos se observan figuras características en el patrón de difracción denominadas “Chevrone” (Figura 2), las cuales indican la creación exitosa de estas nano-estructuras.

Otra forma de analizar la dimensionalidad de estas nano-islas es mediante un análisis numérico (Ecuación 1))

En esta sección podemos hacer una comparación de los datos experimentales extraídos de un video tomado durante el crecimiento y formación de la estructura, del cual se selecciona un offset, graficando de él la intensidad en la imagen a través del tiempo, y se muestra en la Figura 3.

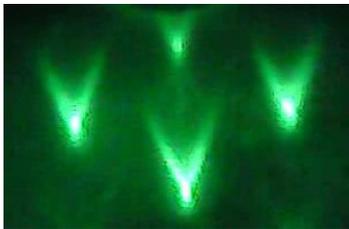


Figura 2. Chevrones característicos del patrón RHEED que produce la nucleación de puntos cuánticos observados durante el crecimiento de estos.

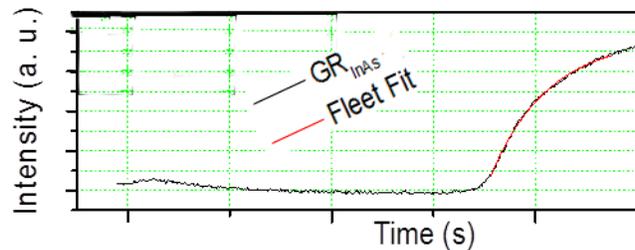


Figura 3. Se presentan los datos obtenidos en el análisis RHEED, la línea negra corresponde a los valores de intensidad obtenidos de la pantalla RHEED a través del tiempo, por otro lado la línea roja son los valores teóricos esperados a partir de la Ecuación 1).

Fotoluminiscencia

Al desear estudiar las propiedades ópticas de la muestra, se llevaron a cabo mediciones de fotoluminiscencia para determinar la energía de transición de la muestra. Este espectro se muestra en la Figura 4.

Respuesta I-V

Mediante un sistema de simulación solar SS150W y un Keithley, queremos medir, a dos puntas, cual es la respuesta de la muestras. Una gráfica de los datos obtenidos es proporcionada en la Figura 5.

Para la medición fue necesario llevar a cabo el depósito de contactos tanto sobre la superficie como en la base de la muestra, siendo contactos tipo p (Ag/Zn) y n (Sn/Ag/Zn) respectivamente para la muestra, estos fueron necesarios para obtener un mayor voltaje en corto circuito y llegar a tener así un mejor rango de medición en I-V.

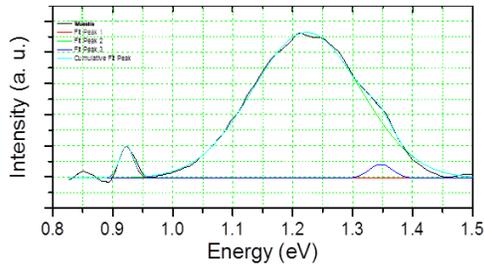


Figura 4. En el espectro de fotoluminiscencia podemos observar dos picos de emisión notables, el más grande corresponde a la transición del GaAs, característico de este material cercano a los 1.2 eV, mientras que podemos observar uno más pequeño cerca de los 0.9 eV debido a los puntos cuánticos en el material.

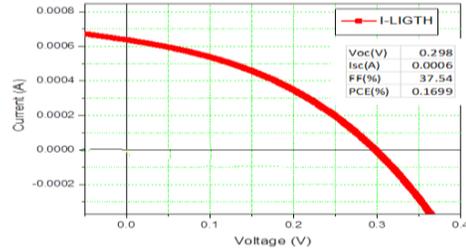


Figura 5. En los datos de la respuesta I-V notamos claramente una respuesta de tipo diodo, a partir de ésta se han extraído los datos necesarios para el cálculo de la eficiencia con la Ecuación 2).

CONCLUSIONES

Respecto al patrón RHEED, podemos observar con claridad los esperados Chevrones (Figura 2) que se forman en él. Numéricamente, apreciamos una buena correlación del fit de los datos con la propuesta Ecuación 1), vemos de esta forma la transición en la dimensionalidad de la superficie, causando así la característica curva en la intensidad.

Dada la Figura 4 Se observa una transición de 0.92 eV en la muestra, justo en la cual, se predice ser los correspondientes niveles de energía de transición para los puntos cuánticos.

En la Figura 5 observamos un comportamiento I-V común para una celda solar de puntos cuánticos, con esta fue posible determinar la corriente en corto circuito y el voltaje en circuito abierto, además de calcular el factor de llenado, parámetros que nos permitieron determinar la eficiencia de la celda, siendo para esta muestra de un 0.16%.

Las mediciones obtenidas son típicas de los puntos cuánticos, cada una de ellas confirma la nucleación de estas estructuras, lo cual era esperado desde el crecimiento, gracias a la técnica RHEED, ya que en ella se podía apreciar con claridad el patrón de difracción (Chevrones) análogo a las nano-islas.

Por otro lado, el factor de eficiencia obtenido aunque pequeño respecto al límite teórico es bastante sorprendente, ya que es una clara muestra del funcionamiento de la celda, y cómo estas tecnologías pueden ser utilizadas para la obtención de energías limpias y resolver una de las problemáticas más importantes a nivel mundial.

AGRADECIMIENTOS

Son los profesionales en esta área los responsables de una magnífica labor. Ellos junto con el trabajo de toda la comunidad científica nos llevarán a la solución de todos aquellos males que aquejan a la humanidad.

Un agradecimiento enorme al Dr. V. H. Méndez García y la Dra. L. I. Espinosa Vega, así como sus estudiantes C.A. Mercado Ornelas, L. F. Perea y A. Belio Manzano por haberme recibido en su recinto con las puertas totalmente

abiertas y por guiarme en esta estancia hacia el conocimiento. Pero sobre todo por abrir el panorama que en mí existía respecto a mi futuro en la ciencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Eugenio Lopez, E., Mendez Garcia, V., Lopez Lopez, M., Gorbachev, A., Espinosa Vega, L., Cortes Mestizo, I., y otros. (2018). InAs quantum dots nucleation on (100) and anisotropic (631)-oriented GaAs substrates. Elsevier.
- Lodahl, P., Mahmoodian, S., & Stobbe, S. (2015). Intergerencing single photons and single quantum dots whit photonic nanostructures. *Physical Review*, 4-8.
- Mercado Ornelas, C. A., & Mendez Garcia, V. H. (2018). Celdas Solares de Puntos Cuanticos de Banda Intermedia por Epitaxia de Haces Moleculares. San Luis Potosí, Mexico.
- Parker, E. H. (1985). *The Technology and Physics of Molecular Beam Empitaxy*. New York: Plenum Press.
- Wikipedia. (2018). Panel fotovoltaico. Recuperado el 19 de 08 de 2018, de Panel fotovoltaico: https://es.wikipedia.org/wiki/Panel_fotovoltaico

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE *AZOTOBACTER CHOROOCOCCUM* EN EL CULTIVO DE MELÓN

Cesar Iván Hernández Parez¹ y Dr. Antonio Cardenaz Flores²

RESUMEN

El siguiente trabajo trata sobre la evaluación del cultivo de melón inoculado con la bacteria *Azotobacter Choroococcum* como biofertilizante para sustituir los fertilizantes convencionales, debido a sus altos costos, este trabajo busca con la bacteria fijar el nitrógeno libre en la atmósfera para fijarlo en el suelo y permitirle a la planta una mejor obtención de este, a su vez siendo un biofertilizante no dañino al medio ambiente evitando la lixiviación, en el experimento se manejaron cuatro tratamientos en los cuales se dosificaron las concentraciones de nitrógeno en un 0%, 50%, 75% para observar el rednimiento del cultivo inoculado con la bacteria, obteniendo los resultados esperados, en plantas sin inocular y sin nutrición se presentó una clorosis, un aparramiento, en cambio en las plantas inoculas no mostraron ninguno de estos síntomas.

ABSTRACT

The following work deals with the evaluation of melon culture inoculated with the bacterium *Azotobacter Choroococcum* as biofertilizer for Sustituir conventional fertilizers, due to its high costs, this work looks for the bacterium to fix the Nitrogen free in the atmosphere to fix it on the ground and allow the plant a better obtention of this, in turn being a biofertilizer not harmful to the environment avoiding leaching, in the experiment were managed four treatments in which They dosed the concentrations of nitrogen by 0%, 50%, 75% to observe the rednimiento of the culture inoculated with the bacterium, obtaining the expected results, in plants without inoculated and without nutrition, a chlorosis was presented, a aparramiento, in contrast in the Inoculated plants showed none of these symptoms.

Palabras clave: *Azotobacter choroococcum*, melón, biofertilizante.

INTRODUCCIÓN

El nitrógeno es un elemento indispensable en el desarrollo del cultivo de cualquier especie vegetal, en deficiencia presenta una limitante para el desarrollo de cualquier cultivo (Mahato & Kafle, 2018). El nitrógeno se encuentra en la clorofila, el color verde que se encuentra en las hojas permitiendo la transferencia de energía por medio de la fotosíntesis y es un elemento clave en los aminoácidos, desarrollo de proteínas, clorofilas (Hawkesford, 2014). La insuficiencia de nitrógeno se presenta en las hojas tornando su color a un amarillo (clorosis), debido a una ausencia de clorofila, con esto se limita el rendimiento del cultivo (Abdel-Aziez, Eweda, Girgis, & Abdel Ghany, 2014). El nitrógeno es una de los nutrientes más caros a suministrar y puede tener un impacto ambiental a través de la lixiviación, contaminando aguas subterráneas, eutrofización de ríos y cuerpos de agua y el óxido nitroso emisiones asociadas con desnitrificación por bacterias del suelo (Ahmad & Kibret, 2014). Los biofertilizantes son formulaciones de microorganismos vivos que tienen la capacidad de movilizar nutrientes de las plantas en el suelo y alternativa barata y respetuoso al medio ambiente (Ahmad, Ahmad, & Khan, 2008). Dentro de los biofertilizantes destaca el *Azotobacter* desempeñando un papel clave en ciclo del nitrógeno uniendo el nitrógeno atmosférico inaccesible para las

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de ingeniería, Av. Hidalgo s/n, col. Bells, 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro, cesar_0150@hotmail.com

² Centro de Investigación en Química Aplicada, Departamento de Plásticos en la Agricultura, Blvd. Enrique Reyna Hermosillo No. 140, C.P. 25294, Saltillo, Coahuila México, antonio.cardenas@ciga.edu.mx

plantas y liberarlo en forma de amonio disponible para las plantas en el suelo. Se presenta un efecto en la inoculación de libre-vida del *Azotobacter* se asocian en gran medida de asociación hormonas de crecimiento activas como giberelinas, auxinas y citocinas, crecimiento, vitaminas y amoniac, sustancias responsables de la germinación de la semilla (Mahato & Kafle, 2018).

Las semillas inoculadas con *Azotobacter* han mostrado aumentar un de un 20% a 30% más la germinación, ayudando en la absorción de N,P y micronutrientes como FE y Zn (Mahato & Kafle, 2018).

Objetivo

Determinar si la especie *Azotobacter Choroococcum* se puede utilizar como un biofertilizante en el cultivo de melón

MÉTODOS Y MATERIALES

El experimento se realizó durante el ciclo de primavera-verano del 2018, en el campo experimental del Departamento de Plásticos en la Agricultura del CIQA, ubicado en el km 32 de la carretera federal 57 (México-Piedras Negras), ejido de San Antonio de Encinas, en el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila.

En campo abierto, se probó la eficiencia de la formulación biofertilizante mediante el establecimiento de tratamientos que fraccionaron la fertilización convencional, de nitrógeno inorgánico, recomendada para el cultivo, así como la interacción de la adición de materia orgánica al suelo en algunos tratamientos para detectar si esta adición podría acarrear beneficios a la bacteria.

Los tratamientos que se aplicaron para el cultivo de melón se describen en el cuadro 1, siendo la dosis de fertilización NPK 160-64-376 la dosis de referencia, y a partir de dicha dosis, se fraccionó el nitrógeno en 75, 50 y 0%. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental en bloques completos al azar cada uno con 6 repeticiones, es decir, se instalaron 6 bloques en total.

Para el caso de los tratamientos 3 y 7 se dejaron sin la incorporación de materia orgánica (MO), para corroborar que la MO favorece el establecimiento de *Azotobacter chroococcum*, tal como lo menciona Kennedy *et al.* (2004), la colonización del suelo por *Azotobacter chroococcum* depende de un adecuado suministro de materia orgánica, la cual le servirá como fuente de energía y de carbono.

Inoculación del material vegetal

En los tratamientos que tuvieron biofertilización con *Azotobacter*, se aplicó la formulación del biofertilizante después de la siembra, y a los 15, 30 y 45 días después de siembra (DDS) como refuerzo. Como se dijo, la primera inoculación fue al momento de la siembra (19/05/2017) con 15 ml/semilla, a una concentración de 1×10^6 ufc/ml; el volumen indicado se añadió por medio de una pipeta sobre el suelo que cubría a cada semilla. Las inoculaciones de refuerzo se hicieron aplicando 60 ml/planta de suspensión bacteriana (1×10^6) ufc/ml, por medio del sistema de riego (cintilla) con una concentración de 1×10^6 UFC.

Establecimiento del cultivo.

El melón se cultivó mediante técnicas de plasticultura con acolchado plástico blanco-negro. La película utilizada fue de 1.20 m de ancho y 0.038 mm de espesor. Los plásticos fueron instalados sobre la superficie

del suelo con una cara de exposición de 0.60 m, y una distancia entre pares de camas de 1.8 metros (imagen 1). La siembra fue directamente en suelo, a una fila de plantas por cama, con una separación de 0.3 m entre planta y planta. Se utilizó cinta de riego por goteo (T-Tape; T-Systems Intl., San Diego), con 20 cm de espaciamiento entre emisores y un gasto por emisor de 0.98 l h⁻¹. Se instalaron bloques de yeso como indicadores de la humedad para conocer y satisfacer las necesidades hídricas del cultivo y se hizo una curva de calibración por el método gravimétrico. Como se mencionó, se fertilizó con la fórmula 160-64-376 de NPK, aplicando el total a través de la cinta de riego por goteo durante el ciclo del cultivo suministrada en cada riego.

Para el secado de las partes de la planta se disecciono la planta en hojas, peciolo y tallo principal de la misma, tomando pesos frescos y posteriormente se tomó el peso seco trascurrido 4 días dentro de la cámara de deshidratación ubicada en las instalaciones del CIQA.

RESULTADOS

Los resultados preliminares que se observan en el cultivo de melón muestran en las plantas inoculadas con la bacteria una mayor área foliar, presentaron niveles de clorofila por encima de las plantas las cuales no tenían. Las diferentes nutriciones en las cuales se aportó nitrógeno en 0% (tratamiento 1), 25% (tratamiento 2), 50% (tratamiento 3), 75% (tratamiento 4), 100% (blanco), con la usencia se tubo los efectos esperados en las plantas presentando una clorosis en las hojas. En cambio, con las plantas inoculadas muestran una lámina foliar mayor comparada con aquellas que no fueron inoculadas.

Tratamiento 1			
Muestra	T*	P*	L.F.*
1.1	13.13	13.06	13.89
2.1	13.09	12.89	14.23
3.1	12.73	12.78	13.7
4.1	12.66	12.25	13.49
5.1	12.96	12.64	14.32
6.1	13.32	12.85	15.16
7.1	13.14	12.69	14.54
8.1	13.10	12.96	14.98

Tratamiento 2			
Muestra	T*	P*	L.F.*
1.2	12.95	12.64	13.48
2.2	12.90	12.93	14.11
3.2	12.96	12.98	14.33
4.2	12.97	13.13	14.56
5.2	13.16	12.59	14.24
6.2	13.33	12.86	15.18
7.2	13.31	12.98	15.83
8.2	13.22	13.11	15.09

Tratamiento 3			
Muestra	T*	P*	L.F.*
1.3	13.12	12.93	13.88
2.3	12.98	12.88	14.13
3.3	13.01	12.9	14.9
4.3	12.93	13.02	14.26
5.3	13.09	13.16	14.88
6.3	13.32	12.98	15.07
7.3	13.28	12.76	15.18
8.3	13.08	13.03	14.87

Tratamiento 4			
Muestra	T*	P*	L.F.*
1.4	12.96	12.92	13.7
2.4	12.86	12.83	14.4
3.4	13.05	12.78	14.6
4.4	13.03	12.98	13.74
5.4	13.11	12.93	14.54
6.4	13.31	12.77	14.93
7.4	13.51	13.17	15.51
8.4	13.55	13.36	15.66

CONCLUSIONES

Con base a los datos obtenidos y vistos en el desarrollo de la planta se observa el incremento considerable comparado a las plantas que no han sido inoculadas, logrando obtener una ventaja, se debe seguir estudiando este tipo de biofertilizante para promover una alternativa barata a los agricultores. Es una opción viable a sustituir de los fertilizantes convencionales además de no generar daños al medio ambiente.

BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Aziz, S. M., Eweda, W. E., Girgis, M. G. Z., & Abdel Ghany, B. F. (2014). Improving the productivity and quality of black cumin (*Nigella sativa*) by using *Azotobacter* as N₂ biofertilizer. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 95–108. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2014.06.014>
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163(2), 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>
- Hawkesford, M. J. (2014). Reducing the reliance on nitrogen fertilizer for wheat production. *Journal of Cereal Science*, 59(3), 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.12.001>
- Mahato, S., & Kafle, A. (2018). Comparative study of *Azotobacter* with or without other fertilizers on growth and yield of wheat in Western hills of Nepal. *Annals of Agrarian Science*, (November 2017). <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.04.004>

IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE VOLTAMETRÍA DE PULSO DIFERENCIAL EN LA CUANTIFICACIÓN DE CATECOLAMINAS EN UN MODELO DE AUTISMO EN RATAS

Cindy Miroslava Rodríguez Hernández¹ y Osvaldo Ibáñez-Sandoval²

RESUMEN

En un modelo de autismo en ratas inducido con ácido valproico (AVP), han reportado una disminución del 50% en el número de interneuronas colinérgicas (InCs) y esto podría sugerir una disminución de acetilcolina (ACh) en el neostriado (NSt). Además, se sabe que la ACh favorece la liberación de dopamina (DA) en terminales dopaminérgicas a través de su interacción con receptores nicotínicos ionotrópicos. Por lo que una disminución de la ACh, tendría como consecuencia que la DA también puede que se encuentre disminuida. El objetivo de este trabajo es la estandarización de la técnica de Voltametría de Pulso Diferencial (VPD) para la identificación de DOPAC, el principal metabolito de la DA, desde la realización de los electrodos de fibra de carbono, así como el tratamiento de estos para su cuantificación, teniendo como perspectiva su futura aplicación en experimentos *in vitro* e *in vivo* en el modelo autista en rata.

ABSTRACT

In a model of autism in rats induced with valproic acid (AVP), was reported a 50% decrease in the number of cholinergic interneurons (InCs) and this could suggest a decrease in acetylcholine (ACh) in the neostriatum (NSt). Furthermore, it is known that ACh favors the release of dopamine (DA) in dopaminergic terminals through its interaction with ionotropic nicotinic receptors. So, a decrease in ACh, also as a consequence that the DA may also be reduced. The objective of this work is the standardization of the technique of Differential Pulse Voltammetry (DPV) for the identification of DOPAC, the main metabolite of the DA, from the realization of the carbon fiber electrodes, as well as the treatment of them for its quantification, considering its future application *in vitro* and *in vivo* in a model of autism in rats.

Palabras clave: DOPAC, VPD, neostriado, autismo.

INTRODUCCIÓN

Existen múltiples trastornos del desarrollo neurológico, uno de ellos es el Trastorno del Espectro Autista (TEA), caracterizado por tres aspectos fundamentales: 1) disminución en la interacción social, 2) comportamientos repetitivos (estereotipias) y 3) rigidez cognitiva¹. Es 4.5 veces más frecuente en hombres, apareciendo en los primeros 5 años de vida². La incidencia de este trastorno continua en incremento: según la OMS en 2017, 1 de cada 160 niños padece TEA a nivel mundial; en México, en el primer estudio epidemiológico acerca del TEA en 2018, aproximadamente 94 mil 800 niños entre cero y cuatro años y 298 mil entre 5 y 19 años padecen este trastorno^{1,3}.

Para comprender mejor el conjunto de características del TEA, es primordial conocer su mecanismo fisiopatológico, el cual aún no se encuentra totalmente esclarecido. Para su estudio, se ha desarrollado un modelo de autismo en ratas inducido con ácido valproico (AVP), que ha permitido describir las alteraciones tanto a nivel conductual como anatomofisiológico. Con el empleo de dicho modelo, diversos estudios han demostrado la participación de los ganglios basales en el sistema nervioso central (SNC) en el TEA^{4,5}, particularmente el neostriado (NSt), que participa en el control y planificación de movimientos voluntarios y procesos cognitivos^{6,7}. Uno de los componentes del NSt son las interneuronas colinérgicas (InCs: 0.5-1%), las cuales proveen la mayor cantidad de acetilcolina (ACh)^{8,9} a este núcleo. La ACh puede interactuar con receptores metabotrópicos muscarínicos y nicotínicos ionotrópicos, estos últimos se limitan a las interneuronas estriatales ejerciendo efectos excitadores, y en terminales de neuronas DAérgicas, donde favorece la liberación de dopamina (DA) dentro del NSt¹⁰. La ACh juega un papel muy

¹ Facultad de Estomatología, UASLP, Av. Dr. Manuel Nava No.2, C.P. 78290, Zona Universitaria, San Luis Potosí, S.L.P., cindymiros@gmail.com

² Facultad de Medicina, UASLP, Av. Venustiano Carranza No. 2405, C.P. 78210, Colonia Los Filtros, San Luis Potosí, S.L.P., osobanez@gmail.com

importante en el control de procesos como el comportamiento cognitivo, selección de acciones y toma de decisiones: Ibáñez-Sandoval en 2016, encontró que en el modelo animal (murino) del TEA inducido con ácido valproico, existe una disminución del 50% en el número de InCs en el NST y posiblemente, una disminución de ACh en este núcleo¹¹. Estos datos sugieren que, al existir esta disminución en la ACh, la liberación de DA también pueda estar disminuida.

La técnica electroquímica clásica empleada para la cuantificación de catecolaminas ha sido la Voltametría de Pulso Diferencial (VPD), que consiste en la aplicación de pequeños pulsos rectangulares de voltaje sobre una rampa de voltaje lineal, que son aplicados a 3 Hz y la corriente generada al final del pulso se resta de la corriente medida inmediatamente antes de aplicarlo (Figura 1)¹². La VPD combina la principal ventaja de dos técnicas: la supresión de corriente de carga de la Cronoamperometría y la resolución de la Voltametría de barrido lineal¹³.

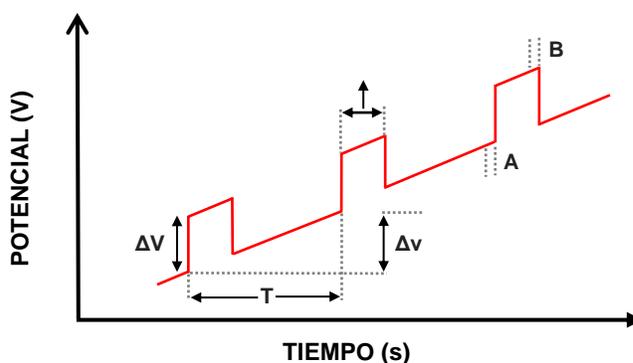


Figura 1. Principio general de la Voltametría de Pulso Diferencial (VPD). A una rampa lineal de potencial (Δv) se le superponen pulsos triangulares de amplitud (ΔV) y duración (t) constantes, con un periodo (T). La diferencia de corriente generada entre A y B por la oxidación de los compuestos es una medida de su concentración en la solución.

Al ser una técnica basada en potenciales de oxidación, la cuantificación de catecolaminas, en especial de DA, se ha dificultado debido a la presencia de altos niveles de ácido ascórbico (AA), ya que enmascara las señales de oxidación de las catecolaminas^{14, 15, 16}. Para resolver este problema, se han realizado diversas modificaciones en la VPD, en específico de los electrodos de fibra de carbono, que al darles un tratamiento electroquímico, permiten obtener señales estables y reproducibles en las cuales los potenciales de oxidación del AA y de las catecolaminas son separados perfectamente¹⁷. Sin embargo, en 1980, Gonon y cols, demuestran claramente que el pico de corriente de oxidación obtenido mediante la VPD *in vivo* en el estriado de ratas anestesiadas, el cual se creía que era provocado por DA, fue debido al ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), el principal metabolito de DA, ya que estos compuestos se oxidan a potenciales muy cercanos, siendo imposible discriminar las señales de oxidación entre ambos. A pesar de esto, el DOPAC se considera que puede ser utilizado como un buen indicador de la actividad de las neuronas DAérgicas y por lo tanto, la técnica de VPD es una buena herramienta para el estudio de la función y liberación de DA.

Por todo lo anterior, el objetivo principal de este trabajo es la estandarización de la técnica de VPD, desde la realización de los electrodos de fibra de carbono, así como el tratamiento de estos para la cuantificación del DOPAC, teniendo como perspectiva su implementación en un modelo de autismo en ratas, tanto en rebanadas de cerebro como en ratas anestesiadas.

METODOLOGÍA

VPD: ensamblaje de circuito de Voltametría con tres electrodos

Se obtuvieron tres electrodos: un electrodo de trabajo (ET, de carbono), relacionado con un electrodo de referencia (ER, cloruro de plata: un alambre de plata se sumergió completamente durante 3 minutos en hipoclorito de sodio al 5.25%) y un electrodo auxiliar (EA, de platino), los cuales se montaron en un manipulador (Figura 2) y se conectaron a uno de los canales de un voltámetro (*Biopulse: Pulse Voltammetry System, Solea, Tacussel Electronique*).

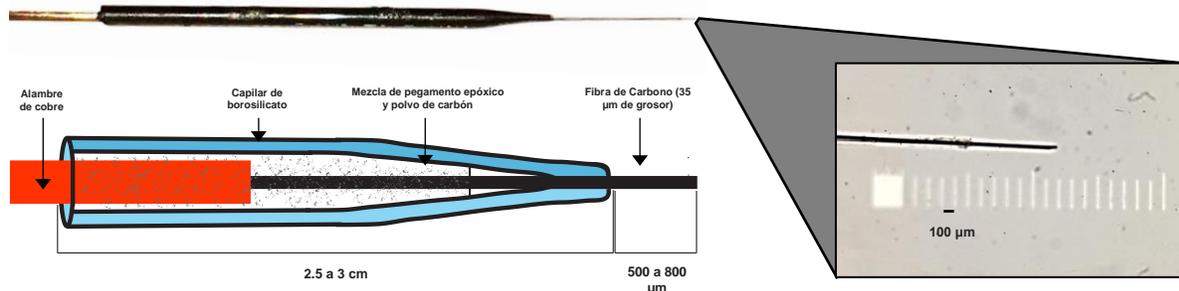


Figura 2. Esquema de un electrodo de fibra de carbono

Elaboración de los Electrodo de trabajo

Se elaboró una micropipeta, con el uso de un capilar (Borosil 1.00 mm OD x 0.75 mm ID/ 100 mm each- 250/PKG, Omega Dot Fiber for rapid fill, FHC Brunswick, USA) que fue colocado en un estirador (Model P-87 Flaming/Brown Micropipette Puller, Sutter Instrument Company) en las siguientes condiciones: Pressure: 290, Heat: 442, Pull: 55, Vel: 45, Time:60, obteniendo dos micropipetas. Posteriormente, con un bisturí se cortó una micropipeta ligeramente por la punta, para tener una longitud final en toda su extensión de 2.5 a 3 cm. Por el extremo abierto de la micropipeta, se insertó una fibra de carbono de 35 μm de grosor, de tal forma que sobresalió por la punta de 500 a 800 μm , y se cortó el excedente de la fibra de carbono del extremo abierto. Se preparó una pasta de pegamento epóxico (Resistol, proporción 1:10 catalizador: pegamento) con 80 mg polvo de carbono (partículas de 1 μm de diámetro Ultra Carbon Corp, MI, U.S.A.): esta mezcla se realizó sobre una loseta con papel encerado para aumentar el tiempo de trabajo. La pasta se introdujo dentro de la micropipeta con la ayuda de un alambre de cobre sin recubrimiento, hasta llenarla por completo, dejando el alambre de cobre dentro de la micropipeta (Figura 3). Se midió la resistencia inicial de cada uno de los electrodos de trabajo con el uso de un multímetro, para lo cual todos los electrodos se montaron en el manipulador y se sumergieron en 1.5 mL de mercurio tridistilado. Finalmente se retiraron del mercurio, se limpiaron con acetona y se colocaron en una estufa a 60°C durante 12 horas para favorecer la polimerización. Transcurrido este tiempo se midió la resistencia final, la cual se encontró idealmente entre 700 y 800 Ω .

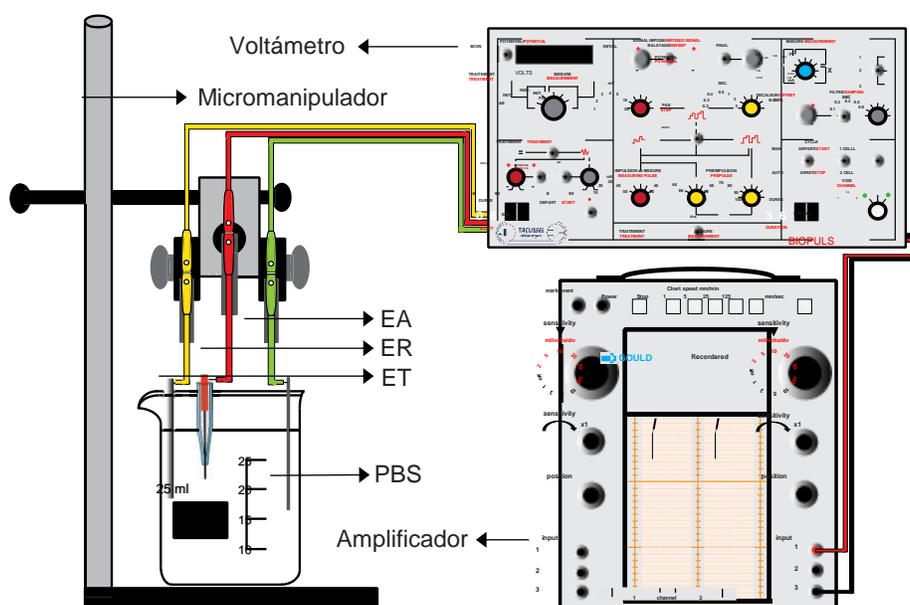


Figura 3. Circuito de voltametría con tres electrodos. A un ET se le aplica un potencial con respecto al ER. Cuando este potencial alcanza el potencial de oxidación de los compuestos en la solución se genera una corriente proporcional a su concentración. EA antagoniza la corriente mediante la inyección de una corriente opuesta para que no modifique el potencial del ER.

Tratamiento de los electrodos

Los tres electrodos se sumergieron en 30 mL de PBS pH 7.4 (solución de 250 mL: KCl 0.05 g, NaCl 2 g, Na₂HPO₄ 0.287 g, KH₂PO₄ 0.05 g). En el voltámetro (Biopulse: Pulse Voltammetry System, Solea, Tacussel Electronique) en modo tratamiento, se realizaron tres pasos:

1. Pulsos triangulares: 80 Hz. Voltaje Inicial de -0.13 V, Voltaje final ΔE 3.29 V, Intensidad de corriente 250 μA (0.125 mA x 2) durante 24 segundos.
2. Pulso de corriente directa: Voltaje inicial de -1.09 V, Intensidad de corriente 5 μA (1.25 μA x 4) durante 6 segundos.
3. Pulso de corriente directa: Voltaje inicial de -2.31 V, Intensidad de corriente 5 μA (1.25 μA x 4) durante 6 segundos.

Cuantificación de DOPAC

El voltámetro se conectó a un amplificador (Model No. 11-2730-01, Gould Instrument Systems). El voltámetro se cambió de modo de tratamiento a medidas en las siguientes condiciones: imposed signal initial -500 mV, final +500 mV, step (period between 2 pulses) 10 mV/s, measuring pulse 50 mV/40 ms, prepulse 70 ms; para el amplificador: chart speed 5 mm/min, sensitivity 10 mV/div. Se realizó el registro tres veces para cada compuesto, dejando intervalos de 3 minutos entre cada uno, para la estabilización de la señal de oxidación: primero únicamente con PBS, posteriormente se agregó 20 μL de AA, y después DOPAC, en concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 60 μM ; se dio un lavado solo con PBS, realizando un registro tres veces. Finalmente se volvió a agregar DOPAC en las mismas concentraciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se obtuvieron utilizando el programa Image J, determinando el área bajo la curva (Figura 4).

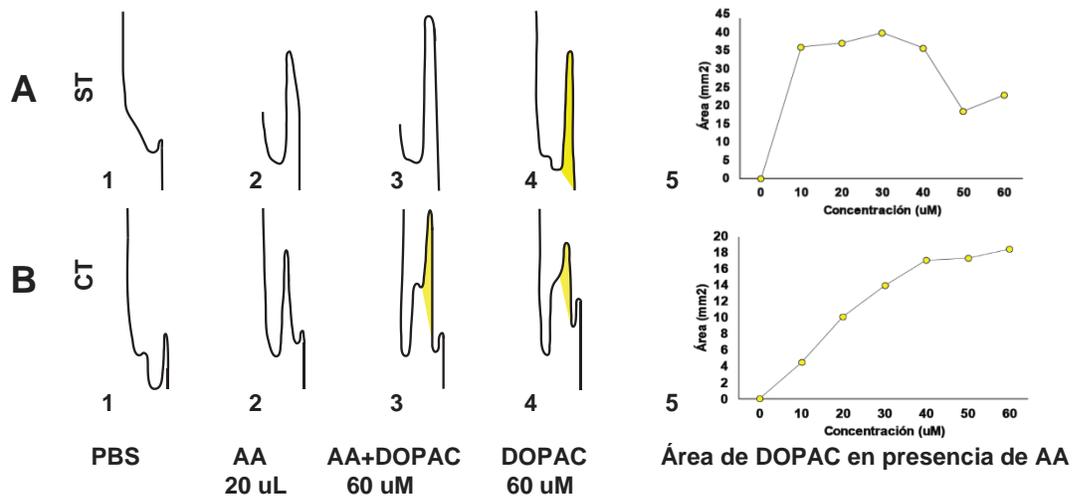


Figura 4. Calibración in vitro de los electrodos de fibra de carbono y área del pico de oxidación de DOPAC. A) Electrodo sin tratamiento: en A3 se observa que a pesar de agregar DOPAC, únicamente se forma un solo pico de oxidación. En A5, el área no se presenta directamente proporcional a la concentración. B) Electrodo con tratamiento: B3 muestra dos picos de oxidación, correspondientes al AA y al DOPAC (zona amarilla), B5 presenta la distribución lineal del área del pico de oxidación

Electrodos de trabajo de fibra de carbono

Se han realizado diversas modificaciones a los electrodos de trabajo con el objetivo de mejorar la detección de señales de oxidación, sin embargo, poco se ha hecho por disminuir su gran diámetro, siendo una gran desventaja al ser inadecuados para su posterior uso *in vivo*. En este trabajo, la elaboración de los electrodos tuvo la característica principal de disminuir su tamaño, debido a que de esta forma se reducirá considerablemente el daño tisular,

asegurando un registro *in vivo* en las mejores condiciones fisiológicas. Algunos autores mencionan que no se han centrado en la disminución del tamaño, argumentado que una superficie menor traerá como consecuencia una menor superficie para la detección de la oxidación de compuestos. A pesar de ello, la superficie electroactiva de este tipo de electrodos es lo suficientemente grande como para registrar las corrientes de oxidación de sustancias en pequeñas concentraciones, como lo es el AA y el DOPAC, además de que su detección está más relacionada con el tratamiento de los electrodos que con su tamaño (Figura 4).

Tratamiento de los electrodos

Al ser muy abundante el AA en el neocórtex es indispensable la modificación de los electrodos mediante un tratamiento electroquímico, el cual los hace más sensibles y selectivos a la detección de la oxidación de estos compuestos. La selectividad es debido a las propiedades catalíticas de la superficie tratada, en la que las reacciones de oxidación se vuelven mucho más reversibles, dando como resultado una mejora en la detección de la corriente generada por la oxidación de aniones como AA y DOPAC. Gonon y cols. reportan que, a su vez, esta modificación produce una desventaja: se da un incremento en la sensibilidad a cationes como DA por su absorción reversible, siendo imposible separar los picos de oxidación entre DA y DOPAC. Otra de las ventajas de utilizar ET tratados, es que se puede registrar la liberación provocada por estimulaciones eléctricas a frecuencias fisiológicas. El tratamiento electroquímico empleado en este trabajo nos demuestra la selectividad, sensibilidad y reproducibilidad en los picos de oxidación tanto de AA y DOPAC, siendo el segundo pico de oxidación producido por el DOPAC, debido a que aumentaba de manera proporcional respecto a la concentración (Figura 4). A pesar de ello, se puede mejorar dicho tratamiento, de tal manera que los picos de oxidación tenga una mejor separación.

Técnica VPD

A pesar del inconveniente de la baja selectividad, la VPD tiene algunas ventajas que la convierten en el método de elección en la investigación de neurotransmisores y sus metabolitos (DA/DOPAC). Tiene la ventaja de ser más sensible que otras técnicas electroquímicas, además de que es capaz de medir los eventos químicos en una escala de tiempo mucho más breve (intervalos de 250 ms) que métodos basados en la perfusión (periodos de 5 a 20 minutos). Aunque, como lo menciona Gonon y cols. (1984), en cada registro, cuando se incrementó la concentración de DOPAC, la señal tarda de 3 a 6 minutos en estabilizarse. Sin embargo, esta técnica en conjunto con el tratamiento de los electrodos nos permitió la separación de los picos de oxidación del AA y del DOPAC, pudiendo determinar el área bajo la curva y así poder realizar su cuantificación (Figura 4).

CONCLUSIONES

La liberación de DA en las terminales de neuronas DAérgicas siempre está asociada a un aumento en la concentración de DOPAC en el neocórtex. Por lo tanto, a pesar de que la VPD no puede separar las señales de oxidación de DOPAC y de la DA, la podemos emplear para estudiar la liberación de DA en el modelo animal de autismo en ratas.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (2018) Autism spectrum disorders. Recuperado de <http://www.who.int>
2. Center for Disease Control and Prevention (2018) Autism Spectrum Disorder (ASD). Atlanta, USA. Recuperado de <https://www.cdc.gov>
3. Boletín informativo de la SSA:2018
4. Fucillo M.V. (2016) Striatal... *Front Neurosci.* 10:27. Doi: 10.3389/fnins.2016.00027
5. Qui A., et al. (2010) Basal ganglia... *J Am Acad Child Adolesc Psychiatric* 49:6 539-551
6. Albin, R.L., et al. (1989) The functional anatomy... *Trends in Neurosci.* 12: 366-375
7. Tepper J.M. Tecuapetla F., Koos T. and Ibáñez-Sandoval O. (2010) Heterog... *Front Neuroanat* 4:150
8. Goldberg, J.A., et al. (2012) Muscarinic modulation... *Handb Exp. Pharmacol.* 208: 223-241
9. Zhou, F.M., et al. (2003) Cholinergic interneuron characteristics... *J. Neurobiol.* 53, 590-605
10. Threlfell, S., et al (2012) Striatal dopamine release is triggered by... *Neuron* 75: 58-64
11. Ibáñez-Sandoval D. (2016) *Alteraciones...* (Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas) UASLP, México
12. Lane, R.F., Hubbard, A.T., Fukunaga, K. and Blanchard., Brain... *Brain Research*, 114 (1976) 346-352
13. Adams, R.N. and C.A. Marsden, 1982, Electrode... *Handbook of psychopharmacology.* Vol. 15, p 1-74
14. Subramanian, N., On the brain ascorbic acid and its... *Life Sci.*, 20 (1977) 1479-1484

15. Gonon, F.G., M., Buda, R. Cespuglio, M. Jouvet and J.F. Pujol, 1980, In vivo electrochemical detection of catechols in the neostriatum of anaesthetized rats... *Natura* 286, 902-904
16. Gonon, F.G., F. Navarre and M.J. Buda, 1984, In vivo monitoring of dopamine release in the rat brain with differential normal pulse voltammetry, *Anal. Chem.* 56, 573-575
17. Gonon, F.G., C.M. Fombarlet, M. J. Buda and J.F. Pujol, 1981. Electrochemical treatment of pyrolytic carbon fiber electrodes. *Anal Chem.* 53, 1386-1389

OBTENCION DE MAGHEMITA A PARTIR DE LA SINTESIS DE MAGNETITA Y SU APLICACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE NANOFERRITAS EN EL PROCESO DE ALEADO MECÁNICO

Cindy Pamela Boone Romo¹ y Jorge Carlos Ríos Hurtado², María Gloria Rosales Sosa³

RESUMEN

En el presente trabajo se da a conocer la forma en la que se puede obtener la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), a partir de la síntesis de magnetita (Fe_3O_4) por co-precipitación, de lo obtenido en la co-precipitación se decidió hacer un tratamiento térmico a diferentes temperaturas que fueron desde 100°C hasta 350°C ; en total se obtuvieron 5 muestras a diferentes temperaturas y a un tiempo de 12 horas cada una. La muestra de la que se obtuvo mejores resultados se decidió que sería a la que se le haría un aleado mecánico y se le agregaría óxido de zinc (ZnO) para compararlo con un aleado mecánico de hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) con óxido de zinc (ZnO) a nivel reactivo.

ABSTRACT

In the present work is given to know the way in which you can get maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), from the synthesis of magnetite (Fe_3O_4) by co-precipitation, obtained in the co-precipitation decided to make a heat treatment at different temperatures to they were from 100°C to 350°C ; in total were 5 samples at different temperatures and at a time of 12 hours each. The sample that obtained best results decided that it would be that a mechanical alloying would take you and would add you zinc oxide (ZnO) to compare with a mechanical alloying of Hematite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) zinc oxide (ZnO) to reactive level.

Palabras clave: Maghemita, Co-precipitación, Aleado Mecánico, Magnetita.

INTRODUCCIÓN

La magnetita se puede preparar fácilmente, sin embargo, también existen yacimientos a nivel mundial de los cuales puede ser obtenida y posteriormente purificada. Este óxido de hierro tiene una superficie suficientemente reactiva para inmovilizar metales, ligantes orgánicos, enzimas y otros tipos de moléculas que le confieren funcionalidades específicas. Generalmente se considera inerte en medios biológicos, lo que hace apropiado su uso en métodos de imagen y de separación en tejidos vivos. En este sentido, en el campo de la medicina y de la biotecnología las nanopartículas de magnetita son útiles en la detección de hipertermia y en el transporte selectivo y liberación de fármacos, fenómenos con futuras aplicaciones en terapias contra el cáncer, en la separación celular, entre otras.

La magnetita también se utiliza como soporte versátil de un gran número de catalizadores funcionalizados, empleados en la catálisis de una gran variedad de reacciones orgánicas e inorgánicas. En general, diversos óxidos nanoestructurados basados en magnetita son buenos dispositivos para la manufactura de materiales magnéticos, películas de protección sensibles y pigmentos, así como para el tratamiento y eliminación de residuos y agentes contaminantes del agua.

Mineralógicamente la magnetita es una mena corriente de hierro, se halla diseminada como mineral accesorio en muchas rocas ígneas, en ocasiones formando grandes masas de mineral que generalmente son muy titaníferas y aparece asociada a rocas metamórficas cristalinas. También se encuentra en las arenas negras de las playas de mar, como hojas finas y como dendritas entre hojas de mica; es constituyente común de las formaciones férricas del precámbrico con origen químico sedimentario, principalmente en la región del Lago Superior. Estas formaciones contienen un 25% de hierro en forma de magnetita y constituyen hoy la fuente principal de hierro en los Estados Unidos de América. Los mayores depósitos del mundo se encuentran al norte de Suecia y otros depósitos importantes en Noruega, Rumania, Rusia, Siberia y África del sur.

¹ Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila; carretera 57 km 5, Estancias de San Juan, C.P. 25720, Monclova, Coahuila, cindyboone77@gmail.com

² Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila; carretera 57 km 5, Estancias de San Juan, C.P. 25720, Monclova, Coahuila, jorgerios@uadec.edu.mx

³ Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila; carretera 57 km 5, Estancias de San Juan, C.P. 25720, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

Químicamente la magnetita, Fe_3O_4 o también ($FeFe_2O_4$) es un óxido mixto de hierro; su composición corresponde a 27.6% de oxígeno y 72.4% de hierro. Cristaliza en un sistema cúbico centrado en las caras (FCC de oxígenos, $a = 8.40\text{Å}$) con estructura de espinela inversa

La maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), es, de color marrón, formada por partículas octogonales, de carácter semiconductor aislante y ferrimagnética, por lo que también se la conoce como hematita magnética.

Es cúbica, de parámetro $a_0 = 8,322 \text{ Å}$, con estructura de espinela. Poco abundante en la naturaleza, se puede obtener por oxidación de la magnetita o por deshidratación de la lepidocrocita.

La maghemita es utilizada en dispositivos para grabación magnética: cintas de audio y de vídeo, así como discos duros y blandos de ordenadores. Las partículas de maghemita utilizadas son de grano acicular y presentan una resistencia, frente a distintos medios corrosivos, superior a la de otros materiales utilizados en grabaciones magnéticas.

Recientemente, Nguyen y col. (KUNG, K.H. y MCBRIDE, M.B.) prepararon un compuesto polimérico magnético que contiene nanopartículas de maghemita, que se puede utilizar en dispositivos para interferencia electromagnética y absorción de microondas.

El objetivo de este trabajo es la obtención de nanoferritas de zinc, las cuales son un material altamente potencial para el tratamiento de hipertermia; esta nanoferrita de zinc se obtuvo al mezclar la maghemita la cual se había obtenido de la síntesis, con el óxido de zinc (ZnO) .

Los cloruros utilizados en la parte experimental fueron mezclados en una relación de peso (2:1) que se obtuvo de la ecuación 1).



Los ácidos fueron cuidadosamente utilizados, ya que tenían una concentración realmente alta por lo que se necesitaba el uso de la campana extractora.

MÉTODOS Y MATERIALES

Solventes y reactivos:

- Cloruro ferroso hexahidratado ($FeCl_2 \cdot 6H_2O$) grado reactivo
- Cloruro férrico tetrahidratado ($FeCl_3 \cdot 4H_2O$) grado reactivo
- Hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH) grado reactivo
- Óxido de Zinc (ZnO) grado reactivo
- Hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) grado reactivo
- Agua destilada

Equipo:

- Síntesis de magnetita: Para la reacción de síntesis se utilizó un matraz bola de 500ml.
- Calcinación: Mufla
- Aleado mecánico: Molino de bolas RETSCH MM400

Metodología:

-Síntesis de magnetita:

Para realizar la síntesis de la magnetita se pesaron 5.404gr de cloruro ferroso hexahidratado ($FeCl_2 \cdot 6H_2O$) y 1.988gr de cloruro férrico tetrahidratado ($FeCl_3 \cdot 4H_2O$), ambos se mezclaron en 50ml de agua destilada.

Por otro lado se colocaron 150ml de agua destilada en un matraz bola de 500ml y se calentó a 70°C en un agitador magnético con calefacción; una vez alcanzada la temperatura se le agregaron 50ml de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH) y se introdujo un imán a la solución para empezar con la agitación constante, cuando esta solución llegó a los 70°C de nuevo, se agregó gota a gota la mezcla de los cloruros de hierro con una pipeta de plástico; ya que al momento de hacerlo con una bureta está se tapaba por el vapor que soltaba la solución. Una vez que toda la mezcla de cloruros fue agregada se dejó la solución en agitación constante por media hora, procurando que la temperatura se mantuviera a los 70°C .

Ya que la media hora había transcurrido, se apagó el agitador magnético completamente y la solución obtenida se lavó con 2 litros de agua destilada para eliminar el exceso de los cloruros, para esto se utilizó un imán lo que provocaba que no se obtuvieran pérdidas de material ya que esta se precipitaba hacia dicho imán por la propiedad

magnética que tiene la magnetita; después de haberse lavado se dejó secar por 3 días. Finalmente el producto obtenido se lavó con 1 litro de agua destilada y 250ml de etanol siguiendo con el uso del imán para que la magnetita se precipite y al final se dejó secar a temperatura ambiente.

-Calcinación:

De lo que se obtuvo en la síntesis de magnetita se introdujeron 5 muestras diferentes a la mufla para ver en cual se obtenía la maghemita, las temperaturas a las que se trabajaron fueron 100°C, 200°C, 250°C, 300°C Y 350°C, todas estuvieron en la mufla por un tiempo de 12 horas, al momento de que cada una de las muestras salía se llevaba al DRX (Difractómetro de Rayos X) para correrlo en este y ver cuál era donde se obtenía la maghemita más estable y con mejores resultados. La más estable fue requerida para el aleado mecánico.

-Aleado Mecánico:

De la muestra que se obtuvo la maghemita más estable se tomaron 2gr para mezclarlo con 1gr de óxido de zinc (ZnO) e introducirlo en un vial con 2 bolas, una de tamaño grande y otra pequeña y así después llevarlo a una molienda de 10 horas.

RESULTADOS

La calcinación a 100°C, 200°C, 250°C, 300°C Y 350°C arrojó diferentes resultados en el DRX (Difractómetro de Rayos X) de los cuales podemos observar (figura 1) que la más estable es la de 300°C y la que tiene mejores resultados de obtención de maghemita.

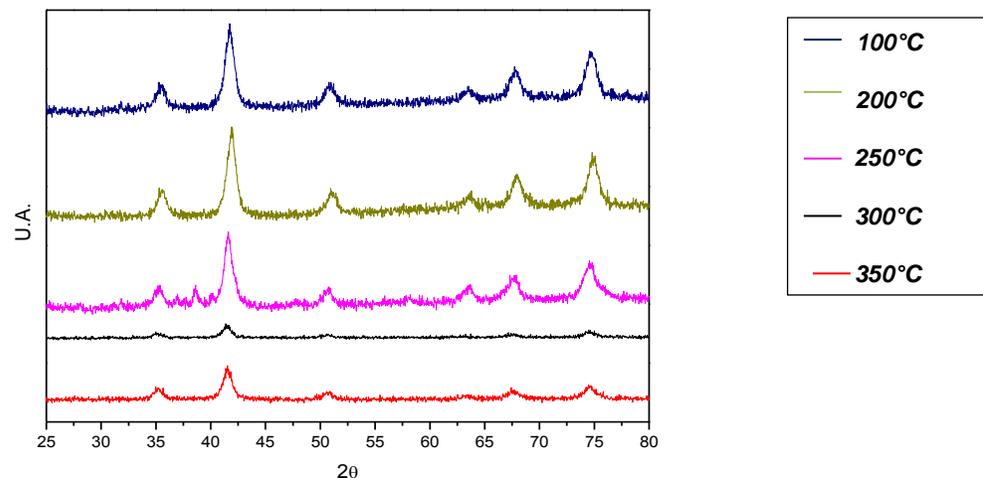


Figura 1. Magnetita tratada a 100, 200, 250, 300 y 350°C.

Como la muestra a 300°C fue la más estable se sacó lectura de ella para tener en cuenta que tan estable era, y se concluyó que tiene buena estabilidad en comparación con las anteriores mencionadas y que la obtención de maghemita está más presente y es mayor que en las otras.

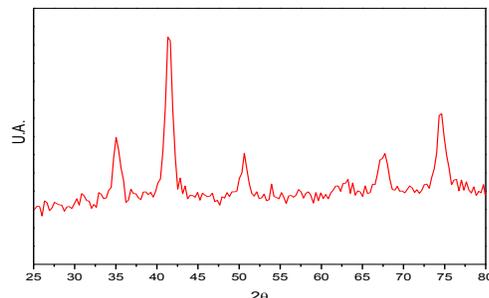


Figura 2. Magnetita tratada a 300°C

Al mezclar la maghemita obtenida de la síntesis con el óxido de zinc, se comprobó que al terminar con la molienda y ponerlo a correr en el difractómetro se obtuvieron las nanoferritas de zinc que se buscaban después del aleado mecánico.

Comparándolo con el aleado mecánico de hematita con óxido de zinc a nivel reactivo, se concluyó que las mejores nanoferritas son las obtenidas en la síntesis de magnetita añadiéndole el óxido de zinc.

CONCLUSIONES

1. Se hizo la síntesis de la magnetita para proceder a la obtención de la maghemita y así al final obtener nanoferritas.
2. La mejor obtención de maghemita es a los 300° C.
3. El aleado mecánico sirvió para reducir la maghemita y que así esta se pudiera homogenizar con el óxido de zinc y así obtener las nanoferritas.
4. La nanoferritas de zinc que se obtuvieron fueron las deseadas.
5. Se espera darle a las nanoferritas un tratamiento, para así darles un buen uso ya sea en aplicaciones ingenieriles o médicas.

BIBLIOGRAFIA

- 1] J.G Castaño y C. Arroyave (1997) “La Maghemita” en La funcionalidad de los óxidos de hierro, Rev. Metal de Madrid, Vol.34 [pag.277]
- 2] Virginia E. Noval , Cristian Ochoa Puentes , José G. Carriazo (2016). “Magnetita (Fe₃O₄): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea” en Fisicoquímica y química inorgánica, pp.42-44. Consultada en <http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v46n1/0120-2804-rcq-46-01-00042.pdf> (fecha de consulta 14-08-2018)
- 3] Balanceador de ecuaciones químicas 2008-2018 ChemicalAid consultada en <https://es.intl.chemicalaid.com/tools/equationbalancer.php?equation=FeCl3%2A6H2O+%2B+FeCl2%2A4H2O+%2B+NH4OH+%3D+Fe3O4+%2B+H2O+%2B+NH4Cl>(fecha de consulta 07-08-2018)
- 4] Jasso-Terán RA, (2014). Synthesis and characterization of zinc and calcium nanoferrites en PubMed, consultada en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24570349> (fecha de consulta 16-08-2018)

SÍNTESIS DE ÓXIDO DE GRAFENO SULFONADO PARA SU APLICACIÓN COMO RELLENOS EN MEMBRANAS

Cindy Paola Zapata Rodríguez¹ y Dra. Diana Morales Acosta²

RESUMEN

La síntesis de grafeno se lleva a cabo en dos etapas importantes: oxidación y reducción. Estos productos mejor conocidos como Óxido de Grafeno (GO) y óxido de Grafeno reducido (rGO-cuando está en su forma reducida) han ido tomando relevancia en la investigación. El GO tiene propiedades interesantes y diversas, algunas de las características de este compuesto es que se comporta como un buen aislante, además se le atribuyen propiedades antibacterianas. Los métodos de oxidación para el grafito generan cambios en su estructura química y depende de los reactivos utilizados para su elaboración; el método de Hummers resulta ser el más eficiente para la oxidación del grafito. Por otra parte, para el desarrollo de las membranas depende en gran medida de la obtención de sistemas con propiedades optimizadas un claro ejemplo actualmente es el nafion en donde es el más utilizado. Una de las estrategias para mejorar sus propiedades es la incorporación de rellenos inorgánicos. Los rellenos inorgánicos, no solo mejoran las propiedades mecánicas y térmicas, también actúan como moléculas almacenadoras de agua mejorando sus propiedades finales, tal es el caso del GO que se utilizó de relleno en conjunto con el polímero (poli éter éter cetona (PEEK)) que es fácilmente sulfonado debido a la presencia de los anillos aromáticos en la estructura del polímero.

Palabras clave: óxido de grafeno, sulfonación, intercambio protónico.

ABSTRACT

The synthesis of graphene is carried out in two important stages: oxidation and reduction. These products, better known as graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (rGO-when in its reduced form) have been gaining relevance in the research. The go has interesting and diverse properties, some of the characteristics of this compound is that it behaves like a good insulator, in addition it is attributed antibacterial properties. Oxidation methods for graphite generate changes in its chemical structure and depend on the reagents used for its preparation; the hummers method is the most efficient for the oxidation of graphite. On the other hand, the development of membranes depends on obtaining systems with optimized properties. A clear example is currently the nafion where it is the most used. One of the strategies to improve its properties is the incorporation of inorganic fillers. The inorganic fillers not only improve the mechanical and thermal properties, they also act as water storage molecules, improving their final properties, such as the GO that was used as a filler in conjunction with the polymer (poly ether ether ketone (peek)) which is easily sulfonated due to the presence of the aromatic rings in the polymer structure.

Key words: graphene oxide, sulfonation, proton exchange.

INTRODUCCIÓN

Las celdas de combustible son dispositivos que convierten energía química en eléctrica. Están compuestas, básicamente, por dos electrodos y una membrana polimérica que separa a cada uno de ellos. En cada electrodo se lleva a cabo una reacción diferente; en uno se oxida un combustible (mayormente hidrógeno gaseoso) y en el otro se reduce oxígeno, lo cual produce energía eléctrica que puede ser aprovechada.

La membrana polimérica juega un papel importante al jugar como una barrera entre ambos electrodos, aunque es la que permite que los protones atraviesen de un lado a otro para que las reacciones sean completadas. Sin embargo, cuando se utiliza otro combustible como metanol, este puede llevar hasta el otro electrodo y envenenarlo, lo que disminuye la eficiencia de la celda de combustible.

Algunos esfuerzos se han llevado a cabo para minimizar este efecto sin sacrificar las propiedades de conducción protónica de la membrana. Entre ellos es la incorporación de rellenos que impidan ese atravesamiento del metanol.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia; Monclova, Coahuila, pao_cynd28@hotmail.com

² Centro de Investigación en Química Aplicada, Procesos de Transformación de plásticos; Bulevar Enrique Reyna 140, San José de los Cerritos, CP: 25294, Saltillo, Coahuila, diana.morales@ciqa.edu.mx

El óxido de grafeno puede ser uno de estos materiales que ayuden como un relleno, además este puede ser sulfonado para brindarle propiedades de conducción protónica y de esta manera no sacrificar dicha propiedad.

El grafeno es una red bidimensional de átomos de carbono sp^2 dispuestos en un entramado con forma de panal de abeja y es el componente básico de otros alótropos de carbono, como los nanotubos de carbono, el grafito y los fullerenos. Aunque la comunidad científica ya conocía la existencia del grafeno y se había estudiado teóricamente su obtención en estado libre solo fue posible desde hace unos años con el descubrimiento de Geim y Novoselov.

El grafeno se puede extraer del grafito por simple exfoliación, pero también puede conseguirse a partir de diversas fuentes basadas en el carbono, uno de los materiales más abundantes de la tierra.

La producción de grafeno depende del método que utilices para sintetizarlo. Cuanto mas puro quieras obtener el grafeno, es decir, de mayor calidad, el proceso será mas complicado, la cantidad obtenida más pequeña y el coste mas caro. Por eso la producción de grafeno siempre ha estado restringida a nivel laboratorio. Así que podemos dividir los métodos de obtención de grafeno en dos: físicos y químicos. Los físicos son por ejemplo la molienda o exfoliación mecánica y los químicos la oxidación como en el método de hummers. Los químicos son un poco más eficientes para obtener este material en buenas cantidades. Además, que al estar oxidado es más fácil sulfonarlo que cuando no está oxidado (esto es porque al estar oxidado tiene grupos funcionales que le permiten reaccionar con el ácido sulfúrico y sulfonarse).

Método hummers

En la actualidad podemos encontrar diversos métodos de síntesis para la obtención de GO, siendo el método Hummers el más utilizado, el cual consiste en la paulatina adición de $KMnO_4$ al grafito que se encuentra en un medio ácido (H_2SO_4).

En el método Hummers, la oxidación del grafito a óxido de grafeno es llevada a cabo mediante el tratamiento de grafito en una mezcla de ácido sulfúrico concentrado, nitrato de sodio y permanganato de potasio. Aunque algunas modificaciones han sido propuestas, la estrategia principal permanece inmutable. Como resultado, estos métodos son usualmente nombrados como *métodos Hummers modificados*.

En la Figura 1, se muestra cómo el $KMnO_4$ reacciona con el H_2SO_4 , formando óxido de manganeso (VII) (Mn_2O_7), el cual es un agente oxidante muy selectivo sobre compuestos aromáticos de doble enlace, y tiene importantes implicaciones en la estructura del grafito y en los mecanismos de reacción que ocurren durante la oxidación.

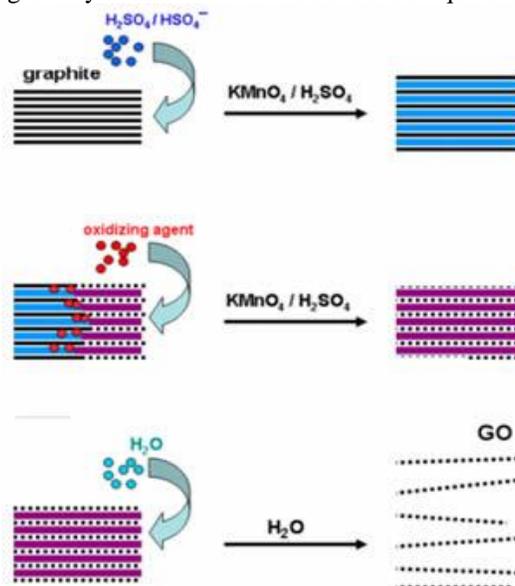


Figura 1. Esquema del mecanismo de formación de GO a partir de grafito

El GO se produce en presencia de ácidos fuertes y oxidantes, según los métodos de Brodie y Hummers. El GO resultante contiene grupos funcionales oxigenados que se pueden eliminar para producir grafeno, denominado óxido de grafeno reducido (rGO), cuya morfología superficial, propiedades eléctricas, térmicas y mecánicas quedan restauradas

Oxido de grafeno sulfonado

Se rellena la membrana con óxido de grafeno sulfonado porque se pueden conservar propiedades de conducción protónica y pueda brindarle una ventaja extra a la membrana, aparte de ser un relleno que impida el atravesamiento del metanol. Además de las propiedades antes mencionadas también existe una mejora para aplicaciones en electrónica y nanocompuestos, debido a su muy alta ascensión, alta conductividad, alta resistencia mecánica, estructura única de plano grafitado y propiedades de aislamiento eléctrico. La sulfonación de compuestos aromáticos es muy importante y muchos hidrocarburos aromáticos han sido sulfonados, los métodos más comunes para la síntesis de ácidos sulfónicos son:

- Empleando la oxidación de un tiol o un tioeter en éter
- Sulfonación de Grignard y agentes de litio
- Sustitución aromática nucleofílica con sulfito de sodio
- Sulfonación de compuestos aromáticos con ácido sulfúrico concentrado
- Ácido tricloroacético con ácido sulfúrico
- Trióxido de azufre en diclorometano

Con el fin de mejorar las propiedades de conductividad protónica de membranas y brindarles nuevas características, en este trabajo sintetizamos materiales del tipo GO sulfonado para ser utilizado como relleno de membranas ya que La estructura GO contiene varios funcionales grupos tales como grupos carbonilo, grupos hidroxilo y grupos carboxilo que se unen en la superficie de GO que dotar propiedades específicas, como hidrofiliidad buena dispersión y compatibilidad con polímeros.

MÉTODOLOGIA

Obtención de GO

Para la síntesis de GO se partieron de 2 gramos de grafito triturado siguiendo el método de Hummers modificado. Al grafito se le añadieron 6ml de H_2SO_4 y 10ml de H_3PO_4 y se sonicaron durante 30 min para dispersar la mezcla. Posteriormente se agregaron 40 ml de H_2SO_4 y se colocó en un baño de hielo para mantener la temperatura por debajo de los $10^\circ C$ con el fin de que la temperatura no se eleve, se añadieron lentamente 6 gr $KMnO_4$. Al terminar, se elevó la temperatura a $60^\circ C$ y se dejó reaccionado por 30 min. Se le agregaron 90ml de agua desionizada y se dejó en agitación constante por 5 horas. Una vez concluido este tiempo, se añadieron 36 mL de una solución 3 % de H_2O_2 .

El material es separado por centrifugación (10000 rpm, 30 min) con agua desionizada hasta obtener un pH neutro. El GO es secado a $60^\circ C$.

Sulfonación de GO

Inicialmente, se colocaron 150 mg de GO en un mortero y se trituraron con 10 ml de H_2SO_4 . Se vaciaron aun matraz donde se le colocaron 40 ml extras de H_2SO_4 y se sonicaron por 30 min. Posteriormente, se pasó a una manta de calentamiento y a una parrilla de agitación, en un sistema de condensación. Se elevó la temperatura a $150^\circ C$ por 4, 8 y 12 horas para obtener los materiales etiquetados como sGO4, sGO8 y sGO12. Los materiales se lavan con agua desionizada hasta alcanzar un pH neutro y son secados a $60^\circ C$ por 24 horas.

RESULTADOS

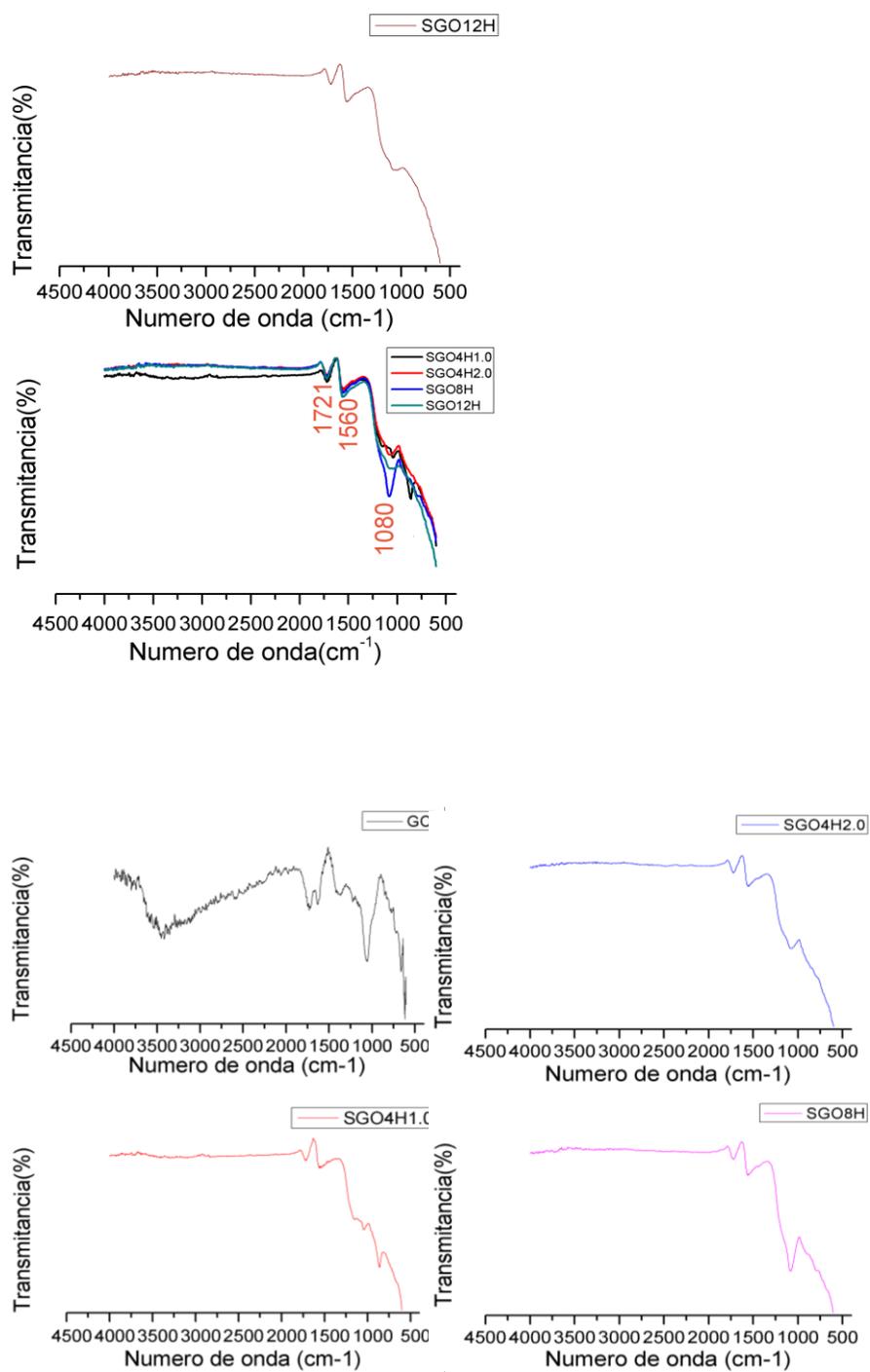


Figura 2. Caracterización de GO, GO sulfonado. Espectrometría Infrarroja (FTIR)

Tabla 1. grupos funcionales de muestras GO y sGO de espectros FTIR.

Numero de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	GO	sGO
1800 – 1650	C=O	✓	✓
1680 – 1600	Amida NH ₂	✓	✗
1400 – 1070	Si – O	✓	✗
1260 – 1160	SO ₃ H	✓	✓
1300 - 1000	C – O -C	✗	✓

La caracterización de sGO se hizo con FTIR para identificar los grupos funcionales presentes. Los espectros FTIR en la Fig. 2 muestran los respectivos picos de muestras SGO y GO, y sus asignaciones se tabulan en la Tabla 1. El espectro FTIR de GO muestra los grupos funcionales del grafito oxidado. La existencia de grupos funcionales epoxi, hidroxilo, carboxilo y carbonilo indicó la oxidación exitosa de grafito. La presencia de grupos funcionales en SGO indicaron la sulfonación exitosa de GO en comparación con los picos originales. El pico de diagnóstico de GO mostró la presencia del grupo Si-O y la presencia de NH₂ mostrada, que estaba ausente en sGO. Y coinciden con la literatura consultada

CONCLUSION

El grafeno es un material muy versátil, una de sus características más importantes es la posibilidad de funcionalizarlo, es decir, introducir grupos reactivos en su estructura, de manera que lo podemos dirigir a la rama que nos interese. Por medio del método de Hummers modificado se logró obtener óxido de grafeno para así sulfonarlo con el fin de incrementar su conductividad protónica, esto con el fin de incorporarlo en membranas para la producción de energías limpias, se prepararon y caracterizaron muestras sGO a través de análisis. El resultado de la caracterización mostró que los grupos de sulfonación se han introducido en la estructura de GO.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chang, C., & yang, R. (2016). Enhanced sample preconcentration in microfluidic chip using graphene oxide–Nafion membrane. *Microfluid Nanofluid*, 184, 168.
2. Heo, Y., Im, H., & Kim, J. (2013). The effect of sulfonated graphene oxide on Sulfonated Poly (Ether Ether Ketone) membrane for direct methanol fuel cells. *Journal Of membranescience*, 425 - 426, 11 - 22.
3. Lee, D., Yang, H., Park, S., & Kim, W. (2014). Nafion/graphene oxide composite membranes for low humidifying polymer electrolyte membrane fuel cell. *Journal Of membranescience*, 452, 20 - 28.
4. Ch'ng, Y., Loh, K., Daud, W., & Mohamad, A. (2016). Synthesis and Characterization of Sulfonated Graphene Oxide Nanofiller for Polymer Electrolyte Membrane. *Department Of Chemical And Process Engineering, Faculty Of Engineering And Built Environment, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor, Malaysia. Fuel Cell Institute, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor, Malaysia*, (160).

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE RECUBRIMIENTOS METÁLICOS BASE Ni RESISTENTES A LA CORROSIÓN Y AL DESGASTE.

Claudia María Montemayor Palos¹ y Dra Josefina García Guerra²

RESUMEN

La búsqueda de materiales de menor costo y mejor desempeño ha logrado posicionar a Los recubrimientos de Ni y sus aleaciones como buenos candidatos para ser aplicado a nivel industrial. Debido a sus características de resistencia a la corrosión, al desgaste y su excelente relación resistencia/peso, estos recubrimientos han ganado terreno en la producción total de las aleaciones de Ni. Entre los diversos recubrimientos empleados en aceros se encuentra los Ni-Co, que posee diversas propiedades, entre las cuales destaca la resistencia a la corrosión que está estrechamente ligada a los cambios microestructurales debido a la diferencia de densidad de corriente empleada (1.5 y 3mA/cm²). Los resultados obtenidos muestran una morfología suave en la cual predomina una estructura de fase hcp. El análisis tribológico en condiciones de desgaste en seco muestra que los recubrimientos presentan buena resistencia al desgaste debido a la adición de cobalto, reduciendo de igual manera el coeficiente de fricción y el coeficiente de Archard.

ABSTRACT

The search for lower cost materials and better performance has positioned Ni coatings and their alloys as good candidates to be applied on an industrial level. Due to its characteristics of corrosion resistance, wear and its excellent strength / weight ratio, these coatings have gained ground in the total production of Ni alloys. Among the various coatings used in steels is the Ni-Co, which has various properties, among which is the resistance to corrosion that is closely linked to the microstructural changes due to the difference in current density used (1.5 and 3mA / cm²). The results obtained show a mild morphology in which an hcp phase structure predominates. The tribological analysis under conditions of dry wear shows that the coatings have good wear resistance due to the addition of cobalt, reducing in the same way the coefficient of friction and the Archard coefficient.

Palabras Clave: Depositación electrolítica, aleación Ni-Co, baño electrolítico, electrorecubrimiento.

INTRODUCCIÓN

Los yacimientos de gas natural suelen estar a altas profundidades en el subsuelo, en tierra firme o bien bajo el mar. El gas natural puede encontrarse en los yacimientos en dos estados: “libre” o “asociado”. En estado “libre”, el gas se extrae independientemente, no junto con otros compuestos, y cuando está “asociado” se encuentra mezclado con hidrocarburos u otros gases del yacimiento. Para extraer el gas se perfora el subsuelo con una broca a medida que ésta va rotando. Durante la perforación se hace circular un lodo compuesto por agua, arcilla y varios productos químicos que da consistencia a las paredes del pozo y enfría la broca. Es por ello que la maquinaria que se utiliza presente problemas de corrosión y desgaste, así mismo generando fallas en las extracciones, debido a la presencia de los productos químicos. Por tal motivo es objeto de estudio presentar soluciones a este problema aplicando recubrimientos para una mayor duración de vida útil en la maquinaria.

Los recubrimientos de Ni-Co para los aceros experimentan numerosas modificaciones para cubrir las necesidades de la industria, y así mejorar las propiedades de la aleación. En este caso son importantes sus propiedades de resistencia a la oxidación, a la corrosión y al desgaste para que la maquinaria cumpla su función de extraer el gas y haya un ahorro económico en la empresa.

¹ Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila; Carretera 57, Km 5 C.P.: 25720 Monclova, Coahuila, mariix_monte@hotmail.com

² Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila; Carretera 57, Km 5 C.P.: 25720 Monclova, Coahuila, josefina.garcia@uadec.edu.mx

METODOLOGÍA

La electrodeposición de níquel se realizó sobre sustratos metálicos de acero grado API-X70 de dimensiones $2 \times 2 \times 0.3 \text{ cm}^3$ acabados superficialmente con papel abrasivo de carburo de silicio grado 240, 400, 600, 800, 1000 y 1200 consecutivamente. La limpieza alcalina antes del proceso de depositación consistió, en la inmersión en una solución de NaOH (10 g/L) durante 60 segundos y en una solución de HCl (28g/L) durante 30 segundos. Entre cada etapa se realizaron lavados exhaustivos con agua desionizada. La formulación del baño electrolítico para obtener depósitos Ni-Co fue la siguiente: $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (60 g/L), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50 g/L), $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30g/L), H_3BO_3 (30 g/L). Las condiciones empleadas fueron: temperatura de 40°C , pH de 4, velocidad de agitación de 800 rpm, tiempo de electrodeposición 30 min y la densidad de corriente utilizada fue de 3 mA/cm^2 . El proceso de electrodeposición se llevó a cabo en un potencióstato marca Gill AC para el mejor control de los parámetros. Se empleo como ánodo níquel puro y como cátodo el acero API X70 y grafito como electrodo auxiliar. Se emplearon diversas técnicas cualitativas y cuantitativas para llevar a cabo la caracterización física y microestructural de los recubrimientos obtenidos (difracción de rayos X (DRX), microdureza vickers (durómetro marca Zwick/Roell) microscopia electrónica de barrido (MEB). El estudio del comportamiento al desgaste del material utilizado en el presente trabajo, se realizó mediante ensayos de desgaste de deslizamiento pin on disk, según norma ASTM G133-02, sin lubricación y a temperatura ambiente con una humedad relativa de 45 ± 5 a velocidad lineal de 10cm/s a una distancia de 200m y una carga de 1N para todas las muestras. Como contraparte se empleó un material de cerámico (Al_2O_3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización microestructural

La figura 1a muestra la morfología de las películas Ni-Co obtenidas a un tiempo de 30 min de exposición, en donde se observa que toda la superficie está cubierta de una película metálica homogénea, densa y físicamente adherida a la superficie, compuesta por una aleación meta estable Ni-Co.

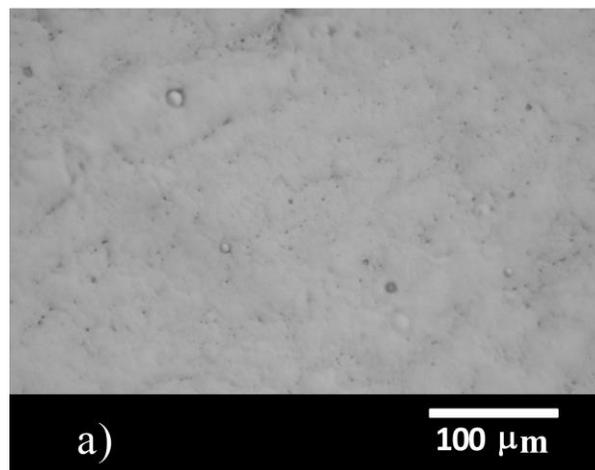


Figura 1. a) Morfología de los depósitos Ni-Co

Comportamiento tribológico

El incremento de la dureza superficial del 90% con respecto a la dureza inicial de 245 HV del sustrato debido a la presencia de los recubrimientos Ni-Co a una densidad de corriente de 3 mA/cm^2 se ve reflejada en las propiedades tribológicas de los sustratos de acero API X70. La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros tribológicos obtenidos para los recubrimientos obtenidos. Empleando las mismas condiciones de carga (1N), de distancia de

deslizamiento (500m) y la misma contraparte (alúmina), en todos los ensayos. Como se puede observar, el volumen de desgaste (V) es mayor en las muestras de menor dureza que corresponde al recubrimiento obtenido a menor densidad de corriente (1.5 mA/cm²), por el contrario, en las muestras de mayor dureza se observa un coeficiente de desgaste (K) y de fricción (COF) menores, obteniendo valores de velocidad de desgaste (K) de 8.45E-04 para el recubrimiento Ni-Co a menor densidad y de 4.87E-05 mm³/Nm para el depósito logrado a 3mA/cm². Estos resultados confirman el incremento en la resistencia al desgaste de hasta en un orden de magnitud debido al endurecimiento de la aleación durante el tratamiento térmico, causado probablemente por una buena adhesión, a la composición química del recubrimiento y defectos cristalográficos que se puedan llegar a generar durante el proceso de electrodeposición (6,7).

La figura 2 representa en general la evolución del coeficiente de fricción de los recubrimientos Ni-Co a las mismas condiciones de ensayo. Es decir, sube en los primeros minutos e inmediatamente comienza a descender hasta alcanzar un nivel estacionario. Llegados a este punto, si en el par tribológico no se presenta una transición en el desgaste, el COF permanece estable hasta el final del ensayo, como es en este caso. Por el contrario, si la transición en el desgaste existe, el COF sube y/o baja de forma brusca y se mantiene constante en ese nivel, como es el caso de los recubrimientos Ni-Co a menor densidad de corriente, en donde por la formación de películas de óxido y la presencia de fases intermetálicas duras se presenta una disminución abrupta por alrededor de los 1000s, sin embargo, después se vuelve a estabilizar el comportamiento del COF. Este tipo de comportamiento del coeficiente de fricción (COF) en las aleaciones de Ni ha sido descrito por otros autores en donde se menciona que la presencia de granos equiaxiales, finos y uniformemente distribuido es lo que incrementa notoriamente las propiedades mecánicas, resistencia al desgaste y aspectos en acabado superficial (8,9).

a)

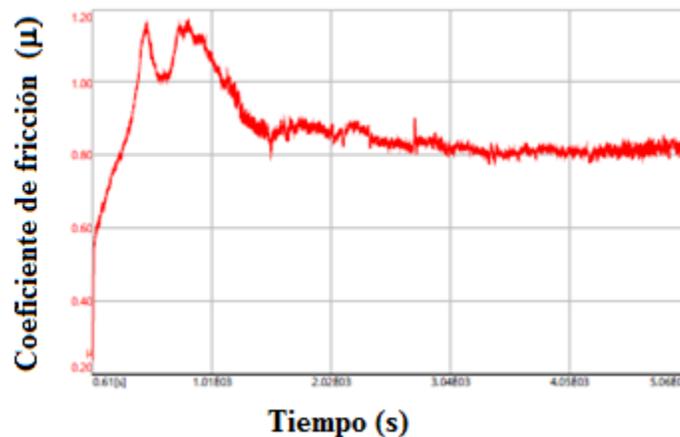


Figura 2. Evolución del COF de depositos Ni-Co a 1.5mA/cm²

Tabla 2. Parámetros tribológicos de los recubrimientos Ni-Co y Ni-Co-Al₂O₃

Muestra	V	COF	K
	(mm ³)		(mm ³ /N.m)
Ni-Co 1.5 mA/cm ²	0.8106	0.79	8.45E-04
Ni-Co 3mA/cm ²	0.6870	0.81	4.87E-05

La Figura 3 muestra las micrografías SEM de la superficie dañada de los sustratos Ni-Co a una carga de 1N. Se observa que las huellas alcanzan un promedio de 800 μm de ancho. Se observa que la relación es inversamente proporcional entre el ancho de la huella y la dureza de los sustratos. Es evidente que el grado de desgaste es menor en el sustrato de mayor dureza (Figura 2b). En general se observa un comportamiento similar el cual consiste de un perfil mixto, en donde se presenta la formación de surcos abrasivos longitudinales generados por la interacción con la contraparte de acero y la deformación plástica de los productos de la reacción triboquímica.

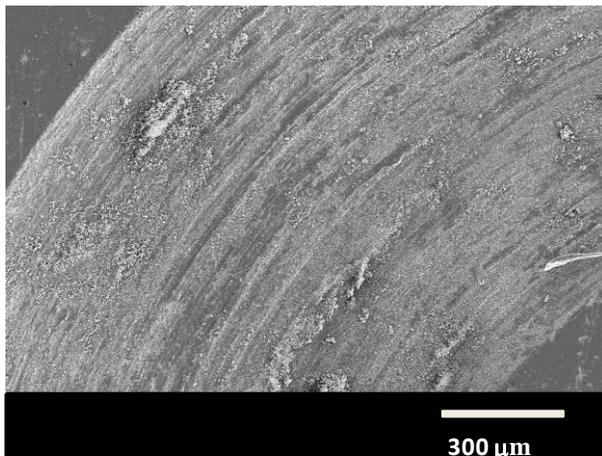


Figura 3 Huella de desgaste del recubrimiento Ni-Co

CONCLUSIONES

Se logró mejorar la resistencia a la corrosión y dureza del acero API X70 a través de una electrodeposición de una aleación binaria Ni-Co. El incremento en la densidad de corriente en la electrodeposición incrementa la cantidad de níquel depositado por ende la dureza del recubrimiento. Las huellas de desgaste en el recubrimiento Ni-Co revelan que los mecanismos de desgaste que presentan este tipo de compuestos son predominantemente abrasión y reacción triboquímica.

BIBLIOGRAFÍA

- R. K. Saha and T. I. Khan. (2010). *Surface and Coatings Technology*. 205(3):890–895.
- B. Bakhit and A. Akbari. (2013). *Journal of Alloys and Compounds*. 560:92–104.
- F. Hu, K. Chan. *Applied Surface Science*. Vol. 243. 2004. pp. 251-258.
- C. T. J. Low, R. G. A. Wills, and F. C. Walsh. 2006.. 201(1–2):371–383.
- Metals Handbook, “Surface clearing, finishing, and coating” Volume 5 Edit. American society for Metals. Ninth Edition, pp.219-223,229-236.
- Weiwei Chen, Yedong He y Wei Gao. *Surface & Coatings Technology* 204 (2010) 2487-2492.

COMPORTAMIENTO DE CRISTALES LÍQUIDOS CONFINADOS

Lemus Martínez Corina María de la Cruz¹ y Martínez González José Adrián²

RESUMEN

Los cristales líquidos son estados de agregación que comparten características con los líquidos y los cristales, son susceptibles a estímulos externos; tales como, la aplicación de campos eléctricos, magnéticos, o bien, el confinamiento. Mediante simulaciones continuas, basadas en una formulación tipo campo medio de la energía libre del cristal líquido, se estudió el comportamiento de fase de cristales líquidos confinados en capilaridades variando el tamaño de los sistemas, así como la quiralidad del cristal líquido. Los resultados obtenidos concuerdan con observaciones experimentales y con predicciones teóricas previamente reportadas de casos particulares. Este trabajo, comprende un estudio más amplio en cuanto a las condiciones propicias para que el cristal líquido adquiera estructuras estables con propiedades específicas que puedan ser de utilidad para atrapar o transportar partículas coloidales, como guías de onda o para estudiar la topología de los defectos en cristales líquidos confinados.

ABSTRACT

Liquid crystals are state of matter which share characteristics with liquids and crystals, they are sensitive to external perturbations; such as, the application of magnetic and electric fields or confinement. Through continuum simulations based on a mean field formulation of the free energy of the liquid crystal, we study the phase behavior of liquid crystals confined into capillaries in terms of the system's size and chirality. The obtained results agree with experimental observations and with previously reported theoretical predictions for specific cases. This work represents a broader study regarding the optimal conditions that allow a liquid crystal to acquire stable structures with properties that can be useful for trapping or transporting colloidal particles, as waveguides or for studying the topology of defects in confined liquid crystals.

Palabras clave: Cristales líquidos, confinamiento, quiralidad.

INTRODUCCIÓN

Es común decir que la materia existe en tres estados de agregación: líquido, sólido y gaseoso; sin embargo, esta clasificación no es del todo correcta ya que actualmente se sabe de la existencia de otras fases como el plasma, el condensado de Bose Einstein y los cristales líquidos, estos últimos son el tema que a continuación se estudiará en este artículo.

Los cristales líquidos son materiales que poseen características intermedias entre los sólidos cristalinos y los líquidos isotrópicos, los materiales capaces de formar este estado son aquellos en los cuales las moléculas que los conforman son altamente anisotrópicas, pueden ser moléculas con geometría tipo banana, en forma de discos o calamíticas (Wright & Mermin, 1989). Existen distintas maneras en las que las moléculas de un cristal líquido se ordenan, a estas se les llama mesofases. Cada mesofase depende de las condiciones y características físicas del sistema, entre las que podemos mencionar la temperatura y la anisotropía. Las mesofases más estudiadas son la nemática, la esméctica y la columnar. Las moléculas en la fase nemática, en promedio, tienen orden orientacional, aunque no muestran orden posicional. En el caso de la fase esméctica, las moléculas presentan ambos tipos de orden. Las transiciones entre las diferentes mesofases líquido-cristalinas, que puede darse variando la temperatura o la concentración del

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de ciencias; Lateral Av. Salvador Nava s/n Col. Lomas. C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP, México. corina34.lemus@gmail.com

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de ciencias; Lateral Av. Salvador Nava s/n Col. Lomas. C.P. 78290, San Luis Potosí, SLP, México. jose.adrian.martinez@uaslp.mx

sistema, de ahí que los cristales líquidos se clasifiquen en termotrópicos o liotrópicos, respectivamente (de Gennes et al., 1993).

Un concepto importante para el desarrollo de este trabajo es de quiralidad: se les llama “quirales” a aquellos objetos que no pueden superponerse con su imagen especular. En particular, existen moléculas quirales con las cuales se pueden modificar las propiedades de los cristales líquidos; es decir, se puede cambiar completamente la estructura de la fase de un cristal líquido al doparlo con moléculas quirales. Al confinar un cristal líquido quiral en capilaridades, se pueden formar las siguientes estructuras: helicoidal (HELIX), *twist escaped radial* (TER), *twist planar polar line defects* (TPPLD), *blue phase I* y *blue phase II* (BPI y BPII), las cuales se detallan más adelante.

El estudio de los cristales líquidos se ha popularizado en el campo de la materia condensada por sus múltiples aplicaciones tecnológicas (Martínez-González et al., 2017; Ravnik et al., 2009; Martínez-González et al., 2015). Desde el punto de vista puramente científico resultan ser un área con gran potencial de desarrollo que, a pesar de esto, no se ha explotado al máximo debido a que la experimentación con cristales líquidos es muy costosa y como alternativa se tienen sistemas virtuales en los cuales se puede simular un experimento de este tipo en donde el único inconveniente es el tiempo de computo, ya que en general es largo. En el presente trabajo se estudiaron sistemas considerados de gran escala (micrométrica) en el ámbito de las simulaciones. Lo anterior es posible a partir de un modelo teórico de campo medio que permite analizar el comportamiento de fase de cristales líquidos confinados en capilaridades; es decir, en geometrías cilíndricas. En particular, se analiza la influencia de la quiralidad y de la energía interfacial, esta última a partir de dos tipos de anclajes moleculares (paralelo y perpendicular a la interfase), en el tipo de estructuras que se forman. También se reporta una comparación entre los resultados aquí obtenidos con aquellos reportados experimentalmente. El presente estudio se organiza como sigue: introducción, metodología, resultados, conclusiones y bibliografía.

METODOLOGIA

La energía libre, F , del cristal líquido considerado en este trabajo, fue descrita en términos de un campo continuo, con base en el formalismo de Landau-de Gennes (Ravnik, 2009). En este modelo, $F=F(\mathbf{Q})$, donde \mathbf{Q} es el tensor de parámetro de orden, definido por $Q_{ij}=S(n_i n_j - 1/3 \delta_{ij})$, donde $i, j=1, 2, 3$, y n_i son de x, y, z componentes de vector director local; S es el parámetro de orden escalar dado por $S=\langle 3/2 \cos^2\theta - 1/2 \rangle$, con $\cos \theta = \mathbf{a} \cdot \mathbf{n}$, donde \mathbf{a} es la orientación molecular y “ $\langle \rangle$ ” denotan un promedio espacial. Así, el tensor de parámetro de orden contiene la información estructural de la fase líquido-cristalina. El funcional de la energía libre contiene las contribuciones de corto alcance (f_P), elásticas de largo alcance (f_E) e interfacial (f_S),

$$F(\mathbf{Q}) = \int d^3x [f_P(\mathbf{Q}) + f_E(\mathbf{Q})] + \int d^2x f_S(\mathbf{Q}) \quad (1)$$

donde las contribuciones de corto alcance están dadas por,

$$f_P = \frac{A}{2} \left(1 - \frac{U}{3}\right) \text{tr}(\mathbf{Q}^2) - \frac{AU}{3} \text{tr}(\mathbf{Q}^3) + \frac{AU}{4} \text{tr}(\mathbf{Q}^2)^2 \quad (2)$$

En la ecuación (2), A y U son parámetros fenomenológicos que dependen de la temperatura y presión. La contribución elástica de largo alcance a la energía libre esta dada por (Martínez-González et al, 2017; Ravnik et al, 2009),

$$f_E = \frac{1}{2} \left[L_1 \frac{\partial Q_{ij}}{\partial x_k} \frac{\partial Q_{ij}}{\partial x_k} + L_2 \frac{\partial Q_{jk}}{\partial x_k} \frac{\partial Q_{jl}}{\partial x_l} + L_3 Q_{ij} \frac{\partial Q_{kl}}{\partial x_i} \frac{\partial Q_{kl}}{\partial x_j} + L_4 \frac{\partial Q_{jk}}{\partial x_l} \frac{\partial Q_{jl}}{\partial x_k} + L_5 2q_0 \epsilon_{ikl} Q_{ij} \frac{\partial Q_{ij}}{\partial x_k} \right] \quad (3)$$

donde ϵ_{ikl} es el tensor Levi-Civita, $q_0=2\pi/p$ es el inverso del pitch y mide la quiralidad del sistema. Las L_i son las constantes elásticas del cristal líquido. El último término de la ecuación 1 corresponde a la contribución interfacial, f_S^H , tal que, al considerar un anclaje perpendicular u homeotrópico, se tiene,

$$f_S^H = \frac{1}{2} W_H (\mathbf{Q} - \mathbf{Q}^0)^2 \quad (4)$$

donde W_H es la energía de anclaje homeotrópico y \mathbf{Q}^0 es el tensor del parámetro de orden de la superficie preferencial. Los estados estables y metaestables fueron encontrados por minimización de la energía libre; esto se logró mediante el método de relajación Ginzburg-Landau donde \mathbf{Q} evoluciona al equilibrio según (Martínez-González et al, 2017; Ravnik et al, 2009),

$$\frac{\partial \mathbf{Q}}{\partial t} = -\frac{1}{\gamma} \left[\mathbf{\Pi} \left(\frac{\delta F}{\delta \mathbf{Q}} \right) \right] \quad (5)$$

Con condiciones de frontera tales que $\mathbf{\Pi}[(\delta F / \delta \nabla \mathbf{Q}) \cdot \mathbf{v}] = 0$. El parámetro γ representa el coeficiente de difusión y el operador operador $\mathbf{\Pi}(\mathbf{B}) = 1/2 (\mathbf{B} + \mathbf{B}^T) - 1/3 \text{tr}(\mathbf{B}) \mathbf{I}$ asegura las propiedades de simetría y traza cero del parámetro tensorial \mathbf{Q} .

Para la descripción del sistema usamos un arreglo que consiste de una malla 3D de resolución 10 nm, y valores típicos de energías de anclaje, es decir, $W_p = 4 \times 10^{-3} \text{ J/m}^2$ y $W_H = 8 \times 10^{-4} \text{ J/m}^2$; para el cristal líquido quiral, usamos los siguientes valores, lo cuales reproducen resultados experimentales (10), $A = 1.067 \times 10^5 \text{ J/m}^3$, $L_1 = 6 \text{ pN}$ and $L_5 = 2L_1$. Las micrografías de polarización se calcularon con el formalismo matricial Jones 2×2 , en el que se simula los cambios de polarización de la luz al pasar por el cristal líquido (Ondris Crawford et al., 1991).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de CL no quirales. Se hicieron simulaciones con distintas condiciones iniciales con el fin de encontrar los estados estables y metaestables de cristales líquidos confinados en capilaridades con diferentes radios. Las configuraciones iniciales usadas fueron aleatorias y aquella generada por [7,8]: $\hat{n} = \hat{\rho} \cos \beta - \hat{\phi} \sin \beta \sin \gamma - \hat{z} \sin \beta \cos \gamma$.

Se encontró que para diámetros menores a $1.0 \text{ } \mu\text{m}$ la configuración que minimiza la energía libre es, PPLD, por sus siglas en inglés (Planar Polar Line Defects). Para diámetros mayores a $1.0 \text{ } \mu\text{m}$, la configuración estable pasa a ser ER. No se sabe con exactitud el radio para el cual se da la transición de PPLD a ER, sin embargo, se estima que ocurre en algún radio entre $1.0 \text{ } \mu\text{m}$ y $1.25 \text{ } \mu\text{m}$

Las configuraciones finales, PPLD y ER, se muestran en la figura 1, en donde se observa que el anclaje en las paredes del cilindro, para ambas estructuras, es homeotrópico. ER no tiene defectos topológicos (lugares a nivel local en donde no es posible definir una dirección preferencial de las moléculas) pues las moléculas escapan en forma radial hacia el centro. PPLD tiene dos defectos topológicos tridimensionales, se muestran en color rojo en la figura 1, su estructura por planos, en el eje z, se repite. Es importante señalar que las capilaridades estudiadas tienen condiciones periódicas a lo largo del cilindro; por lo tanto, los cilindros mostrados corresponden a una pequeña parte de la capilaridad.

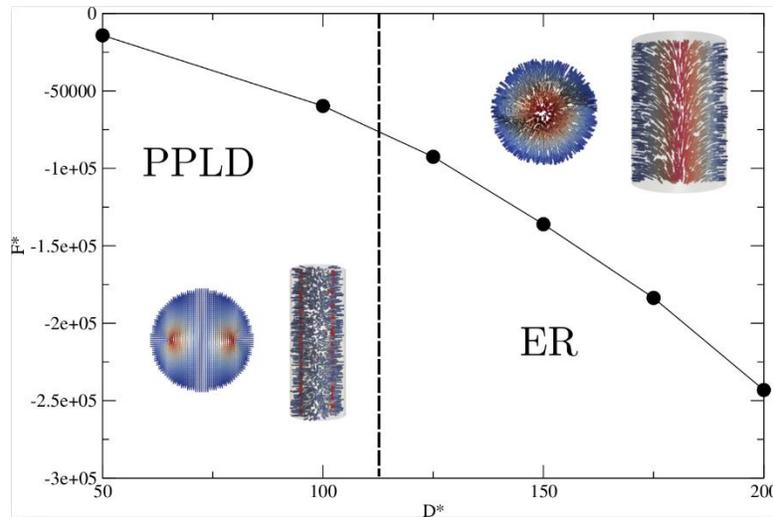


Figura 1. Comportamiento de fase, caso no quirral. Unidades reducidas $D^*=D/\xi$, $F^*=F/(L\xi)$.

Resultados para CL quirales. Para el caso quirral, las configuraciones encontradas se muestran en la figura 2A. Con el fin de encontrar un comportamiento general en las transiciones de fase, independiente del tamaño del sistema, se mantuvo fija la razón R/p , con los valores 0.03125, 0.25, 1 y 3, para cada uno de estos valores se analizaron tres tamaños diferentes del sistema. En sistemas con $R=1.0 \mu\text{m}$ se usaron como condiciones iniciales los ansatz para blue-phases y la configuración ER (Martínez-González et al, 2017; Martínez-González et al, 2015; Kitzerow, 1996; Jeong, 2015). Para los sistemas con $R=0.5\mu\text{m}$ y $R=1.5\mu\text{m}$, se optó por usar aquella configuración (o una parecida), que había minimizando la energía libre del sistema con $R=1.0\mu\text{m}$ pero con la misma razón R/p , por ejemplo; para el sistema con $R=1.0\mu\text{m}$ y $R/p=3$ se usaron las cuatro condiciones iniciales ya mencionadas, en este sistema se obtuvo como configuración final que minimiza la energía libre, BPI, la cual fue la nueva condición inicial para los sistemas con $R=0.5\mu\text{m}$ y $R=1.5\mu\text{m}$ con igual razón $R/p=3$. El diagrama de fase se muestra en la figura 2B.

Por otro lado, se observó la evolución que siguen las estructuras de los sistemas en función de su quiralidad. En general, si la quiralidad es pequeña, se tienen estructuras simples, cuando la quiralidad aumenta, van apareciendo estructuras y defectos cada vez más interesantes. En la figura 2C se muestra una gráfica de la energía libre de los sistemas en función de p , “pitch”, que es el inverso de la quiralidad q , $p=2\pi/q$.

Partiendo de q pequeña (p entre $32 \mu\text{m}$ y $16 \mu\text{m}$), se tiene como configuración final, ER, descrita anteriormente en sistemas no quirales. La siguiente configuración que aparece conforme aumenta la quiralidad (p entre $8 \mu\text{m}$ y $4 \mu\text{m}$) es TER, por sus siglas en inglés (Twist Escape Radial), es semejante a ER pero con un giro a lo largo del cilindro, vista desde la parte superior se observa que las moléculas del sistema forman un vórtice en el centro del cilindro escapando en la dirección z . Luego está TPPLD, por sus siglas en inglés (Twist Planar Polar Line Defects), tiene lugar cuando p adquiere valores entre $2.666 \mu\text{m}$ y $0.5 \mu\text{m}$. De manera análoga, TPPLD es parecido a la configuración PPLD pero girando en la dirección z , este giro se ve muy claro si se pone atención en los defectos, estos aparecen de color rojo en la imagen para TPPLD en la figura 2A. Para quiralidad grande (p entre 400 nm y 250 nm), resulta más sencillo analizar las mallas que forman los defectos (en color azul), que las estructuras formadas por las moléculas mismas, tal es el caso de la BPI y BPII. Los defectos de la BPI son uniformes lejos de las paredes del cilindro. Por último, la BPII (para p entre 222 nm y 200 nm) no aparece en la figura 2A debido a que el tiempo que le tomaba al sistema relajarse por completo no fue suficiente.

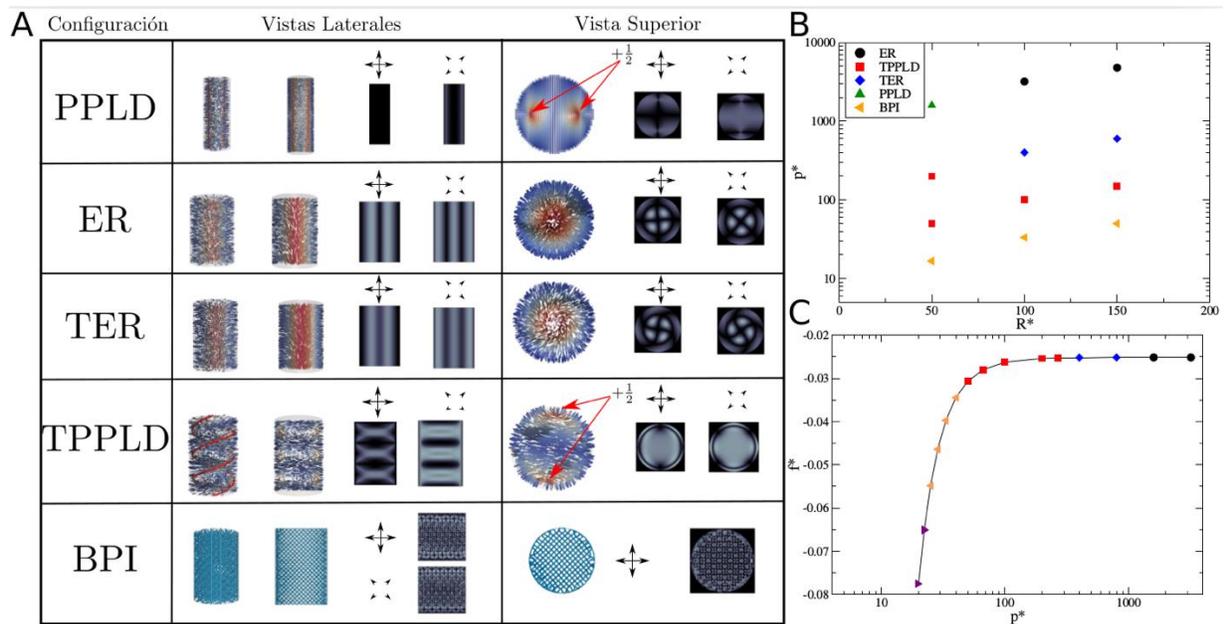


Figura 2. Comportamiento de fase, caso quiral. A) Imágenes de las configuraciones PPLD, ER, TER, TPPLD y BPI, todas encontradas en el caso quiral. En el centro están las vistas laterales, la primera columna es para una vista general, la segunda para cortes hechos a lo largo del cilindro y luego se tienen las imágenes formadas por los polarizadores, a 90° y 45° . La vista superior con sus respectivas imágenes en polarizadores de observan en las últimas columnas. Además, se señalan los defectos topológicos y sus cargas. B) Diagrama de fase, p^* vs R^* . C) Gráfica de la energía libre, f^* , contra el "pitch", p^* . Se añade un triángulo en color morado para indicar la BPII. Unidades reducidas $p^*=p/\xi$, $f^*=f/(L\xi)$.

La siguiente imagen, figura 3, muestra la comparación entre los resultados obtenidos a partir de las simulaciones y los resultados experimentales (Jeong et al., 2015) (cuadros de la parte superior e inferior, respectivamente, de las imágenes 3A, 3B y 3C) para las configuraciones ER, TER y TPPLD. Se puede ver que en ciertos lugares del cilindro donde el comportamiento es uniforme, las simulaciones resultan ser una muy buena aproximación.

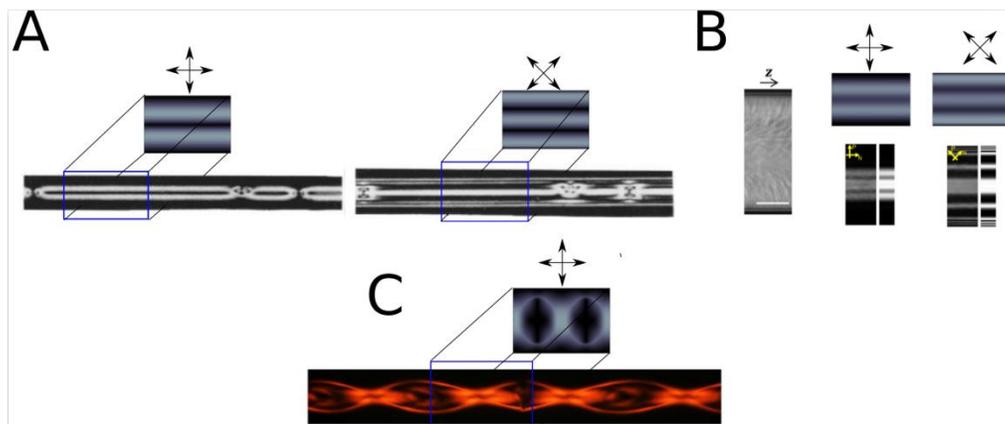


Figura 3. Comparación entre experimento y simulación. A) Configuración ER. B) Configuración TER. C) Configuración TPPLD (Jeong, 2015).

CONCLUSIONES

Se encontró que las simulaciones reproducen los resultados experimentales, lo cual da validez al programa usado, también complementa los resultados experimentales y predice comportamientos de fase.

En sistemas no quirales se observaron dos configuraciones, ER y PPLD, y se da el intervalo para el cual ocurre la transición de fase en función del tamaño del sistema.

En sistemas quirales se reporta un diagrama de fase que contiene información con base al tamaño de los sistemas y su quiralidad, dos aspectos importantes en la formación de distintas estructuras; se puede acceder a la misma configuración variando, ya sea, la quiralidad del sistema, o el radio del cilindro. Las estructuras encontradas fueron ER, PPLD, TER, TPPLD, BPI y BPII.

BIBLIOGRAFIA

Wright DC, Mermin ND (1989) Crystalline liquids: The blue phases. *Rev Mod Phys* **61**: 385–433.

de Gennes P.G. and Prost J. The physics of liquid crystals, 2nd Edition, Clarendon Press Oxford (USA, 1993).

Martínez-González JA, et al. (2017) Directed self-assembly of liquid crystalline blue- phases into ideal single-crystals. *Nature Commun* **8**:15854.

Ravnik M, Zumer S (2009) Landau-de Gennes modelling of nematic liquid crystals colloids. *Liq Cryst* **36**:1201–1214.

Martínez-González JA, et al. (2015) Blue-phase liquid crystal droplets. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**:13195–13200.

Ondris Crawford R., Boyko E. P., Wagner B. G., Erdmann J. H., Zumer S. and Doane J. W., (1991) *J. Appl. Phys.*, **69**: 6380–6386.

Kitzerow H.-S., Liu B., Xu F., and Crooker, (1996) Effect of chirality on liquid crystals in capillary tubes with parallel and perpendicular anchoring. *Phys. Rev. E*, **54**, 568-575.

Jeong J., Kang L., Davidson Z. S., Collings P. J., Lubensky T. C., and Yodh A. G., (2015) Chiral structures from achiral liquid crystals in cylindrical capillaries, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**: 1837–1844.

MODELACIÓN NUMÉRICA DE FENÓMENOS ATMOSFÉRICOS Y OCEÁNICOS

Cristian Alejandro Limón Tapia¹ y José Noel Carbajal Pérez²

RESUMEN

En el presente trabajo se describe el modelo desarrollado por investigadores del IPICYT para resolver las ecuaciones de aguas someras en dos dimensiones, y se muestran algunos resultados del primer código escrito en Fortran con este método. El desarrollo de este código es de gran importancia, ya que se pretende darlo a conocer para que otros investigadores lo puedan usar en sus simulaciones de corrientes oceánicas, aprovechando su simplicidad y el hecho de que es fácilmente personalizable. Por el momento, el código sigue en fase de desarrollo, ya que necesita un análisis más profundo en cuanto a la estabilidad de sus soluciones y posiblemente algún cambio en el esquema de aproximación en los términos advectivos. Sin embargo, ya es posible obtener soluciones estables y con sentido físico bajo ciertas condiciones.

ABSTRACT

In this paper we describe the model developed by IPICYT researchers to solve the two dimensional shallow water equations. Some results by the first code written in Fortran with this method are given. The development of this code is of great importance, since it aims to be used by other researchers in their ocean currents simulations, while taking advantage of its simplicity and the fact that it is easily customizable. At the moment, the code is still in the development phase, since it needs a deeper analysis in terms of the stability of its solutions and maybe a different scheme for the advection terms. However, it is already possible to obtain stable solutions with physical meaning under certain conditions.

INTRODUCCIÓN

El Golfo de California, al poseer una geometría compleja e interacciones entre intensas mareas, presenta una gran variedad de fenómenos oceánicos. La zona norte del golfo puede ser considerada como una plataforma continental con una profundidad máxima de aproximadamente 200 m. Como sucede en todas las zonas en las que la profundidad es relativamente pequeña, las corrientes de marea en esta parte son intensas. En el área poco profunda del delta del Río Colorado las mareas pueden alcanzar los 10 m y las corrientes velocidades de más de 2 ms^{-1} . En la parte sur del golfo la batimetría alcanza mediciones de más de 3000 m. Las corrientes de marea en regiones muy profundas son poco notables, es en las regiones costeras donde se vuelven importantes. En la parte central del Golfo de California, hay un archipiélago conformado principalmente por las islas Tiburón y Ángel de la Guarda, entre otras masas terrestres pequeñas.

En este trabajo se pretende simular fenómenos oceánicos en la zona del Golfo de California, utilizando un modelo basado en las ecuaciones de aguas someras en dos dimensiones y mediciones reales de la batimetría del golfo. Las ecuaciones de aguas someras se resolvieron con el método de diferencias finitas y una aproximación semi-implícita en los términos de Coriolis. El objetivo principal es contar con un programa computacional en el lenguaje Fortran que permita hacer este tipo de simulaciones con cualquier batimetría.

MARCO TEÓRICO

La modelación de las corrientes oceánicas en este trabajo se hizo utilizando las ecuaciones de aguas someras. Estas ecuaciones se obtienen integrando verticalmente las ecuaciones de Navier-Stokes de la hidrodinámica utilizando el promedio de las velocidades medias horizontales (que corresponden a las variables u y v en este reporte). El uso de las ecuaciones de aguas someras se recomienda solo para los casos en los que las distancias verticales, es decir la profundidad, sean mucho menores comparadas con las distancias horizontales.

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Físico Matemáticas; Prof. Severiano Arteaga, S.N., Edificio A, Unidad Camporredondo, C.P: 25020, Saltillo, Coahuila, cristianlimon@uadec.edu.mx

²Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., División de Geociencias Aplicadas; Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4^a Sección, C.P: 78216, San Luis Potosí, San Luis Potosí, noelc@ipicyt.edu.mx

Existen dos tipos de ecuaciones de aguas someras; las conservativas y las no conservativas. Las ecuaciones que se usaron en este trabajo fueron las no conservativas, y además se incluyeron la fuerza de fricción con el fondo del mar, la fuerza de fricción con la atmósfera y la fuerza de viscosidad en el fluido. Dichas ecuaciones con los términos mencionados tienen la siguiente forma:

$$\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial x} + v \frac{\partial u}{\partial y} - fv = -g \frac{\partial h}{\partial x} + A_H \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} \right) + \lambda W^{(x)} \sqrt{W^{(x)2} + W^{(y)2}} - r \frac{u \sqrt{u^2 + v^2}}{H + h} \quad (1)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} + u \frac{\partial v}{\partial x} + v \frac{\partial v}{\partial y} + fu = -g \frac{\partial h}{\partial y} + A_H \left(\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} \right) + \lambda W^{(y)} \sqrt{W^{(x)2} + W^{(y)2}} - r \frac{v \sqrt{u^2 + v^2}}{H + h} \quad (2)$$

$$\frac{\partial h}{\partial t} + \frac{\partial [u(H + h)]}{\partial x} + \frac{\partial [v(H + h)]}{\partial y} = 0 \quad (3)$$

donde

u es la velocidad en la dirección de x

v es la velocidad en la dirección de y

h es la desviación de la profundidad promedio

H es la profundidad promedio

g es la aceleración de la gravedad

f es el coeficiente de Coriolis

A_H es el coeficiente de fricción cinemática

λ es el coeficiente de fricción con el viento

r es el coeficiente de fricción con el fondo

MÉTODOS Y MATERIALES

Se aplicó el método de diferencias finitas con paso hacia adelante y una aproximación semi-implícita a los términos de Coriolis en las ecuaciones 1, 2 y 3, obteniendo el siguiente conjunto de ecuaciones discretizadas:

$$u_{i,j}^{n+1} = \frac{1}{R_{i,j}^{(x)n} R_{i,j}^{(y)n} + \hat{f}_u \hat{f}_v} (R_{i,j}^{(y)n} \tilde{u}_{i,j}^n + \hat{f}_v \tilde{v}_{i,j}^n) \quad (4)$$

$$v_{i,j}^{n+1} = \frac{1}{R_{i,j}^{(x)n} R_{i,j}^{(y)n} + \hat{f}_u \hat{f}_v} (R_{i,j}^{(x)n} \tilde{v}_{i,j}^n - \hat{f}_u \tilde{u}_{i,j}^n) \quad (5)$$

$$h_{i,j}^{n+1} = h_{i,j}^n - \Delta t \left[\frac{u_{i,j+1}^{n+1} H_{i,j+1}^n - u_{i,j}^{n+1} H_{i,j}^n}{\Delta x} + \frac{v_{i,j+1}^{n+1} H_{i,j}^n - v_{i+1,j}^{n+1} H_{i+1,j}^n}{\Delta y} \right] \quad (6)$$

Donde

$$R_{i,j}^{(x)n} = \left(1 + r \frac{\Delta t \sqrt{\tilde{u}_{i,j}^{n2} + \tilde{v}_{i,j}^{n2}}}{H_{i,j}^n} \right) \quad (7)$$

$$R_{i,j}^{(y)n} = \left(1 + r \frac{\Delta t \sqrt{u_{i,j}^{n2} + v_{i,j}^{n2}}}{H_{i,j}^n} \right) \quad (8)$$

$$\hat{f}_{(u,v)} = \frac{\Delta t f_{(u,v)}}{2} \quad (9)$$

$$T^{(x)} = -u \frac{\partial u}{\partial x} - v \frac{\partial u}{\partial y} - g \frac{\partial h}{\partial x} + A_H \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} \right) + \lambda W^{(x)} \sqrt{W^{(x)2} + W^{(y)2}} \quad (10)$$

$$T^{(y)} = -u \frac{\partial v}{\partial x} - v \frac{\partial v}{\partial y} - g \frac{\partial h}{\partial y} + A_H \left(\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} \right) + \lambda W^{(y)} \sqrt{W^{(x)2} + W^{(y)2}} \quad (11)$$

Se utilizó una malla del tipo Arakawa C para calcular las variables u, v y h. Además, se le agregó una condición de frontera no-slip en las costas y el esquema upwind en los términos advectivos. Todo esto para garantizar una mayor estabilidad en los cálculos. El código del programa se escribió en el lenguaje Fortran 95 y las gráficas se obtuvieron con un script en Python.

RESULTADOS

A continuación, se muestran algunas de las imágenes que se obtuvieron con las simulaciones realizadas

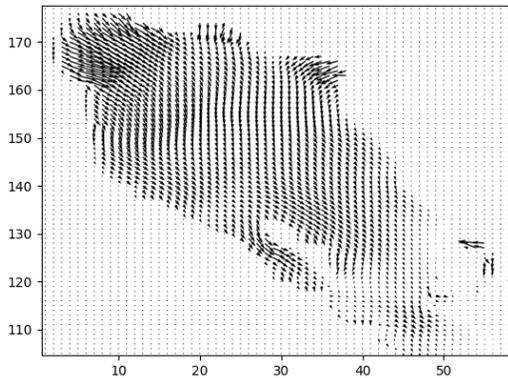


Figura 1. Campo de velocidades en el golfo de california con un viento hacia el sureste de 5 ms^{-1} .

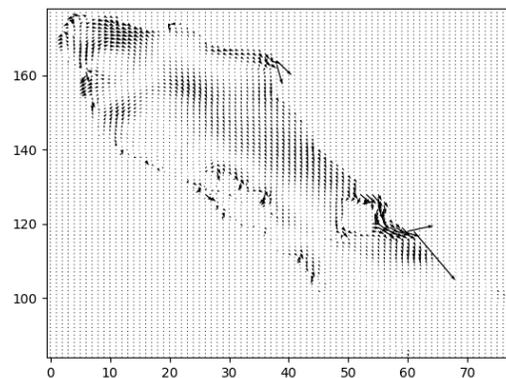


Figura 2. Campo de velocidades en el Golfo de California con un viento al este de 1 ms^{-1} .

Los ejes vertical y horizontal en figuras anteriores están divididos en números enteros que representan la posición de los puntos en la matriz de batimetría. Cada celda de la malla es un cuadrado cuyos lados miden 5560 m. Las dos figuras anteriores se obtuvieron con condiciones normales de viento y mareas de aproximadamente 30 cm en la frontera sur. Se puede apreciar que en la figura 1 las corrientes en efecto siguen la dirección del viento, algo que se esperaría ya que el viento arrastra al agua debido a las fuerzas de fricción. Además, se puede apreciar que las velocidades son notablemente mayores en las costas, en especial en la región del delta del Río Colorado, ya que en esta zona la batimetría revela profundidades pequeñas. En la figura 2 podemos observar el mismo comportamiento de las corrientes con respecto a la dirección del viento, sin embargo, ahora las velocidades son menores ya que el

viento es cinco veces más lento. Adicionalmente, se forman algunas corrientes cíclicas posiblemente debido al efecto de las mareas lunares que es más notable en este caso debido a que el viento no es tan importante como en la situación de la figura 1.

Por otro lado, se encontraron algunas situaciones en las que los resultados que arrojaba el modelo numérico no parecían tener realidad física. Un ejemplo de estas lo muestran las siguientes dos figuras:

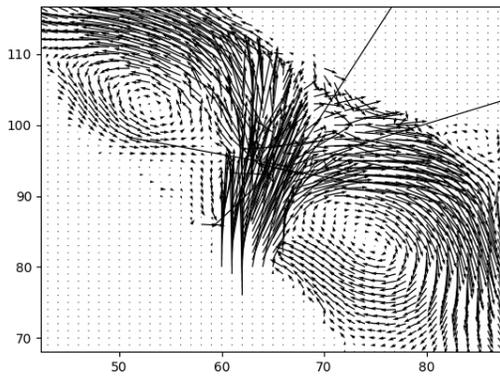


Figura 3. Formación de dos corrientes circulares cerca de la costa en la región central del golfo.

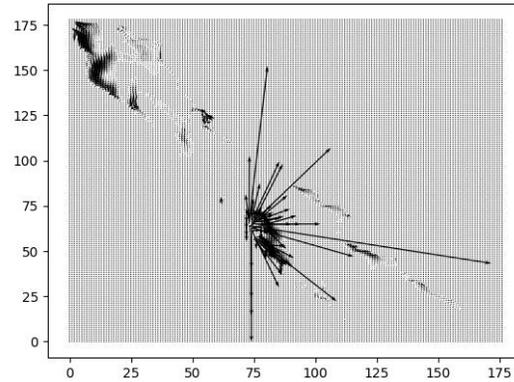


Figura 2. Velocidades divergentes en una región costera al sur del golfo.

Si se le daban condiciones iniciales con velocidades mayores a 5 ms^{-1} , mareas de más de un metro o simplemente se dejaba correr la simulación por un tiempo mayor a cinco días, lo que se obtenía eran resultados que claramente no tenían un significado físico. Por ejemplo, en la figura 3 se hicieron cálculos para predecir el estado del sistema después de dos semanas con un viento del norte de 5 ms^{-1} . Durante la simulación las velocidades en una costa comenzaron a crecer exponencialmente y se formaron las dos corrientes circulares a los lados que se pueden apreciar en la figura 3. También era común que después de un periodo de diez días o más de simulación, comenzaran a aparecer velocidades extremadamente altas cerca de zonas costeras. Se cree que esto se debe a que las mareas son tan grandes en la costa, que sus magnitudes son comparables con la profundidad H . Esto causaría una divergencia en las ecuaciones de aguas someras. Es posible que también se necesite otro esquema más estable en los términos de advección, por ejemplo, el superbee. Aun así el método funciona muy bien para condiciones normales de viento y marea, y para tiempos de simulación de un par de días.

CONCLUSIONES

Durante la realización de este proyecto se desarrolló un código computacional que resuelve las ecuaciones de aguas someras para diferentes batimetrías, y condiciones de viento y marea. En el proceso se lograron solucionar algunos problemas de estabilidad agregando el esquema upwind a los términos advectivos y exigiendo condiciones no-slip en las costas. Sin embargo, no se pudieron encontrar soluciones estables para casos extremos o para simulaciones a largo plazo. Se piensa que, simplemente agregando un esquema con mayor estabilidad en los términos de advección, se puede obtener un código apto para la investigación en oceanografía.

BIBLIOGRAFÍA

- RANDALLA, D. (2006). "The Shallow Water Equations". Consultada en <http://kiwi.atmos.colostate.edu/group/dave/pdf/ShallowWater.pdf> (fecha de consulta 19-08-2018).
- MORALES, R.A., GUTIERREZ G. (1989). "Mareas en el Golfo de California" en *Geofísica Int*, Núm. 28, Vol. I, [pp. 25-28].
- MONTAÑO, Y., CARBAJAL N. (2008). "Numerical experiments on the long term morphodynamics of the Colorado River Delta" en *Ocean. Dyn.* Núm. 58, [pp. 19-29]
- PUGH, D.T. (1987). *Tides, Surges and Mean Sea Level*. New York: John Wiley and Sons.
- CARBAJAL, N. (1993). "Modeling of the Circulation in the Gulf of California". Ph.D. Thesis. University of Hamburg, [pp. 186]
- QUIROS, G., BADAN-DANGON, A., RIPA, P. (1992). "M2 currents and residual Flow in the Gulf of California" en *J. Sea Res.* Núm. 28, Vol. 4, [pp. 251-259]

IDENTIFICACION Y CARACTERIZACION MOLECULAR DE AISLADOS FUNGICOS ASOCIADOS A ANFIBIOS Y MAMIFEROS

Cristian Emanuel Gámez Alvarado¹ y Juan Gualberto Colli Mull²

RESUMEN

En este trabajo evaluamos la diversidad entre 29 cepas de hongos relacionadas con mamíferos y reptiles del zoológico de León en etapa temprana en base a observación de micro cultivos en microscopio y de manera molecular tras el análisis de fragmentos de restricción de longitud polimórfica o RFLP por sus siglas en inglés, dando como resultado 19 cepas viables para su análisis, y dando grupos diferentes mostrados en el dendograma tras la interpretación del RFLP en gel de agarosa al 2.5%

ABSTRACT

In this work we evaluated diversity between 29 fungi strains linked with mammals and reptiles of Irapuato zoo in early phase based on observation of slide culture and molecular way on RFLP analysis obtained 19 viable strains to analyze and different groups observed in dendogram after interpretation of RFLP on agarose 2.5 gel.

PALABRAS CLAVE: caracterización, aislados fúngicos, PCR, micro cultivos, RFLP

KEY WORDS: characterization, fungi isolated, PCR, slide culture, RFLP

INTRODUCCION

Los hongos están presentes a lo largo del planeta ya que gracias a la producción de esporas estas viajan por aire y agua para encontrar un sitio donde germinar y desarrollar su ciclo vital. Muchos de los lugares donde los hongos son germinados es en organismos de mayor complejidad tales como plantas y animales, pues contienen los nutrientes adecuados, estos son denominados huéspedes, sin embargo, pueden ser causa de alergias enfermedades respiratorias y cutáneas en animales (Starr, et. al, 2009) la mayoría de los hongos son saprofitos, sin embargo pueden ser causantes de infecciones a mamíferos, reptiles y animales en general bajo condiciones específicas, las enfermedades causadas debido a los hongos juegan un rol importante en reservas o ambientes donde los animales están protegidos, poniendo en riesgo la integridad de los mismos, se han identificado reptiles con *Aspergillus* sp, *Candida* sp, *Penicillium* sp y otros, aunque muchos no se han considerado como patógenos primarios (Schumacher, 2003), de igual manera los mamíferos se ven afectados en igual medida por la intersección con los hongos: algunos mamíferos pequeños como erizos y chinchillas se ven relacionados con dermatofitos que se clasifican en 3 grupos: *Epidermophyton*,

Microsporium, y *Trichophyton*, que infectan el tejido corneo ya que son los dermatofitos son incapaces e penetrar la epidermis de los huéspedes (Marshall, 2003). Aunque a simple vista muchos hongos pueden verse de manera idéntica es posible identificarlos por genero a través de la característica morfológica de las esporas, micelios y otros apéndices (Maser, et. al, 1978). Uno de los métodos para observación de apéndices fúngicos es una técnica muy empleada en biología la cual consiste cultivar en una placa Petri en un portaobjeto un pequeño cuadro de medio de cultivo, donde se desarrollará el hongo, dañando lo menos posible su estructura y especular mediante bases de datos la morfología de diversos apéndices que lo conforman y tener una manera de identificación temprana de diversos hongos (Anthony & Walkes, 1962).

MÉTODOS Y MATERIALES

Se seleccionaron y listaron las cepas de hongos extraídas de mamíferos, reptiles y anfibios del zoológico de la ciudad de León conservadas en refrigeración a 4°C

Obteniendo 3 medios de cultivo para reactivación de 29 cepas en placa Sabouraud, potato dextrose agar y dermatophytes test medium. Se llevó a cabo una resiembra para determinar las cepas viables para proseguir con las técnicas posteriores, Tras 1 semana de incubación a 30°C se realizó la técnica de micro cultivos (Anthony &

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, carretera Torreón – Matamoros km 7.5, Ciudad Universitaria ejido El Águila., C.P. 27276, Torreón, Coahuila, cgamez@uadec.edu.mx

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Departamento de biología. Carretera Irapuato-Silao km 12.5 Col. el Copal. C.P. 36821. Irapuato, Guanajuato, jcolli@itesi.edu.mx

Walkes, 1962; Costa, et. al, 1991) utilizando Azul de tripano para tinción y observación en microscopio a 10x, 40x y 100x identificando esporas y micelio, e hifas con base a la literatura existente. Se realizó extracción de ADN (Hervas-Aguilar,2007) donde se obtuvieron 30µL de DNA. se hizo una dilución 1:10 de ADN-agua para proceder con PCR (de Dios. et. al, 2013) . Tras obtener ADN producto del PCR anterior se llevó a cabo un análisis de Fragmentos de Restricción de Longitud Polimórfica o RFLP (Botstein, et. al, 1980) donde de igual manera se realizó una dilución 1:10 de ADN proveniente del PCR se realizó una digestión con HinF1 y Alu10 como enzimas de secuencias específicas: se realizó una digestión durante 1 hora a 37°C en tubos Eppendorf de 0.5 ml con 0.3µL de HinF1, 2µL buffer tango 10x, 10µL de DNA procedente del PCR y 7.4µL de agua mili Q. transcurrido una hora se agregan 0.3µL de Alu1 y se vuelve a incubar a 37°C. Posteriormente se subió la temperatura hasta 65°C durante 10 minutos para inactivar las enzimas. Obtenido la digestión se corrieron las muestras en un gel de agarosa al 2.5% con buffer TAE Durante 4horas a 80V.

RESULTADOS

Tabla 1. porcentaje de cepas viables y no viables para análisis.

Total, de aislados	Positivos	Negativos
29	65%	35%

Microcultivos.

Tras la obtención de los micro cultivos observados en el microscopio y se describe su morfología: A) *Trichosporon* spp hongo filamentoso de con pseudohifas y blastoconidos redondos u ovals. B) *Sporothrix* spp hifa delgada con blastoconidos redondos u ovals con gemación única o multiple. C) *Trichophyton* spp hifa gruesa septada, blastoconidos pequeños redondos u ovals. D) *Curvularia* spp hifas septadas dematiáceas, conidioforos simples o ramificados,

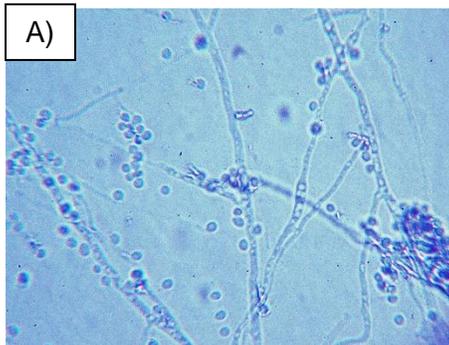


Figura 1. A) microcultivo aislado de zorro (*Trichosporon* spp)

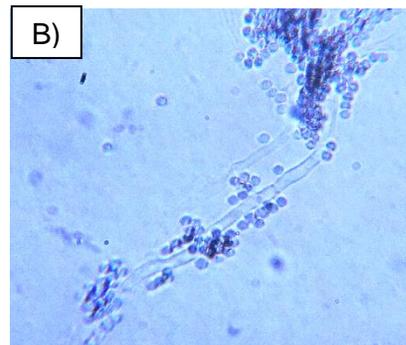


Figura 2. B) microcultivo aislado de tortuga del desierto de Mapimi (*sporothrix* spp)



Figura 3. C) Microcultivo aislado de Dragon barbudo (*Trichophyton* spp)



Figura 4. D) microcultivo aislado de oso negro (*curvularia* spp)

Análisis RFLP

Los 19 muestras procedentes del análisis de restricción al ser analizado con el software CLIQS 1D fue ordenado por medio de un dendograma usando el peso molecular con referencia al marcador molecular de 50bp. Denotando un agrupamiento en 3 ramificaciones principales para las cepas caracterizadas.

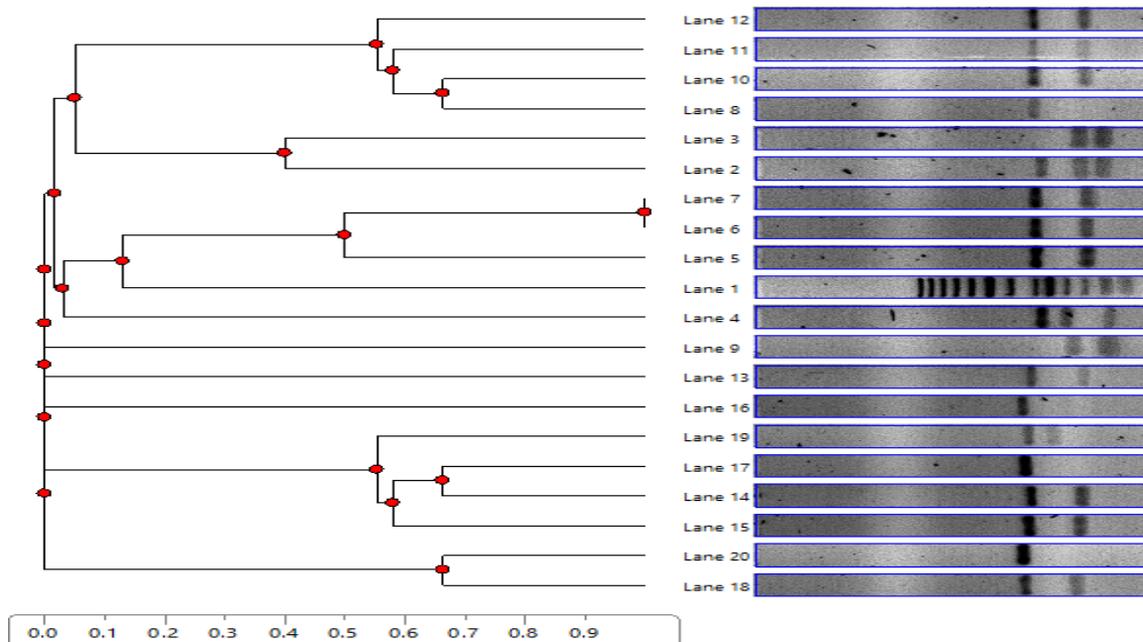


Figura 5. Analisis de Restricción de fragmentos de longitud polimorfica (RFLP) en dendograma el cual muestra que existen 3 grupos diferentes y es ramificado a las similitudes entre carriles.

CONCLUSIONES

Se identificó morfología de diferentes géneros de hongos a nivel microscópico y caracterizo 3 grupos diferentes de las cepas por análisis de RFLP entre los individuos fúngicos que estaban relacionados con los reptiles y mamíferos del zoológico de León.

BIBLIOGRAFIA

Starr, et. al, (2009), *Biología. La unidad y diversidad de la vida*, México: Cengage learning

Schumacher, J. (2003), "Fungal diseases of reptiles", en *Vet Clin Exot Anim*, num 2, vol VI, Mayo, [pp. 415-427]

Marshall, K. (2003), "Fungal diseases in small mammals: therapeutic trends and zoonotic considerations", en *Vet Clin Exot Anim*, num 2, vol VI, Mayo, [pp. 327-335]

Maser, C. 1978, "Fungal- Small Mammal Interrelationships with Emphasis on Oregon Coniferous Forests", en *Ecology*, Núm. 4, Vol. 59, [pp.799-]

Anthony, A. & Walkes, C. (1962) "An improvement in slide culture technique", en *Canadian Journal of Microbiology*, Núm. 6, Vol 8, [pp.929-930]

Costa. A, et. al, (1991), “Rhinofacial zygomycosis caused by *Conidiobolus coronatus*”, en *Mycopathologi*, Núm. 1, Vol. 115, [pp.1-8]

Hervas-Aguilar. A,(2007), “Evidence for the Direct Involvement of the Proteasome in the Proteolytic Processing of the *Aspergillus nidulans* Zinc Finger Transcription Factor PacC”, en *The Journal of Biological Chemistry*, Núm. 48, Vol. 282, [pp.34735-34747]

De Dios. T, et. al, 2013, “Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real”, en *Investigación en discapacidad*, Núm.2, Vol. 2, [pp.70-78]

Botstein. D, et. al, (1980), “Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism”, en *Am JHum Genet*, Núm. 3, Vol. 32, [pp.314-331]

EFFECTO DE LA PROLACTINA EN CIRROSIS INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO

Cuauhtémoc Medellín Luna ¹y Bibiana Moreno Carranza²

RESUMEN

El objetivo principal del proyecto es evaluar el efecto de la prolactina en la cirrosis experimental en un modelo murino. Para tal fin, ratones silvestres y nulos para el receptor de prolactina de 2 meses de edad fueron tratados dos veces a la semana con tetracloruro de carbono (CCl₄) por 11 semanas. Tras el sacrificio se analizó la presencia de fibras de colágeno en los hígados mediante la tinción tricrómica de Masson. Se encontró diferentes tipos de niveles de fibrosis ya que se analizaron las histologías de diferentes animales.

ABSTRACT

The main objective of the project is to evaluate the effect of prolactin in experimental cirrhosis in a murine model. For this purpose, wild mice and null mice for the 2-month-old prolactin receptor were treated twice a week with carbon tetrachloride (CCl₄) for 11 weeks. After the sacrifice, the presence of collagen fibers in the livers was analyzed by means of trichrome masson staining. Different types of fibrosis levels were found that were delayed in the characteristics of different animals.

Palabras Clave: cirrosis\ tetracloruro\ histología\ Tricromica De Masson\ Prolactina

INTRODUCCION

La cirrosis fue en 2005 la tercera causa de muerte en México (1) Y, entre las enfermedades gastrointestinales, la causa noneoplásica más común de muerte en Europa y USA en 2011 (2). La cirrosis ocurre cuando el tejido del hígado cicatriza debido a la inflamación. Conforme la cirrosis empeora disminuye el tejido sano del hígado. La cirrosis es causada por diferentes variables como pueden ser enfermedades hepáticas, aunque pueden pasar muchos años antes del daño hepático genere cirrosis. (3) La cirrosis tiene muchos signos y síntomas que nos ayudan a identificar como lo son la fatiga, picazón intensa en la piel etc. Es posible que estos no aparezcan hasta que el hígado ya se encuentra muy dañado. Las principales causas incluyen enfermedad hepática alcohólica, enfermedad hepática grasa no alcohólica, hepatitis C crónica y hepatitis B crónica. (4) Hay avances recientes de la cirrosis en el tratamiento y en las complicaciones, dan como resultado una mejor calidad de vida y esperanza de vida a pacientes con cirrosis. En la actualidad el trasplante de hígado es la única opción curativa para algún grupo de pacientes, aunque por otro lado se están desarrollando o terapias farmacológicas que pueden retardar la progresión de la cirrosis. (5) Sin embargo en los últimos 30-40 años, el uso del nombre cirrosis que indica una condición irreversible pareciese más inadecuado para describir la etapa avanzada del hígado filogénico crónico. (6) En este trabajo se indujo cirrosis por tetracloruro de carbono que es una hepatoxina potente. Su administración causa daño hepático agudo y se ha usado para el estudio de características morfológicas y bioquímicas de algunas lesiones hepáticas para especificar la esteatosis. El tetracloruro de carbono suele ser tóxico incluso para otros órganos como los riñones y la médula ósea. (7) No hay que pasar de largo el objetivo de estudio de este trabajo que es la hormona prolactina que es probablemente o mayormente conocida por su función de la estimulación de producción de leche en las madres después de dar a luz. Aunque la prolactina también tiene una función especial en el hígado ya que el hígado tiene la mayor cantidad de receptores de esta hormona puesto que permiten que la hormona entre a las células del hígado. Estando la prolactina en el hígado da la indicación a las células de que se multipliquen y que crezcan nuevos vasos sanguíneos para expandir este órgano. Así nace la pregunta de si estas propiedades de la hormona prolactina pudiera ser útil para hacer que el hígado incremente su tamaño después de una cirugía, para ver los efectos que genera en el cáncer u enfermedades hepáticas o para donar tejido. Se trabajó en modelos con animales con ratones que producían exceso de la hormona llamados K.O y ratones criados para no generar este tipo de hormona llamados silvestres para que la hormona no pueda ingresar a las células de estos animales. Se encontró que los animales

¹ Universidad Autónoma De Coahuila, Facultad De Ciencias Biológicas, Calle Vicente Guerrero, La Concha, C.P 27422, Torreón, Coahuila, cuauhtemocmedellin@otlook.com

¹ UNAM Campus Juriquilla, Instituto De Neurobiología, Laboratorio De Endocrinología Molecular, Blvd Universitario, 3001, 76230, Juriquilla, Querétaro, Bibiana.moreno@yahoo.com.mx

con hiperprolactinemia tenían hígados más grandes a comparación de los animales sin esta hormona según se vio regeneraban más rápido y tenían una probabilidad mayor de sobrevivir a la cirugía hepática comprobando así las propiedades benéficas que tiene la hormona. (8)

METODOS Y MATERIALES

El trabajo fue realizado en el laboratorio de neuroendocrinología de la reproducción del Instituto de Neurobiología de la UNAM unidad Juriquilla. Las histologías analizadas para detectar la cirrosis o ciertos niveles de fibrosis en cortes de los hígados, de ratones de dos meses de vida provenientes del Laboratorio Universitario Del Bioterio de la UNAM. Se administraba 2g/kg de tetracloruro o aceite intraperitonealmente dos veces a la semana por un periodo de 4 semanas y al final se realizó el sacrificio obteniendo datos del animal tales como peso, peso del hígado monitoreados sobre el inicio del tratamiento hasta el final. La muestra de tejido hepático será procesado histológicamente mediante la fijación en formalina con 10 % de su concentración y parafina para ser evaluadas mediante la tinción tricromica de masón,. Una vez hecha la tinción se analizan las muestras mediante un programa de visualización de imágenes llamado sacan scope. Para los análisis de histología se basa en la literatura y en ejemplos ya analizados por expertos para seguir los pasos y analizar las muestras tomando los mismos criterios que tomaron los expertos y junto con el apoyo de un médico porensearse se procedió al análisis de las histologías. Una vez teniendo las muestras se procedió al análisis de histologicos según los niveles S0, S1, S2, S3, S4. Estos análisis de histología fueron seleccionadas las mejores muestras, tomándolas como representativas del grupo se puede ver que en los controles en contraste con las muestras de tetracloruro hay daño aparente en distintos niveles de fibrosis.

RESULTADOS

Obtuvimos como resultado de la selección de una muestra representativa de controles y ratones con inducción de tetracloruro para hacer la clasificación. Las clasificaciones de las histologías fue por actividad lobulillar los grados que se tomaron fueron los siguientes; S0, S1, S2, S3, S4. El significado de los grados corresponde, **S0**. Se nota el tejido normal sin daño aparente la tinción no se nota en el tejido. **S1**. Hay tinción la triada, la necrosis parece ser leve y hay fibrosis solo en las venas porta. **S2**. Hay tinción de triada a triada hay septos fibrosis peri-portales o porta-porta, pero con relaciones vasculares intactas. **S3**. La tinción se extiende hacia la vena central se ve el avance de necrosis. **S4**. Nódulos fibróticos, Cirrosis, Necrosis severa, Probable o definitiva cirrosis.

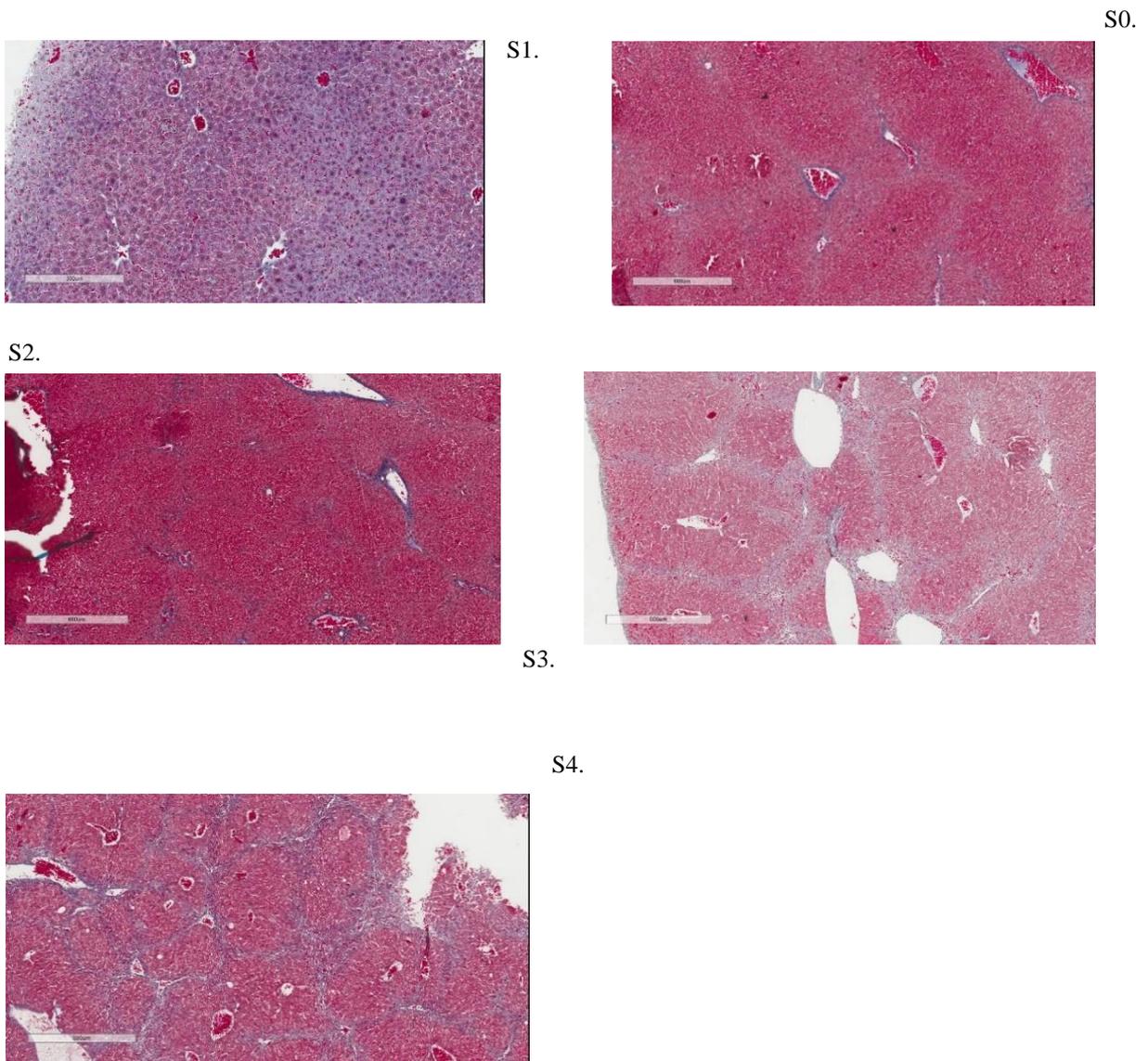


Figura 1. Esta figura representa los diferentes grados de fibrosis según el daño del hígado. S0. Sin fibrosis, S1. Fibrosis limitada a espacios porta, S2. Necrosis leve. S3. Necrosis moderada, S4. Nódulos fibróticos, Cirrosis.

Tabla. 1. Valoración de las muestras.

#Muestra	Valoración
118	S0
112	S0
151	S1
169	S1
146	S1
168	S1
147	S2
160	S3
516	S1
532	S3
505	S3
139	S0
122	S4
198	S4
539	S4
512	S3
542	S3
498	S3
178	S3
199	S3
198	S3
517	S3
191	S3
140	S4
180	S3
127	S3
145	S4
487	S2

Tabla. 2. Porcentajes de los grupos.

Grupo	S0	S1	S2	S3	S4
WT Aceite	50%	50 %	0%	0%	0%
KO Aceite	33.33%	33.33%	33.33%	0%	0%
WT CCL4	0%	5%	0%	85%	10%
KO CLL4	0%	0%	0%	80%	20%

CONCLUSIONES

Lo que podemos concluir de este trabajo fue que al analizar las muestras de los ratones con tetracloruro y aceite se muestra un daño que va desde leve hasta un daño total del tejido del hígado, se demostró que las muestras WT Y KO con aceite muestran un menor daño del hígado a comparación de las WT Y KO con tetracloruro de carbono ya que estas presentan niveles de fibrosis más avanzados o incluso algunas tienen ya fibrosis.

BIBLIOGRAFIA

Libros

Andrew P. Keaveny – Andres Cardenas. (2015). *Complications of cirrhosis*: Springer Editorial (5)

Artículos en línea

Detlef Schuppan and Nezam H. Afdhal Division of Gastroenterology and Hepatology, Beth Israel Deaconess (2008). “Liver Cirrhosis” Medical Center, Harvard Medical School, Boston, 371(9615): 838–851. (3)

Wladimiro Jiménez, Joan Clàriavicente, Arroyo Joanrodés (1992). “Carbon tetrachloride induced cirrhosis in rats: A useful tool for investigating the pathogenesis of fasciitis in chronic liver disease” (6)

<https://liverfoundation.org/for-patients/about-the-liver/diseases-of-the-liver/cirrhosis/#1506366688734-f4365d3f-a09f> (2)

Miniño A, Heron M, Smith B. Deaths: Preliminary data for 2004. *National vital statistics reports*; vol 54 no 19. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. (8)

Bibiana Moreno-Carranza, Maite Goya-Arce (2013) “Prolactin promotes normal liver growth, survival, and regeneration in rodents: effects on hepatic IL-6, suppressor of cytokine signaling-3, and angiogenesis” en Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Querétaro, México. (7)

<http://www.saludgob.mx/unidades/evaluacion/saludmex2006/SM06.PDF> (1)

Novo et al., Cellular and molecular mechanism in liver fibrogenesis. *Arch Biochem Biophys* 548, 29-37 (2014) (4)

PRODUCCIÓN DE MATERIALES MESOPOROSOS PARA LA REMOCIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS EN AGUA

Dalia María Díaz Flores¹ y Dra. Araceli Jacobo Azuara²

RESUMEN

En este proyecto se realizaron distintas pruebas para la adsorción de compuestos tóxicos en el agua tales como Cromo (VI), Flúor y Arsénico (V), por medio de Alúmina y Floccs. Se estudió el comportamiento de adsorción de la alúmina y el floccs a distintas concentraciones de adsorbatos con una masa constante de adsorbente, manteniendo las muestras a una temperatura ambiente de 25°C durante cinco días, midiendo la concentración inicial y la concentración en equilibrio (al termino de los 5 días). Para estudiar el comportamiento de la alúmina en medio ácido, únicamente para Flúor, se realizó otra prueba a un pH 5, con distintas concentraciones de adsorbato y una masa constante de adsorbente manteniendo las muestras a una temperatura de 25°C durante cinco días, midiendo la concentración inicial y la concentración en equilibrio.

Para la caracterización de los adsorbentes se llevaron a cabo distintas técnicas; Capacidad de Intercambio Catiónico que es la capacidad que tiene el material para retener y liberar iones positivos. Punto de Carga Cero, para determinar el pH al cual la carga superficial del material es cero. Difracción de Rayos X, para la identificación de la composición que distingue los compuestos mayores, menores, y de traza presentes en los adsorbentes. Infrarrojo para investigar los compuestos e identificar las muestras de los adsorbentes. Fisisorción N₂ para determinar el área específica y el tamaño de los poros del Floccs.

OBJETIVO

Disminuir compuestos tóxicos en el agua (Cr (VI), F⁻ y As (V)) con materiales adsorbentes como Floccs y Alúmina.

HIPOTESIS

La Alúmina y el Floccs son materiales que, por sus propiedades de textura, adsorben compuestos iónicos y gracias a esto disminuyen la cantidad de contaminantes presentes en el agua, teniendo en cuenta que al aumentar la concentración de contaminantes el material disminuirá su capacidad de adsorción por la saturación de su área superficial.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Guanajuato uno de los problemas más graves que afectan drásticamente a la salud de las personas es la contaminación de agua y las principales causas es debido a que es una zona minera, además de que hay una gran variedad de industrias que arrojan sus aguas residuales a ríos y canales con cantidades significantes de contaminantes y esto puede influir a que el agua de Guanajuato contenga altas concentraciones de contaminantes, de los cuales nos enfocaremos en Arsénico (V), Cromo (VI) y Flúor.

Actualmente, la presencia de estos contaminantes en el agua potable es un grave problema en el estado de Guanajuato, hay comunidades en las cuales se consume agua contaminada con hasta dos o tres veces más concentración de arsénico, cromo o flúor de lo estipulado por las normas oficiales.

Un claro ejemplo es el nivel de flúor presente en el agua, este se encuentra por encima de 1.5ppm, lo cual se establece como el máximo aceptable y que queda evidenciado en daños a la salud tales como la fluorosis dental, afecciones en los neurotransmisores del cerebro y daños en los huesos en diversas comunidades, en Guanajuato se tienen registrados 40 mil a 50 mil casos de fluorosis dental que se manifiesta con el oscurecimiento de la dentadura, mientras la Asociación Médico Dental de San Miguel reconoce que siete de cada 10 niños que atienden presentan una acumulación irreversible. El arsénico es otro contaminante que está presente en grandes cantidades, mayores a los límites permisibles (0.05ppm) afectando principalmente a quienes consumen agua contaminada y una de las

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ingeniería Bioquímica; Carretera Irapuato - Silao km 12.5, Colonia El Copal, C. P: 36824, Irapuato, Gto. ddiazflores8@gmail.com.

² División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Departamento de Química; Noria Alta s/n Colonia Noria Alta, C. P: 36050, Guanajuato, Gto. aazuara@ugto.mx.

principales enfermedades que se da por la exposición prolongada a este es cáncer de piel e incluso cáncer de vejiga y lesiones cutáneas.

Por otra parte el cromo es un compuesto que en su forma hexavalente es altamente tóxico por su reconocido carácter cancerígeno, es la forma química más tóxica, de manera que Cromo(VI) y sus compuestos están clasificados por la IARC (International Agency for Research on Cancer) en el grupo I (carcinógenos confirmados en humanos) ya que existen suficientes evidencias como para relacionar la exposición a cromo hexavalente con el desarrollo de cáncer de pulmón, en algunas zonas del estado de Guanajuato se rebasa el límite máximo permisible de este contaminante en el agua potable (0.05ppm).

Actualmente existen diversos métodos de remoción de estos contaminantes, algunos de ellos muy estudiados y otros en vías de investigación. Los más convencionales son los de tipo fisicoquímico como: adsorción, intercambio iónico, coagulación y procesos de membrana, entre otros. Para la elección del método se consideran las características del agua a tratar, la eficiencia, simplicidad y costos del tratamiento. En este proyecto nos enfocamos en la adsorción que es la propiedad de algunos materiales de fijar en su superficie moléculas extraídas de la fase líquida o gaseosa en contacto con éstos, esta se lleva a cabo mediante tres mecanismos; Fijación por fuerzas de Van Der Waals, Adsorción química entre grupos de diferente polaridad y Acción biológica, debido al crecimiento bacteriano sobre el lecho carbonoso. Los materiales más utilizados son el carbón activado, alúmina activada, resinas sintéticas y los hidróxidos de hierro y aluminio.

Los materiales que utilizamos en este fueron Alúmina que es un material cerámico muy versátil, sus propiedades la hacen especialmente apta para aplicaciones en donde la temperatura es un factor crítico, además de su relativa facilidad para adaptarse a diversos trabajos y usos, que se obtiene de la explotación del yacimiento a cielo abierto, sin voladuras. El mineral se obtiene directamente de los diferentes bloques del yacimiento con el fin de obtener la calidad requerida del mineral. Además, se utilizó otro material; Floccs Es un conglomerado de partículas sólidas que se genera a través de los procesos de coagulación y floculación, está constituido en primer lugar por los sólidos que se separan del agua, así como también por los sólidos que aporta el coagulante.

Estos dos adsorbentes fueron utilizados para remover contaminantes en agua además de que se caracterizaron por distintos métodos con el fin de conocer su estructura y sus propiedades.

METODOLOGÍA

Materiales adsorbentes

La prueba de adsorción de Cr (VI), As (V) y F⁻ con Alúmina y Floccs se llevó a cabo con soluciones de 5ppm, 10ppm, 20ppm, 50ppm, 100ppm y 150ppm con cada uno de los adsorbatos.

Para la de Cr (VI) se preparó una solución de Dicromato de Potasio (K₂CrO₇) realizando los cálculos correspondientes tener una solución a 1000ppm de Cr (VI), de esta manera se pesaron 1.4154g de K₂CrO₇, se disolvieron en 500ml de agua desionizada y a partir de ahí se prepararon las muestras a las distintas concentraciones. Para el Flúor se preparó una solución patrón a 1000ppm de F⁻ a partir de Fluoruro de Sodio (NaF), se pesaron 1.1053g de NaF, se disolvieron en 500ml de agua y finalmente se prepararon las muestras a distintas concentraciones. Las muestras de Arsénico se prepararon a partir de una solución patrón de As a 1000ppm, de esta se tomaron diferentes volúmenes para preparar las muestras a las distintas concentraciones.

A cada tubo se le agregaron 0.5g de Floccs y 40ml de las soluciones a 5ppm, 10ppm, 20ppm, 50ppm, 100ppm y 150ppm de Cr (VI), F⁻ y As (V) respectivamente, llevando a cabo el mismo procedimiento y cantidades para la prueba con Alúmina, teniendo de esta manera 36 tubos, los cuales se mantuvieron a una temperatura constante de 25°C durante 5 días. Al término de este periodo se midieron las concentraciones iniciales, C₀, (sin muestra de Floccs o Alúmina) y las concentraciones finales; C_{eq}, (concentraciones con muestra de Floccs y alúmina al pasar de los 5 días).

Efecto de pH sobre pruebas de adsorción de F⁻ por Alúmina

Se agregaron 0.5g de material adsorbente y 40 ml de solución de F⁻ a 5ppm, 10ppm, 20ppm, 50ppm, 100ppm y 150ppm, respectivamente en distintos tubos y se mantuvieron a pH 5 con una solución de HCl a 0.1N y NaOH 0.1N y se mantuvieron a 25°C durante 5 días.

Determinación de la concentración

Las muestras de Cr (VI) se leyeron en un Espectrofotómetro de rayos UV a 540 nm. El F⁻ se cuantificó con el método de ión selectivo con un potenciómetro Orion 4 StarThermoElectronCorporation en el laboratorio de Toxicología en la Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato, Unidad Noria Alta. El método utilizado para la cuantificación de As (V) fue el de Adsorción atómica.

Método para determinar el equilibrio de adsorción

De acuerdo con los resultados de las concentraciones obtenidos de cada contaminante, se determinó la capacidad de adsorción, q, con la ecuación (1)

$$q = \frac{v(C_0 - C_{eq})}{m} \quad (1)$$

Donde:

q: Capacidad de adsorción.

V: Volúmen de la solución.

C₀: Concentración inicial.

C_{eq}: Concentración en equilibrio.

m: Masa del material adsorbente.

Métodos de caracterización de los materiales adsorbentes

Capacidad de Intercambio Catiónico.

Para la caracterización de los materiales se utilizaron distintas técnicas; Capacidad de intercambio catiónico, esta técnica consistió en saturar al Floccs y Alúmina respectivamente con iones Na⁺ y enseguida con iones NH₄⁺. El procedimiento se llevó a cabo en un matraz Erlenmeyer de 200ml, al cual se le agregaron 50ml de la solución de NaCH₂COOH 1N y 1g del adsorbente, Floccs y Alúmina respectivamente en dos matraces, la solución y el material se dejaron en contacto durante 24 horas, después de este tiempo se añadieron 50 ml más de NaCH₂COOH y 24 horas después de agregaron 50 ml más de NaCH₂COOH para tener un volúmen final de 150 ml, 24 horas después el material se separó y se lavó tres veces con alcohol isopropílico. Después el mismo material se puso en contacto con 50 ml de NH₄CH₂COOH 1N durante 24 horas, pasado este tiempo se agregaron 50 ml más de NH₄CH₂COOH, después de 24 h se agregaron 50 ml más de NH₄CH₂COOH para tener un volumen final de 150 ml de solución. De esta solución se tomaron muestras para analizarlas por Adsorción atómica para determinar la cantidad de sodio presente.

Infrarrojo

La técnica de Infrarrojo consistió en analizar las muestras de Alúmina y Floccs de los tubos utilizados en el experimento de adsorción de Cr (VI), F⁻ y As (V) a 150ppm, para esto se separó la solución del material y este último se mantuvo en el Horno de secado a 75°C durante 24 horas para posteriormente llevar las muestras al Espectrofotómetro de Infrarrojo FTIR Bruker modelo Tensor 27.

Punto de Carga Cero

Técnica de Punto de Carga Cero, para esta se prepararon soluciones con volúmenes de 0.2 ml, 0.4 ml, 0.6 ml, 0.8 ml, 1 ml, 1.5 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml y 5 ml de NaOH 0.1N y otras con los mismos volúmenes, pero de HCl 0.1N, todas las soluciones se aforaron a 50 ml, con una solución de NaCl, de cada una de estas soluciones se tomaron 12 ml y se agregaron a tubos con 0.05g de Floccs respectivamente. Las soluciones y el material se mantuvieron en contacto durante 5 días, agitando durante 1 hora a diario con un agitador magnético, a cada muestra se midió el pH inicial y el pH final.

Fisorción N₂

Para obtener el área superficial y las propiedades de textura del Floccs se llevó a cabo la técnica de Fisorción de N₂, en el laboratorio de Fisorción de la Facultad de Química de la Universidad de Guanajuato, Unidad Noria Alta.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Isotermas de Adsorción de Floccs y Alúmina

En la Figura 1 y 2 se muestran los resultados de la prueba de adsorción de los contaminantes en el agua por medio de Floccs y Alúmina, hubo una disminución representativa de los adsorbatos respecto a la concentración inicial de los mismos, los isotermas muestran la capacidad de adsorción de los materiales, se observa representativamente que la Alúmina tiene mayor capacidad de adsorción respecto al Floccs, además es importante observar que ambos materiales adsorben mucho más al As (V) después al F⁻ y un poco menos al Cr (VI). Claramente se muestra que al aumento de la concentración de contaminante la capacidad de adsorción de los materiales llega a un punto de equilibrio, es decir tienen una capacidad de adsorción máxima la cual dependerá del adsorbato y del adsorbente, este límite se debe a que el área superficial del adsorbente se satura de adsorbato y este mismo ya no puede adsorber al llegar a su punto de saturación.

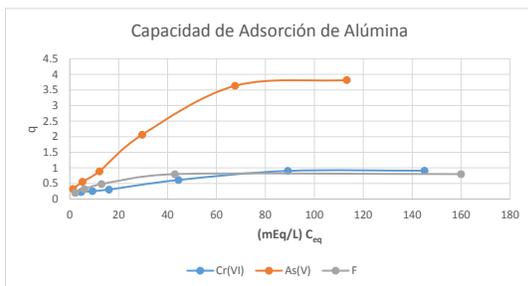


Figura 1. Isoterma de adsorción de Alúmina

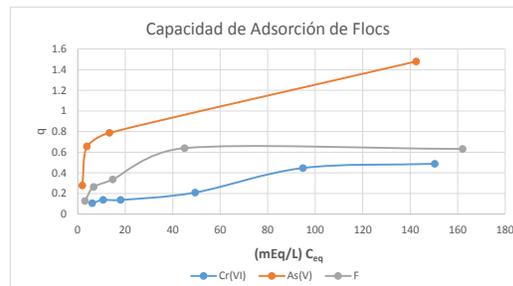


Figura 2. Isoterma de adsorción de Floccs.

Efecto de pH en la prueba de Adsorción de F⁻

La figura 3 muestra la diferencia de capacidad de Adsorción de Alúmina a pH normal y pH 5, en la figura 4 se muestra la diferencia de capacidad de adsorción de Floccs a pH normal y pH 5, en ambas se observa claramente que existe un aumento de capacidad de adsorción al mantener un pH ácido, esto gracias a que al tener un pH bajo se aumenta la atracción entre el material adsorbente y el ión F⁻.

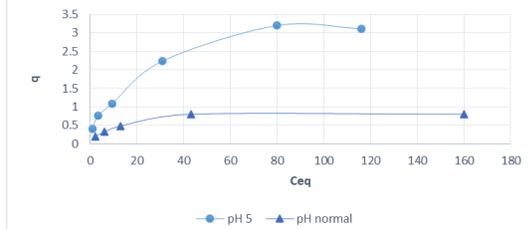


Figura 3. Isoterma de adsorción de Flúor por Alúmina

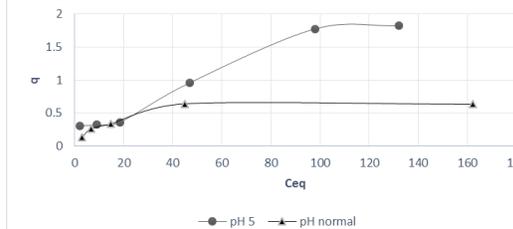


Figura 4. Isoterma de adsorción de Flúor por Floccs

Capacidad de Intercambio Catiónico

Esta prueba se realizó para mostrarla capacidad que tiene la Alúmina para retener y liberar iones positivos. El cálculo se realizó con la formula (2)

$$CIC = \frac{[Na^+](V)(100)}{(m)(PM_{Na})} \quad (2)$$

Se mostró efectividad por parte de la Alúmina ya que se obtuvo una $CIC = 1637.554 \frac{mg}{mol}$ este dato muestra que la Alúmina tiene una alta capacidad para intercambiar cationes. Por otra parte con Floccs se obtuvo una $CIC = 975.78 \frac{mg}{mol}$

Infrarrojo

En la Figura 5 se muestra el espectro Infrarrojo de la Alúmina, en esta se observa una banda ancha e intensa en un número de onda elevado de 3450 cm^{-1} lo cual corresponde al estiramiento de un OH, en la región de $1700\text{-}1400 \text{ cm}^{-1}$

se observa una banda débil que corresponde a un Al-O, otra región de importancia es la de 1000-500cm⁻¹ se ve una banda ancha y moderada que corresponde a un Al-O-Al.

En la Figura 6 se muestra el espectro Infrarrojo de Floccs se observa una banda ancha e intensa en la región de 3000-3800cm⁻¹ que corresponde a un OH, una región que se destaca es la de 1121cm⁻¹ en la cual observamos una banda intensa que nos lleva a pensar que corresponde a un grupo carboxilo de estiramiento simétrico similar a un Ester.

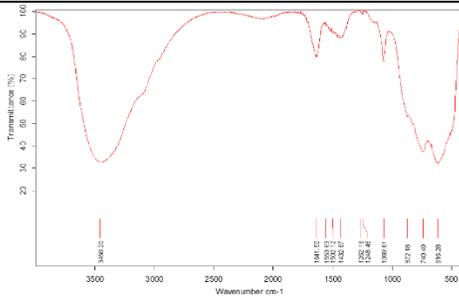


Figura 5. Espectro infrarrojo de Alúmina

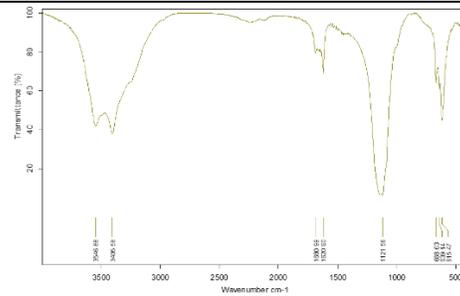


Figura 6. Espectro infrarrojo de Floccs

Punto de Carga Cero

La Figura 7 muestra el Punto de carga cero del material adsorbente el cual se obtiene a un pH de entre 7 y 8, es decir a este pH el material cambia su Carga superficial.

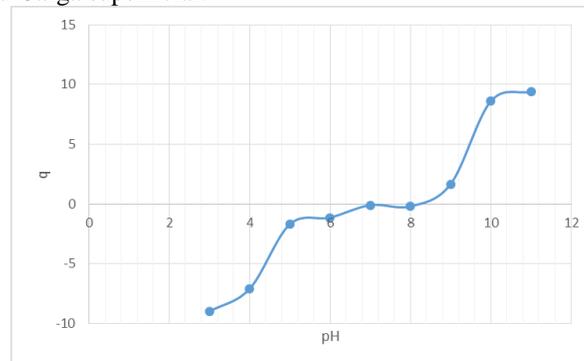


Figura 7. Punto de Carga Cero del material adsorbente

Fisisorción N₂

Gracias a las pruebas de Fisisorción N₂ se obtuvo el área superficial del material adsorbente, esta se llevó a cabo únicamente para el Floccs, la cual se obtuvo de 6.41485 m²/g. con este resultado se puede deducir que el material es buen adsorbente, pero en comparación con la Alúmina no lo es tanto ya que esta tiene un área superficial entre 45 y 75 m²/g.

CONCLUSIONES

La Alúmina mostró mayor capacidad de adsorción respecto al Floccs, ambos materiales adsorbieron significativamente pero una de las características que definen esta capacidad es el área superficial del material, la Alúmina tiene mayor área superficial es por ello que se mostró mayor capacidad por parte de este adsorbente, otra característica que definió esta capacidad de adsorción fue el pH de la solución, con la prueba que se llevó a cabo únicamente con Flúor modificando el pH, se comprobó que al mantener las muestras a un pH ácido se aumenta la capacidad de adsorción gracias a que al tener un pH ácido se tiene mayor atracción entre el adsorbente y el adsorbato.

De nuevo la alúmina demostró tener una excelente CIC al obtenerse un valor representativo de este, por parte del Floccs se observó un resultado poco efectivo.

Los materiales adsorbentes Alúmina y Floccs están compuestos por grupos funcionales similares, lo cual nos lleva a pensar que ambos tienen la capacidad de adsorción.

La carga superficial del material es dependiente del pH del medio en el que se encuentre a menor pH la carga superficial aumenta y a mayor pH la carga disminuye, el Floccs muestra tener un punto de carga a un pH neutro.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] (2001) Teorema Ambiental Revista Técnico Ambiental, es una publicación de 3W México. Miguel de Mendoza No. 35 Col. Merced Gómez, C.P. 01600. México, Distrito Federal.
- [2] Proyecto CTM2012-34988. Ministerio de Economía y Competitividad. "Procesos fotocatalíticos y de adsorción para la eliminación de contaminantes preferentes (arsénico y cromo) en sistemas acuosos". URJC.
- [3] Olaiz F. G., (1995) 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". Secretaria de salud.
- [4] Castro M. L. (2005). Remoción de arsénico en el agua de bebida y biorremediación de suelos. Hojas de divulgación técnica. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. 96:2-5
- [5] Cartwright P. S. (2010). Tratamiento y reúso del agua en aplicaciones comerciales industriales. Agua Latinoamericana. 9:1-5.
- [6] Caballero, P., Gail, S., Garrido, M., Lage, G., Vilela, B. (2003). Técnicas de tratamientos de Agua. Primera edición del premio Miliarum al mejor trabajo Universitario. Tercer Curso de Ingeniería Técnica Industrial. Universidad Autónoma de Madrid.
- [7] Bustamante G. A., (2015) Consideraciones para diseño de Floccs. SerquimasaIngenieria transparente.

“EVALUACION DE DUREZA DE MATERIALES FOTOCURABLES BASADOS EN SISTEMAS EPOXI-GRAFENO” 20° VCRC

Daniel Enrique Espinosa Cardona y M.C Aida Esmeralda García Valdez.

RESUMEN:

Se realizó un análisis de dureza, tomando en cuenta 2 factores, las cuales se basan en concentraciones de 2 variables (GRAFENO Y TIOLENE), esto con el fin de encontrar una relación o significancia en cada uno de ellos, así también observar si existe una relación entre las dos variables, esto con la ayuda de un método estadístico FACTORIAL AXB con 2 repeticiones, que nos dará a conocer cual método es el más óptimo para encontrar la dureza de nuestro material. De esta forma encontrar las mejores condiciones para nuestro objetivo principal el cual es la dureza. El estudio se llevó a cabo usando un Durómetro tipo D marca TPC, con las condiciones de ASTM Designation: D2240-15, en donde podemos decir que este método de prueba se basa en la penetración de un tipo específico de indentor cuando se fuerza al material en condiciones específicas. La dureza de la indentación está inversamente relacionada con la penetración y depende del módulo elástico y del comportamiento visco elástico del material.

ABSTRACT:

A hardness analysis was carried out, using the same conditions, taking into account 2 factors, which are based on concentrations of 2 variables (GRAFEN and TIOLENE), this in order to find a relationship or significance in each of them, as well as also observe if there is a relationship between the two variables, this with the help of a statistical method FACTORIAL AXB with 2 repetitions, which will let us know which method is the most optimal to find the hardness of our material. In this way we find the best conditions for our main objective, which is hardness. Using a TPC type D Durometer, under the conditions of ASTM Designation: D2240-15, we can say that this test method is based on the penetration of a specific type of indenter when the material is forced under specific conditions. The hardness of the indentation is inversely related to the penetration and depends on the elastic modulus and the viscoelastic behavior of the material. The geometry of the indenter and the applied force influence the measurements so that there is no simple relationship between the measurements obtained with a type of durometer and those obtained with another type of durometer or other instruments used to measure the hardness. This test method is an empirical test designed primarily for control purposes. There is no simple relationship between the hardness of the indentation determined by this test method and any fundamental property of the tested material.

Palabras Claves: Grafeno, Tiol-ene, Dureza.

INTRODUCCION:

Nuestro objetivo principal de esta investigación es el encontrar las concentraciones óptimas para tener un material con la mayor dureza posible a base de el Grafeno y entrecruzado mediante el sistema Tiol-ene.

La dureza es la oposición que ofrecen los materiales a alteraciones físicas como la penetración, la abrasión y el rayado. En la actualidad la definición más extendida aparte de los minerales y cerámicas sería la resistencia a la deformación plástica localizada.

El grafeno es una sustancia compuesta por carbono puro, con átomos dispuestos en un patrón regular hexagonal, similar al grafito. Es un material opaco. Una lámina de un átomo de espesor es unas 200 veces más resistente que el acero actual más fuerte, siendo su densidad más o menos la misma que la de la fibra de carbono, y unas cinco veces más ligero que el aluminio.

1 Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) Dirección: Ing. Cárdenas Valdez S/N, República, 25080 Saltillo, Coah.
Teléfono: 844 416 9213

2 Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna Hermosillo # 140, San José de los cerritos, C.P: 25294, Coah, Saltillo. Teléfono: (844) 4-38-98-30; Fax: 844-4-38-98-39; aida.garcia@ciqua.edu.mx

La resina epoxica es uno de los polímeros termo endurecibles ampliamente utilizados en la producción de materiales compuestos avanzados debido a sus excelentes propiedades, que incluyen buena estabilidad dimensional, resistencia química, rigidez y bajo costo de procesamiento.

METODO Y MATERIAL:

Las formulaciones se sometieron a una serie de pasos, el inicio fue pesar la cantidad indicada de Grafeno se mezcló con resina epoxica (Badge) y con AIA4, nuestro resultado de mezcla se llevó a un sonificador marca QSOICA modelo Q-500. En las formulaciones foto curables se ajustó para obtener compuestos con 5%, 10 y 15% p / p considerando todo el componente de la formulación. Una vez que el epoxi / GNP dispersión estaba lista, se agregó el sistema de tiol-ene. El sistema de tiol-ene incluyó el agente de curado ALA4, el tiol multifuncional PTKMP y la foto iniciador DMPA. Ambos ALA4 y PTKMP son tetra funcionales, y por lo tanto fueron añadido en una proporción equimolar junto con DMPA a 3.5 mol% con respecto a los moles del tiol. Este sistema de tiol-ene Se añadió a la resina epoxi en proporciones molares que varían de 20, 30 y 40% mol con respecto a los moles de la resina epoxica. Una vez que la dispersión epoxi / GNP estaba lista, el agente de curado ALA4 y DMPA se agregaron a esto dispersión. Se añadió TIOL tetra funcional PTKMP como el último componente de la formulación con el fin de prevenir la gelificación prematura

PLANTEAMIENTO DE HIPOTESIS:

Utilizando un 95% de confianza en nuestras pruebas tomamos en cuenta que muestras hipótesis son:

<u>HIPOTESIS DE GRAFENO</u>
Ho: CONCENTRACION GRAFENO 15% = CONCENTRACION GRAFENO 10% = CONCENTRACION GRAFENO 5%
Ha: CONCENTRACION GRAFENO 15% ≠ CONCENTRACION GRAFENO 10% ≠ CONCENTRACION DE GRAFENO 5%

<u>HIPOTESIS DE TOLIENE</u>
Ho: CONCENTRACION TOLIENE 40% = CONCENTRACION TOLIENE 30% = CONCENTRACION TOLIENE 20%
Ha: CONCENTRACION TOLIENE 40% ≠ CONCENTRACION TOLIENE 30% ≠ CONCENTRACION DE TOLIENE 20%

<u>INTERACCION</u>
Ho: NO HAY INTERACCION ENTRE LAS CONCENTRACIONES
Ha: SI EXISTE UNA INTERACCION ENTRE LAS CONCENTRACIONES

Se rechaza la hipótesis nula si el valor de p asociado al resultado observado es igual o menor que el nivel de significación establecido, convencionalmente 0,05. Es decir, el valor p nos muestra la probabilidad de haber obtenido el resultado que buscamos si suponemos que la hipótesis nula es cierta. Esta hipótesis nula es la que se somete a comprobación, y es la que se acepta o rechaza, como la conclusión final de un contraste. Puede surgir de diversos modos (Por discusiones teóricas, o como modelo teórico, o por la experiencia, o por intuición, etc.). Esta hipótesis nula lleva consigo una hipótesis alternativa, denotada por Ha. La hipótesis alternativa será la que se acepta si se rechaza Ho y viceversa.

El experimento se lleva a cabo como cualquier experimento con un diseño de bloques al azar. Para cada una de las variables que se desea estudiar en el experimento.

1 Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) Dirección: Ing. Cárdenas Valdez S/N, República, 25080 Saltillo, Coah.
Teléfono: 844 416 9213

2 Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna Hermosillo # 140, San José de los cerritos, C.P: 25294, Coah, Saltillo. Teléfono: (844) 4-38-98-30; Fax: 844-4-38-98-39; aida.garcia@ciqa.edu.mx

FACTOR A:
1= GREFENO AL 15 %
2= GRAFENO AL 10%
3= GRAFENO AL 5%
FACTOR B:
1= TOLIENE AL 40%
2= TOLIENE AL 30%
3= TOLIENE AL 20%
REPETICIONES
1
2

EXPERIMENTOS FACTORIALES.

Los experimentos factoriales se utilizan para evaluar el efecto conjunto de dos o más factores. Cuando se evalúan dos o más factores en forma conjunta, es posible estimar la interacción entre ellos. Además, si no hay interacción entre los factores, se estima con mayor precisión los efectos principales, comparado con experimentos independientes en donde se evalúan los factores por separado.

El estadístico que estamos utilizando es el Factorial AXB con tres niveles cada uno y 2 repeticiones. Teniendo como resultados de dureza, la siguiente tabla 1, en donde muestra todas las unidades experimentales realizadas, con sus combinaciones y repeticiones, siendo A el factor de concentración de Grafeno y siendo B la concentración de Tiol-ene, en la columna "Y" se muestra las cantidades de dureza en Unidades Shord D

RESULTADOS:

A	B	Rep.	Y
1	1	1	78
1	1	2	70
1	2	1	86
1	2	2	74
1	3	1	77
1	3	2	73
2	1	1	76
2	1	2	76
2	2	1	80
2	2	2	80
2	3	1	86
2	3	2	85
3	1	1	80
3	1	2	75
3	2	1	85
3	2	2	85
3	3	1	81
3	3	2	82

FV	GL	SC	CM	Fc	Sig
Bloques	1	46.722	46.722	4.745	0.061
Factor A	2	86.111	43.056	4.372	0.052
Factor B	2	116.778	58.389	5.929	0.026
A x B	4	71.889	17.972	1.825	0.217
Error	8	78.778	9.847		
Total	17	400.278			

A	Media
1	76.333
2	80.500
3	81.333

B	Media	0.05
2	81.667	a
3	80.667	a
1	75.833	b
DMS	4.178	

AxB	Media
11	74.000
12	80.000
13	75.000
21	76.000
22	80.000
23	85.500
31	77.500
32	85.000
33	81.500

Tabla 1.

CONCLUSION

Como nuestro objetivo principal es encontrar la Mayor dureza de nuestro material, podemos decir que nuestro factor determinante es el % de Grafeno, con la concentración del 5% encontramos la mayor dureza y la menor con el 15%, a su vez encontramos que la concentración de Tiolene tiene una igualdad de relevancia en la dureza en las concentraciones de 40 y 30% teniendo la mayor dureza entre estos dos, podemos observar que existe una relación entre la concentración de grafeno y tiolene significativa para nuestro objetivo principal, teniendo como mejor combinación para dureza (2,3), es decir Grafeno al 10% con 20% de Tiolene. La geometría del indenter y la fuerza aplicada influyen en las mediciones de modo que no existe una relación simple entre las mediciones obtenidas con un tipo de durómetro y las obtenidas con otro tipo de durómetro u

1 Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) Dirección: Ing. Cárdenas Valdez S/N, República, 25080 Saltillo, Coah. Teléfono: 844 416 9213

2 Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna Hermosillo # 140, San José de los cerritos, C.P: 25294, Coah, Saltillo. Teléfono: (844) 4-38-98-30; Fax: 844-4-38-98-39; aida.garcia@ciqa.edu.mx

otros instrumentos utilizados para medir la dureza. Este método de prueba es una prueba empírica destinada principalmente para fines de control. No existe una relación simple entre la dureza de la indentación determinada por este método de prueba y cualquier propiedad fundamental del material probado.

BIBLIOGRAFIA:

Young Gyu Jeong and Ji-Eun An (2014), " Microstructure and Electrical Property of Epoxy/Graphene/MWCNT Hybrid Composite Films Manufactured by UV-Curing"

Jiacheng Wei, Thuc Vo and Fawad Inam (2015), " Epoxy/graphene nanocomposites – processing and properties" en RSC Advances pag (73511).

D2240-15 Standard Test Method for Rubber Property-Durometer Hardness.

CAPACIDAD PROMOTORA DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS CON BACTERIAS DE SUELO DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA CERRO DEL CULIACÁN

Daniela Guadalupe Hernández Bautista¹ y Blanca Estela Gómez Luna²

RESUMEN

En el presente documento de investigación muestran los resultados obtenidos en el experimento de germinación de rábano (*Raphanus sativus*) y girasol (*Helianthus annuus*) en tratamiento con bacterias aisladas del área natural protegida cerro del Culiacán, con la finalidad de favorecer el crecimiento a un corto plazo. Las bacterias promotoras de crecimiento tienen un papel muy importante en el desarrollo de las plantas, ya que forman relaciones simbióticas facilitando la toma de nutrientes mejorando el desarrollo radicular, por lo que se han aislado y puesto a prueba para mejorar la planta desde que está en semilla. La cepa que tiene el potencial de facilitar la germinación y desarrollo de rábano fue G-215 desde el primer día y para girasol fue G-304. Para desarrollo radicular son mejores distintas cepas aisladas G-302 y G-313.

ABSTRACT

This document shows the results obtained in the germination experiment of radish (*Raphanus sativus*) and sunflower (*Helianthus annuus*) in treatment with bacteria isolated from the protected natural area of Culiacán hill, in order to promote growth in the short term. The growth promoting bacteria have a very important role in the development of the plants, since they form symbiotic relationships facilitating the taking of nutrients improving the root development, so they have been isolated and put to the test to improve the plant since it is in seed. The strain that has the potential to facilitate the germination and development of radish was G-215 from the first day and for sunflower was G-304. Different isolated strains G-302 and G-313 are better for root development.

Palabras clave: Germinación, fitohormonas, BPCP.

INTRODUCCIÓN

El área natural protegida del Cerro del Culiacán cuenta con propiedades naturales que auxilian el desarrollo de las plantas ya que cuenta con distintas especies de importancia forestal con un total de 63 especies en protección.

Se han realizado estudios con bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP), estas bacterias pueden ser favorables en el desarrollo de la planta o bien pueden funcionar como control biológico contra fitopatógenos. Se plantea el poder usar bacterias en semillas para mejorar la germinación, el desarrollo de raíz y una buena fijación de nutrientes con el objetivo de ayudar en la agricultura a tener una buena cosecha e implementarlo en el control de patógenos a manera de biofertilizante ya que beneficia incrementando la actividad enzimática de la planta o “ayudando” a otros microorganismos benéficos para que actúen de mejor manera sobre las plantas (Bashan y Holguin, 1990).

MÉTODOS Y MATERIALES

Obtención de bacterias aisladas de suelo del Cerro de Culiacán, Guanajuato: se agregaron 10 gr de suelo en 90 ml de agua estéril (1:10) y se mantuvo en agitación por 2 h a 250 rpm y se dejó sedimentar por 30 min. Del tubo se tomó una muestra y se inoculó en placas con medio selectivo ACC con el sembrador de colonias

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ing. Bioquímica, Carretera Irapuato-Silao km 12.5, colonia El Copal, C.P. 36821, Irapuato, danielahdzb97@gmail.com

² Universidad de Guanajuato, Depto. de Ingeniería Agroindustrial, Av. Mutualismo Esq. Prol. Río Lerma S/N, C.P.38060, Celaya, Guanajuato.

semi-automático Automatic Spiral Sample Plater, interscience, Medio para ACC desaminasas: Para preparar un litro se agregaron 4g KH_2PO_4 , 6g NaHPO_4 , 0.2g MgSO_4 , 10mg FeSO_4 , 50mg H_3BO_3 , 10mg de MnSO_4 , 50mg de CuSO_4 , 10mg de MoO_3 , 70mg de MgSO_4 , glucosa al 0.2%, ácido glucónico al 0.2%, ácido cítrico al 0.2%, 303.3 gr/mol de ACC y para solidificar se agregó 2% de agar bacteriológico

Se hizo una tinción Gram para revisar la morfología de las bacterias: Se colocó de una asada de inóculo sobre un porta objetos para hacer un frotis y se dejó secar al aire, se agregó cristal violeta dejándolo actuar por un minuto y se enjuagó al chorro de agua, después se dejó actuando el lugol por un minuto, destañir con alcohol-cetona y se agregó safranina por un minuto, enjuagar al chorro de agua.

Preparación de medio caldo extracto de papa: 200 gr de papa se hirvieron por 20 min en 1L de agua destilada y después el líquido se filtró con algodón y gasa, se agregó glucosa al 2% y ajustar el volumen hasta completar 1L, posteriormente se esterilizó por 15 min a 15lb de presión.

Se inocularon las bacterias en 15 mL de caldo extracto de papa y se incubaron a 28°C por 24 horas. Para las pruebas de germinación, se colocaron 10 semillas de las plantas rábano (*Raphanus sativus*) y girasol (*Helianthus annuus*) en cada tubo falcón con la bacteria ya desarrollada y se agitó por 30 min a 250 rpm. Después las semillas se pasaron a cajas Petri de vidrio con sanitas húmedas con agua estéril y se midió el porcentaje de germinación cada 24 horas por 5 días para rábano y girasol.

RESULTADOS

Se tomaron 25 cepas para el experimento de germinación para rábano con dos controles y se eligieron 9 de las mejores cepas y un control para girasol, se realizó una tinción Gram para observar su forma, se obtienen 14 bacterias Gram positivo y 11 Gram negativo como se observa en la tabla 1, entre las formas encontramos bacilos y cocos por lo que hay una diversidad en la morfología.

Tabla 1. Tinción Gram de las bacterias.

Gram positivo		Gram negativo	
102	264	109	258
106	265	112	266
111	275	119	302
113	303	208	312
213	304	225	
215	306	254	
263	313	256	

En el caso de la semilla de rábano se tuvo una germinación más rápida desde el día 1 entre 60 y 90% de las semillas y en un caso especial la cepa *G-215 fue de 100% comparado con el control A que solo fue del 40% ya que el uso de BPCP promueven la rápida germinación (figura 1), sin embargo algunas no superan al control B. en el caso de girasol a los 5 días de medición el control (semilla sin bacteria) se tuvo una germinación del 40% por lo que en semillas con una cubierta gruesa no son factibles el uso del tratamiento.



Figura 1. Germinación y desarrollo de la cepa G-215

Algunas cepas empleadas en rábano como G-111, G-208, G-312 y G-119, al primer día promovieron una germinación del 90% y al segundo o tercer día se llegó al 100. Al quinto día del experimento, los rábanos con tratamiento de bacterias germinaron desde un 80 a 100% en comparación con el control A que solo gemino 70%. Los datos de control A y B al primer día se obtuvieron germinación del 40% y 100% respectivamente, y al último día con germinación de 70% y 100%.

Las semillas con tratamiento tuvieron un mejor desarrollo radicular ya que las fitohormonas promueven la capacidad de las bacterias de fijar nitrógeno y mejorar el crecimiento. La mayoría de las cepas usadas en Rábano superan el control ya que tuvieron mayor longitud en promedio de radícula y mayor biomasa, la mejor de las cepas para un crecimiento mayor en pocos días fueron G-302 con 14.12 cm de radícula de rábano y la cepa 313 para girasol con 20.67 cm y una biomasa de 0.86 gr (tabla 2). En la comparación de las cepas contra el control se pudieron notar que el uso de bacterias en rábano beneficiara el tamaño de la raíz.

Para girasol la germinación fue lenta ya que al primer día solo cepas como la G-304 y G-113 fue una semilla germinada y a los cinco días no se obtuvo más del 50% por lo que no es factible el uso de BPCP desde semilla para girasol (tabla 3), lo que da lugar a experimentar cuando la planta ya este desarrollada y auxiliar en su desarrollo.

La relación planta-bacteria mejora la radícula de rábano, a pesar de que al día cinco se obtuvieron germinaciones del 100% tanto control B como la mayoría de las cepas, sin embargo, el desarrollo de la radícula fue mayor con el empleo de BPCP y se obtiene datos promedio desde 10 hasta 14 centímetros de largo. En la figura 2 se compara el crecimiento de la radícula de cada semilla germinada, la cepa G-258 (figura 2.A) germinó el 100% de rábano, en promedio del desarrollo de radícula es de 11.94 cm de largo con un total de biomasa de 1.26 gr y en el caso de la cepa G-104 un largo de la radícula de 11.22 cm y 1.14 gr de biomasa, el control A con el que fueron comparadas dichas cepas es de 10.16 cm de largo de la radícula y una biomasa de 0.99 gr.

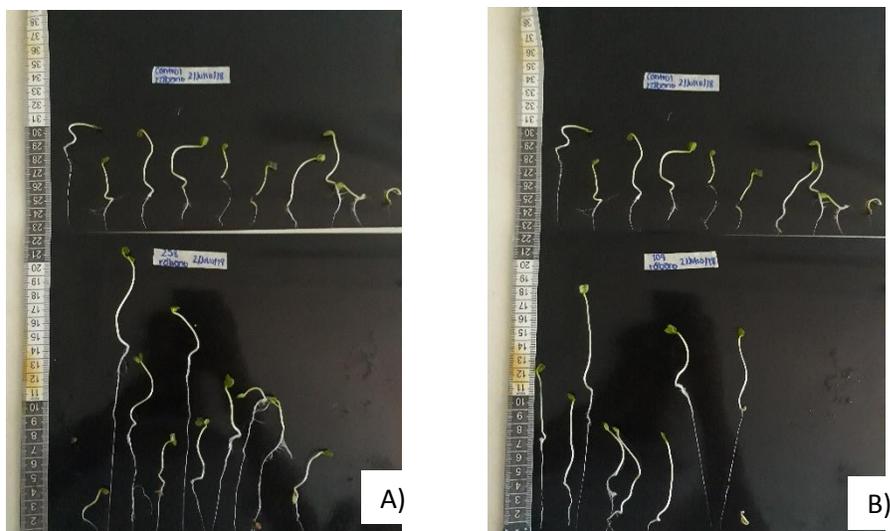


Figura 2. A) Ceba G-258 en comparación con el control A. B) Ceba G-109 en comparación con el control A.

Tabla 2. Datos de la radícula de rábano

cepa	promedio (cm)	Peso fresco (gr)	Peso seco (gr)	Biomasa (gr)
G-263	12.59	0.67	0.05	0.62
G-111	13.44	1.26	0.06	1.2
G-109	11.22	1.18	0.04	1.14
G-303	11.64	1.19	0.06	1.13
G-208	11.36	1.2	0.09	1.11
G-258	11.94	1.32	0.06	1.26
G-306	11.08	1.22	0.07	1.15
G-266	8.03	0.84	0.05	0.79
G-213	8.54	0.78	0.03	0.75
G-215	10.11	1.26	0.05	1.21
G-102	6.1	0.79	0.04	0.75
G-312	11.4	1.23	0.05	1.18
G-119	10.69	1.24	0.03	1.21
G-112	11.19	1.23	0.04	1.19
G-106	10.94	0.68	0.04	0.64
G-265	7.07	0.8	0.06	0.74
G-225	10.47	0.85	0.08	0.77
G-113	13.03	1.08	0.06	1.02
G-313	6.78	0.79	0.05	0.74
G-254	10.9	1.33	0.05	1.28
G-302	14.12	1.11	0.05	1.06

G-304	10.38	0.9	0.04	0.86
G-275	8.4	0.9	0.06	0.84
G-256	9.75	0.82	0.05	0.77
G-264	7.1	0.87	0.04	0.83
control A	10.16	1.04	0.05	0.99
control B	7.06	0.65	0.04	0.61

La cepa G-302 empleada en rábano ayudo a germinar la semilla en un 70% y beneficio en el desarrollo y crecimiento de la planta con 14.12 cm en promedio de las semillas. En girasol la cepa con mayor longitud de radícula es de 20.67 cm. Las relaciones simbióticas que se generan ayuda a proporcionar fitohormonas que benefician a la raíz.

Tabla 3. Desarrollo radicular de girasol

cepa	Promedio (cm)	Peso fresco (gr)	Peso seco (gr)	Biomasa (gr)
G-313	20.67	0.91	0.05	0.86
G-265	9.10	0.69	0.04	0.65
G-256	17.25	0.45	0.03	0.42
G-302	10.80	0.47	0.03	0.44
G-275	14.50	0.57	0.03	0.54
G-254	9.53	0.43	0.04	0.39
G-225	14.40	0.28	0.02	0.26
G-113	2.25	0.11	0.03	0.08
G-304	12.20	0.27	0.01	0.26
Control	18.93	0.74	0.03	0.71

CONCLUSIÓN

Las bacterias aisladas promueven el desarrollo de la planta desde la semilla haciéndolas germinar más rápido en semillas pequeñas con cascara delgadas, y favorecen al desarrollo radicular obteniendo más fuerza al crecer.

BIBLIOGRAFÍA

- Bashan Y, H Levanony (1990) Current status of Azospirillum inoculation technology: Azospirillum is a challenge for agriculture. Can. J. Microbiol.
- Alarcón, A., & Ferrera-Cerrato, R. (2000). Biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura. Agricultura Técnica en México, 26(2), 191-203.

FUNCIONALIZACIÓN Y CONTROL DE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA GENERAR MECANOTRANSDUCCIÓN EN CÉLULAS

Dávalos Ruedas, D¹ y Moctezuma Martiñón, R²

RESUMEN

Las partículas magnéticas y su manipulación externa a través de campos magnéticos es una técnica novedosa a la cual se le han encontrado diversas aplicaciones en el área biotecnológica. Esta técnica puede ser implementada en partículas magnéticas funcionalizadas, es decir, en partículas con un recubrimiento en su superficie a partir de ligandos específicos que les permitan unirse a receptores de membrana. Con esta interacción ligando-receptor específica y haciendo uso de las propiedades superparamagnéticas de las partículas se puede conseguir la manipulación en la mecánica del receptor misma que podría causar diversos efectos en funciones celulares como la migración, diferenciación, comunicación, proliferación y/o apoptosis que dependen de la activación de vías de señalización, es decir, que ocurra una mecanotransducción.

ABSTRACT

Magnetic particles and their external manipulation through magnetic fields is a novel technique to which diverse applications in the biotechnological area have been found. This technique can be implemented in functionalized magnetic particles, that is, in particles with a coating on their surface from specific ligands that allow them to bind to membrane receptors. With this specific ligand-receptor interaction and making use of the superparamagnetic properties of the particles, manipulation in the receptor mechanics itself could be achieved that could cause diverse effects in cellular functions such as migration, differentiation, communication, proliferation and / or apoptosis they depend on the activation of signaling pathways, that is, a mechanotransduction occurs.

Palabras Clave: partículas magnéticas, mecanotransducción, funcionalización, mecanoreceptores, purificación.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas magnéticas (que pueden tener una conformación orgánica o inorgánica) tienen una gran aplicación en la mecanotransducción debido al tamaño y a la afinidad biológica las cuales le permiten la correcta interacción ligando-receptor. A esta escala las partículas contienen solo una región que podrá magnetizarse de manera uniforme, además de que el campo externo que se les puede aplicar es compatible con el que la célula *in vivo* puede recibir.

Al inducir un campo magnético sobre las partículas, los momentos magnéticos de cada partícula se alinean gracias a sus propiedades superparamagnéticas lo cual causa una activación en canales iónicos o en receptores de adhesión célula-célula. Cuando se aplica un campo magnético este empuja o jala a las partículas ocasionando que estas le impriman pequeñas fuerzas al enlace ligando-receptor. Se ha demostrado que este estímulo mecánico puede activar cascadas de señalización (vías de mecanotransducción) en la célula.

Los mecanoreceptores son receptores sensibles a una presión o distorsión mecánica que activan proteínas de señalización que puede tener efectos en apoptosis, comunicación, contracción, diferenciación celular entre otros. Gracias a este tipo de receptores podemos vincular un tipo de señal bioquímica con la fuerza física que se está aplicando y obtener incluso una mejora en tratamientos terapéuticos. Sin embargo, una mala manipulación de esta actividad mecánica en los receptores sensibles podría tener efectos contrarios a los deseados.

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias; Lateral Av. Salvador Nava, Col. Lomas, CP 78290, MÉXICO, S.L.P., druedas02.1@gmail.com

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de física, Departamento o dependencia; Lateral Av. Salvador Nava, Col. Lomas, CP 78290, MÉXICO, S.L.P., rosario.moctezuma@gmail.com

La apoptosis o muerte celular se puede generar por vías extrínsecas o intrínsecas, ambas interconectadas entre sí. En la vía externa el proceso ocurre por la interacción ligando-receptor localizados en la membrana. Los receptores de muerte utilizados en esta vía apoptótica son del tipo transmembranales que corresponden a la familia de proteínas TNF (Tumor Necrosis Factor) que al unirse a ligandos específicos (TRAIL) activan la vía desencadenando muerte celular. (L. Bryan, 2015) (Medina, Olivares , & Moctezuma, 2018)

Para poder llevar a cabo la funcionalización de las partículas con el ligando se requiere de pasos previos. Al obtener la proteína esta puede venir acompañada de otras proteínas y/o diversas moléculas naturalmente por lo que es necesario llevar a cabo un proceso de purificación. Este proceso consta de varias etapas preliminares: extracción, precipitación, solubilización diferencial y ultracentrifugación. (Perez-Ruiz E., 2016)

La finalidad de estas etapas es obtener y separar a la proteína de interés del resto, cabe mencionar que para las proteínas integrales de membrana se requiere de un paso adicional en la precipitación y solubilización diferencial, que consiste en la ruptura de la membrana para aislar al resto de las proteínas. La purificación depende de la solubilidad, tamaño, carga y afinidad de unión de la proteína de interés y se utilizan estas propiedades para obtener mejores resultados.

MÉTODOS Y MATERIALES

i. EL PROCESO FÍSICO

Para llevar a cabo el presente proyecto se construyeron dos arreglos experimentales; pinzas magnéticas que permitan llevar partículas magnéticas a sitios específicos, y un arreglo con bobinas. Se determinó cuál de los dos arreglos permiten una mejor manipulación de las partículas. Se realizaron distintos experimentos con magnetita mineral y partículas micrométricas para encontrar los parámetros necesarios para formar cadenas, hacerlas girar, desplazarse, y vibrar. Por otra parte, se fabricó la pinza magnética conformada por un núcleo de acero, una bobina con cobre magneto calibre 20 y considerando que la punta debe ser lo más fina posible para intensificar el campo. Finalmente, se realizaron distintas pruebas con los parámetros encontrados en los experimentos anteriores para manipular a las partículas magnéticas.

Para poder llevar a cabo la primera parte del proyecto se hizo uso del siguiente material y equipo: fuente de poder, par de bobinas, pinza magnética, magnetita mineral en polvo y micropartículas magnéticas. Las partículas magnéticas pueden tomar distintas trayectorias dependiendo de la dirección del campo magnético, la corriente, el arreglo (horizontal o vertical) de las bobinas, la frecuencia, amplitud y el tipo de señal que se está utilizando. El campo va en dirección perpendicular al dipolo magnético de la partícula dando como resultado el movimiento de la partícula. Con las partículas de escala nanométrica, es complicado observar de manera acertada el movimiento que buscamos generar. Es por eso que, se utilizó magnetita mineral de 10 micras, y partículas sintetizadas de 1 micra de diámetro formada por óxido de hierro lo cual le confiere propiedades superparamagnéticas. Estas partículas nos sirven como modelo para poder visualizar el efecto que tiene sobre el movimiento de las partículas al introducir el campo y la señal adecuada.

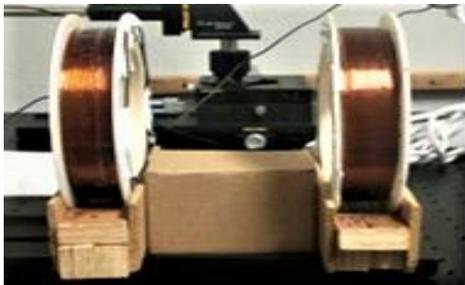


Figura 1. Arreglo de las bobinas



Figura 2. Pinza magnética con 2656

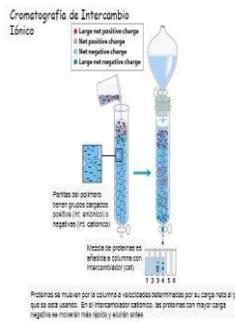
En la figura 1 se puede observar que el arreglo de bobinas para identificar la señal está en horizontal y en paralelo. La corriente se dirige hacia adentro y el campo magnético apunta a la derecha. Debido al campo magnético, las partículas se alinean y serán atraídas por gradientes de campo logrando su desplazamiento.

El tipo de señal colocado en la fuente tendrá efecto en la trayectoria que sigan. Esto con el fin de obtener el movimiento adecuado que deben sufrir las partículas ya funcionalizadas para realizar la mecanotransducción. También se hicieron pruebas con la pinza magnética que se construyó (Fig. 2).

Cabe mencionar que mover partículas por debajo de una escala micrométrica requiere de un campo más potente. Uno de los polos de la pinza magnética tiene una punta larga y afilada que deberá estar a una distancia cercana de las partículas como se muestra en la figura 2. Las líneas del campo provenientes de la punta polar salen y entran al otro polo, por lo tanto el gradiente de campo será más fuerte en la punta; si aumentamos el número de vueltas en la bobina y la punta es más fina el campo es mayor.

ii. PROCESO BIOLÓGICO

Para poder obtener TRAIL se requiere de un proceso de purificación por cromatografía de intercambio iónico utilizando sus propiedades de ácido-base, solubilidad y la carga de la proteína. Al separar la proteína del resto de los componentes celulares requiere de una determinada concentración de sal que posteriormente puede ser removida (si es necesario) por diálisis que separa a las moléculas pequeñas a través de una membrana semipermeable y solo deja pasar iones o moléculas aún más pequeñas, así precipitará únicamente la proteína.



(Caroline, 2016)

Figura 3. Cromatografía por intercambio iónico

La proteína se une a una resina de carga contraria para tener un acoplamiento por cargas opuestas. Posteriormente se podrán eluir ya sea por variación del pH hasta alcanzar el PI (punto isoeléctrico) o por gradiente iónico añadiendo el contraion correspondiente.

RESULTADOS

i. EL PROCESO FÍSICO

El primer experimento se realizó con magnetita mineral y balines de acero ya que permite observar fácilmente el movimiento que la señal puede provocar en las partículas.

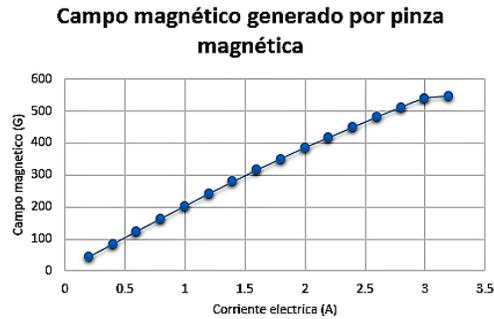


Figura 4. La gráfica muestra una correspondencia casi lineal entre el campo magnético y la corriente eléctrica

Fue necesario realizar varias pruebas que ayudarán a determinar los parámetros que podían afectar el movimiento de las partículas tales como el tipo de fluido (considerando su densidad y viscosidad), la morfología del recipiente, intensidad del campo magnético, el tipo de señal y el arreglo de bobinas que facilitarán su trayectoria.



Figura 5, a) Magnetita mineral en polvo y b) Desplazamiento de la magnetita hacia los polos siguiendo una trayectoria similar a la senoidal

Se comprobó que con una densidad de 1g/cm^3 , un arreglo horizontal de bobinas y una señal con variaciones en amplitud y periodo obteniendo como resultado pulsos y flancos las partículas adquieran un movimiento que favorece la mecanotransducción. Este tipo de señal permite que la trayectoria de las partículas tenga fluctuaciones mientras se desplaza hacia un gradiente de campo más intenso.



Figura 6. Formación de clusters a partir de balines de acero.

En la figura 5 inciso a) se puede observar que la magnetita encuentra las líneas del campo y se alinean. Debido al tipo de señal, la magnetita comienza a desplazarse hacia los polos como se muestra en b). Se realizó

la prueba con balines de un milímetro de diámetro bajo las mismas condiciones de densidad, tipo de arreglo de bobinas y tipo de señal.

La prueba con balines de escala micrométrica bajo las mismas condiciones de densidad, tipo de arreglo de bobinas y tipo de señal muestran la formación de clusters que pueden variar en longitud además de presentar un desplazamiento hacia un gradiente de campo con mayor intensidad y una trayectoria que refleja pulsos (figura 6). Estas pruebas nos sirven para poder entender lo que podría pasar a nanoescala con los parámetros ya establecidos.

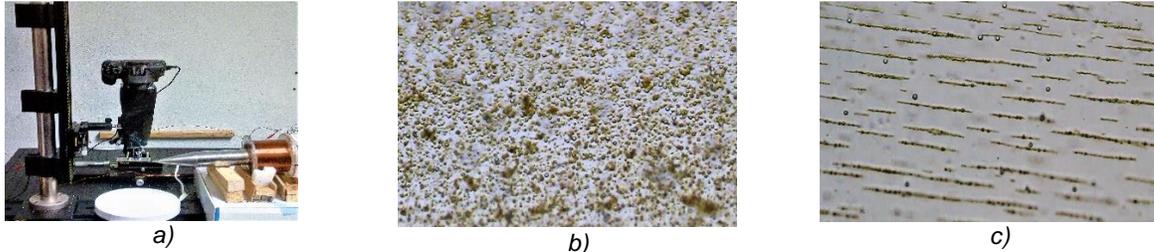


Figura 7, a) Arreglo con microscopio y pinza magnética, b) Partículas magnéticas antes de inducir el campo y c) Partículas magnéticas encontrando las líneas del campo con una señal senoidal y una corriente menor a 1 Ampere

Se fabricó la pinza magnética y se probó con balines, magnetita en polvo y partículas magnéticas de 1 micra para comprobar que el diseño era el apropiado y con esto obtener el movimiento deseado. Sin embargo, se observó que si reducimos el tamaño de las partículas manteniendo el mismo campo y señal las partículas no reaccionan de la misma manera, es decir, entre más pequeñas requieren de un mayor campo, además de que la señal provoca distinto efecto en ellas (fig 7).

ii. PROCESO BIOLÓGICO

Se siguió un protocolo para purificar a proteína ligando 41-TRAIL en rosetta que consta de los siguientes pasos: tomar la pastilla con la proteína (previamente procesada), se agregan 10 mL de buffer PBS con pmsF en solución (30 mg con 600 mL de DMSO), posteriormente se lleva al vortex para homogeneizar la muestra. Después se lleva a sonicar 6:40 min y 20 seg de pulso con descanso de 20 seg. Se toman tres muestras que contengan fracción total, sobre nadante y el no unido, cada tubo contendrá 40 ml de muestra con 10 ml BC respectivamente. Los tubos se centrifugaron con 10 300 rev durante 15 min.

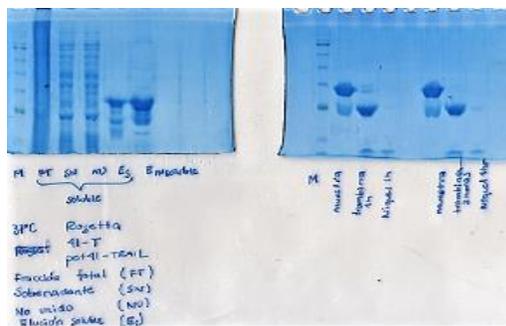


Figura 8. Geles de poliacrilamida con muestras de fracción total, sobrenadante y el no unido a 37°C, 30°C y 15°C

Se toma la muestra del sobrenadante en el cual se hizo una resuspensión del pelet y se pasa por columna (a presión) en donde se agregan diferentes buffers y se realizan diferentes lavados para mantener a la proteína en su estado estable. Por último se preparan geles de poliacrilamida para correr la muestra, estos geles permitirán observar la presencia de la proteína de interés durante nuestro proceso.

CONCLUSIONES

Con los diversos experimentos y pruebas tanto en el proceso físico y biológico podemos concluir: La señal podría estar formada por pulsos y ondas periódicas para que el movimiento de las partículas sea el adecuado para nuestro propósito. Las nanopartículas requieren de un campo mucho mayor a las de escala micrométrica, ya que a medida de que disminuye su escala resulta más difícil controlarlas. El equipo necesario para facilitar el proceso de mecanotransducción podría ser la pinza magnética que se construyó. Siguiendo el protocolo de purificación de nuestra proteína de interés (TRAIL) en rosetta se logra ver una gran cantidad de proteína. Se realizó la purificación de forma soluble e insoluble (ambas utilizando cultivos de rosetta) a diferentes condiciones de temperatura y se observó un resultado más favorable en el procedimiento soluble

BIBLIOGRAFIA

- Caroline, R. (2016). Purificación de proteínas. *Labome*.
- L. Bryan, R. (2015). Tumor suppressor p53 linked to immune function. *Science*, 349, 476-477.
- Medina, I. C., Olivares, V. I., & Moctezuma, R. E. (2018). Señalización Magnética. San Luis Potosí, San Luis Potosí.
- Perez-Ruiz E., L. J. (2016). Evaluation of different strategies for magnetic particle functionalization with DNA aptamers. *ncbi*.
- N. J. Sniadecki, Minireview: A tinytouch: Activation of cell signaling path ways with magnetic, nanoparticles, *Endocrinology*, 151(2):451-457 (2010).

OBTENCIÓN DE MAGHEMITA A PARTIR DE LA SÍNTESIS DE MAGNETITA Y SU APLICACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE NANOFERRITAS DE ZINC EN EL PROCESO DE ALEADO MECÁNICO.

David Alejandro Vázquez Duron¹ y Dr. Jorge Carlos Ríos Hurtado²

RESUMEN

Las partículas de óxido de hierro han tenido un creciente interés en los campos de la nanociencia y nanotecnología para aplicaciones en industria química, la biotecnología, la medicina, los nuevos materiales y el electromagnetismo. Se sintetizó magnetita por el método de coprecipitación (150 °C), posteriormente se modificó térmicamente a diferentes temperaturas para la obtención de magemita a 150, 200 y 250°C durante 3 horas. Se comprobó que la muestra M₁ a 150°C presentó una estructura cristalina típica de la magemita una vez sintetizada y tratada térmicamente, menor tamaño de partícula (10.35nm), mayor magnetización de saturación (64.5 emu/g) y mejor coercitividad (9.6Oe). La magemita como material útil en aplicaciones biomédicas y su utilización en el proceso de aleado mecánico.

ABSTRACT

Iron oxide particles have had a growing interest in the fields of nanoscience and nanotechnology for applications in chemical industry, biotechnology, medicine, new materials and electromagnetism. Magnetite was synthesized by the Coprecipitation method (150 °C), then it was modified thermally at different temperatures to obtain maghemite at 150, 200 and 250 °C for 3 hours. It was found that the sample M₁ at 150 °C presented a crystalline structure typical of maghemite once synthesized and heat treated, smaller particle size (10.35 nm), higher saturation magnetization (64.5 emu/g) and better coercivity (9.6 Oe). Maghemite as a useful material in biomedical applications and its use in the process of mechanical alloyed.

Palabras clave: óxidos de hierro, magemita, tratamientos térmicos, nanopartículas.

INTRODUCCION

El hierro, es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre (5%), como metal de transición que es, el uso más extenso del hierro (fierro) es para la obtención de aceros estructurales; también se producen grandes cantidades de hierro fundido y de hierro forjado. Entre otros usos del hierro y de sus compuestos se tienen la fabricación de imanes, tintes (tintas, papel para heliográficas, pigmentos pulidores) y abrasivos (colcotar). Este tiene la capacidad de formar diversos óxidos, algunos de los cuales han sido usados por la humanidad desde hace mucho tiempo.

Las partículas de óxidos de hierro han ganado un gran interés en los campos de la nanociencia y nanotecnología debido a las propiedades fisicoquímicas nuevas y únicas que se obtienen de acuerdo a su tamaño de partícula (efecto de tamaño cuántico), morfología (esférica, cilíndrica, elipsoidales, etc.) y forma ingenieril (película, nanocristales autoensamblados, ferrofluidos, etc.).

El óxido de hierro sintético se crea por la reacción química que se produce al añadir determinados ácidos a la chatarra, sometida a ciertas temperaturas y presión. Se crea una pasta que obtendrá una u otra tonalidad dependiendo del ácido y la temperatura empleada. Esta pasta ha de secarse y molturarse, para su posterior envasado y comercialización. La diferencia del óxido de hierro sintético con el óxido de hierro natural radica esencialmente en el proceso de fabricación.

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 km. 5, C.P. 25720 Monclova, Coahuila, david_du_ron@hotmail.com

²Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 km. 5, C.P. 25720 Monclova, Coahuila, jorgerios@uadec.edu.mx

Se presentan como óxidos, hidróxidos u oxihidróxidos con o sin agua de hidratación y en estado ferroso o férrico, con variedad de propiedades físicas, como aislantes, semiconductores y conductores; antiferromagnéticas, paramagnéticas o ferrimagnéticas; todo ello se debe a las diferentes formas de cristalización, como el amorfismo de la limonita y el hexagonal desordenado de la ferroxihíta, como también el ordenamiento ortorrómbico de goethita y lepidocrocita y el cúbico de espinela invertida de la magnetita y de la magemita.

Magnetita

La magnetita, de fórmula Fe_3O_4 , $\text{Fe}^{\text{II}}\text{O}\cdot\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_3$ o $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_4$, se conoce como tetróxido de trihierro u óxido ferroso férrico y su color es negro. De fórmula general AB_2O_4 del grupo de la espinela ($\text{MgO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$). Es cúbica, con parámetro $a_0 = 8,3963 \text{ \AA}$, ferrimagnética y semiconductor. El oxígeno forma la red cúbica de caras centradas, deja 32 espacios octaédricos y 64 tetraédricos; los octaédricos están ocupados por Fe^{2+} y Fe^{3+} , y los tetraédricos por Fe^{3+} . El hierro supone el 72,4 % y el oxígeno el 27,6 % en masa. A temperatura elevada puede cambiar ligeramente debido a que la red puede aceptar un exceso de iones trivalentes. Los iones ferrosos y férricos de las posiciones octaédricas comparten los electrones de valencia, lo que permite que sea un compuesto frecuentemente no estequiométrico y de elevada conductividad eléctrica.

Magemita

La magemita es $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, de color marrón, formada por partículas octogonales, de carácter semiconductor a aislante y ferrimagnética, por lo que también se la conoce como hematita magnética. Es cúbica, de parámetro $a_0 = 8,322 \text{ \AA}$, con estructura de espinela. Poco abundante en la naturaleza, se puede obtener por oxidación de la magnetita o por deshidratación de la lepidocrocita.

Las nanopartículas magnéticas más utilizadas e investigadas hasta el momento son las partículas con núcleo magnético formado por óxido de hierro, debido fundamentalmente a sus propiedades magnéticas y a su sencillo proceso de síntesis. Típicamente estas nanopartículas están formadas por magnetita (Fe_3O_4) o magemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanocristalinas aisladas por una cubierta polimérica. Además, por sus propiedades magnéticas, la utilidad de las nanopartículas de óxido de hierro viene dada por su alta biocompatibilidad y fácil biodegradación en el organismo. Después de ser metabolizadas, los iones de hierro de estas partículas son añadidos a los depósitos de hierro del organismo y eventualmente son incorporados por los eritrocitos como parte de la hemoglobina.

METODOLOGÍA

Síntesis de magnetita (Fe_3O_4) por coprecipitación química

Para la síntesis de esta ferrita, se mezclaron $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2:1) en 50 mL de agua desionizada. Por otro lado, se colocaron 150 mL de agua desionizada en un matraz bola de 500 mL y se calentó a $70 \text{ }^\circ\text{C}$, en agitación constante. Una vez que se alcanzó la temperatura, se agregaron 50 mL de hidróxido de amonio concentrado, con el fin de propiciar un medio básico en la solución, y se dejó en agitación y calentamiento hasta alcanzar una temperatura de $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Posteriormente, se agregó gota a gota, la mezcla de cloruros de hierro a la solución básica y se dejó en agitación constante durante media hora.

Una vez transcurrido el tiempo, el precipitado obtenido se lavó con 2 L de agua desionizada, con el fin de eliminar el exceso de cloruros y se dejó secar a temperatura ambiente durante 3 días. Finalmente, el producto obtenido se lavó con 1 L de agua desionizada y 250 mL de etanol y se dejó secar a temperatura ambiente.

Modificación térmica de la magnetita para la obtención de magemita

Para la obtención de magemita, se realizaron tratamientos térmicos de la magnetita sintetizada previamente, en una mufla marca FELISA. En la Tabla 1, se presentan las variables probadas en este trabajo.

Muestra	Temperatura	Tiempo
M ₁	150 °C	3 h
M ₂	200 °C	3 h
M ₃	250 °C	3 h

Al finalizar el tratamiento térmico. Las muestras se enfriaron en un tiempo lento, para favorecer la cristalinidad de las partículas. Finalmente, se dejaron en un desecador para las pruebas posteriores.

Caracterización de los materiales obtenidos

Las muestras se caracterizaron mediante técnicas de difracción de rayos X (DRX), para conocer la estructura cristalina y magnetometría de muestra vibrante (MMV), para determinar las propiedades magnéticas de las ferritas obtenidas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la finalidad de determinar las propiedades magnéticas, se realizaron las magnetometrías correspondientes a las muestras de magnetita sintetizada para la obtención de magnetita y los tres tratamientos térmicos: 150 °C (M₁), 200 °C (M₂) y 250 °C (M₃).

En la Figura 1, se presentan las magnetometrías para las 4 muestras sintetizadas. En este gráfico, podemos observar claramente un comportamiento superparamagnético de todas las muestras, y además en la Tabla 1, se presentan los valores numéricos obtenidos de este gráfico, en donde los valores de coercitividad están muy cercanos a 0, debido al superparamagnetismo.

Además, es de importancia destacar, que la magnetización disminuye, de acuerdo a los datos de la Tabla 1, conforme se realiza el tratamiento térmico a la muestra de magnetita (69.2 emu/g). Esto puede ser debido a un arreglo de los átomos debido a la temperatura, lo que genere una cristalinidad más alta y por ende una disminución en los valores de magnetización. Dentro de las muestras tratadas térmicamente, la M₁, la cual se trató a 150 °C, presentó una mayor magnetización de saturación.

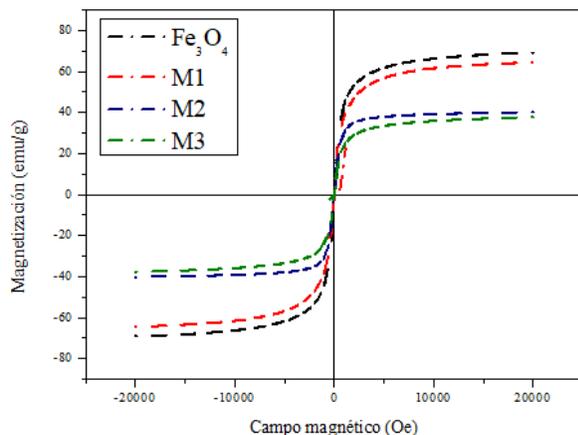


Figura 1. Gráfico de las magnetometrías para las ferritas sintetizadas

Tabla 1. Propiedades magnéticas de las ferritas sintetizadas

Muestra	Magnetización (emu/g)	Coercitividad (Oe)
Fe ₃ O ₄	69.2	10.3
M ₁	64.5	9.6
M ₂	40.1	8.9
M ₃	37.7	8.7

Se probaron las muestras en la técnica de difracción de rayos X (DRX). En la Figura 2, se presentan los difractogramas de las muestras tratadas térmicamente. Conforme la temperatura aumenta (M₂: 200 °C y M₃: 250 °C), existe la aparición de nuevas señales referentes a óxidos metálicos, y además la cristalinidad aumenta, observado en la señal de 32.7 ° (2θ). Se ha demostrado, que la temperatura permite el rearrreglo atómico en las muestras sintetizadas y fomenta la cristalinidad.

Por otro lado, la muestra que presentó la estructura cristalina típica de la magemita, una vez sintetizada y tratada térmicamente (150 °C), fue la M₁. Al ser una temperatura relativamente baja, permitió mantener la estructura típica de espinela inversa de una magnetita y además se observó un ligero corrimiento en las señales, el cual ha demostrado ser debido a la presencia de la fase magnetita y magemita, lo que indica que no se llevó una conversión del 100 %. Por esto, se puede deducir que la magnetización de saturación se mantuvo relativamente igual que la de la magnetita sintetizada.

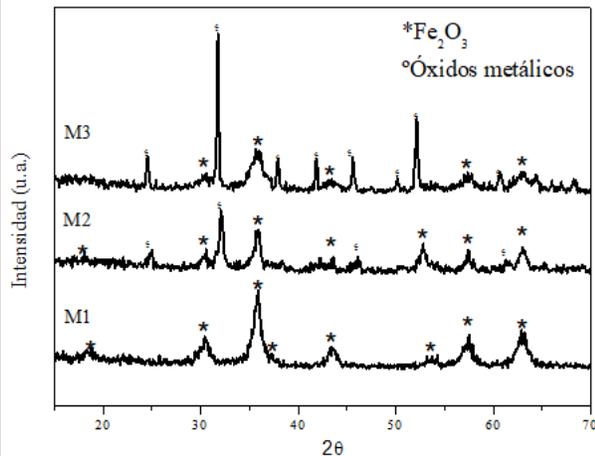


Figura 1. Patrones de DRX de las ferritas obtenidas

Tabla 2. Tamaños de partícula obtenidos por la ecuación de Scherrer para las ferritas sintetizadas

Muestra	Tamaño de partícula (nm)
M ₁	10.35
M ₂	12.54
M ₃	13.89

Finalmente se calculó mediante el pico de mayor intensidad en la M₁ (36.7 °), el tamaño de partícula. Conforme a lo establecido en la literatura, se reconoce que después de un tratamiento térmico, el tratamiento de partícula aumenta, al aumentar la temperatura. Los resultados concuerdan, donde se observa que el tamaño de partícula más alto es la M₃ (13.89 nm), la cual se trató térmicamente a 250 °C, durante 3h. Estos tamaños de partícula son adecuados para aplicaciones biomédicas, ya que partículas muy grandes, serían rechazadas por el organismo.

CONCLUSION

Fue posible sintetizar la magnetita a temperaturas relativamente bajas (150°C) debido a que permitió mantener la estructura típica de espinela inversa de una magnetita, presentó una mayor magnetización de saturación y un tamaño de partícula adecuado para ser utilizado posteriormente en aplicaciones biomédicas. Las muestras sintetizadas pueden ser utilizadas en el proceso de aleado mecánico para la obtención de ferritas de zinc.

BIBLIOGRAFÍA

J.G. Castaño y C. Arroyave. (23 de Abril de 1997). “La funcionalidad de los óxidos de hierro” en Rev. Metal Madrid, 34 (3), 1998 Consultada en: <http://revistademetalurgia.revistas.csic.es/index.php/revistademetalurgia/article/download/794/808> (fecha de consulta 14/08/2018).

Puca Pacheco, Mercedes, Guerrero Aquino, Marco, Tacuri Calanchi, Enrique, López Campos, Raúl G., “SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS OBTENIDAS POR PRECIPITACIÓN EN MICROEMULSIÓN INVERSA PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS” Revista de la Sociedad Química del Perú [en línea] 2013, 79 (Abril-Junio) : Consultada en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937631002> ISSN 1810-634X (fecha de consulta 14/08/2018).

Jacqueline Corredor Acuña y Félix Echeverría Echeverría. (Septiembre de 2007). “SÍNTESIS DE ÓXIDOS DE HIERRO NANOPARTICULADOS” de Scientia et Technica Año XIII, No. 36 Consultada en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4802708.pdf> (fecha de consulta 14/08/2018).

Chengyin Fu y Nuggehalli M. Ravindra. (27/06/2012). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and applications. 14/08/2018, de ICE Institution of Civil Engineers Publishing Sitio web: https://www.researchgate.net/publication/270430151_Magnetic_iron_oxide_nanoparticles_Synthesis_and_applications (fecha de consulta 14/08/2018).

José Luis Hernández-Rivera, José de Jesús Cruz Rivera, Sergio Eliseo Hernández, Carlos Gamaliel Garay Reyes, Carlos Saúl Valero Montalvo, Roberto Martínez-Sánchez. (2013). La tecnología del aleado mecánico y su importancia en la actualidad., de Materiales Avanzados Sitio web: https://www.researchgate.net/publication/273515108_La_tecnologia_del_aleado_mecanico_y_su_importancia_en_la_actualidad (fecha de consulta 14/08/2018).

Eileen Gribouski, Rafael Jaimes y Professor C. Sotak, Ph.D.. (April 30th, 2009). The Use of Iron-oxide Nanoparticles for Hyperthermia Cancer Treatment and Simultaneous MRI Monitoring. De Worcester Polytechnic Institute Departament of Biomedical Engineering Sitio web: <https://pdfs.semanticscholar.org/1ddf/b8bf63b743a1e09af8c891b6614f2bc47cd5.pdf> (fecha de consulta 14/08/2018).

Amanda K. Andriola Silva, Ana Espinosa, Jelena Kolosnjaj-Tabi, Claire Wilhelm, and Florence Gazeau. (2017). Medical Applications of Iron Oxide Nanoparticles., de Research Gate Sitio web: https://www.researchgate.net/publication/301775553_Medical_Applications_of_Iron_Oxide_Nanoparticles (fecha de consulta 14/08/2018).

Rosario Argentina Jasso-Terán, Dora Alicia Cortés-Hernández, Héctor Javier Sánchez-Fuentes, Pamela Yajaira Reyes-Rodríguez, Laura Elena de León-Prado. (31 de marzo de 2016). Nanopartículas magnéticas de zinc y calcio para aplicaciones en hipertermia magnética. de ResearchGate Sitio web: https://www.researchgate.net/publication/307731535_Nanoparticulas_magneticas_de_zinc_y_calcio_para_aplicaciones_en_hipertermia_magnetica (Fecha de consulta 14/0/2018).

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

David Francisco Zaragoza Rodríguez y Ana Angélica Feregrino Pérez

RESUMEN

Se analizaron diferentes metabolitos como: taninos, flavonoides y fenoles. Estos también llamados polifenoles. Así como capacidad antioxidante (DPPH Y ABTS) a diferentes tipos de salsa de origen industrial de las marcas La Costeña, Herdez y San Marcos, estas mismas en sus diferentes presentaciones chipotle, verde y casera. Y también se analizaron 4 salsas de origen casero hechas en la Ciudad de Santiago de Querétaro, Querétaro, México. Para así hacer una comparación de los resultados de que arrojen nuestros análisis para después llegar a una conclusión más profunda. Esto porque es bien sabido de los beneficios que trae a nuestra salud el consumo moderado de polifenoles, su capacidad de contrarrestar y prevenir algunas enfermedades cardiovasculares e incluso el cáncer.

ABSTRACT

Different metabolites were analyzed such as: tannins, flavonoids and phenols. These also called polyphenols. As well as antioxidant capacity (DPPH and ABTS) to different types of salsa of industrial origin of the brands La Costeña, Herdez and San Marcos, these same in their different presentations chipotle, green and homemade. And 4 home-made sauces made in the City of Santiago de Querétaro, Querétaro, Mexico were also analyzed. In order to make a comparison of the results of our analysis and then come to a deeper conclusion. This is because it is well known the benefits that our moderate polyphenol consumption brings to our health, its ability to counteract and prevent some cardiovascular diseases and even cancer.

Palabras clave: Polifenoles, capacidad antioxidante, salud.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la mayoría de los productos alimenticios que se consumen no provienen directamente del productor. Estos atraviesan una serie de etapas de procesamiento y envasado industrial antes de que estén disponibles en nuestra región, en las estanterías del supermercado o en nuestros carritos de supermercado.

Este trabajo está enfocado a encontrar diferencias de contenido de compuestos antioxidantes, fenólicos y polifenólicos esta diferencia entre productos de origen industrial (salsa comerciales) y productos caseros (salsas caseras). Esto para saber si existe algún cambio en alimentos procedentes de un proceso industrial a alimentos procesados de forma casera y sin conservadores.

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles.

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Los fenoles son sintetizados por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (p. ej. los antocianos son los responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta que encontramos en las pieles de las frutas y hortalizas). Por otro lado, cuando los fenoles son oxidados, dan lugar a las quinonas que dan un color pardo que muchas veces es indeseable.

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencia Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, CP: 27275, Torreón, Coahuila. David_7_m@live.com.mx

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Av. Junípero Serra, antiguo aeropuerto, Campus Aeropuerto S/N., CP. 76140, Santiago de Querétaro, Querétaro. feregrino.angge@hotmail.com

MÉTODOS Y MATERIALES

Se elaboraron curvas de calibración para fenoles, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante por dos métodos: 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) y por ABTS. Posteriormente se llevaron a cabo las diferentes técnicas que se presentan a continuación para cada metabolito y los resultados se incorporaron a la curva.

Se utilizó la misma técnica para la extracción de muestra, únicamente cambiando los tiempos de agitación dependiendo de la concentración a la que se requería según el tipo de salsa y que aparecen en la Tabla 1.

Tabla 1. Preparación de muestras

	FENOLES	FLAVONOIDES	TANINOS	DPPH	ABTS
CASERAS	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 6 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador.	- 1 g de muestra en 3 mL de metanol. - 4 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. 8 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador
COMERCIALES	- 1 g de muestra en 3 mL de metanol. - 4 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 6 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador.	- 1 g de muestra en 3 mL de metanol. - 4 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. 8 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador

Notas: Después de dejar reposar en el agitador por los tiempos establecidos para cada muestra, se llevan a centrifugar a 5000 rpm por 10 min a 4°C. Todos los experimentos se realizan por triplicado.

Fenoles.

Para la determinación de fenoles se tomó una alícuota de 40 µl de sobrenadante de cada salsa y se colocó en un vial ámbar. Se le añadieron 460 µl de H₂O destilada, 250 µl de solución folin y 1250 µl de una solución de Na₂CO₃ al 20%. Se dejan reposar por 2 hrs en la oscuridad y posteriormente se toman 200 µl de cada vial, se colocan en una microplaca se leen en un MULTISKAN a 760 nm utilizando como blanco metanol.

Flavonoides.

Para la determinación de flavonoides se tomó una alícuota de 50 µl de sobrenadante de cada salsa y se colocaron en una microplaca. Se le añadieron 180 µl de metanol y 20 µl de 2-aminoetildifenil borato al 1%. La placa se lee en un MULTISKAN a 404 nm utilizando como blanco 50 µl del extracto metanólico adicionado con 200 µl de metanol.

Taninos.

Para la determinación de taninos se toman 50 µl de sobrenadante de cada salsa y se colocan en una microplaca. Se le adicionan 200 µl de una solución 1:1 de HCL 8%, Vainillina 1%, cuidando agregar de 50 en 50 µl hasta completar los 200. Leer la microplaca en el MULTISKAN a 492 nm utilizando como blanco 250 µl de metanol.

Capacidad antioxidante por DPPH.

Para la determinación de la capacidad antioxidante se colocan 20 µl de cada concentración de salsas en una microplaca y se le añaden 200 µl de la solución de DPPH (0.0015 g de DPPH aforados a 25 ml con metanol) y posteriormente se lee a 520 nm en el MULTISKAN utilizando como blanco 20 µl de metanol y 200 µl de H₂O destilada (HPLC) y como control 20 µl de metanol y 200 µl de DPPH en los tiempos 0, 30, 60 y 90 min.

Capacidad antioxidante ABTS.

Se preparó una solución stock de ABTS 7 µM y otra de K₂S₂O₈ a una concentración de 140 µM. Para la generación del radical se mezclan 5 ml de la solución stock de ABTS y 88 µM de K₂S₂O₈ en un vial y se dejan reposar en la oscuridad 12 hrs a temperatura ambiente. Pasadas las 12 hrs se toman 500 µl de esta solución y se le añaden de 20 a 25 ml de etanol, hasta que la absorbancia a 734 nm resulte entre 0.7 y 1. Posteriormente se colocan en una microplaca 20 µl de cada muestra de salsa y se le añaden 230 µl de la solución final de ABTS y se lee la absorbancia en el MULTISKAN 734 nm utilizando como blanco 230 µl de etanol y 20 µl de metanol, y como control 230 µl de ABTS y 20 µl de metanol.

RESULTADOS

Flavonoides, taninos y fenoles totales.

Tabla 2. Resultados de fenoles, taninos y flavonoides en salsas comerciales y caseras.

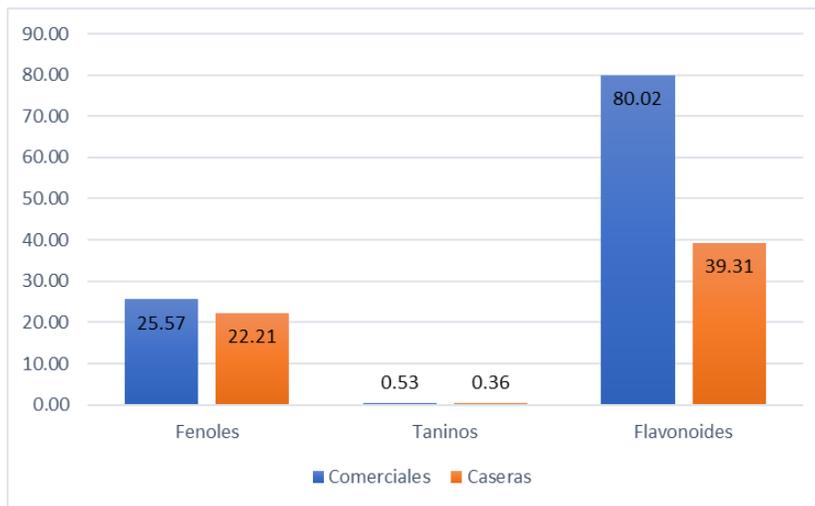
NOMBRE	FENOLES	FLAVONOIDES	TANINOS
COMERCIALES	-	-	-
COST CASERA	20.35	101.70	ND
COST CHIPOTLE	33.33	111.48	0.40
COST VERDE	19.54	95.26	ND
HRDZ CASERA	22.01	56.59	-
HRDZ CHIPOTLE	25.06	121.33	ND
HRDZ VERDE	17.21	66.07	ND
SM CASERA	34.63	42.37	ND
SM CHIPOTLE	39.53	104.59	0.65
SM VERDE	18.44	20.74	ND
CASERAS	-	-	-
T. VERDE/SERRANO	24.61	18.59	ND
JIT/HABANERO	18.08	38.59	ND
JIT/JALAPEÑO	18.14	53.11	ND
JIT/CHIPOTLE	28.00	46.96	0.36

Tabla 3. Concentraciones de curva de calibración para Taninos.

Mg/ml	ABS
0.8	0.2821
0.6	0.2102
0.4	0.1347
0.2	0.0597
0.1	0.0324

La *Tabla 2* muestra la cantidad de metabolito encontrado en miligramos por cada gramo de muestra (mg/gr). Los códigos utilizados son: “ND” significa no detectado, en salsas caseras T.VERDE/SERRANO para tomete verde con chile serrano, JIT para jitomate.

En la *tabla 3* la columna “ABS” nos muestra la absorbancia obtenida en la curva de calibración de taninos. Esto nos indica que los valores que resultaron del análisis para taninos de las muestras de salsas tanto comerciales como caseras, en su gran mayoría no entraron en nuestra curva de calibración que se muestra en la *Tabla 3*, lo que nos indica que están por debajo del 0.1 mg por cada gramo de muestra.



Gráfica 1. Promedio de muestras comerciales y caseras.

Capacidad antioxidante.

Para la evaluación del % de inhibición ó la actividad antioxidante (anti radical) (% I ó % Ara), se hizo uso de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{Abs Ctrl} - \text{Abs muestra})}{(\text{Abs Ctrl})} \times 100$$

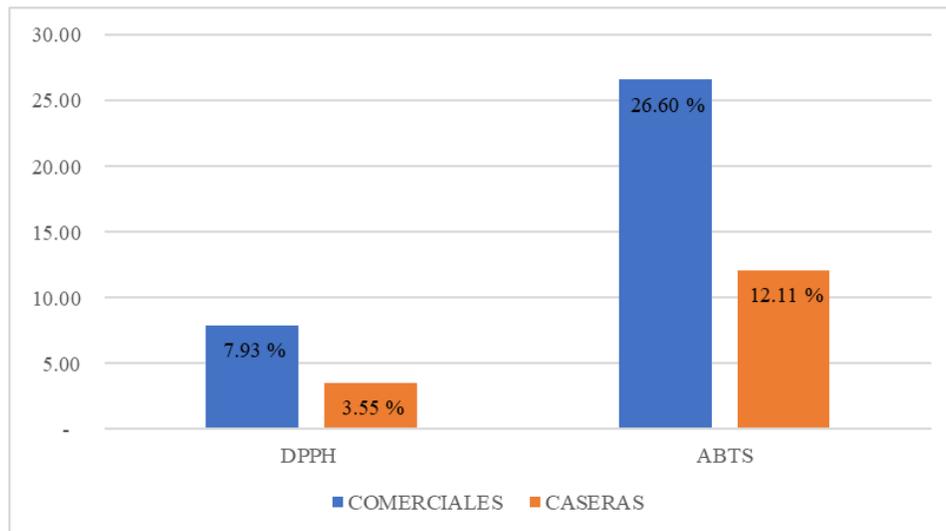
Donde:

Abs ctrl: Absorbancia del control a 520nm

Abs muestra: Absorbancia de la muestra a 520nm

Nota: al obtener esta cinética debemos seleccionar el tiempo en el cual nuestra muestra se pueda leer. Esto depende de la estabilidad de la capacidad oxidante del DPPH que puede ser a un tiempo de 30, 60 o 90min. Comúnmente se seleccionan los 90 min porque a este tiempo el radical ya es estable y con estas absorbancias de cada concentración de trolox podemos realizar la recta de una $R^2=0.99$ aprox.

Los resultados obtenidos se muestran en la *Gráfica 2*.



Gráfica 2. Porcentajes de inhibición en ABTS y DPPH

CONCLUSIONES.

Hablando de los resultados de compuestos fenólicos encontramos que ambos tipos de salsas caseras como industriales contienen una gran cantidad de estos compuestos y existe una similitud de resultados en ambos análisis. En el caso de los taninos se puede observar que ninguna de las dos tipos de salsas contienen una cantidad mínima considerable esto puede deberse a los constituyentes de cada salsa, generalmente los taninos abundan en plantas y en frutas como uvas, café, membrillo, manzana, caqui, etc. Los resultados de flavonoides que son arrojados por el análisis muestra una gran diferencia entre ambos tipos de salsas, las salsas de origen industrial arrojan resultados que pueden llegar a doblar la cantidad de flavonoides en salsas caseras se puede concluir en forma de hipótesis que esto se debe al estrés al cual son sometidos los componentes orgánicos con los cuales son realizados este tipo de salsas ya que como se sabe, a mayor estrés mayor contenido de compuestos fenólicos. Las pruebas de capacidad antioxidante nos muestran que hay mayor capacidad antioxidante en las muestras comerciales que en las muestras caseras y este

es algo lógico porque como es bien sabido, algunos compuestos con capacidad antioxidante son utilizados en este tipo de productos en forma de conservadores.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Ana Baranda. Procesado de alimentos e impacto nutricional. 2012. Consultado en: <http://www.interempresas.net/Alimentaria/Articulos/99930-Procesado-de-alimentos-e-impacto-nutricional.html> (fecha de consulta: 27-06-2018).
- 2- Eva Gimeno Creus. 2004. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Consultado en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508> (fecha de consulta: 02-07-2018).
- 3- MSc. Yaixa Beltrán Delgado, Dr. C. Humberto J. Morris Quevedo, Lic. Enrique Reynaldo de la Cruz, Yanelis Quevedo Morales, Dra. C. Rosa Catalina Bermúdez Savón. 2013. Contenido de fenoles totales en extractos de Pleurotus obtenidos con solventes de diferente polaridad. Consultado en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002013000200001 (fecha de consulta: 12-07-2018).
- 4- M. Luisa Cabrera Soto, Yolanda Salinas Moreno, Gustavo A. Velázquez Cardelas, Edgar Espinosa Trujillo. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. Consultado en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000800006 (fecha de consulta: 27-06-2018).
- 5- Nava, Manuel Alejandro. 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universias Autónoma de Queretaro. Consultado en: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf (fecha de consulta: 02-07-2018).
- 6- E. Marta KUSKOSKI2, , Agustín G. ASUERO, Ana M. TRONCOSO, Jorge MANCINI-FILHO & Roseane FETT. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Consultado en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf> (fecha de consulta: 02-07-2018).
- 7- M. Quiñones, M. Miguel y A. Aleixandre. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Consultado en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009 (fecha de consulta: 26-07-2018).
- 8- Servicio Integrado de Prevención y Salud Laboral. Universitat Politècnica de Valencia. Manejo del fenol, dereivados fenólicos y sus derivados. Copnsultado en: https://www.sprl.upv.es/IOP_SQ_33.htm

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ESPORAS MICORRÍZICAS DE ÁRBOLES NATIVOS DE CAZAHUATE (*Ipomoea murucoides*)

Diana Guadalupe García Hernández¹ y Francisco Alejo Iturvide²

RESUMEN

El micelio que forman los Hongos formadores de Micorriza Arbuscular (HMA) tiene la función de facilitarle a la planta la adquisición de nutrientes y agua, además de brindarles una mayor capacidad de tolerancia a los ambientes extremos. Debido a la gran importancia que presentan las asociaciones micorrícicas en la nutrición y sanidad de muchas plantas y árboles de interés forestal, el propósito de este estudio fue el aislamiento e identificación de esporas micorrícicas de árboles nativos de cazahuate (*Ipomoea murucoide*). Las esporas se extrajeron empleando el método de decantado húmero y tamizado, se identificaron un total de 15 morfotipos pertenecientes a los géneros de *Glomus* y *Scutellospora*, de los cuales 6 se llevaron a nivel de especie de manera preliminar: *Glomus geosporum*, *Scutellospora nigra* (cuenta con 4 registros), y *Scutellospora nodosa*. La especie mejor representada en cuanto a su abundancia fue *Scutellospora sp.* ya que se encontró en todas las muestras, además en la literatura consultada no se encontró información de dicha especie.

Palabras clave: Micorriza, asociación, *Ipomoea murucoides*.

ABSTRACT

The mycelium formed by the Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) has the function of facilitating the plant's acquisition of nutrients and water, as well as providing them with a greater tolerance capacity to extreme environments. Due to the great importance of mycorrhizal associations in the nutrition and health of many plants and trees of forestry interest, the purpose of this study was the isolation and identification of mycorrhizal spores of native hyacinth trees (*Ipomoea murucoide*). The spores were extracted using the humid and sieved decantation method, a total of 15 morphotypes belonging to the genera of *Glomus* and *Scutellospora* were identified, of which 6 were taken to the species level in a preliminary way: *Glomus geosporum*, *Scutellospora nigra* (with 4 records), and *Scutellospora nodosa*. The best represented species in terms of abundance was *Scutellospora sp.* since it was found in all the samples, in addition in the literature consulted, no information of this species was found.

Key words: Mycorrhiza, association, *Ipomoea murucoides*.

INTRODUCCIÓN

El género *Ipomoea* se encuentra conformado por 650 especies nativas distribuidos principalmente en zonas con climas templados y cálidos. Este género es el más representativo de la familia *Convolvulaceae* (Oropeza-Guerrero, 2012). La mayoría de las especies de este género son arbustos trepadores y existen pocas especies arbustivas o arborescentes, como en el caso de *Ipomoea murucoides* (Oropeza-Guerrero, 2012). Estas plantas presentan diferentes usos, entre los que se encuentra el uso como cercas vivas en campos de cultivo y como sustrato en la producción de hongos, como productos ornamentales y aplicaciones en la medicina tradicional (Lina-García, 2006). El cazahuate al ser una planta nativa de México puede ser utilizada como un sistema de reforestación. Para esto existen sistemas de inoculación de microorganismos en los sectores agrícolas y forestales que incrementan su productividad y dentro de los cuales destacan los hongos micorrízicos (Cuellar et al, 2015). Las micorrizas se encuentran considerablemente extendidos por toda la superficie terrestre y establecen una simbiosis con el 80-95% de las plantas vasculares (Martínez & Pugnaire, 2009), las cuales obtienen importantes beneficios como incremento en la capacidad de absorción de diversos componentes ya que las hifas del hongo se extienden por el suelo proporcionándole agua y nutrientes, principalmente fósforo y nitrógeno, y el hongo recibiendo a cambio azúcares y otros carbohidratos producto de la fotosíntesis, elementos esenciales para su desarrollo (Quiroz et al, 2017).

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Departamento de Biología; Carretera Irapuato-Silao Km 12.5, Col. El Copal. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. dianaga608@gmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Departamento de Biología; Carretera Irapuato-Silao Km 12.5, Col. El Copal. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. fralejo04@gmail.com

MARCO TEÓRICO

El género *Ipomoea* es el más grande y diverso de la familia *Convolvulaceae* en cuanto a formas de crecimiento y de adaptación se refiere y en México representado por 140 a 150 especies (Sánchez *et al*, 1995). Se distribuyen principalmente en los estados de Morelos, Guerrero, Querétaro y Oaxaca, que presentan una vegetación de matorral xerófilo (Oropeza-Guerrero, 2012). *Ipomoea murucoides* es una de las especies más abundantes y presentan una distribución restringida o casi restringida al país (Rzedowski, 1991). Es un árbol con flores hermafroditas, actinomorfas, la corola es blanca gamopétala de 6-7 cm, los estambres se encuentran adnados a la corola y la antena presenta dehiscencia longitudinal. El cazahuate presenta una gran importancia en México ya que es utilizado como planta de ornato, forraje, medicinal, ceremonial y alimenticio (Monroy & Ayala, 2015). En un estudio realizado por Soria en el 2013 acerca de la restauración vegetal del Bosque Tropical Caducifolio se evaluó el efecto de dos sistemas de plantación utilizando *Ipomoea murucoides* como especie no fijadora de nitrógeno la cual obtuvo un 100% de supervivencia durante la etapa más crítica reflejando así su plasticidad y adaptabilidad que presenta en condiciones de suelo adverso. Por lo tanto, al plantarse la propagación de esta se planta se recomienda implementar mecanismos de aclimatación y nutrición con el uso de microorganismos como los Hongos formadores de Micorriza Arbuscular. La simbiosis micorrízica de las plantas a diferentes condiciones de estrés le brindan un incremento en la absorción de nutrientes y agua, así como mejoras de agregados del suelo y protección ante algunos patógenos (Espinosa *et al*, 2018).

En un trabajo elaborado por Cos *et al* (2010), sobre el comportamiento morfológico y productivo del cultivo de *Ipomoea batatas* se utilizó una cepa de hongo micorrízico como producto comercial producido a base de *Glomus sp*.

Las micorrizas pueden encontrarse en varios tipos de suelos y climas, debido a esto presentan una distribución mundial, que indica una adaptación a diversos hábitats, sin embargo, los factores físicos y químicos del suelo pueden limitar su distribución (Camargo *et al*, 2012). Factores como la acidez, y las concentraciones de materia orgánica, fósforo, nitrógeno, aluminio, cobre y zinc en el suelo, dan lugar a un buen establecimiento y desempeño de la simbiosis, lo cual se ve reflejado en la producción de esporas de los hongos (Peña-Venegas *et al*, 2007).

METODOLOGÍA

El área de estudio fue la comunidad de El Garbanzo, Irapuato Gto. Para la recolección de muestras se tomaron en cuenta cinco puntos, se seleccionó un árbol en cada punto de muestreo, se tomaron 500 g de suelo de la zona de la rizosfera, a 15 cm de profundidad y a 1 m de distancia del tronco del árbol y se guardaron en bolsas plásticas hasta el momento de su uso.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio y mantenidas sin refrigeración. Las esporas se extrajeron empleando el método de decantado húmedo y tamizado descrito por Sierverding (1991) y Medina *et al*, (2010). Se realizó una suspensión con 100 g de suelo en 100 ml de agua; la suspensión se sometió a agitación mecánica durante cinco minutos y se dejó reposar por tres minutos, para eliminar partículas grandes por sedimentación. Se pasó la suspensión por tamices de 1 mm, 150 micras y 45 micras, lavando con abundante agua. La suspensión obtenida se decantó en el tamiz de 45 micras, el material retenido en el tamiz se vertió en un tubo de centrifuga de 15 ml se le agregó una solución de sacarosa al 60% y se centrifugó a 2000 rpm durante 2 minutos; se extrajo la fase inferior (de sacarosa) del tubo y se decantó en el tamiz de 45 micras lavando con agua destilada para eliminar el exceso de sacarosa, finalmente el material retenido en el tamiz se colocó en una caja Petri y se observó al estereoscopio. Se determinó el diámetro de las esporas utilizando una Digital Microscope Camera Moticam 2500. Para la identificación morfológica preliminar de las esporas se tomó como referencia la base de datos del INVAM.

RESULTADOS

De las muestras de suelo colectadas en la comunidad del Garbanzo en Irapuato Gto, se identificaron 15 morfotipos de esporas pertenecientes a los géneros *Scutellospora* y *Glomus* (Fig. 1), de los cuales 6 se llevaron a nivel de especie; *Glomus geosporum*, *Scutellospora sp* (cuenta con 4 registros), y *Scutellospora nodosa*.

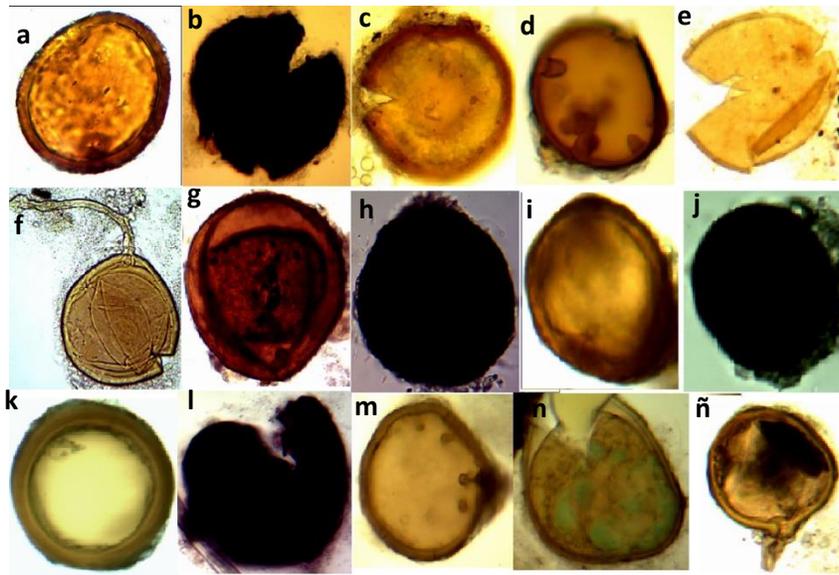


Figura 1. Esporas de morfoespecies de HMA. a) *Glomus geosporum*; b) *Scutellospora sp (n)*; c) *Glomus sp.*; d) *Scutellospora sp.*; e) *Scutellospora nodosa*; f) *Glomus sp.*; g) *Glomus sp.*; h) *Scutellospora sp (n)*; i) *Glomus sp.*; j) *Scutellospora sp (n)*; k) *Glomus sp.*; l) *Scutellospora sp*; m) *Scutellospora sp.*; n) *Glomus sp.*; ñ) *Glomus sp.*

Es necesario resaltar que para la identificación de los morfotipos no se pudieron analizar todas las características morfológicas pertinentes, por lo que son necesarios estudios morfológicos adicionales además de la invaluable información de análisis genéticos, por lo que los datos son presuntivos. El género *Glomus* estuvo representado por 8 morfotipos y el género *Scutellospora* con 7 morfotipos. De las 5 muestras, la especie mejor representada en cuanto a su abundancia fue *Scutellospora sp (n)* ya que se observó en todas las muestras.

En la siguiente figura (**Figura 2**) se encuentra representada la relación por cada morfotipo y el número de esporas identificadas por muestra. Esta nos dice que en la muestra 1 se identificaron 2 morfotipos de *Glomus* y 1 de *Scutellospora*; en la muestra 2 se identificaron 2 morfotipos de *Scutellospora*; en la muestra 3 se identificaron 2 de *Glomus* y 1 de *Scutellospora*; en la muestra 4 se identificaron 2 de *Glomus* y 1 de *Scutellospora* y en la muestra 5 se identificaron 2 de *Glomus* y 2 de *Scutellospora*. Dando como resultado un total de 15 morfoespecies.

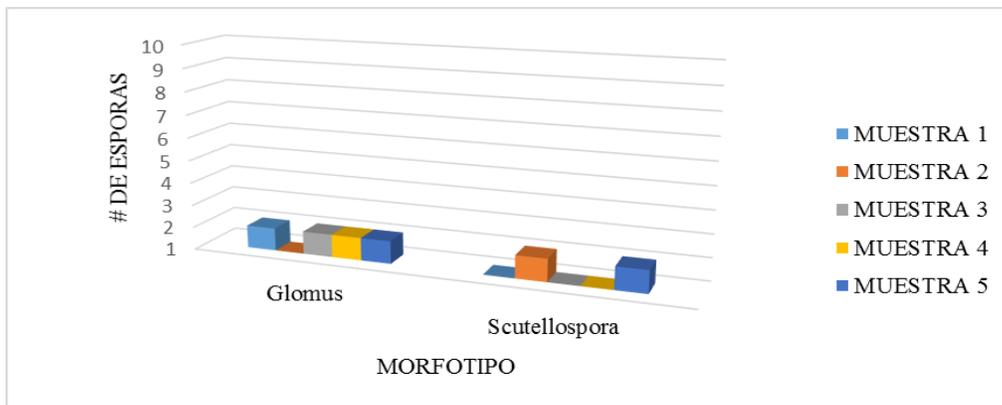


Figura 2. Relación de morfotipo contra número de esporas identificadas por muestra.

DISCUSIÓN

La riqueza de esporas encontradas en la rizosfera de *Ipomoea murucoides* incluye 15 morfotipos de HMA, de los cuales desde el punto de vista de morfotipo los géneros *Glomus* y *Scutellospora* se encuentran mejor representados. La mayor abundancia que se tuvo fue de la especie *Scutellospora sp* (n) que fueron 4 registros. La especie *Scutellospora nodosa* se encuentra reportada por Chimal et al, (2015) que encontró esta especie de HMA en suelos del Valle del Mezquital en Hidalgo México y que fue exclusiva de matorral subinermes, cabe señalar que la vegetación de la comunidad El Garbanzo de donde fueron colectadas las muestras es matorral, lo cual indica que hay una alta posibilidad que se trate de la misma especie debido al tipo de vegetación. La especie *Glomus geosporum* es reportada por Lara et al., (2014) el cual menciona que se obtuvo una alta abundancia además de que presenta una amplia distribución y tolerancia a sitios alterados o de alto impacto antrópico. Aunque en el presente estudio solo se realizó la identificación de los HMA en la rizosfera de *Ipomoea murucoides* los estudios del estatus micorrízico en árboles nativos de cacahuate son muy escasos ya que no se encontró en la revisión de literatura realizado ningún estudio sobre identificación de micorrizas en el árbol de interés. Sin embargo, se encontró con un estudio realizado por Cos y colaboradores en el 2010 sobre el comportamiento morfológico y productivo del cultivo de *Ipomoea batatas* con el empleo de alternativas orgánicas en suelos salinizados, éste menciona el uso de cepas de hongos micorrízicos proveniente de un producto comercial ECOMIC producido a base de *Glomus sp*, y en el cual obtuvieron mayores valores con el uso de las micorrizas. Igualmente, otro estudio realizado por Fundora et al (2009) sobre incrementos en los rendimientos del cultivo de boniato comparando un fitoestimulante contra cepas de HMA, utilizaron un inóculo de *Glomus hoi-like* INCAM-4. Esto nos dice que comercialmente el género *Glomus* es el más utilizado y recomendable, lo cual puede deberse a su abundancia, como la encontrada en el presente estudio.

CONCLUSIONES

Se identificaron un total de 15 morfotipos de esporas micorrízicas nativas de árboles de *Ipomoea murucoides* entre los cuales se encuentran los géneros *Glomus* y *Scutellospora*, sin embargo, el morfotipo *Scutellospora* presentó una mayor abundancia.

BIBLIOGRAFÍA

- CAMARGO-RICALDE, S. L., ARIAS, N. M. M., MERA, C. J. D. L. R., & ARIAS, S. A. M. (2012). Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo.
- CHIMAL-SÁNCHEZ, E., GARCÍA-SÁNCHEZ, R., & HERNÁNDEZ-CUEVAS, L. V. (2015). Gran riqueza de hongos, micología, 41, 14-26.
- COS, M. C. J. I. D., PÉREZ, C. J., & SOLLET, L. S. (2010). Comportamiento morfológico y productivo del cultivo boniato (*Ipomoea batatas* L.LAM) con el empleo de alternativas orgánicas en suelos salinizados de Guantánamo.
- CUÉLLAR, A. E., MARTÍNEZ, L. R., ESPINOSA, R. R., & CUÉLLAR, E. E. (2015). Efecto del Nitrógeno y hongos micorrízicos arbusculares en dos clones comerciales de boniato sobre un suelo Pardo mullido carbonatado. *Centro Agrícola*, 42(2), 39-46.
- ESPINOSA-CUÉLLAR, A., RIVERA-ESPINOSA, R., RUIZ-MARTÍNEZ, L., ESPINOSA-CUÉLLAR, E., & Lago-Gato, Y. (2018). Inoculación micorrízica de cultivos precedentes: vía para micorrizar eficientemente el boniato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Cultivos Tropicales*, 39(2), 51-58.
- FUNDORA, L. R., CABRERA, J. A., GONZÁLEZ, J., & RUIZ, L. A. (2009). Incrementos en los rendimientos del cultivo de boniato por la utilización combinada del fitoestimulante FitoMas-E y el biofertilizante Ecomic® en condiciones de producción. *Cultivos Tropicales*, 30(3), 14-17.
- INVAM. International culture collection of arbuscular and vesicular mycorrhizal fungi. Species descriptions from reference culture, names and authorities of fungi in Glomales. 2018.

LARA-PÉREZ, L. A., NOA-CARRAZANA, J. C., LÓPEZ, L., DE JESÚS, Á., HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, S., OROS-ORTEGA, I., & ANDRADE TORRES, A. (2014). Colonization and structure of arbuscular mycorrhizal fungi community in *Alsophila firma* (Cyatheales: Cyatheaceae) from a tropical montane cloud forest in Veracruz, México. *Revista de biología tropical*, 62(4), 1609-1623.

LINA-GARCÍA, L. P. Establecimiento de cultivos in vitro de *Ipomoea intrapilosa* en luz y oscuridad para la producción de sustancias con actividad insecticida contra *Spodoptera frugiperda* Smith, (Lepidoptera: Noctuidae), plaga de interés agrícola. Tesis de Maestría en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Morelos, México.

MARTÍNEZ, L. B., & PUGNAIRE, F. I. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Revista Ecosistemas*, 18(2).

MEDINA, L. R., RODRÍGUEZ, Y., TORRES, Y., & HERRERA, R. (2010). Aislamiento e identificación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona de las Caobas, Holguín. *Cultivos Tropicales*, 31(3), 00-00.

MONROY, R., & AYALA, I. (2015). Importancia del conocimiento etnobotánico frente al proceso de urbanización. *Emobiología*, 3(1), 79-92.

OROPEZA-GUERRERO, M. P. (2012). Alcaloides totales y actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de *Ipomoea murucoides* (casahuate). Tesis de Ingeniería de la carrera de Ingeniero en Alimentos. Laboratorios de Ciencias Químico-Biológicas del Instituto de Agroindustrias de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México.

PEÑA-VENEGAS, C. P., CARDONA, G. I., ARGUELLES, J. H., & ARCOS, A. L. (2007). Micorrizas arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. *Acta Amazónica*, 37(3), 327-336.

QUIROZ-MARCHANT, I., GARCÍA-RIVAS, E., GONZÁLEZ-ORTEGA, M., CHUNG GUIN-PO, P., & SOTO-GUEVARA, H. (2017). Vivero forestal: producción de plantas nativas.

RZEDOWSKI, J. (1991). El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana*, (15), 47-64.

SÁNCHEZ, G. M., GUZMÁN, J. M., HERNÁNDEZ, G. L., & SALAZAR, M. P. (1995). Estudio de frutos y semillas de *Ipomoea teotitlanica* McPherson (Convolvulaceae). *Acta Botánica Mexicana*, (32), 69-77.

SIERVERDING, E. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae management in tropical agrosystem. Technical cooperation, Federal Republic Germany. Eschborn, Alemania.

SORIA, S. M. B. (2013). Evaluación de ensambles de especies arbóreas nativas como estrategia para la restauración del bosque tropical caducifolio.

EXPRESION Y PURIFICACION DE ADN-POLIMERASAS ORGANELARES DE *Arabidopsis thaliana*

Alva Sánchez Diana Laura¹, García Medel Paola Libertad² y Brieba de Castro Luis Gabriel^{2*}

RESUMEN

Las ADN polimerasas son enzimas involucradas en la replicación, recombinación y reparación del ADN de cualquier organismo. En este proyecto se trabajaron con las mutantes de las ADN polimerasas organelares de *Arabidopsis thaliana*, AtPolIA y AtPolIB: A3exo+, B3 exo+, A3 exo⁻, B3 exo⁻ las cuales se expresaron en la cepa quimiocompetente BL21 GOLD con el plasmido pET19b y se purificaron mediante cromatografía de afinidad por iones metálicos inmovilizados (IMAC) donde el Níquel fue el metal divalente usado; posteriormente para obtener una mayor pureza se usaron columna de heparina, obteniendo concentraciones para AtPolB3 exo⁻ de 7.07 µM y 15 µM para AtPolA3 exo⁻. La cuantificación, análisis y obtención de estas enzimas fue requerido para llevar a cabo la evaluación de actividad terminal transferasa (TT), como parte final de este trabajo.

ABSTRACT

DNA polymerases are enzymes involve in the replication, recombination and repair of the DNA in any organisms. In this project we worked with the mutants of the organellar DNA polymerases of *Arabidopsis thaliana*, AtPolIA and AtPolIB: A3exo +, B3 exo +, A3 exo-, B3 exo- which were expressed in the chemocompetent strain BL21 GOLD with the plasmid pET19b and purified by Immobilized metal-affinity chromatography (IMAC) where the divalent metal used was Nickel, subsequently, to obtain a higher purity, heparin column was used, obtaining concentrations for AtPolB3 exo- of 7.07 µM and 15 µM for AtPolA3 exo-. Quantification, analysis and obtaining of these enzymes were required to do the terminal transferase activity as a final part of this project.

Palabras Claves: DNA replication, organellar DNA polymersases, IMAC, Terminal transferase activity

INTRODUCCION

Arabidopsis thaliana por su genoma pequeño, la facilidad de transformación genética y la capacidad de crecer en el laboratorio lo convierten en un organismo modelo para el estudio de la genética, la fisiología, la bioquímica y el desarrollo de las plantas (1).

La duplicación fiel del material genético es crucial para mantener la integridad genómica (2) la cual es llevada a cabo por un conjunto de proteínas denominado replisoma que comprende varios componentes, cada uno realiza una función específica durante este proceso como lo son la helicasa que es una enzima que rompe los puentes de hidrógeno entre las dos cadenas de ADN. Las topoisomerasas eliminan la tensión generada por la torsión en el desenrollamiento. La ADN primasa forma un cebador de ARN y la ADN polimerasa extiende la cadena de ADN a de estos cebadores. La síntesis de ADN solo ocurre en dirección 5' a 3'. (3,4)

Los genomas de los orgánulos vegetales son complejos y los mecanismos para su replicación y mantenimiento siguen sin estar claros. *A.thaliana* tiene dos genes de ADN polimerasa organelares AtpolIA (At1g50840) y AtpolIB (At3g20540), que están dirigidos ambos a mitocondrias y cloroplastos, que se expresan diferencialmente en los tejidos vegetales primarios Baruch y Brieba (2017) han caracterizado bioquímicamente estas enzimas, observando funciones como la tolerancia a daños (TLS) en sitios ábasicos, así como la importancia funcional de tres dominios estructurales que coordinan a TLS. Además, también se ha observado su capacidad de reparación de ruptura de doble cadena, a través de un mecanismo conocido como unión de extremos por microhomología (MMEJ), donde se el ADN dañado requiere de una secuencia corta de seis nucleótidos para poder autoalinearse y extenderse. En ensayos de MMEJ, se observó la incorporación de nucleótidos adicionales, que se hipotetiza sea por una actividad transferasa terminal efectuada por estas polimerasas. De manera importante, la actividad de la transferasa terminal se usa ampliamente para modificar los extremos de ADNss para diversos tipos de aplicaciones, incluidas la biotecnología, la investigación biomédica y la biología sintética. Actualmente, la única enzima desarrollada y comercializada para estas aplicaciones es la

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas; Calle del Mimbre, Col. Villas la Merced #181, C.P. 27295. Torreón, Coahuila. ceocdiana@hotmail.com

^{2*} Unidad de Genómica Avanzada, CINVESTAV-IPN, Unidad Irapuato. Libramiento Norte Carretera Irapuato-León Km. 9.6, C.P. 36821 Irapuato, Gto., México. luis.brieba@cinvestav.mx

desoxinucleotidiltransferasa terminal (TdT) cuya función celular es promover la diversidad de anticuerpos transfiriendo nucleótidos no formados a las regiones del exón V, D y J durante la maduración del gen del anticuerpo (8).

La expresión y la posterior purificación de proteínas recombinantes son ampliamente utilizadas en estudios bioquímicos. Un poderoso método de purificación implica el uso de etiquetas de afinidad de péptidos, que están fusionadas a la proteína de interés y utilizado para acelerar la purificación de estas a través de la cromatografía de afinidad la cual se usó en este trabajo para obtener un mayor grado de pureza de las ADN polimerasas A_{3+} , B_{3+} , $A_3\text{exo}^-$, $B_3\text{exo}^-$ mediante la columna HisTrap Níquel y la columna de afinidad heparina ya que las proteínas se eluyen en alta pureza y por esto mismo además de tomar en cuenta el tiempo y la demanda de las proteínas para hacer estudios bioquímicos se centró este proyecto en $A_3\text{exo}^-$ y $B_3\text{exo}^-$

MATERIALES Y MÉTODOS

Expresión y purificación

La expresión de las mutante para AtPol1B3, AtPol1A3, AtPol1B3 exo^- , AtPol1A3 exo^- -Pet19b fue transformada en la cepa Ecoli BL21 GOLD e inoculada en medio LB con 100 ug/ml de ampicilina. El cultivo fue incubado a 37°C hasta alcanzar un OD600 de 0.6-0.8, donde después fue adicionado ~~con~~ IPTG a una concentración de 0.5 mM e incubada 16 horas a 16°C. El cultivo celular fue recuperado mediante centrifugación a 15,000 rpm a 4°C, y re suspendido en un buffer A (HEPES 20 mM pH 8,0, NaCl 500 mM, 10% glicerol imidazol 10 mM, 1 mM PMSF) añadiéndole lisozima y sometiendo a lisis mediante sonicación en hielo que consistió en 12 ciclos por 30 s al 80%. Se cargaron en una columna HisTrap 1ml FF y lavada con dos lavados de 20 ml de buffer lisis adicionado con 20 y 40 mM Imidazol, y finalmente eluida con buffer A adicionado con 500 mM Imidazol. Las proteínas fueron analizadas en un gel de SDS page 8% (Fig 1a, 2a); la proteína limpia fue dializada en buffer B (20 mM HEPES pH 8, 10% glicerol, 50 mM NaCl, 2 mM EDTA, 5mM DTT y agua MiliQ). Posterior la proteína dializada fue cargada en una columna de heparina HiTrap Hperain 1ml HP y fue lavada con un gradiente de NaCl desde una concentración de 0.05 a 1000 Mm; se analizaron en un gel SDS poliacrilamida 8% (Fig 1b, 2b) al comprobar su pureza se dializó en el buffer B con 50 % de glicerol toda la noche. Finalmente la proteína fue almacenada a -20 °C.

*El mismo procedimiento de expresión y purificación fue aplicado en las ADN polimerasas.

Ensayo terminal transferasa

El ensayo de terminal transferasa fue evaluado con tres sustratos distintos: cadena sencilla, cadena parcialmente doble y cadena doble (las secuencias son incluidas en la Fig 2). Los sustratos fueron fosforilados con γ -32 P en el extremo 5', y los sustratos de cadena doble y parcialmente doble, fueron alineados con su oligonucleótido complementario. 20 nM de sustrato fosforilado fue incubado con 100 nM de ADN polimerasas ($A_3\text{exo}^-$ y $B_3\text{exo}^-$) e incubado 15 min a 37°C. Posteriormente fueron adicionados los dNTPs individuales (dATP, dTTP, dGTP, dCTP y todos juntos) a 500 μ M en conjunto con 10 mM final de MgCl_2 . Con los dNTPs se incubaron las reacciones por 30 min a 37 °C. Las reacciones fueron detenidas usando un *stop buffer desnaturalizante* (95% formamida, 0.05 % xilen cianol y 20 mM EDTA). Fueron calentadas a 95°C por 5 min, e inmediatamente enfriadas en hielo, y finalmente fueron cargadas en un gel desnaturalizante de poliacrilamida al 17% desnaturalizante (urea). El gel fue expuesto a una pantalla de PhosphorImage, y éste fue analizado en un equipo Storm PMI de BioRad.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Purificación de AtPol1B3 exo^- y AtPol1A3 exo^-

Debido a la facilidad de purificación de la mutante AtPol1B3 exo^- se obtuvo una concentración de 7.07 μ M de la misma, como se puede apreciar en la figura 1 la purificación con resina de Níquel tuvo bandas debajo del peso de la polimerasa el cual es de 88 kDa sin embargo su peso total es de 92 kDa por la etiqueta de histidinas, se cree que fueron otras proteínas con la misma afinidad por lo tanto para obtener una mayor purificación la proteína se cargó en una columna de heparina. Lo mismo sucedió con AtPol1A3 exo^- y tuvo una concentración de 15 μ M ya que tienen el mismo peso y las dos fueron expresadas en la misma cepa BL21 y plásmido pET19, se puede ver en la imagen 1 el cambio de limpieza de la proteína entre la columna de Níquel y Heparina. Como lo

indicaron Block y colaboradores usar el método de afinidad por medio de tags confiere de buenos resultados ya que su uso da buena pureza de la proteína diana que en este proyecto fueron las mutantes de las ADN polimerasas además del uso de cromatografía por iones metálicos (IMAC) y heparina resultan procesos de bajo costo.

Se comprobó mediante un ensayo de radioactividad la actividad terminal transferasa está presente en las ADN polimerasas que es capaz de incorporar nucleótidos en doble cadena.

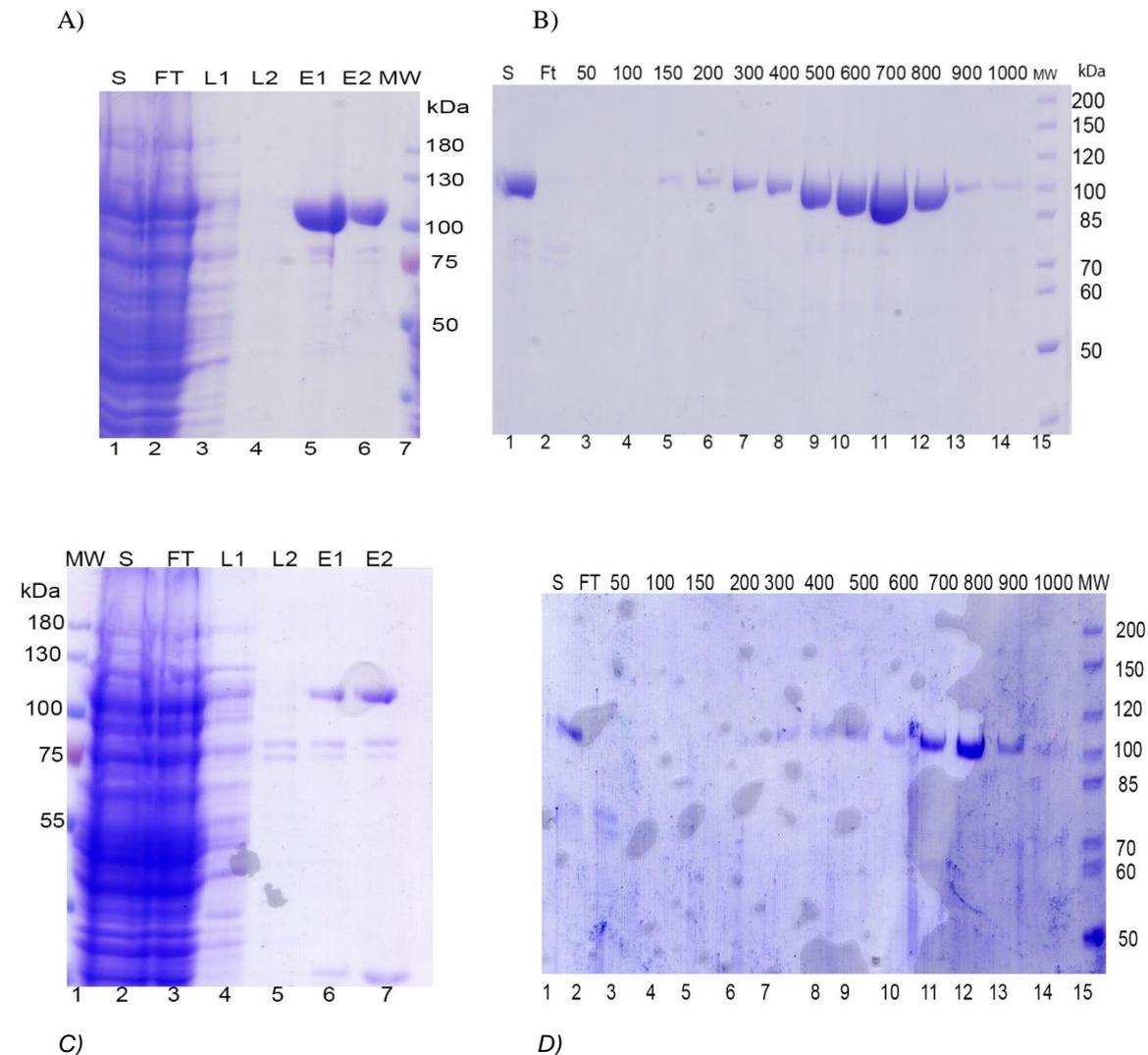


Imagen 1. Purificación de ADN-polimerasas, siendo MW el marcador de peso molecular, S el sobrenadante, FT Flow through conocido por ser lo que queda después de pasar las proteínas por las columnas. A) Purificación de A3 exo⁻ por medio de cromatografía de afinidad por iones metálicos inmovilizados (IMAC) donde se aprecia en las columnas 5 y 6 (Elución) AtPol1A3 exo⁻ debido al gradiente de imidazol además de estar otras bandas de proteínas. B) Uso de la columna de heparina donde se aprecia a partir de la columna 8 una mayor concentración hasta la columna 13. C). Purificación de B3 exo⁻ por resina de Niquel, donde se eluyó con un gradiente de imidazol de 20 a 40 mM. D) B₃ exo⁻ purificada con la columna de heparina a partir de un gradiente en aumento de sal de 0.5 a 1000 mM.

Ensayo de terminal transferasa (TT)

Al ser estas ADN polimerasas, las únicas reportadas a la fecha que se dirigen a organelos de plantas, se especula que estas deben ser las responsables de replicar, reparar y recombinar el ADN organelar. Estudios de Kent y cols. (2015 y 2016) a nivel funcional de la ADN polimerasa θ (POLQ) de humanos, demuestran que POLQ es la única polimerasa de la familia A capaz de tolerar daños como sitios abásicos, timinglicoles, CPDs; que puede

BIBLIOGRAFIA

1. Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796–815.
2. Huberman JA, Riggs AD. On the mechanism of DNA replication in mammalian chromosomes. *J Mol Biol.* 1968;32:327–341
3. DePamphilis ML, et al. Regulating the licensing of DNA replication origins in metazoa. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2006;18:231–239
4. Lehman IR, Bessman MJ, Simms ES, Kornberg A. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. I. Preparation of substrates and partial purification of an enzyme from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 1958;233:163–170.
5. Wang H, Xu X. Microhomology-mediated end joining: new players join the team. *Cell & Bioscience.* 2017;7:6. doi:10.1186/s13578-017-0136-8.
6. Miguel Garcia-Diaz & Katarzyna Bebenek (2007) Multiple Functions of DNA Polymerases, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26:2, 105-122,
7. Baruch-Torres N, Briebe LG. Plant organellar DNA polymerases are replicative and translesion DNA synthesis polymerases. *Nucleic Acids Research.* 2017;45(18):10751-10763. doi:10.1093/nar/gkx744.
8. Motea EA, Berdis AJ. Terminal deoxynucleotidyl transferase: The story of a misguided DNA polymerase. *Biochimica Et Biophysica Acta* 2010;1804:1151–1166.
9. Block H, Maertens B, Spriestersbach A, Brinker N, Kubicek J, Fabis R, et al. Immobilized-metal affinity chromatography (IMAC): a review. In: RR B, MP D, editors. *Methods in Enzymology: Guide to Protein Purification* 2nd ed. 2009. p. 439–73
10. Kent TG, McDevitt SM, Ozdemir AY, Pomerantz RT. Mechanism of microhomology-mediated end-joining promoted by human DNA polymerase θ . *Nature Structural & Molecular Biology.* 2015; 22, 10.1038/nsmb.2961.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS ORIGINARIAS DEL ESTADO DE GUANAJUATO PARA EL CONTROL DE LA HIPERGLUCEMIA

Diana Selene Regalado Moncada¹, Xóchitl Sofía Ramírez Gómez² y Dra. Alejandra Sarahí Ramírez Segovia³

RESUMEN

La extracción de especies biológicamente activas que disminuyen los niveles de glucosa en pacientes diabéticos ha sido una de las contribuciones más importantes de la medicina herbolaria tradicional de manera histórica, hecho que ha resultado muy destacado para la farmacia moderna. Se sabe de manera específica que tantos grupos fenólicos, así como una enorme familia de flavonoides con alta capacidad de neutralizar radicales libres (poder antioxidante) especialmente se destacan por el impacto de estas moléculas sobre la regulación del crecimiento celular y su actividad antihiper glucemiante. Así pues, el objetivo de este trabajo fue extraer y calcular la concentración de flavonoides contenido en plantas endémicas del estado de Guanajuato, mediante espectroscopía UV-Vis para proponer nuevas alternativas de tratamientos antihiper glucémicos.

Palabras Clave: Antioxidante, Espectroscopia UV-Vis, Flavonoides, Herbolaria, Hiper glucemia.

ABSTRACT

The extraction process of biologically active species that reduces the glucose levels in diabetic patients has been one of the most important contributions of traditional herbal medicine historically, it has been prominent in the modern pharmacy. It is known that the phenolic groups, as well as a family of flavonoids with high capacity of neutralization free radicals, which keeps out for the impact of these molecules on the regulation of cell growth and its antihyperglycemic activity. However, the aim of this work is to extract and calculate the concentration of flavonoids in the endemic plants in the state of Guanajuato, using UV-Vis spectroscopy to propose new alternatives in antihyperglycemic treatments.

Key Words: Antioxidant, Flavonoids, Herbalism, Hyperglycemia, UV-Vis Spectroscopy.

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus se define como un grupo de enfermedades, caracterizada por hiper glucemia, la cual es resultado de un defecto en la secreción y/o acción de la insulina (Avel González Sánchez, 2011). La medicina herbolaria tradicional es una gran alternativa para el control de glucosa, tanto por tener resultados positivos como por no presentar riesgos toxicológicos a los pacientes. Actualmente existe una gran cantidad de estudios donde evalúan la actividad y acción de antioxidantes presente en diversas especies utilizadas cotidianamente como tés, esto se realiza cuantificando la cantidad de un cierto grupo de compuestos fenólicos como se hizo en el presente trabajo donde se realizó la cuantificación de los flavonoides a las especies *Cnidocolus aconitifolius* (chaya) y *Eriobotrya japónica* (níspero) mediante espectroscopia UV-Vis usando como patrón a la especie *Camellia Sinesis* (té verde) normalizando los resultados obtenidos con esta especie.

1 Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Ingeniería en Materiales Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia, El Copal, C.P: 36821, Irapuato, Gto., is15110378@itesi.edu.mx

2 Departamento de Enfermería Clínica, DCSI, Campus Celaya-Salvatierra, universidad de Guanajuato. xs.ramirezgomez@ugto.mx

3 Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Ingeniería en Materiales Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia, El Copal, C.P: 36821, Irapuato, Gto., sarahi.ramirez@itesi.edu.mx

MARCO TEÓRICO

Hiperglucemia

La Diabetes Mellitus se define como un grupo de enfermedades, caracterizada por hiperglucemia, la cual es resultado de un defecto en la secreción y/o acción de la insulina. Esta hiperglucemia crónica se asocia al daño pancreático a largo plazo, defunción y/o fallo de diferentes órganos (Avel González Sánchez, 2011). En cuanto a datos dados a conocer por la OMS, se estima que el 3% de la población en el mundo padece diabetes y se espera que se duplique para el año 2025 a 6.5% aproximadamente (Cruz N. G., 2013).

Algunos medicamentos han sido desarrollados para controlar los niveles de glucosa en sangre, los cuales son regularmente prescritos a pacientes diabéticos (Ramon Valenzuela Soto, 2015). Sin embargo, estos medicamentos producen efectos secundarios. A causa de esto, es requerida la evaluación de alternativas farmacológicas de origen natural para el control de la hiperglucemia que no presenten un riesgo toxicológico para el paciente diabético (Ramon Valenzuela Soto, 2015). Considerando que la medicina natural es una alternativa, de acuerdo a la OMS, aproximadamente el 80% de la población mundial, especialmente las poblaciones rurales, ingieren infusiones o decocciones de plantas para tratar enfermedades como cáncer, diabetes, etc. Particularmente, personas con diabetes Tipo 2 utilizan plantas medicinales para regular los niveles de glucosa en sangre, obteniendo resultados positivos (Cruz N. G., 2013).

Tratamientos con plantas para el control de hiperglucemia

La stevia, canela y *Aloe vera* son especies con posibilidad terapéutica para personas con diabetes mellitus, gracias a la actividad antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética y antihipertensiva con la que cuentan, sin embargo; poco o casi nada se sabe acerca de las especies “chaya” y “níspero” utilizados en este trabajo.

Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que han ganado importancia en los últimos años debido a su capacidad para neutralizar los radicales libres. Se ha informado que los antioxidantes previenen el daño oxidativo causado por los radicales libres. Pueden interferir con el proceso de oxidación al reaccionar con los radicales libres, quelar metales con actividad Fenton y también como eliminadores de especies reactivas de oxígeno (Roberto Lemus Mondaca, 2012). Otro rasgo de los compuestos antioxidantes presentes en las plantas comestibles es que se han promovido recientemente como aditivos alimentarios ya que muestran pocos o ningún efecto secundario tóxico (Roberto Lemus Mondaca, 2012).

Metabolitos secundarios

Los fitoquímicos o metabolitos secundarios pueden ser compuestos bioactivos, con peso molecular bajo, que generalmente protegen a la planta contra plagas, bacterias, estrés ambiental, radiación UV u otros factores (Guadalupe Andrade, 2018). Asimismo, gran parte del contenido fitoquímico ha sido identificado en plantas con propiedades medicinales, como alcaloides, flavonoides, fenantrenos, antocianinas, esteroides, terpenoides, etc., los cuales se encuentran principalmente en los extractos de las flores y hojas (Guadalupe Andrade, 2018).

Flavonoides

Los flavonoides son casi omnipresentes en las plantas y se reconocen como los pigmentos responsables del color de las hojas. Las semillas, frutas crías, aceite de oliva, té y vino tinto (Middleton, 2000). Son compuestos de bajo peso molecular que cuentan con una estructura de tres anillos (C6-C3-C6), con varias sustituciones (Middleton, 2000).

Los flavonoides tienen propiedades biológicas tales como, actividad antimicrobiana, antiulcerosa, antiinflamatoria, antioxidante, antitumoral, antiespasmódica, antidiabética, entre otras (Cruz N. G., 2013). Hay que mencionar, además que los flavonoides presentan una gran variedad de propiedades entre las que se destacan el impacto sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de detoxificación como las monooxigenasas dependientes del citocromo P-450 (Avel González Sánchez, 2011).

Métodos de análisis útiles en la identificación y cuantificación de flavonoides

UV-Vis

La espectroscopía por absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible del espectro se usa ampliamente en la determinación cuantitativa de una gran cantidad de especies inorgánicas, orgánicas y biológicas (Douglas A. Skoog, 2008). “El fundamento de la espectroscopía UV-Vis se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica), por lo que dicha técnica constituye un valioso instrumento para la determinación y caracterización de biomoléculas” (Nieves Abril Díaz, 2000). Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna. Cuando la luz

(considerada como energía) es absorbida por una molécula se origina un salto desde un estado energético basal o fundamental, E1, a un estado de mayor energía (estado excitado), E2. Y sólo se absorberá la energía que permita el salto al estado excitado (Nieves Abril Díaz, 2000). La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400nm. Es una región de energía muy alta. Los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, enlaces peptídicos, sistemas, grupos carbonilos y otros heteroátomos tienen su máxima absorbancia en la región UV, por lo que ésta es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos como los flavonoides (Nieves Abril Díaz, 2000). En la región visible apreciamos las longitudes de onda de luz que transmite, no que absorbe (Nieves Abril Díaz, 2000).

MÉTODOS Y MATERIALES

Tabla 1. Materiales para la obtención de extractos

Reactivos	Equipo	Material de laboratorio
80 ml de Metanol (CH ₃ OH)	Balanza analítica	4 Vasos de precipitado de 50ml
80ml de Agua destilada (H ₂ O)	Parrilla eléctrica Centrifuga Hattich universal 320	1 Pipeta de 10 ml
		1 Probeta de 10ml
		1 Embudo
		8 Papel filtro delgado
		1 Micro espátula
		8 Tubo de centrifuga de 15ml

Tabla 2. Materiales para la curva de calibración y cuantificación de flavonoides del té verde

Reactivos	Equipo	Material de laboratorio
Metanol	Espectrofotómetro UV-Visible Cary 50 scan	1 Celda para espectrofotómetro de plástico (Paso óptico de 1cm)
Agua destilada		1 Celda para espectrofotómetro de cuarzo (Paso óptico de 1cm)
		1 Micro pipeta de 100-1000µl
		1 Micro pipeta de 20-200 µl
		10 Tubos eppendorf de 1.5 ml
		2 Tubos de centrifuga de 15ml

Obtención de los extractos

Para obtener los flavonoides es necesario hacer la extracción en las plantas (Té verde, Níspero y Chaya) por el método de infusión y por disolución metanólica. Los cuales se describen brevemente a continuación.

Infusión. Pesar 200mg de cada planta (Té verde, Chaya, Níspero Acuoso y Níspero metanólico) y adicionar 10ml de agua destilada, calentar en la parrilla eléctrica hasta que la solución alcance el punto de ebullición. Seguidamente retirar la solución de la parrilla, tapar la solución y dejar enfriar durante 15min. Posteriormente filtrar con ayuda del embudo y papel filtro y almacenar la solución en un tubo de centrifuga de 15 ml (Cruz N. G., 2013).

Disolución metanólica. Pesar 200mg de cada planta (Té verde, Chaya, Níspero Acuoso y Níspero metanólico) y adicionar en un tubo de centrifuga 10 ml de una solución 80:20 de CH₃ OH:H₂ O, tapar y agitar. Dejar macerar la solución durante 24h en un lugar oscuro. Posteriormente filtrar con ayuda del embudo y papel filtro y almacenar la solución en un tubo de centrifuga de 15ml (Cruz N. G., 2013). Después de obtener los extractos llevar a centrifuga universal 320 para eliminar partículas sólidas dispersas en solución, a 7500 rpm por 5 min.

Cuantificación de flavonoides en espectrofotometría UV-Visible

Curva de Calibración

Se realizó una curva de concentraciones de té verde haciendo las diluciones mostradas en la tabla 3.

Tabla 3. Preparación para la curva de concentración de flavonoides

Puntos	Volumen de té verde (μL)	Volumen CH ₃ OH:H ₂ O (μL)
1 (5:1)	250	1250
2 (10:1)	136	1364
3 (20:1)	70	1430
4 (30:1)	50	1450
5 (50:1)	30	1470

Antes de hacer la lectura en UV-Vis se agregan 0.5 ml de de CH₃ OH:H₂ O a cada punto, y realizar un barrido inicial en toda la región UV-Vis del espectro electromagnético (200-800 nm)

Nota. Se analizaron tres veces el blanco y dos veces las muestras para tener datos estadísticos representativos.

RESULTADOS

Tabla 4. Análisis de té verde

Intensidad de absorbancia	Concentración de flavonoides del té verde/ (μg/ml)
-0.0003	0.0000
0.0117	3.0000
0.0184	5.0000
0.0241	7.0000
0.0456	10.5000
0.0849	26.0000

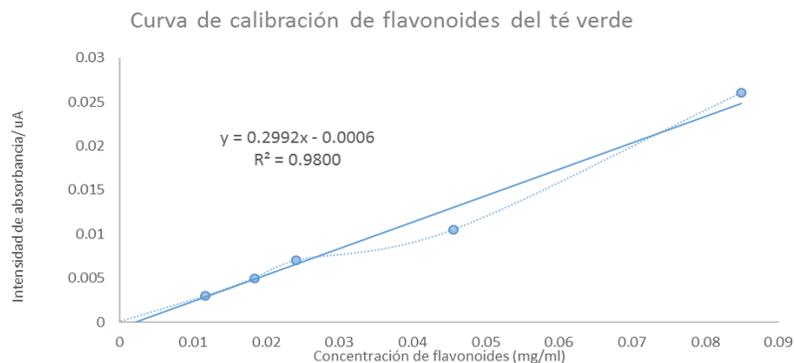


Figura 1. Curva de calibración de flavonoides del té verde

Los extractos obtenidos de chaya y níspero se analizaron realizando una dilución 8:2:1 metanol: agua: extracto y las lecturas en UV-Vis a la longitud de onda de máxima absorción de 663 nm, siguiendo la misma metodología que para la curva de calibración, los resultados obtenidos se muestran de modo resumido en la tabla 5.

Tabla 5. Concentración de flavonoides de las muestras

Muestras	Abs (uA)	[flavonoides] (µg/ml)
Níspero CH ₃ OH (Acuoso)	0.0095	33.8000
Níspero H ₂ O (Metanólico)	0.0067	24.4000
Níspero H ₂ O (Acuoso)	0.0582	196.5000
Níspero CH ₃ OH (Metanólico)	0.0287	98.1000
Chaya (Metanólico)	0.0111	39.3000
Chaya (Acuoso)	0.0384	130.3000

De acuerdo a la información consultada (Casanova, 2012) la concentración de flavonoides en la especie *Camellia Sinesis* (té verde) es de 1.6% p/p por lo que, se realizó la curva de calibración desde 0 hasta 26µg/ml para normalización de la concentración de las especies níspero y chaya obteniéndose un factor de correlación cuadrática (R²) igual a 0.9800.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la espectroscopia UV-Visible las plantas con mayor concentración de flavonoides son el Níspero H₂ O en disolución acuosa con 196.5µg/ml y la Chaya en disolución acuosa de 130.3 µg/ml de acuerdo a las diferentes técnicas de extracción y cuantificación estudiadas en el presente trabajo. Los resultados comparados y normalizados a los datos teóricos de té verde considerando el efecto de dilución de los extractos de níspero y chaya son 31.4 y 20.8 mg de flavonoides extraídos por cada 200 mg de té.

BIBLIOGRAFÍA

Libros

Douglas A. Skoog, F. J. (2008). Introducción a la espectrometría por absorción molecular ultravioleta y visible. En F. J. Douglas A. Skoog, *Principios de análisis instrumental (sexta edición)* (pág. 336). México, D.F.: Cengage Learning.

Artículos de revista

- Avel González Sánchez, Á. C. (2011). Citroflavonoides como posible alternativa en el tratamiento de la diabetes y sus complicaciones. *Revista mexicana de ciencias farmaceuticas*, 17-18.
- Casanova, E. A. (2012). Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante. *UCV Scientia*, 161-175.
- Cruz, N. G. (2013). Evaluación de la actividad antidiabética y antioxidante in vitro de extractos polares de *Justicia spicigera* y elucidación estructural de los compuestos fenólicos mayoritarios. *Universidad Tecnológica de la mixteca*, 26.
- Cruz, N. G. (2013). Evaluación de la actividad antidiabética y antioxidante in vitro de extractos polares de *Justicia spicigera* y elucidación estructural de los compuestos fenólicos mayoritarios. *Universidad Tecnológica de la Mixteca*, 9-14.
- Guadalupe Andrade, A. D. (2018). Variación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y taninos en "Vanilla planifolia" Jacks. ex Andrews de la Huasteca Hidalguense, México. *Dialnet*, 55-66.
- Middleton, E. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological*, 673-751.
- Nieves Abril Díaz, A. B. (2000). Espectrometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Campus Universitario de Rabanales*, 1-2.

- Ramon Valenzuela Soto, M. E. (2015). *Cnidoscolus chayamansa* hidropónica orgánica y su capacidad hipoglucemiante, calidad nutraceutica y toxicidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 815-825.
- Roberto Lemus Mondaca, A. V. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Elsevier*, 1121-1132.

CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS MODIFICADAS MEDIANTE ÁNGULO DE CONTACTO Y ESPECTROSCOPIA RAMAN.

Diana Sofía Gámez Rosales¹, María del Pilar González Muñoz²

RESUMEN

La modificación de membranas poliméricas juega un papel importante en el desarrollo de nuevas tecnologías, como es el uso de membranas como soportes fotocatalíticos.

En este documento se presentan los resultados obtenidos durante la estancia del 20° Verano de la Ciencia Región Centro, en donde se modificó una membrana polimérica de PVDF mediante tratamiento básico/ácido el cual permitirá el anclaje eficiente de TiO_2 sobre la superficie, además se encontró que la exposición de la membrana pura a radiación UV y a soluciones ácidas no representa un impedimento en el uso de tecnologías fotocatalíticas pues presentan una alta resistencia a estas condiciones, esto se demuestra mediante el análisis de espectroscopía Raman así como de ángulo de contacto. Así mismo se presentan estudios de su desempeño en la degradación fotocatalítica del colorante naranja de metilo.

ABSTRACT

The modification of polymer membranes plays an important role in the development of new technologies, such as the use of membranes as photocatalytic supports.

This document presents the results obtained during the stay of the 20th Summer of the Central Region Science, where a polymeric PVDF membrane was modified by basic / acid treatment which will allow the efficient anchoring of TiO_2 on the surface, it was also found that the exposure of the pure membrane to UV radiation and acid solutions does not represent an impediment in the use of photocatalytic technologies because they have a high resistance to these conditions, this is demonstrated by the Raman spectroscopy analysis as well as the contact angle. Likewise, studies of its performance in the photocatalytic degradation of the methyl orange dye are presented.

Palabras Clave: membrana PVDF, básico/acido, TiO_2 , Raman, Angulo de Contacto.

INTRODUCCIÓN

La modificación de membranas poliméricas permite proporcionarle a la membrana nuevas características o incrementar sus propiedades existentes. Recientemente diversas investigaciones se han centrado en la inserción de TiO_2 en membranas poliméricas, en donde, el papel principal de la membrana consiste en actuar como soporte del fotocatalizador (TiO_2), evitando así el paso de recuperación del mismo finalizado el proceso; uno de los inconvenientes de esta deposición es la pérdida del catalizador durante el proceso fotocatalítico debido principalmente a que la deposición del TiO_2 sobre la membrana se hace por recubrimiento superficial, por lo que la interacción entre la membrana y el catalizador es débil, es por eso que se ha buscado llevar a cabo modificaciones químicas en la membrana que permitan anclar de manera permanente el catalizador a la membrana.

El objetivo de este trabajo es llevar a cabo una modificación química en la membrana que permita generar sitios activos para poder anclar de manera permanente el TiO_2 a la superficie y realizar su caracterización mediante espectroscopia Raman y ángulo de contacto.

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ingeniería Bioquímica. Carretera Irapuato – Silao km 12.5 Colonia El Copal, C.P: 36820, Irapuato, Gto. 279459gamez@gmail.com

² Universidad de Guanajuato, Departamento de Química Cerro de la Venada s/N, Pueblito de Rocha, C.P.36040. Guanajuato, Gto, .gomupi@ugto.mx

METODOLOGÍA

Se utilizaron membranas de microfiltración de PVDF hidrófilas con un tamaño de poro de 0.22 μ m. Primeramente, se realizó un estudio para discernir si la luz ultravioleta o el pH de trabajo provocaban una degradación del polímero, para ambos casos la membrana fue expuesta a la luz ultravioleta y/o se mantuvo en condiciones ácidas por diferentes tiempos.

Para la modificación de membrana dos tipos de tratamiento fueron aplicados antes de llevar a cabo la deposición del TiO₂. 1) **Tratamiento NaOH**. La membrana se puso en contacto con una solución al 5% de NaOH por 23 horas. 2) **Tratamiento con NaOH/H₂SO₄** después de poner en contacto con la solución de NaOH, se pone en contacto con una solución al 5% de H₂SO₄ por 23 horas.

Para la incorporación de TiO₂ sobre la membrana, se realiza la síntesis de dichas partículas sobre la misma, poniendo en contacto la membrana con una mezcla de EtOH e Isopropóxido de Titanio IV, posteriormente se agrega HNO₃, se deja en agitación por 23h. Finalizado el tiempo se pone a secar la membrana a temperatura ambiente, para posteriormente llevar a secar utilizando autoclave, por una hora.

Se realizó la caracterización de todas las membranas mediante ángulo de contacto con tres líquidos distintos (agua, formamida y etilenglicol) para poder determinar su energía libre superficial, así como su caracterización por espectroscopia Raman.

Una vez preparadas las membranas se probó su eficiencia fotocatalítica en la degradación (%D) del colorante Naranja de Metilo. La concentración de la solución de colorante empleada fue de 10 ppm a un pH 2, 0.038g de membrana se ponen en contacto con 50 mL de solución de colorante por dos horas utilizando agitación magnética, se aplicó luz ultravioleta (λ 365nm). La cuantificación del colorante en las diferentes soluciones se llevó a cabo mediante espectrofotometría UV-Vis, a una longitud de onda de 507 nm.

RESULTADOS.

Se realizó la caracterización mediante medición de ángulo de contacto de membranas de microfiltración de PVDF expuestas a luz UV y/o solución ácida, así como las modificadas mediante un tratamiento básico, seguido de un tratamiento ácido y finalmente la inserción de TiO₂, la Tabla 1 muestra los valores de ángulo de contacto una vez concluidos los tratamientos.

La exposición a la luz UV y/o solución ácida incrementan el ángulo de contacto de la superficie con el agua indicando un incremento en la hidrofobicidad, los valores obtenidos para la membrana que fue expuesta solamente a condiciones ácidas muestran similitud a los encontrados para la membrana que fue expuesta a luz UV y solución ácida, por lo que la degradación de la membrana puede ser efecto solamente de la solución ácida.

El tratamiento básico/ ácido incrementan el ángulo de contacto de la superficie con el agua indicando un incremento en la hidrofobicidad de la membrana asociado al grupo alqueno formado durante el tratamiento con el NaOH. Cuando se le inserta el TiO₂ a dichas membranas el ángulo de contacto decrecimiento significativamente haciéndolas más hidrofílicas, esta disminución se atribuye a los grupos OH del Oxido de Titanio presentes en la superficie de la membrana.

Se determinó también el ángulo de contacto utilizando además de agua, etilenglicol y formamida, para las membranas sin modificar y modificadas. A partir de estas medidas se calculó: la energía libre superficial (γ^{Tot}), la componente dispersiva (γ^{LW}) y la componente polar (γ^{ab}), la energía superficial se define como la suma de todas las fuerzas intermoleculares que se encuentran en la superficie de un material, es decir el grado de atracción o repulsión que la superficie de un material ejerce sobre otro, esta definición nos ayuda a entender la razón por la cual, cuando la membrana tiene un ángulo de contacto con un mayor valor, es decir, cuando la membrana es más hidrofóbica, la energía superficial será mayor puesto que al utilizar agua que es un líquido con una tensión superficial alta y la superficie de la membrana, al disponer también de una alta tensión superficial, será difícil que la gota de agua se adhiera a la membrana y por lo tanto el valor del ángulo es mayor.

Como podemos observar en la Tabla 1, a las membranas expuestas a luz UV y/o solución ácida, así como las modificadas mediante tratamiento básico/ácido la energía libre superficial incremento más del 60%, en comparación a la membrana pura y dado que la energía libre superficial es un parámetro de caracterización de “adhesión” entre la membrana y un líquido, esto nos muestra que la modificación química incrementa el grado de fuerza adhesiva, lo interesante es que cuando se trata mediante base/ácido/TiO₂ a pesar de tener un incremento en la energía libre superficial, su componente polar incrementa considerablemente concordando con el valor obtenido de ángulo de contacto, lo que permitirá un menor ensuciamiento de la superficie de la membrana por parte de las especies a las que se encuentre expuesta.

Tabla 1. Valores de los ángulos de contacto, energía dispersiva, energía polar y energía superficial total de las membranas con diferente tratamiento, obtenidos utilizando agua.

Membrana PVDF	Agua	γ^{LW}	γ^{ab}	γ^{Tot}
Exposición a luz UV y HCL	Angulo de contacto			
Membrana blanca	94.08	5.440	10.44	15.88
1 hora	101.8	23.94	0.71	24.64
3 horas	114.2	32.18	0.51	32.69
6 horas	120.6	26.42	0.51	27.18
12 horas	112.5	21.95	0.77	21.96
24 horas	113.8	22.04	0.01	22.04
36 horas	117.8	23.51	0.21	23.76
Exposición a HCl				
1 hora	111.6	29.90	0.12	30.02
3 horas	105.6	19.75	0.66	20.41
6 horas	112.5	31.56	0.29	31.85
12 horas	119.3	48.02	3.85	51.86
24 horas	111.5	27.35	0.04	27.39
36 horas	113.7	37.25	0.94	38.19
Tratamiento acido-base	118.8	39.42	1.89	40.95
Tratamiento acido-base-TiO2	81.01	22.02	7.66	29.68

La caracterización por espectroscopia Raman para los diferentes tratamientos Figura 1,2,3 no muestran cambios en la estructura de la membrana, se pueden observar las señales características del PVDF. Un par de señales del estiramiento de los enlaces C-H alrededor de 3000 cm⁻¹; la señal del estiramiento del enlace C-H del metileno se encuentra en 1440 cm⁻¹. Un par de señales de estiramiento del enlace C-F en 1300 cm⁻¹ y 1200 cm⁻¹; la señal de estiramiento del enlace C-C del esqueleto del PVDF se halla en 1150 cm⁻¹. Dos señales de la flexión del enlace C-H están en 1080 cm⁻¹ y 890 cm⁻¹. La combinación de las vibraciones de balanceo de los metilenos y el estiramiento de los grupos CF₂ fuera de fase se observan en la señal en 850 cm⁻¹, una señal intensa es característica del predominio de la fase β (forma I) del PVDF. Las vibraciones de flexión del grupo CF₂ y del esqueleto CCC fuera de fase muestra una señal en 610 cm⁻¹. Finalmente, diversas señales debido a vibraciones de los grupos CF₂ se hallan en 510 cm⁻¹, 410 cm⁻¹, 285 cm⁻¹ y 250 cm⁻¹. En la figura 4 se observan los espectros de las membranas donde se realizó la inserción del óxido de titanio para las membranas modificadas con tratamiento básico/ácido, se puede observar en dichos espectros la presencia de las bandas características de la fase anatasa del TiO₂ (156,409,514 y 640 cm⁻¹) sin perder las bandas características del PVDF.

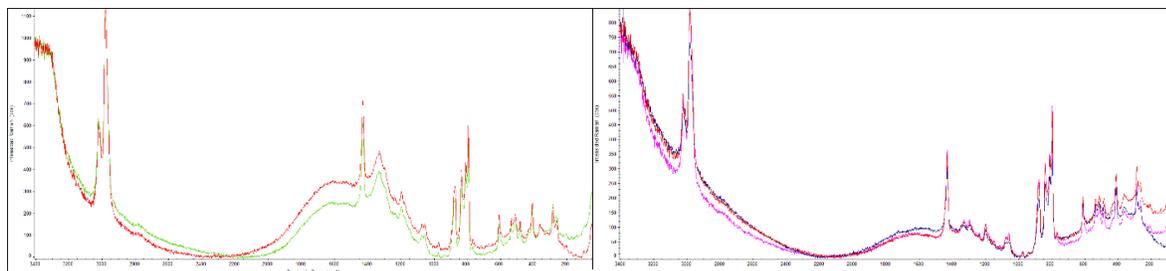


Figura 1. Espectros de membranas expuestas a HCl y luz UV por diferentes horas.

Figura 2. Espectros de membranas que estuvieron en contacto con HCl por diferentes

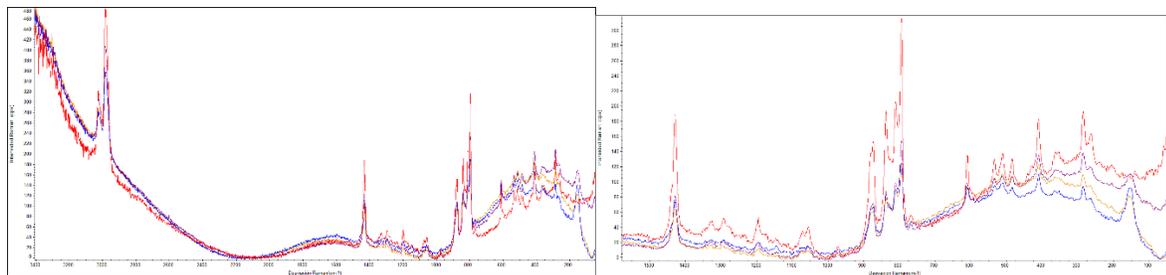


Figura 3. Espectros de membranas tratadas con ácido-base-TiO2

Figura 4. Ampliación de espectros de membranas tratadas con ácido-base-TiO2

En la figura 5 se muestran los resultados de la cinética de degradación para las membranas modificadas con tratamiento básico/ ácido e inserción de TiO₂, sin presencia de luz UV presentan una disminución en la concentración del 1% al no tener la presencia de luz UV, esta decoloración se atribuye a la adsorción del colorante sobre el TiO₂ presente en la membrana, cuando se activa el catalizador con la luz UV se observa que los porcentajes de degradación incrementan conforme pasa el tiempo obteniendo porcentajes de degradación del 50% a 7 horas de exposición a luz UV.

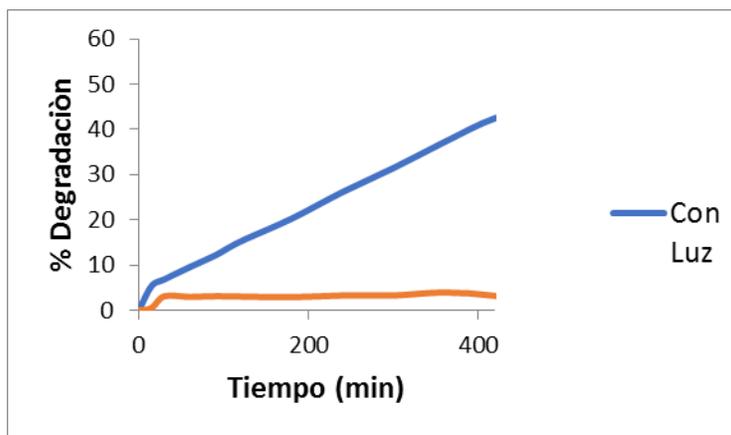


Figura 5. Cinética de degradación del colorante naranja de metilo utilizando membranas modificadas con tratamiento ácido/básico e inserción de TiO₂, en presencia y ausencia de luz UV

CONCLUSIONES

A partir de los espectros Raman, podemos deducir que las membranas de PVDF no presentan degradación por efecto de la luz UV, ni cuando se encuentran sumergidas en soluciones en condiciones ácidas; el tratamiento NaOH/H₂SO₄, permite llevar a cabo una modificación química sobre la superficie de la membrana, generando grupos que permiten llevar el anclaje de TiO₂.

El ángulo de contacto nos muestra un incremento en la hidrofobicidad de la membrana cuando es tratada, sin embargo, cuando se le da tratamiento tanto con NaOH/H₂SO₄ y se le inserta TiO₂ la hidrofobicidad incrementa considerablemente, esto se puede comprobar con la energía libre superficial y sus componentes polares y apolar.

El Tratamiento con NaOH/H₂SO₄ permite llevar a cabo el anclaje de TiO₂ a la superficie de la membrana permitiendo obtener porcentajes de degradación cercanos al 50% a 7 horas de trabajo.

BIBLIOGRAFIA

Zeman L., Zydney A. 1996. Microfiltration and ultrafiltration: Principles and Applications. Marcel Dekker, USA.

GIL PAVAS, Edison. 2002. Fotocatálisis: una alternativa viable para la eliminación de compuestos orgánicos. En: Revista Universidad de EAFIT. Medellín. No 127 (jul. – sep.); p. 59-64.

Giancoli, Douglas C., (2006) Física: principios con aplicaciones (6ª ed.) México: Pearson Educación.

Schneider, R. P. y Tomoyuki-Tsutiya M, (2001). Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso. 1ª edición ABES, São Paulo, Brasil.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto de verano regional de la ciencia no se hubiese logrado sin el apoyo de la Doctora María del Pilar González Muñoz, quien siempre estuvo asesorándome para terminarlo con éxito.

Agradezco al Laboratorio Nacional LACAPFEM. Laboratorio de Espectroscopia Raman por permitirme utilizar el equipo necesario para realizar este proyecto.

Un agradecimiento también al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato por brindarme la oportunidad de ser parte de este Verano Regional de la Ciencia 2018.

ESTUDIO DE SINTESIS DEL TITANATO DE ESTRONCIO A PARTIR DE MINERAL DE CELESTITA

Dulce Alejandra Flores Medina¹, Manuel García Yregoi², Ma. Gloria Rosales Sosa³

RESUMEN

Muestras de mineral de celestita fueron, trituradas, molidas, lixiviadas y carbonatadas, con la finalidad de transformar la celestita (sulfato de estroncio) en carbonato de estroncio. Este carbonato de estroncio fue puesto a reaccionar con óxido de titanio grado reactivo para formar el compuesto de titanato de estroncio a una temperatura de 600 y 800 ° C, por 4 horas. Para conocer los compuestos obtenidos tanto de la carbonatación como de la reacción de síntesis del titanato de estroncio se empleó la técnica de difracción de rayos x.

ABSTRACT

Celestite ore samples were crushed, crushed, leached and carbonated, with the aim of transforming the Celestite (strontium sulfate) in strontium carbonate. This strontium carbonate was put to react with reagent grade titanium oxide to form compound titanate-strontium at a temperature of 600 and 800 ° C, for 4 hours. X-ray diffraction technique was used to learn about the compounds obtained from carbonation reaction of synthesis of strontium titanate x.

Palabras clave: Celestita, carbonatación, titanato de estroncio.

INTRODUCCIÓN

El titanato de estroncio (SrTiO₃) se ha producido desde 1955 por el proceso de Verneuil. La materia prima es negra cuando sale del horno debido a una diferencia de oxígeno, pero por recocido en atmosfera de oxígeno se transforma en incolora. El IR es 2.41, ligeramente inferior al del diamante (2.42), pero la dispersión, 0.19 es unas cuatro veces superior a la del diamante, lo que produce un fulgor excesivo en la piedra facetada. Por otra parte, su baja dureza hace que aparezcan usualmente rayas del pulido y aristas redondeadas en las facetas. Tiene una forma cúbica a temperatura ambiente, pero se convierte en una estructura tetragonal a temperaturas por debajo de 105K. Si la temperatura es muy baja, el compuesto de estroncio y titanio tiene características piezoeléctricas y superconductores.

En este trabajo se trata de formar titanato de estroncio a partir del carbonato de estroncio producido a partir del mineral de celestita mediante una reacción de síntesis en estado sólido a temperaturas superiores a 550 °C. Los productos obtenidos se identificaron por la técnica de DRX.

MARCO TEORICO

La celestita, (1,4) es un sulfato de estroncio Sr(SO₄) con peso específico de 3.9 a 4.0; dureza de 3.0 a 3.5; su color es ligeramente azul, puede ser blanco, amarillo y raras veces verde o rojizo; a veces es fluorescente. Los componentes del estroncio tienen una tendencia a precipitar o absorber pequeñas cantidades de manganeso, hierro y sílice de soluciones de sosa cáustica. El estroncio produce alta fuerza coercitiva y resistividad térmica y eléctrica, y al quemar produce una flama roja brillante única. El carbonado de estroncio mejora la calidad del vidrio en pantallas de televisores, computadoras, sonar y radar e instrumentos de control; también mejora el vidriado en cerámica y

- 1 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, dulce123.alejandra@gmail.com
- 2 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, ma_ga_i@yahoo.com
- 3 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

remueve el plomo en la producción electrolítica de zinc. El estroncio mejora el vaciado y manejabilidad del aluminio. México es el principal productor de celestita a nivel mundial, (1,4). Sin embargo, es importante destacar que un alto porcentaje de este mineral se exporta solo como materia prima para la producción de carbonato de estroncio. Tomando en cuenta que la relación en precios entre celestita en bruto y carbonato y nitrato de estroncio es de 1:8 y 1:13, respectivamente, resulta obvia la necesidad en estos momentos de contar con una alternativa propia para eficientar los procesos de transformación mediante un entendimiento de las cuestiones termodinámicas y cinéticas que intervienen en ellos. El carbonato de estroncio (SrCO_3) se encuentra en la naturaleza como la mineral estroncianita. La estroncianita natural no puede usarse en aplicaciones comerciales ya que está muy contaminada con diversas impurezas. El carbonato de estroncio puro es manufacturado sintéticamente y tiene numerosas aplicaciones industriales. Es de color blanco o amarillo, insípido y ligeramente alcalino.

El carbonato de estroncio es un ingrediente clave en los vidrios y es usado ampliamente en la industria de la cerámica. Le suma durabilidad y dureza al vidrio y reduce las microfisuras. Cubrir una sustancia con carbonato de estroncio la hace resistente a la corrosión, los químicos y los efectos del calor excesivo. Las pinturas con base carbonatada se aplican en los barcos y los fuselajes de los aviones para evitar la corrosión.

Las propiedades físicas del Titanato de estroncio son que el Titanato de estroncio es un material de mucho más denso y más suave que el diamante, pero tiene un sistema de cristales cúbicos, que es por eso que se utiliza como un simulador del diamante. Las propiedades eléctricas dependen de su contenido de oxígeno. Durante la reducción del oxígeno, el compuesto se convierte en metal. Por otro lado, cuando se recupera estequiometría, tiene características dieléctricas. Estequiometría se refiere al porcentaje relativo de los componentes y debe equilibrar. Durante esta fase ferroeléctrico, el titanato de estroncio tiene una constante dieléctrica alta de 104. Puesto que los aumentos constantes dieléctricas, la densidad de flujo eléctrico crece incluso si todos los demás factores se mantienen iguales. Este titanato de estroncio tiene la propiedad de mantener su carga eléctrica o por un largo tiempo para mantener grandes cantidades de carga. También tiene un campo eléctrico bajo. Su punto de fusión es de 2080°C .

Por lo común, el titanato de estroncio en su estado relajado no es ferroeléctrico a ninguna temperatura. Los investigadores han demostrado, sin embargo, que las películas sumamente delgadas del óxido, de sólo unos átomos de espesor, se vuelven ferroeléctricas cuando son empujadas átomo por átomo para llenar el espacio entre los átomos de silicio subyacentes. Cambiando el espaciado entre los átomos en aproximadamente el 1,7 por ciento, se logra alterar de manera drástica las propiedades del titanato de estroncio, convirtiéndolo en un material con propiedades útiles para las memorias electrónicas.

MÉTODOS Y MATERIALES

Solventes y reactivos:

- Mineral de celestita (SrSO_4), con 99% de pureza.
- Ácido Clorhídrico (HCl) concentración al 8%
- Carbonato de Sodio (Na_2CO_3), con un 99% de pureza.
- Hidróxido de Amonio (con un 30% de pureza)
- Agua Destilada
- Cloruro de Bario al 10%
- TiO_2

Equipo:

- Trituradora
- Molino de bolas
- Rotap

- 1 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, dulce123.alejandra@gmail.com
- 2 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, ma_ga_i@yahoo.com
- 3 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

- Lixiviación: El sistema experimental utilizado para las reacciones de lixiviación consistió de un vaso de precipitado de 500 mL.
- Carbonatación: El sistema utilizado para la carbonatación consistió de un matraz Erlenmeyer de 500 mL con tapón provisto de termómetro, colocado sobre una parrilla de agitación magnética MODELOS CIMAREC THERMO SCIENTIFIC.
- Mufla marca Felisa
- Difractor de rayos X, Bruker D8 Advance

Metodología:

1. Trituración y molienda.

En esta etapa de disminución de tamaño de partícula se utilizó una trituradora marca BICO Inc., y un molino de bolas marca BICO Inc., con el objeto de obtener un tamaño de partícula menor a 270 mallas, el cual se determinó en el ROTAP. El objetivo de tener un tamaño de partícula pequeño es que incrementamos su área de contacto.



Figura 1. Trituradora BICO INC y Molino de bolas BICO INC.

2. Lixiviación

Para la lixiviación se tomaron muestras de 30g para cada una de las concentraciones de ambos ácidos (3 muestras en total), cada muestra se colocó en un vaso de precipitado de 500ml con el agente lixivante correspondiente previamente diluido a las concentraciones de 8% (v/v), las muestras se digirieron durante 10 minutos; posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman No. 40 y se lavaron con 10 ml de agua destilada caliente, el papel filtro se colocó en un vidrio de reloj y se dejó evaporar el agua en el ambiente. Las muestras secas se pesaron y se determinó el rendimiento de reacción. Las muestras son transferidas a un vaso de precipitado en donde se neutralizaron con Hidróxido amonio al 8% (v/v) en agua durante 10 minutos; posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman No. 40 y se lavaron con 10 ml de agua destilada caliente, el papel filtro se colocó en un vidrio de reloj y se dejaron secar para la etapa de carbonatación⁽¹⁾.

3. Carbonatación:

En un matraz Erlenmeyer de 500 mL se colocó la muestra lixiviada y seca, posteriormente se añadieron 150 mL de agua destilada y después se agregó el correspondiente estequiométrico de carbonato de sodio más un 10% de exceso. Después se procedió a agitar a una temperatura constante de 90°C por 2 horas extrayendo una muestra de 3 mL cada 30 minutos para la determinación de la fracción reaccionada. A cada muestra extraída se le agregó 1 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado, 2 ml de Cloruro de Bario al 10% mientras se calentaba a flama directa por 2 minutos, esto con el fin de precipitar el Carbonato de Estroncio presente en cada muestra.

Finalmente se dejó secar cada muestra y se pesó para medir la cantidad de Carbonato de Estroncio presente, para después pasar a la etapa de calcinación⁽²⁾.

4. Reacción de síntesis en estado sólido de titanato de estroncio a alta temperatura (calcinación)

La reacción entre el carbonato de estroncio y el óxido de titanio grado reactivo se efectuó en una mufla marca Felisa, para esto, se mezclaron perfectamente los precursores de la reacción en un mortero de ágata, posteriormente se puso a reaccionar a una temperatura de 600 y 800 °C con un tiempo de permanencia de 4 horas. Esta reacción se

1 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, dulce123.alejandra@gmail.com
 2 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, ma_ga_i@yahoo.com
 3 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

efectuó en una atmosfera no controlada. Una vez concluido el tiempo de reacción se dejó enfriar lentamente dentro del horno-mufla. Los productos obtenidos fueron analizados por DRX.

RESULTADOS

El tamaño de partícula de la celestita menor a 270 mallas fue apropiado para llevar a cabo las reacciones de lixiviación y carbonatación de la celestita.

En la figura 2 se puede observar el difractograma obtenido de la muestra de celestita carbonatada, en ella podemos apreciar que todos los picos corresponden a la fase carbonato de estroncio carta de referencia (96-901-3803) (Aragonite, Antao S. M., Hassan I., "The orthorhombic structure of CaCO_3 , SrCO_3 , PbCO_3 and BaCO_3 : Linear structural trends Locality: synthetic", The Canadian Mineralogist 47, 1245-1255 (2009). Software match, versión 1.10.

En la figura 3 se muestra el difractograma de la reacción entre el carbonato de estroncio y el óxido de titanio grado reactivo, a una temperatura de 600°C por 4 horas. En la misma se pudo determinar a un ángulo 2θ de 29.92 la fase brokite (carta 96-900-9088) que es un óxido de titanio con estructura ortorrómbica. La fase anatasa la encontramos a 44.11 y a 63.55 , correspondiente a un óxido de titanio con estructura tetragonal (carta 96-900-9087). Los picos más intensos son coincidentes con la fase carbonato de estroncio (Strontianite carta 96-901-3803) con estructura ortorrómbica.

En la figura 4 se puede interpretar gráficamente en la gráfica donde se muestra el Titanato de estroncio con celestita después de ser tratado por 4 horas a 800°C . En esta podemos observar que ya se empieza a formar el titanato de estroncio, lo observamos a un ángulo 2θ de 37.81 , 46.65 , 54.48 , (carta de entrada 96-900-2807, software match, ver 1.10). Sin embargo observamos que aún hay fases de carbonato de estroncio y óxido de titanio.

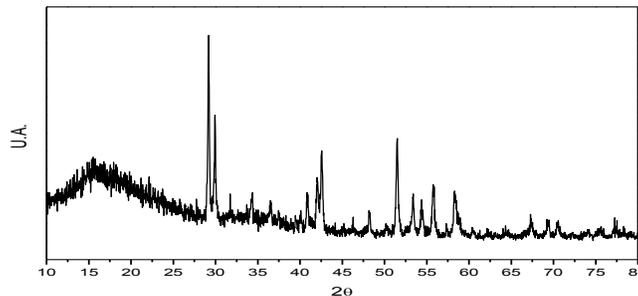


Figura 2. Celestita carbonatada

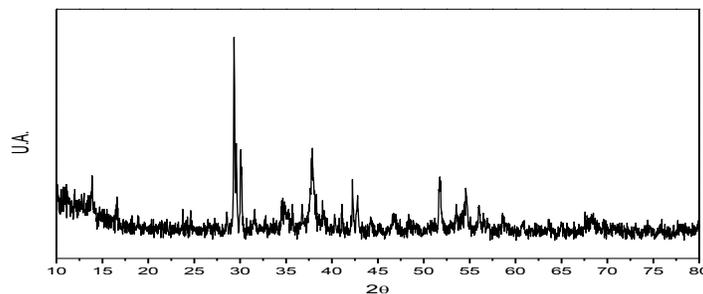


Figura 3. Difractograma que muestra las fases presentes de la reacción entre carbonato de estroncio y óxido de titanio a una temperatura de 600°C y 4 horas de permanencia.

- 1 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, dulce123.alejandra@gmail.com
- 2 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, ma_ga_i@yahoo.com
- 3 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

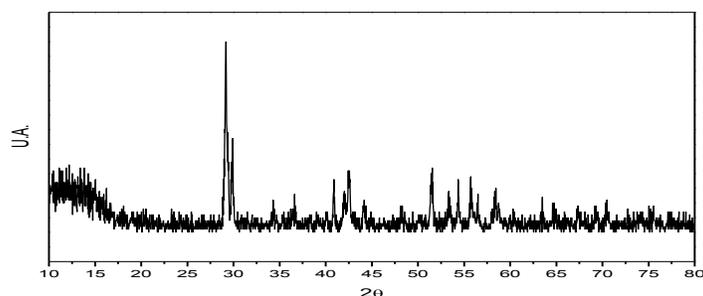


Figura 4. Difractograma que muestra las fases presentes de la reacción entre carbonato de estroncio y óxido de titanio a una temperatura de 800°C y 4 horas de permanencia.

CONCLUSIONES

El tamaño de partícula menor a 270 mallas fue apropiado para efectuar las reacciones de lixiviación y carbonatación de la celestita.

El ácido clorhídrico y el cloruro de bario resultaron ser buenos lixiviantes del mineral de celestita para obtener carbonato de estroncio.

En la reacción de síntesis a la temperatura de 600°C por 4 horas, entre el carbonato de estroncio y óxido de titanio grado reactivo, no ocurre la formación del titanato de estroncio.

En la reacción de síntesis a la temperatura de 800°C por 4 horas, entre el carbonato de estroncio y óxido de titanio grado reactivo, si ocurre la formación del titanato de estroncio, este lo podemos encontrar a un ángulo 2θ de 37.81, 46.65, 54.48, (carta de entrada 96-900-2807, software match, ver 1.10), aunque también existen fases de carbonato de estroncio y óxido de titanio.

BIBLIOGRAFÍA

<https://www.euston96.com/estroncio/>

<http://bueno-saber.com/culturas/propiedades-de-titanato-de-estroncio.php>

<file:///C:/Users/Acer/Desktop/celestita%20tesis/259321220-Titanato-de-Estroncio.pdf>

Secretaría de Economía <http://www.economia.gob.mx> P=1720

Alex Golman "Handbook of modern ferromagnetic materials" (Microstructural aspects of ferrites) Kluwer Academic Publishers, 1999. Pág. 206, 291,304.

M. Sukiennik, J. Méndez, J. Torres, A. Flores, J. Escobedo, "Propiedades Termodinámicas y Cinéticas del Sulfato de Estroncio en una atmósfera de Co y CO₂", CINVESTAV-IPN, Saltillo, México. XV Congreso Mundial de Minería, España. Pp 799-808

Javier Rivas Ramos, Eduardo Sánchez C, Daniel Meade M., "Obtención de Carbonato de Estroncio a partir de Celestita", Departamento de Química, División de Ciencias y Humanidades, ITESM Campus Monterrey, México, 1987, pp 1-10

Sutarno, R.H.Lake and W.S.Bowman, "The extraction of Strontium from the mineral Celestine", Mines Branch Research Report R., p.223.

https://books.google.com.mx/books?id=ol2xn_6jgn0C&pg=PA678&lpg=PA678&dq=titanato+de+estroncio&source=bl&ots=N71x9c_1A9&sig=jNM30Uawx1nVZGwlA1UfVXM_u7o&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiOpt6178nbAhVOnq0KHZvTB5U4ChDoAQhDMAy#v=onepage&q=titanato%20de%20estroncio&f=false

- 1 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, dulce123.alejandra@gmail.com
- 2 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, ma_ga_i@yahoo.com
- 3 UAdC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

OBTENCIÓN DE UNA CONSTRUCCIÓN PARA SILENCIAR EL GEN *SsMNT1* EN *Sporothrix schenckii*.

Eduardo Moncada Hernández¹ y Héctor Manuel Mora Montes²

RESUMEN

La esporotricosis es una infección micótica de evolución subaguda o crónica, adquirida por inoculación traumática de algunas de las especies del complejo *Sporothrix schenckii*. Se ha identificado el gen *SsMNT1* de *S. schenckii* y expresado en la levadura de *Pichia pastoris*, el cual mostró actividad de manosiltransferasa dependiente de Mn⁺² y la capacidad de reconocer aceptores alfa-metil manosidos, manosa, oligosacáridos y una variedad de mannosidos. Debido a que se conoce poco sobre los procesos de glicosilación de proteínas en *S. schenckii*, es de interés conocer la participación del gen *MNT1* en dicha ruta. Se pretende en este trabajo generar transformantes silenciados del gen *SsMNT1* en *S. schenckii* para observar si se anula ciertas actividades bioquímicas o al contrario, si estas aumentan.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a fungal infection of subacute or chronic evolution, acquired by traumatic inoculation of some of the species of the *Sporothrix schenckii* complex. The *SsMNT1* gene of *S. schenckii* has been isolated and expressed in *Pichia pastoris*, and showed Mn + 2 dependent mannosyltransferase activity and the ability to recognize alpha-methyl mannose, mannose, oligosaccharides and a variety of mannosides as acceptors. Because little is known about the processes of glycosylation of proteins in *S. schenckii*, it is of interest to know the participation of the *MNT1* gene in this route. The aim of this work is to generate silenced transformants of the *SsMNT1* gene in *S. schenckii* to observe if certain biochemical activities are canceled or vice versa if they increase.

Palabras Clave: *MNT1*, Glicosilación, Transformantes, glicanos.

INTRODUCCIÓN

La esporotricosis es una micosis causada por el hongo dimórfico *S. schenckii*, la cual se distribuye en todo el mundo. Generalmente la inoculación suele ser traumática. Dependiendo de la ruta por la cual el hongo haya penetrado al hospedero podemos encontrar diferentes formas clínicas de la esporotricosis, ya sea cutánea, ocular, nasal y extra cutáneas. Además de la cantidad del inoculo, el estado inmune de quien fue infectado, la profundidad de la inoculación traumática, etc. Definen la forma clínica que se desarrolla en los individuos infectados. El primer paso para que un patógeno tenga éxito es su capacidad de adherirse y colonizar los tejidos. Las moléculas de adhesión expresadas en la superficie del hongo pueden mediar su interacción con células y componentes de la matriz extracelular. La pared celular de *Sporothrix* tiene glicoproteínas con un alto contenido de manosa y unidades de ramnosa, que se sintetizan por glicosiltransferasas localizadas en el retículo endoplásmico y el complejo Golgi. En *Sporothrix* se sabe muy poco acerca de la maquinaria enzimática implicada en la síntesis de estos oligosacáridos, o los genes que codifican estas actividades. La familia de genes *MNT1/KRE2* es un grupo de genes que codifican manosiltransferasas residentes del aparato de Golgi, específicas de hongos, que participan en la síntesis de glicanos unidos a enlaces *O*- y *N*-. El genoma de *S. schenckii* contiene solo tres miembros de dicha familia, dos de ellos son capaces de restaurar la síntesis de mananos ligados a *N*-, pero no glicanos unidos a *O*-. El producto del gen *MNT1* se ha caracterizado como una enzima que participa en la síntesis de glicanos unidos a enlaces *N*- y enlaces *O*- que son uniones a un grupo amida de la cadena lateral del aminoácido asparagina (Asn) y a un grupo OH de la cadena lateral de los aminoácidos serina o treonina (The/Ser) respectivamente.

MÉTODOS Y MATERIALES

Microorganismos utilizados.

Sporothrix schenckii cepa 4821.

Escherichia coli DH5 α

Medios de cultivo y condiciones de crecimiento.

La cepa de *Sporothrix* fueron crecidas a 28°C en medio YPD (extracto de levadura, 1%; peptona de gelatina, 2%; glucosa, 3%), a pH de 4.5 para la obtención de conidios e hifas, y en el mismo medio a pH de 7.8 para la obtención de levaduras. Todas las incubaciones en medio líquido se realizaron con agitación orbital de 120 rpm.

Reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) y electroforesis en gel de agarosa.

Las reacciones de PCR se realizaron en un termociclador T100®(Bio-Rad, USA).

Las reacciones en su mayoría contenían 2 μ L del Templado 1 μ L de oligonucleótido directo y 1 μ L del reverso 0.5 μ L de dNTP, 2 μ L de Buffer, 0.2 μ L de ADN polimerasa y 13.3 μ L de agua en un volumen final de 20 μ L. Las condiciones utilizadas para la amplificación del ADN fueron: 95°C /3min, 95°C/30 seg, 55°C/30 seg, 72°C/30seg, X29 ciclos 12°C/5 min, 12°C/ ∞ . Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% en regulador TAE 1X (Tris 40mM, ácido acético 20mM y EDTA1mM). El corrimiento electroforético se realizó a 100 V hasta que el regulador de carga alcance el borde inferior del gel. Los geles fueron inspeccionados bajo iluminación UV y capturados en imagen en un analizador ChemiDoc MP (BioRad).

Purificación de fragmentos amplificados mediante PCR.

Se purificaron las bandas de los productos a partir de gel de agarosa utilizando el kit illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare Life Science). La ligación de los fragmentos de ADN al vector de mantenimiento y transformación de células competentes E.coli. Los fragmentos amplificados y rescatados de los geles de agarosa se ligaron al vector pJET1.2/blunt. La transformación se realizó por el método químico utilizando las células E.coli DH5 α . Las células (50 μ L) se espatularon en medio solido LB más ampicilina y se incubaron por 16 horas a 37°C y 200 rpm.

Extracción de ADN plasmídico.

Se seleccionaron ciertas colonias de la placa de LB más ampicilina y colocaron en tubos de vidrio que contienen 2 mL de medio LB con ampicilina los cuales se dejaron creciendo 16 horas a 37°C con agitación de 200 rpm. Posterior a esto se pasan a tubos eppendorf y se centrifugan por 5 min, se tira el sobrenadante y se resuspende en 50 μ L de su propio sobrenadante. Se le agrega 300 μ L de solución TENS. Agregamos 150 μ L de acetato de sodio 3M a pH 5.2. Centrifugar 5 minutos a 11000 rpm. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo. Agregar 900 μ L de etanol al 100%, centrifugar 2 min a 11,000 rpm. Eliminar el sobrenadante. Para eliminar el exceso de sales lavar dos veces con etanol al 70%.

RESULTADOS

Con el fin de silenciar el gen *MNTI* se diseñaron oligonucleótidos con base a la secuencia de aminoácidos del gen *MNTI*, el cual se encontró que tiene 3 exones. Se trató de rescatar un fragmento de 290-310 pb para silenciar a Ss*MNTI*, tomando en cuenta el usar Xho I, Hind III, Stu I, Bgl II como enzimas que se usarán como adaptadores (tabla 1).

Tabla 1 Oligonucleótidos

Oligonucleótido para sentido	# de bases	Tm °C	%GC
Directo: 5' CTCGAGCGACTCGTCCAGCGACCC 3'	24	56.2	72.2
Reverso: 5' AAGCTTATCGACCGAGCGACTTCCC 3'	25	56.3	63.2
Oligonucleótido para anti-sentido			
Directo: 5' AGGCCTCGACTCGTCCAGCGACCC 3'	25	56.2	68.4
Reverso: 5' AGATCTATCGACCGAGCGACTTCCC 3'	25	56.3	63.2

De la amplificación por PCR del ADN genómico usando los oligonucleótidos sentido y antisentido se obtuvieron amplicones de 300 pb, respectivamente, usando un gradiente de temperatura como se muestra en las figura 1 y 2.

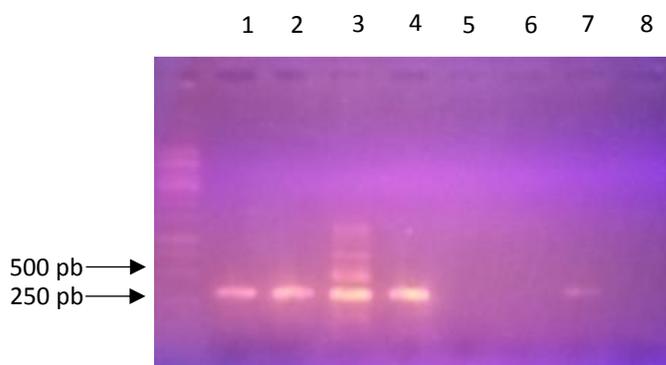


Figura 1. PCR con gradiente de temperatura del oligonucleótido sentido (1, 62°C; 2, 61.1°C; 3, 59.6°C; 4, 57.3°C; 5, 54.6°C; 6, 52.3°C; 7, 50.8°C; 8, 50°C.)

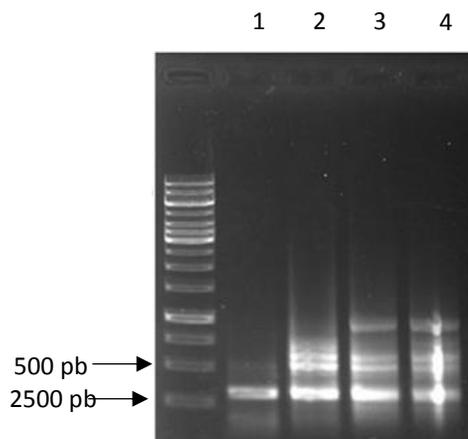


Figura 2 PCR con gradiente de temperatura del oligonucleótido anti sentido (1, 55°C; 2, 60°C; 3, 56.2°C; 4, 61.0°C)

Estas bandas tanto del fragmento sentido como del antisentido se cortaron y purificaron utilizando el kit ilustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare Life Science). El purificado de estos se ligó al vector de mantenimiento pJET1.2/blunt. La ligación se utilizó para transformar con *E.coli* DH5 α , las colonias que se obtuvieron de la transformación se les extrajo ADN plasmídico donde para el fragmento sentido ligado a pJET1.2/blunt (pJET1.2-Sen) se seleccionaron 17 colonias y para el fragmento antisentido ligado a pJET1.2/blunt (pJET1.2-Ant) se seleccionaron 14 colonias.

La construcción del plásmido pJET1.2-Sen se le realizó una digestión con las enzimas de restricción HindIII y XhoI (figura 3). Para extraer el fragmento y poderlo orientar en la siguiente construcción. De la misma manera se trabajó con el fragmento antisentido, pero para este se utilizaron las enzimas de restricción BglII y StuI (figura 4).

Una vez que se extrajo el fragmento sentido y se ligó al vector de mantenimiento Psilent-1 donde se linealizó con las enzimas HindIII y XhoI previamente. Para ello se comprobó que el fragmento sentido se allá ligado correctamente al vector Psilent-1 se usaron oligonucleótidos que van del promotor al terminador dando como resultado de la amplificación un fragmento de 800 pb ya con el fragmento sentido de interés. Una vez comprobada la construcción de Psilent-1 con el

fragmento sentido se procedió a extraer el fragmento antisentido de la construcción pJET1.2-Ant con las enzimas de restricción BglII y StuI así como linealizar la construcción del Psilent-1-Sen. Una vez extraído el fragmento antisentido del vector pJET1.2/blunt este se ligó a Psilent-Sen dando como resultado una construcción con los dos fragmentos sentido y antisentido.

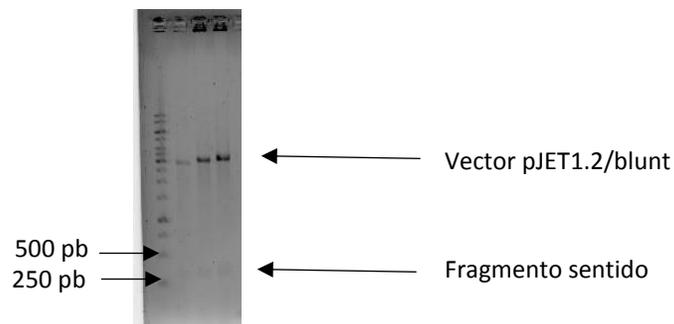


Figura 3. Liberación del fragmento sentido con las enzimas HindIII y XhoI del vector pJET1.2/blunt.

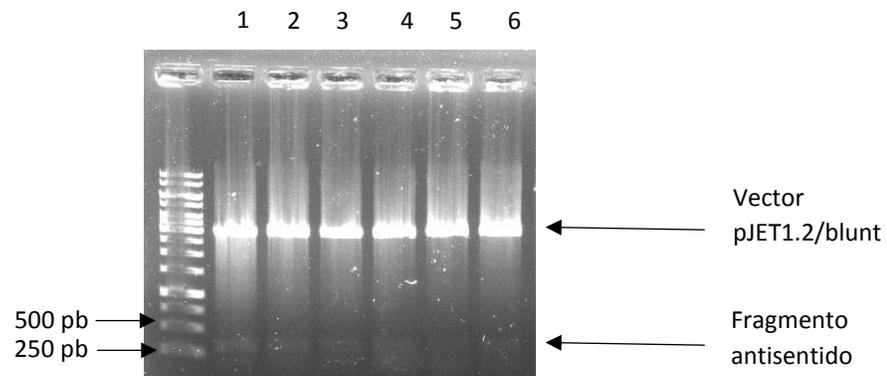


Figura 4. Liberación del fragmento antisentido con las enzimas BglII y StuI del vector pJET1.2/blunt

CONCLUSIONES

Con el propósito de llegar a tener una construcción, la cual sirva para generar el silenciamiento del gen *MNT1* de *Sporothrix schenckii*, se llevó a cabo una serie de procesos como diseño de oligonucleótidos los cuales fueran los más específicos, así como las enzimas de restricción utilizadas fueran las más adecuadas. Se logró la extracción de los fragmentos pero fue muy complicada la extracción del fragmento antisentido ya que las enzimas utilizadas para este necesitan más tiempo de digestión.

BIBLIOGRAFIA

Aislamiento de *Sporothrix schenckii* MNT1 y la caracterización bioquímica y funcional de la actividad codificada α 1,2-manosiltransferasa. Hernández-Cervantes A 1, Mora-Montes HM , Álvarez-Vargas A , Jiménez DF , Robledo-Ortiz CI , Flores-Carreón A.

Armando Oliveira Schubach Mônica Bastos de Lima Barros, Rodrigo de Almeida Paes. (2011). *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. clinical microbiology reviews, Vol.24, 633-654

IDENTIFICACIÓN DE CLONAS SOBREEXPRESANTES DE UNA XILOSA REDUCTASA EN *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis oculata*

Ortiz Ortiz, Emelin Esperanza ¹ y Soria Guerra Ruth. Elena².

RESUMEN

Se transformó el cloroplasto de las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis oculata* con el gen codificante de la enzima xilosa reductasa con el fin de optimizar el proceso metabólico para la síntesis de xilitol mediante técnicas de ingeniería genética. El objetivo de este proyecto es identificar a las microalgas de *C. vulgaris* y *N. oculata* transformadas con el gen de la xilosa reductasa clonado en el plásmido PTTJ-32. Como primer paso fue necesario crecer las posibles cepas transformadas en medio Bold con kanamicina para después hacer la extracción de ADN genómico de cada uno y analizarlas mediante una PCR usando oligonucleótidos XR que nos permiten identificar gen de la xilosa reductasa de las muestras seleccionadas y los oligonucleótidos Aph-6 que nos permiten detectar el gen de resistencia a kanamicina. Sin embargo solo obtuvimos resultados claros con los oligonucleótidos XR, teniendo un total de cinco muestras positivas; tres de *N. oculata* y dos de *C. vulgaris*.

ABSTRAC

The chloroplast of the microalgae was transformed with the gene coding for the Xylose reductase enzyme in order to optimize the metabolic process for the synthesis of xylitol by genetic engineering techniques. The objective of this project is to identify the *C. vulgaris* and *N. oculata* strains transformed with the xylose reductase gene cloned in the PTTJ-32 plasmid. The first step was to grow the possible transformed strains in Bold medium with kanamycin in order to extract the genomic DNA from each clone and analyze them by PCR using oligonucleotides XR, which allows to identify the xylose reductase gene in the selected clones and the oligonucleotides Aph-6, which allows to detect the kanamycin resistance gene. However, we only obtain clear results with the XR oligonucleotides, having a total of five positive samples; three for *N. oculata* and two for *C. vulgaris*.

Palabras clave: xilitol, microalgas, transformación genética

INTRODUCCIÓN

El xilitol es un alcohol pentahidroxilado que posee gran interés comercial debido a sus propiedades físico-químicas que facilitan su uso en las industrias alimenticia, farmacéutica y odontológica (Emodi, 1978). La anticariogenicidad del xilitol es una característica de gran importancia principalmente para los países del tercer mundo, donde la incidencia de caries es extremadamente alta. El xilitol posee también varias aplicaciones clínicas que lo indican para el tratamiento de personas con diabetes, desórdenes en el metabolismo de lípidos, lesiones renales y parenterales, en la prevención de otitis, infecciones pulmonares y osteoporosis (Mäkinen, 2000).

La xilosa puede ser convertida en xilitol en una reacción enzimática de un paso, catalizada por la xilosa reductasa; debido a que esta enzima requiere NADPH como cofactor, la conversión de la xilosa en xilitol se torna dificultosa (por la no regeneración del cofactor). Una alternativa para solucionar este problema, implica el uso de técnicas de Ingeniería Genética como herramienta para la generación de organismos modificados genéticamente con el fin de mejorar la conversión de xilosa a xilitol, lo cual puede lograrse mediante la sobreexpresión de la enzima Xilosa Reductasa (XR) (Pourmir et al., 2013).

Las microalgas se consideran una plataforma alternativa para la producción de distintos compuestos biotecnológicos, ya que ofrecen un sin número de ventajas en comparación con las cepas de levaduras y bacterias. Por ejemplo, su

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad Universitaria. Ejido El Águila, C.P. 27276, Torreón, Coahuila, México. emelin_ortiz2@hotmail.com

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No.6, Zona Universitaria C.P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México. ruth.soria@uaslp.mx

velocidad de crecimiento rápido con mínimos requerimientos, su cultivo rentable, la facilidad para su escalamiento y manipulación genética, además de ser considerados inocuos para la salud (Pourmir et al., 2013).

En cuanto a la producción de proteínas recombinantes, las microalgas tienen ciertas ventajas que las hacen una alternativa atractiva, por ejemplo, requieren un tiempo corto para la obtención de líneas transgénicas y los reactores son escalables fácilmente, además de que las microalgas pueden crecer en biorreactores cerrados y así no representar un riesgo ambiental por el flujo de transgenes. También se sabe que, si una proteína es expresada correctamente en las microalgas, los pasos de purificación pueden ser eliminados, teniendo así, una disminución en los costos de producción (López-Limón 2014).

Uno de los principales inconvenientes del uso de microalgas en la producción de proteínas recombinantes son los bajos niveles de producción, por lo que el uso de la ingeniería genética se ha convertido en parte del proceso. La especie ampliamente reportada en estudios relacionados con el tema es *Chlamydomonas reinhardtii*, lo cual deja una gran oportunidad para el estudio de otras microalgas como *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis oculata*.

La inserción de transgenes en el cloroplasto de *C. vulgaris* y *N. oculata* se lleva a cabo por recombinación homóloga, y es sitio dirigida ya que se hace uso de vectores específicos, y, por lo tanto, se evita el silenciamiento de transgenes, lo cual ocurre usualmente al modificar genéticamente el genoma nuclear.

Una vez realizada la transformación es necesario hacer pruebas para comprobar la inserción del transgén utilizando oligonucleótidos específicos, en este proyecto se usaron dos; los oligonucleótidos específicos XR que permiten identificar al gen de la xilosa reductasa en las cepas y para el gen de resistencia a Kanamicina (*Aph6*) ya que este es el agente de selección en el vector utilizado.

MATERIALES Y METODOS

Extracción de ADN plasmídico PTTJ-32

En medio LB con kanamicina a 100 mg/L se hizo un cultivo del plásmido PTTJ-32 por 24 horas a 37°C. Se extrajo el ADN por dos métodos

- Minipreps (lisis alcalina)

Se tomó 1.5 mL del cultivo en un tubo de 1.5 ml, y se centrifugó a 12,000 rpm por 2 min, se eliminó el sobrenadante y se agregó 150 µL de la solución BD I, se resuspendió la pastilla, posteriormente se agregó 300 µL de la solución BD II y se mezcló por inversión y se incubó por 3 minutos a temperatura ambiente. Enseguida se agregó 225 µL de la solución BD III y se mezcló nuevamente por inversión. Luego se centrifugó por 10 minutos a 12,000 rpm, se transfirió el sobrenadante a un tubo de 1.5 ml y se le agregó 600 µL de isopropanol frío y se incubó por 30 minutos a -20°C. Se centrifugó por 10 min a 12,000 rpm y se tiró el sobrenadante cuidando la pastilla y se le agregó 1 µL de etanol al 70% y se mezcló por inversión. Se centrifugó a 12,000 rpm por 2 minutos y se descartó el sobrenadante. Por último se secó la pastilla en el termoblock a 55°C y se disolvió en 25 µL de agua destilada estéril.

- Minipreps (Kit por columnas)

Se realizó una extracción de ADN de acuerdo al protocolo de Wizard Plus SV minipreps DNA Purification System. Se tomó 1.5 mL del cultivo y se centrifugó a 12,000 rpm por 2 min, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió completamente el sedimento con 250 µl de la solución de resuspensión celular. Se agregó 250µl de solución de lisis celular a cada muestra, se invirtió 4 veces para mezclar, se añadió 10µl de solución de proteasa alcalina, se volvió a invertir y se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente. Enseguida se agregó 350µl de solución de neutralización, se invirtió y se centrifugó a 13,000 rpm por 10 min y el sobrenadante se transfirió a la columna y se centrifugó nuevamente por 1 min a 13,000 rpm, y se eliminó lo filtrado. Se agregó 750µl de solución de lavado y se centrifugó nuevamente por un minuto, se desechó lo filtrado y se repitió el paso anterior con 250µl de la solución de lavado. Por último, se transfirió la columna de centrifugación a un tubo de 1.5 ml y se le agregó 100 µL de agua destilada estéril y se centrifugó por última vez.

Después de la extracción, en ambos casos se corrió un gel de agarosa al 1% para observar la calidad de las muestras (100 Volts por 15 minutos).

Estandarización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para obtener resultados reproducibles y antes de incluir las muestras de las microalgas problema, se estandarizó la reacción de PCR con el ADN del plásmido PTTJ-32 (utilizado como control positivo) a las concentraciones y

temperaturas indicadas en la Tabla 1, utilizando los oligonucleótidos *Aph-6*, los cuales amplifican al gen de selección contenido en el plásmido PTTJ-32.

Tabla 1. Temperaturas y concentraciones de $MgCl_2$ para estandarizar la reacción de PCR para los oligonucleótidos *Aph-6*.

Temp. (°C)	56			57			58		
Conc. (mM)	2.5	3	4	2.5	3	4	2.5	3	4

Enseguida se corrió un gel de agarosa al 2% con las muestras a 70 volts durante 30 minutos, para seleccionar el mejor producto amplificado.

Extracción de ADN genómico de *C. vulgaris* y *N. oculata*.

Para la extracción de ADN se utilizaron 8 cepas crecidas en medio Bold liquido con kanamicina, 4 cultivos de *N. Oculata* y 4 cultivos de *C. vulgaris*. Estos cultivos fueron proporcionados por el laboratorio de Biotecnología Molecular de Células Vegetables, en donde previamente se llevó a cabo la transformación del cloroplasto de estas microalgas mediante biobalística. Para la extracción de ADN se tomó 1.5 mL de cada cultivo en un tubo eppendorf, se centrifugó por 60s a 12,000 rpm, se decantó el sobrenadante y se suspendió en 150 μ L de agua, enseguida se le añadió 300 μ L de buffer SDS-EB y se agitó en vortex, se añadió 350 μ L de fenol/CIA y nuevamente se homogenizó en vortex. Se centrifugó por 5 min a 13,000 rpm y se decantó el sobrenadante. Enseguida se lavó la pastilla con 200 μ L de etanol al 70% y se centrifugó nuevamente por 2 minutos, se decantó sobrenadante, se secó la pastilla en el termoblock a 55°C y se agregó 20 μ L de agua.

Se hizo un gel de calidad de agarosa al 1% y se dejó correr a 100 volts por 15 minutos

Posteriormente, se cuantificó la concentración del ADN extraído usando el equipo Nanodrop (200 Thermo Cientific).

Por otro lado, se dejó crecer en 20 mL de medio Bold las cepas sin transformar de *Chlorella vulgaris* y *N. oculata* durante 2 semanas (control negativo) y se extrajo el ADN de la misma manera que las posibles transformadas.

Se corrió un gel de agarosa al 1% con las muestras para observar la calidad de la extracción realizada (100 Volts por 15 minutos).

Identificación de muestras transformadas mediante PCR

Se realizó un análisis mediante PCR con los oligonucleótidos XR y *Aph-6* para verificar la presencia del transgén. Los reactivos utilizados por reacción fueron: Buffer 1 X, dNTP's (0.2 mM), oligonucleótidos Forward y Reverse (0.2 μ M), $MgCl_2$ 4 mM y 0.3 μ L de TAQ polimerasa, además de 1.5 μ L de ADN (0.58-11.55 ng/ μ L) todo ajustado a un volumen final de 15 μ L. La reacción se llevó a cabo a una temperatura de amplificación de 57^o C.

Los productos de PCR se observaron en un gel de agarosa al 2% (70 volts por 30 minutos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de DNA plásmidico PTTJ-32

De los dos protocolos utilizados para la extracción de ADN plasmídico (PTTJ-32) se obtuvo un ADN de mejor calidad utilizando el kit (Wizard) (Figura 1) por lo que en los siguientes ensayos se trabajo solo con este.



Fig.1 Gel de agarosa al 1% del ADN plasmídico extraído con el Kit (Wizard).

Estandarización de la PCR

Al obtener resultados satisfactorios con la extracción del ADN plasmídico se continuó con una estandarización de la PCR para obtener las condiciones óptimas para la amplificación del gen *Aph-6*. Para la PCR se usaron temperaturas de 56°C, 57°C y 58°C y concentraciones de 2.5, 3 y 4 mM de MgCl₂.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el gel de agarosa al 2% (figura 2), se consideró como concentración óptima de MgCl₂ 4 mM a una temperatura de 57°C para la reacción del PCR, al observarse una banda única del tamaño esperado de 150 pb.

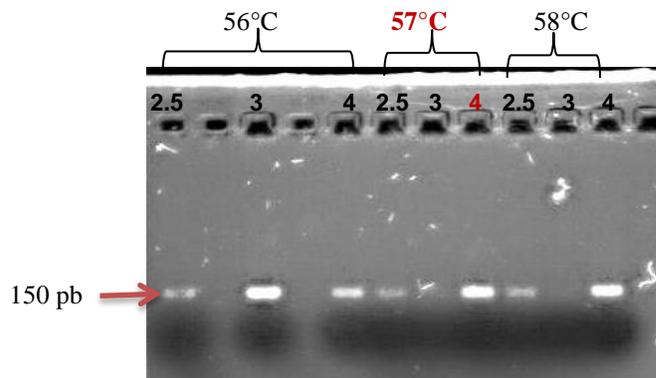


Fig.2 Gel de agarosa al 2% de los productos de PCR con ADN plasmídico (PTTJ-32) a diferentes temperaturas y concentraciones de MgCl₂.

Extracción de DNA genómico de *C. vulgaris* y *N. oculata*.

A la izquierda se muestra en la Figura 3 el ADN genómico extraído de las 4 muestras de *C. vulgaris* (V₁ a V₄) y las 4 de *N. oculata* (O₁ a O₄) y a la derecha, en la Tabla 2, se muestran los valores arrojados de la cuantificación de ADN por el Nanodrop.

Según el Programa Control de Calidad de Muestras nos dice que para la relación A260/280, un ADN con pureza óptima tiene un valor entre 1.8 y 2.0, sin embargo para un ADN de pureza aceptable se consideran valores > de 1.6. Por lo cual, al comparar nuestros datos de la Tabla 2, podemos ver que nuestro ADN es de baja calidad pues es menor de 1.6, lo que nos indica una posible contaminación por compuestos aromáticos como fenoles y proteínas.

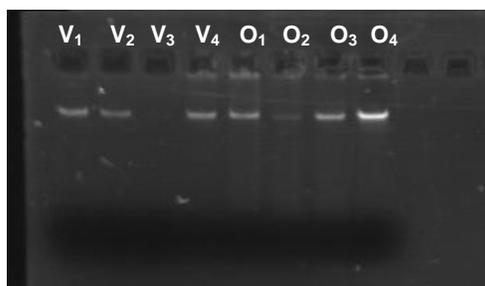


Fig 3. Gel de agarosa al 1% del ADN genómico extraído de las muestras problema.

Tabla 2. Concentración de ADN de los cultivos de microalgas

ADN	ng/μL	260/280
Oculata 1	29.3	1.27
Oculata 2	24.9	1.21
Oculata 3	28.2	1.36
Oculata 4	115.5	1.47
Vulgaris 1	35.1	1.52
Vulgaris 2	15.7	1.47
Vulgaris 3	5.8	1.37
Vulgaris 4	44.6	1.19

En la Figura 4 se muestra la calidad del ADN extraído de los cultivos sin transformar (WT). Se hicieron 4 extracciones de 2 cultivos, de *C. vulgaris* (V) y de *N. oculata* (O), en base al gel se decidió usar las mejores extracciones (primeros dos carriles del gel).

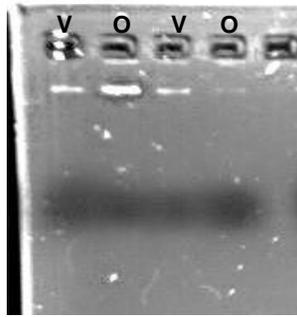


Fig.4 Gel de agarosa al 1% de ADN extraído de los WT de *C. vulgaris* y *N. oculata*.

Identificación de muestras transformadas mediante PCR

Para los oligonucleótidos específicos de la xilosa reductasa en ADN de *C. vulgaris* y *N. oculata* se esperaba un amplicón de 800 pb.

Los resultados del gel de agarosa al 2% correspondiente a la electroforesis del producto de amplificación de PCR (Figura 5), nos muestran la presencia del amplicón en los carriles 3, 4, 5, 9 y 10 que corresponden a las muestras O₁, O₂, O₃, V₂ y V₃, así como el carril 2 que corresponde al control positivo (P) (vector PTTJ-32). En los carriles del cultivo WT (cepa sin transformar), como era de esperarse no se observa ninguna banda. Este resultado confirma que las muestras de *N. oculata* 1, 2, 3 y *C. vulgaris* 2 y 3 están transformadas con el gen de la xilosa reductasa.

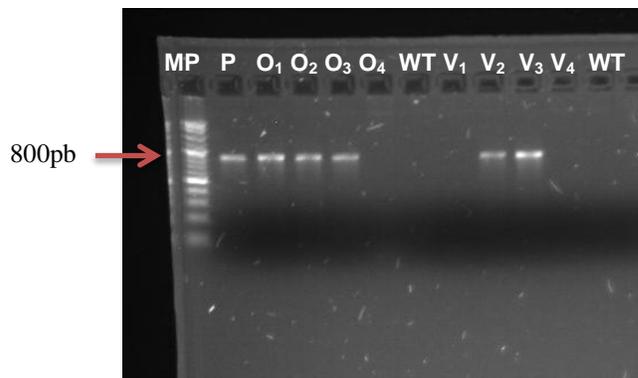


Fig. 5 PCR con oligonucleótidos de xilosa reductasa

En el primer carril se encuentra el marcador de peso molecular de 100pb, en el segundo carril se encuentra el control positivo (PTTJ-32), en los carriles 3, 4, 5 y 6 están las muestras problema de *N. oculata* y en seguida el cultivo WT. En los carriles siguientes, 8 a 11 están las muestras problema de *C. vulgaris* y por último el cultivo WT.

No se logró obtener resultados con los oligonucleótidos de *Aph-6*, uno de los factores que afectan la eficiencia de la PCR pueden ser el diseño de los oligonucleótidos, sin embargo descartamos esa posibilidad pues anteriormente utilizamos estos cebadores para la estandarización de las condiciones de PCR, por lo que otro factor que pudo afectar es el cambio de temperaturas durante su uso y almacenamiento.

CONCLUSIÓN

Mediante análisis por PCR se confirma la presencia del transgén de xilosa reductasa en el genoma del cloroplasto de *C. vulgaris* (cultivos 2 y 3) y de *N. oculata* (cultivos 1, 2 y 3).

BIBLIOGRAFÍA

- Karhumaa K, Hahn-Hagerdal B, Growa-Grauslund M. (2007). Comparison of the xylose reductase-xylitol dehydrogenase and the xylose isomerase pathways for xylose fermentation by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Biofuels* 1:16.
- López-Limón A.R (2014). Producción de Lactostatina en el cloroplasto de *Chlamydomonas reinhardtii*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de Química.
- Mäkinen KK (1992) Dietary prevention of dental caries by xylitol clinical beffectiveness and safety. *J App Nutr* 44: 16–28.
- Pourmir A, Noor-Mohammadi S, Johannes TW. (2013). Production of xylitol by recombinant microalgae. *J Biotechnol* 165: 178– 183.
- Segura Vílchez J, Navarrete-Coronado R. (2012). Enzimas microbianas para producir moléculas con potencial uso terapéutico, el caso del xilitol. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica* LXIX, 600: 25- 29.
- Wizard® Plus SV Minipreps DNA Purification System (2009). Centrifugation Protocol. Recuperado de: <https://www.promega.com/-/media/files/resources/protcards/wizard-plus-sv-minipreps-dna-purification-system-quick-protocol.pdf>

SIMULACIÓN TERMODINÁMICA DE LA SÍNTESIS DE MAGNETITA A PARTIR DE Fe – H₂O

Emigdio Alain Hernández de la Cruz¹ y Jesús Emilio Camporredondo Saucedo²

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó una simulación termodinámica en el software HSC Chemistry 6.0 de un sistema compuesto por mineral de hierro (Fe) como precursor y agua (H₂O) como agente oxidante, con la finalidad de obtener Magnetita (Fe₃O₄). En la simulación se varió la temperatura en un rango de 25oC a 1000oC. en el diagrama se puede observar con claridad que a menor temperatura podemos obtener un mayor porcentaje de Magnetita, mismo que se ve disminuido conforme va aumentando la temperatura, así mismo con el aumento de esta, se presentan otras especies de óxidos, por ejemplo, Hematita (Fe₂O₃) y Wustita (FeO) las cuales son indeseadas en este trabajo de investigación.

ABSTRACT

In the present research work, a thermodynamic simulation was performed in the HSC Chemistry 6.0 software of a system composed of iron ore (Fe) as a precursor and water (H₂O) as an oxidizing agent, in order to obtain Magnetite (Fe₃O₄). In the simulation the temperature was varied in a range of 25oC to 1000oC. in the diagram it can be clearly seen that at a lower temperature we can obtain a higher percentage of Magnetite, which is diminished as the temperature increases, as well as the increase of this, other oxide species are present, for example, Hematite (Fe₂O₃) and Wustita (FeO) which are undesirable in this research work.

Palabras Clave: Magnetita, termodinámica, fluidos magnetorreológicos.

INTRODUCCIÓN

Los ferrofluidos son una clase de materiales magnéticos cuyas propiedades varían considerablemente en presencia de un estímulo externo, por esto, se le conoce como un material inteligente. Las suspensiones magnéticas son fluidos complejos cuyas características reológicas cambian significativamente en presencia de un campo magnético. Fueron introducidos por primera vez en 1948 por Rabinow en la Oficina Nacional de Estándares de los Estados Unidos. Consisten en nano partículas magnéticas coloidales dispersas y establecidas en un líquido portador y que presentan propiedades de fluido y magnéticas. Las características reológicas de los fluidos magnetorreológicos, como el límite elástico y la viscosidad aparente, se pueden controlar rápidamente aplicando un campo magnético. Actualmente se aplica en sellos magnéticos en motores, como lubricantes en discos magnéticos, instrumentos para memoria óptica y giroscopios. Otras aplicaciones son en instrumentos magnéticos como bocinas, tintas magnéticas para cheques bancarios, unidades de refrigeración magnética, etc. [1]. Los ferrofluidos también tienen aplicaciones en medicina ya que no son tóxicos y son biocompatibles como por ejemplo [2], libertadores de medicinas, para restringir el flujo sanguíneo en determinadas partes del cuerpo y actúan como material opaco para el diagnóstico de imágenes usando rayos X o resonancia magnética nuclear. Existen distintas técnicas para sintetizar Magnetita, por ejemplo:

El método mecano-químico.

Consiste en verter el precursor usado con un agente oxidante en un molino planetario o molino de bolas, la cinética del proceso genera la transformación de los óxidos en Magnetita (Fe₃O₄). Este proceso se lleva a cabo a temperatura ambiente por un tiempo determinado.

Micela inversa.

Consiste en emulsiones de agua en aceite que generan micelas inversas que actúan como nanoreactores para diversos procesos físico-químicos.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica; Av. Barranquilla S/N, Guadalupe, C.P: 25750, Monclova, Coahuila, alain9701@gmail.com.

² Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica; Av. Barranquilla S/N, Guadalupe, C.P: 25750, Monclova, Coahuila, emiliocamporredondo@uadec.edu.mx

Reacciones de co-presipitación.

Implica la alquilación de especies férricas y ferrosas agregando partículas coloidales hacia una energía superficial.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se realizó una simulación en el software HSC Chemistry 6.0 para conocer la factibilidad de la reacción, teniendo en el sistema en estudio, como precursor mineral de hierro (Fe) y agua (H₂O) como agente oxidante, obteniendo la siguiente reacción $3\text{Fe} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 + 4\text{H}_2$.

RESULTADOS

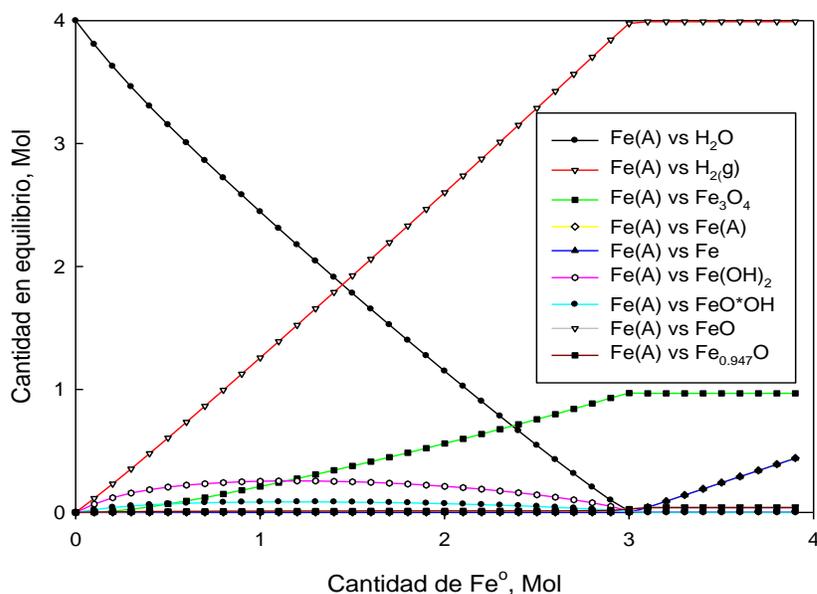


Figura 1. Evolución de reactivos y productos en el sistema Fe-H₂O a 25 °C, en función de la cantidad agregada de H₂O.

En la Figura 1 se puede observar que la Magnetita (Fe₃O₄) llega a una zona de equilibrio cuando en el sistema se encuentran presentes 3 M de H₂O, así mismo se tiene un incremento de H₂ y una disminución de H₂O.

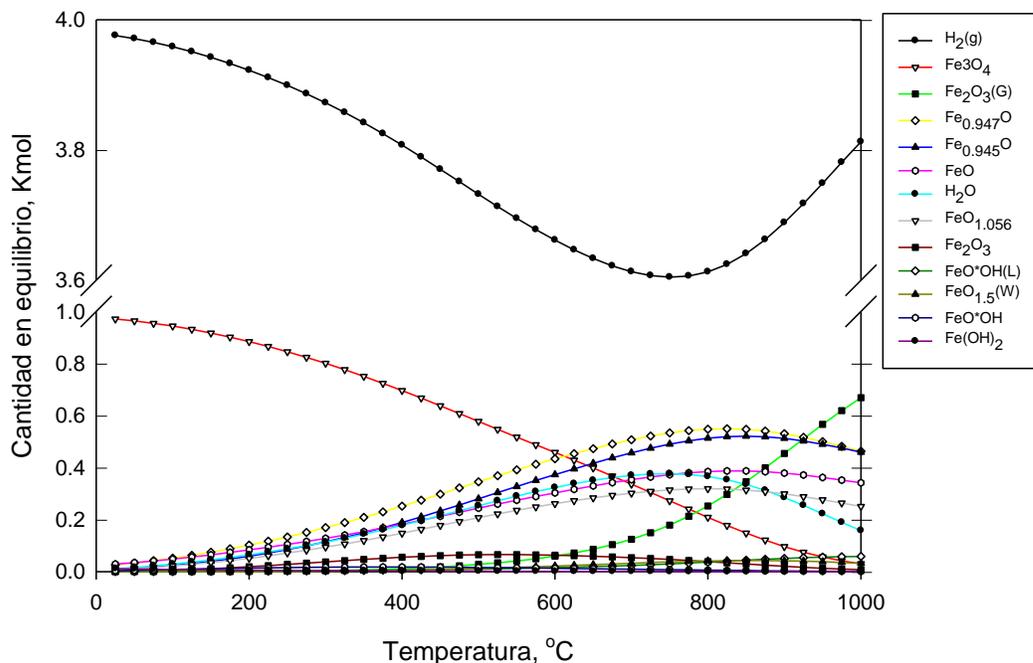


Figura 2. Evolución de reactivos y productos en el sistema Fe-H₂O en función de la temperatura.

En la Figura 2 se observa la máxima presencia de Magnetita Fe₃O₄ cuando la temperatura del sistema Fe+H₂O se encuentra a temperatura ambiente, conforme la temperatura aumenta se puede apreciar la presencia de otras especies como Hematita (Fe₂O₃) y la cantidad de equilibrio de Magnetita tiene una disminución muy considerable hasta casi desaparecer más baja. La estabilización de nanopartículas suspendidas proporciona la resolución de este problema.

CONCLUSIONES

Después de modelar el sistema en estudio podemos concluir que:

En el sistema Fe-H₂O la conversión de magnetita es factible que se lleve a cabo a temperatura ambiente, ya que conforme aumenta la temperatura hay presencia de otras especies las cuales nos indeseadas para el proyecto.

Cuando al sistema se le agregan 4M de H₂O la Magnetita llega a su equilibrio en 3M de Fe dando como producto 4M DE H₂.

BIBLIOGRAFIA

Artículos de revista

Betancourt-Galindo, R. Saldívar-Guerrero (2003). Síntesis y propiedades de ferrofluidos de magnetita, Superficies y Vacío 16(1), 28-31 [1].

Yan Weia, et.al, 27 (2012), Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles and their magnetic properties, Procedia Engineering 632 – 637 [2].

ESTUDIO DE LA REACCION POR COPRECIPITACION DE SALES DE FIERRO Y CALCIO, COMO PRECURSORES DE FERRITA DE CALCIO

Emma Enedina Morales Salazar¹ Ma. Gloria Rosales Sosa², Gloria Guadalupe Treviño Vera³, Manuel Garcia Yregoi⁴

RESUMEN

Muestras de sulfato de calcio y sulfato de zinc, fueron mezclados y tratadas mediante la técnica de coprecipitación, como precursores de la ferrita de calcio. Las mezclas de sulfato de calcio y sulfato de zinc se hicieron en diferentes relaciones estequiométricas en presencia de un medio básico (hidróxido de amonio), a una temperatura de 50°C, con agitación magnética hasta precipitar la fase magnética. Mediante la aplicación de un campo magnético externo fue posible separar dicho precipitado, este, posteriormente fue lavado con etanol para eliminar los residuos de amonio y sulfatos. Los productos obtenidos son caracterizados por difracción de rayos x.

Palabras Clave: Ferrita, Ferrita de calcio, Co-precipitación.

ABSTRACT

Samples of calcium sulfate and zinc sulfate were mixed and treated by the coprecipitation technique, as precursors of calcium ferrite. The mixtures of calcium sulfate and zinc sulphate were made in different stoichiometric ratios in the presence of a basic medium (ammonium hydroxide), at a temperature of 50 ° C, with magnetic stirring until the magnetic phase was precipitated. By applying an external magnetic field it was possible to separate said precipitate, this one, later it was washed with ethanol to eliminate the residuals of ammonium and sulphates. The products obtained are characterized by x-ray diffraction.

INTRODUCCIÓN

Las ferritas son cerámicas magnéticas que contienen el óxido de hierro, Fe_2O_3 , como componente magnético básico. Cristalográficamente se dividen en cuatro subgrupos: Espinela, Magnetoplumbita, Granadas y Perovskita. Las ferritas magnéticas se distribuyen principalmente dentro de dos grupos con estructura cristalina diferentes (1, 3); las Cúbicas, que tienen la estructura molecular general $MO.Fe_2O_3$, donde M es un catión metálico de valencia 2^+ , tales como: Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} y Mn^{2+} . La ferrita de cobalto $CoO.Fe_2O_3$ se clasifica magnéticamente como dura, pero todas las otras ferritas cúbicas son magnéticamente blandas.

Las hexagonales, donde la más importante en este grupo es la ferrita de bario $BaO.Fe_2O_3$ que se clasifica magnéticamente como duro. Las ferritas son compuestos iónicos, y sus propiedades magnéticas están relacionadas con los iones magnéticos que contienen.

La formación de ferrita de calcio estudiada en este trabajo pertenece al subgrupo de las ferritas con estructura perovskita siendo de gran interés científico y tecnológico en razón de sus propiedades magnéticas, ópticas y eléctricas, para su obtención se usó el método de coprecipitación química, empleando como precursores sulfato de calcio y sulfato de zinc en presencia de un medio básico, con agitación magnética a una temperatura de 50°C. Los productos obtenidos se analizan por difracción de rayos x.

1UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, emmamoralessalazar@gmail.com

2 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

3 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, gloriatrevinovera@hotmail.com

4 UAdeC, Facultad de Metalurgia; carretera 57 km 5, Monclova, Coahuila, ma_ga_i@yahoo.com

MARCO TEORICO

La ferrita de calcio, (CaFe_2O_4) es un sólido de color rojo ladrillo con alta estabilidad térmica que también ha sido objeto de síntesis por el método de Pechini, modificado con etilenglicol; esta técnica ha permitido la obtención de polvos monofásicos por calcinación de los precursores a temperaturas comprendidas entre 800 y 1100°C; el sólido así tratado presentó las características bandas de adsorción del color rojo en la región de 650 a 750 nm (1).

El compuesto $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$ conocido como Ferrita de Calcio es un miembro de la familia de compuestos con fórmula general $\text{A}_2\text{B}_2\text{O}_5$ (puede ser: A = Ca, Sr, B = F y, Co, Al), y ha tenido bastante aplicación como catalizador químico (5). Su estructura es la misma conocida para la serie de los minerales Brownmillerite y Srebrodolskite con fórmula química $\text{Ca}^2(\text{Al}, \text{Fe}^{3+})_2\text{O}_5$, $\text{Ca}_2\text{Fe}^{3+}_2\text{O}_5$ estando relacionada con la estructura de la perovskita (ABO_3) por la introducción de un conjunto ordenado de vacantes de oxígeno (5).

La ferrita es la solución sólida dentro de la estructura cristalina del hierro puro, esta cristaliza en el sistema cúbico centrado en el cuerpo y tiene propiedades magnéticas. Ferromagnéticas de hierro dopadas con Au y de óxido de hierro dopadas con Zn-Mn ($\text{Zn}_x\text{Mn}_{(1-x)}\text{Fe}_3\text{O}_4$) (5). Estas nanopartículas pueden ser utilizadas, por ejemplo, en imágenes de contraste por resonancia magnética, para liberación de medicamento y, por supuesto, para hipertermia magnética. El tamaño de las nanopartículas juega un papel importante para aplicaciones biomédicas, ya que, de acuerdo con la literatura, se pueden utilizar nanopartículas con un tamaño entre 10 y 100 nm; si se excede este tamaño, las NPM pueden causar problemas al introducirse en el cuerpo. Otro de los aspectos por considerar es la citotoxicidad del material, ya que si resulta tóxico no puede ser utilizado en el cuerpo. En este trabajo se presenta la síntesis por sol-gel y la caracterización de dos ferritas de zinc-calcio con un tratamiento térmico realizado a 400 °C, las cuales presentaron propiedades y características potenciales para su uso en el tratamiento de cáncer por hipertermia magnética.

Existe una amplia gama de nanopartículas magnéticas que se están utilizando para desarrollar tratamientos médicos; se han investigado óxidos simples y complejos, en virtud de su potencial aplicación para el tratamiento de hipertermia (6). La magnetita (Fe_3O_4) es uno de los nanomateriales más investigados; también se encuentran las ferritas complejas, tales como las de cobalto (CoFe_2O_4), las de manganeso (MnFe_2O_4), las de níquel (NiFe_2O_4), las de litio ($\text{Li}_0.5\text{Fe}_2.5\text{O}_4$), las mixtas de níquel-zinc-cobre ($\text{Ni}_{0.65}\text{Zn}_{0.35}\text{Cu}_{0.1}\text{Fe}_{1.9}\text{O}_4$), las de cobalto-níquel ($\text{Co}_x\text{Ni}_{(1-x)}\text{Fe}_2\text{O}_4$) y las de cobalto-zinc ($\text{Ni}_x\text{Zn}_{(1-x)}\text{Fe}_2\text{O}_4$). También están las nanopartículas Las ferritas representan unos de los materiales más ampliamente estudiados por sus características eléctricas y magnéticas. Estos materiales se utilizan en la industria eléctrica y electrónica para la fabricación de dispositivos y de componentes tales como centro magnético de alta densidad de los cabezales de lectura y grabación (6).

El método de síntesis por coprecipitación permite elaborar nanopartículas magnéticas en un corto periodo de tiempo, además de que los parámetros de síntesis son muy fáciles de controlar. El método de co-precipitación es una opción para sintetizar nanopartículas magnéticas, sin embargo, es importante tener cuidado con los parámetros durante la síntesis para evitar modificaciones en el tamaño de las nanopartículas (7).

La co-precipitación, es un método convencional para la preparación de nanoestructuras de óxidos metálicos. Este proceso involucra el uso de sales como precursores usualmente cloruros, oxiclорuros o nitratos, disueltos en agua u otro disolvente. Los correspondientes hidróxidos de metales formados una vez disuelta la sal del precursor es precipitados por la adición de una solución básica como hidróxido de sodio o hidróxido de amonio. Los hidróxidos de metal son lavados y filtrados para eliminar las sales de cloruros o nitratos solubles en el medio y calcinados y calcinados para obtener un polvo del óxido como producto final.

La concentración, el PH, la temperatura y la velocidad de mezclado, son parámetros que deben ser controlados de forma cuidadosa en la co-precipitación.

Una desventaja de este método es la dificultad para controlar el tamaño de partícula y la distribución de tamaño. Sin embargo, el uso de surfactantes, precipitación reactiva de alta velocidad, etc., aparecen como alternativas novedosas y viables para optimizar las características morfológicas del sólido precipitado.

MÉTODOS Y MATERIALES

MATERIALES Y EQUIPO:

1 Matraz bola. 1 vaso de precipitado, 1 parrilla de agitación, 1 magneto de neodimio, 50 ml de hidróxido de Amoniac. 50ml de agua destilada, 1 termómetro, 1 agitador magnético, 1 agitador, Etanol, difractor de rayos X.

PROCEDIMIENTO:

Como primer paso incorporamos a un matraz bola el hidróxido de amonio (NH_4OH), a su vez se colocó en una parrilla de agitación para que junto con un agitador magnético se sometieran a calor hasta ganar 50° centígrados de temperatura.

Mientras lo anterior estaba en proceso del incremento de calor, se preparó la solución de sales; sulfato de calcio (CaSO_4) y sulfato ferroso (FeSO_4). En un vaso de precipitado se colocaron 50ml de agua destilada y se añadieron ambas sales, estas se diluyeron al mismo tiempo con un agitador hasta que se obtuvo una solución con aspecto cristalino, a esto le llamamos solución de sales.

Para este momento se observó que el hidróxido de amonio llegó a su temperatura ideal anteriormente sometido a la parrilla. Se llenó un gotero con la solución y se empezó a incorporar por goteo hasta terminar la solución de sales. Para concluir la técnica se dejó en agitación constante la reacción durante 30 minutos ya transcurrido ese tiempo, se dejó precipitar el material con un magneto de neodimio en el fondo del vaso.

Se lavó por varias ocasiones hasta que el olor a hidróxido de amonio haya desaparecido, ya por último se lavó con etanol y se dejó secar por 3 días.

Es muy notorio si ambas mezclas están en condiciones de formar material ferroso, ya que en la observación se encontró que la mezcla empezó a tener un aspecto en tonos café óxido demostrando su compatibilidad de formar ferritas de calcio (CaFe_2O_4), cabe mencionar que en ese momento no se sabe si los compuestos han funcionado para formar el material ferroso, en cambio si la mezcla tiene aspecto turbio en tonos verdes, se asume que no se logra obtener ferritas de calcio (CaFe_2O_4), pero si un compuesto magnético, ya que en presencia del campo magnético este queda completamente adherido .

Posteriormente se preparó la muestra para que se analizara en el DRX y de tal manera saber si la técnica de co-precipitación era factible para la obtención de ferritas de calcio.



Figura 1. Material siendo agitado y calentado



Figura 2. Material de Ferritas de calcio.

RESULTADOS

La relación estequiométrica utilizada se muestra en la tabla 1.

Tabla.1. Relaciones estequiométricas de los precursores de ferrita de calcio Fe, Ca.

Muestra	Fe (mol)	Ca (mol)	Formula Química
1	1	2	CaFe ₂ O ₄
2	1.8	0.2	Ca _{0,2} Fe _{1,8} O ₄
3	1.6	0.4	Ca _{0,4} Fe _{1,6} O ₄
4	1.4	0.6	Ca _{0,6} Fe _{1,4} O ₄
5	1.2	0.8	Ca _{0,8} Fe _{1,2} O ₄

Después de que cada una de las mezclas estequiométricas de los precursores de la ferrita de calcio se han sometido a la técnica de coprecipitación química en presencia de un medio básico, que han sido lavadas y perfectamente secadas, estas son analizadas en el difractor de rayos X marca Bruker D8 Advance, instalado en la Facultad de Metalurgia de la U A de C.

En la figura 3 podemos apreciar los difractogramas de cada una de las muestras con las diferentes relaciones estequiométricas.

En la muestra uno, encontramos que el pico más intenso, ubicado a un ángulo 2 theta de 41.71 corresponde a la fase óxido de calcio y a 41.68 se observa la fase maghemita Fe_{2.667}O₄ (96-901-2693) con estructura Tetragonal (software match version 1.10). Los demás picos corresponden a la fase magnetita y maghemita.

En el difractograma de la muestra 2, de la misma figura, en el ángulo 2 theta de 41.84 nuevamente se presenta la fase de óxido de calcio y la fase maghemita a ángulo 2 theta de 41.73, casi como una mezcla de fases, pues ambas se encuentran muy cercanas.

La muestra 3 y muestra 4 muestran el mismo patrón de difracción, el pico más intenso representa una mezcla de fases entre maghemita, magnetita y maghemita.

En la muestra 5, si podemos ver grandes diferencias con respecto a las otras cuatro muestras, se observa que a ángulo 2 theta de 67.72 encontramos un compuesto de Ca₂Fe₂O₅, que, aunque no corresponde a la fase buscada, podemos ver un compuesto con Ca y Fe.

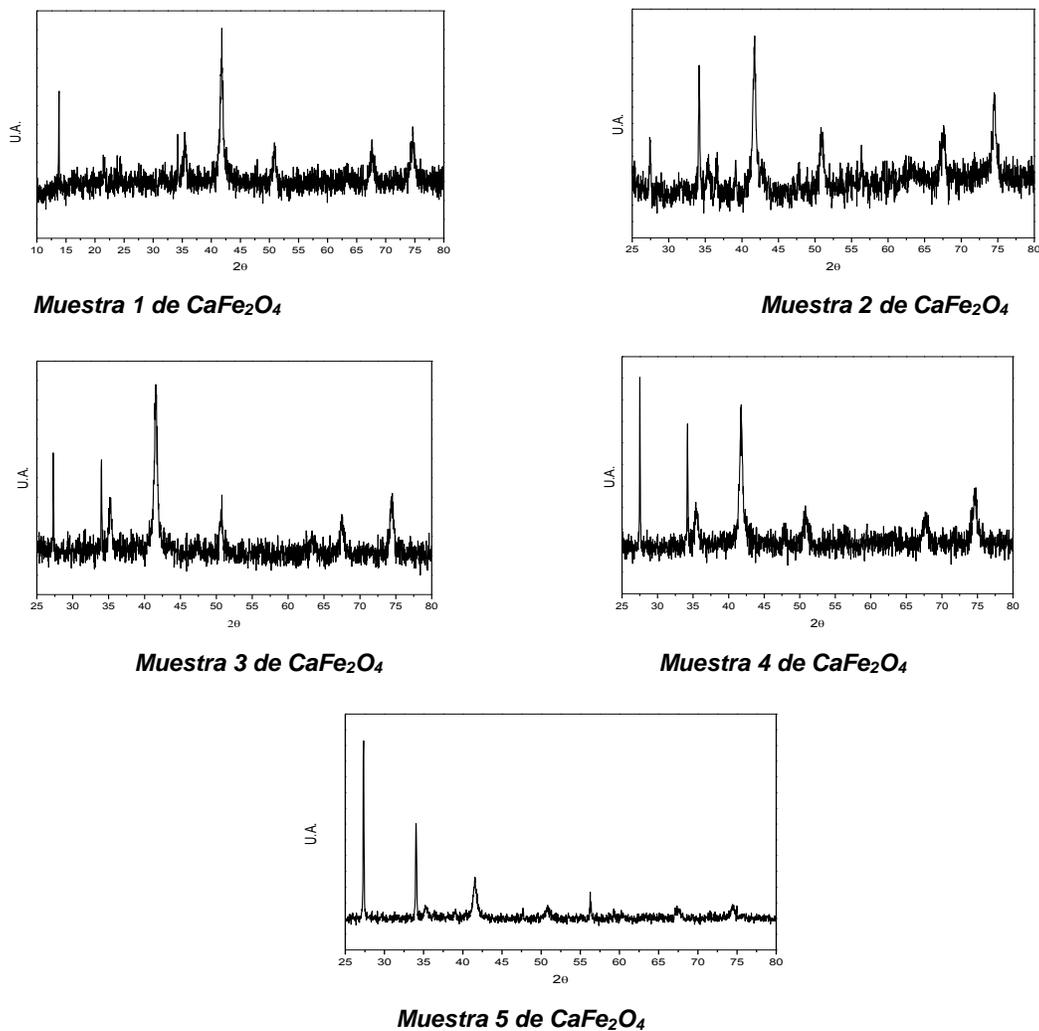


Figura 3 .Difractogramas de las muestras 1, 2, 3, 4 y 5 en diferentes relaciones estequiométricas tratadas con coprecipitación química.

CONCLUSIONES

En la reacción por coprecipitación química del sulfato de cobre y sulfato de hierro, si se obtienen materiales magnéticos, así lo demuestra el comportamiento del material obtenido en presencia del campo magnético y los compuestos identificados en el difractor de rayos x.

En las muestras 1,2,3,4, el pico mas intenso corresponde a una mezcla de fases entre el CaO, Maghemita y Magnetita.

En la relación estequiométrica 1.2 de hierro y 0.8 de Calcio, es posible formar compuestos de calcio y hierro, pero no corresponde a la ferrita de calcio, si no al $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$, con estructura ortorrómbica.

Se cree que un tratamiento térmico después de la coprecipitación química pueda estabilizar la ferrita de calcio, pues el pico más intenso representa una mezcla de fases de los precursores. Esta investigación continúa en proceso.

BIBLIOGRAFIA

Candeia, R.A.; Bernardi, M.I.B.; Longo, E. Santos, I.M.G.; Souza, A. G.; Longo, E. Synthesis and characterization of spinel pigment CaFe_2O_4 obtained by the polymeric precursor method. *Materials Letters.*, 2004, 58, 569-572.

CULLITY, B.D.; GRAHAM, C.D. *Introduction to Magnetic Materials*. ed. 1, Addison-Wesley, London, 1972.

JILES, D.C. *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials*. ed. 1, Springer, Berlin, 1991.

LELIS, M.F.F. Ferritas Dopadas com Níquel ou Cobalto: Síntese, Caracterização e Ação Catalítica na Oxidação do Monóxido de Carbono. Tese (Doutorado), UFMG, 2003.

AZZONI, C.B.; MOZZATI, M.C.; MASSAROTTI, V.; CAPSONI, D.; BINI, M. New insights into the magnetic properties of the $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$ ferrite. *Solid State Sciences*, v. 9, n. 6, p. 515-520, 2007.

Synthesis and characterization of spinel pigment CaFe_2O_4 obtained by the polymeric precursor method R.A. Candeiaa,*, M.I.B. Bernardib, E. Longoc, I.M.G. Santos a, A.G. Souzaa(2004).

Israel Flores Urquiza, Christian Chapa González, Javier Navarro Arriaga, Jonathan Reyes Moya, Karen Castrejón Parga, Amanda Carrillo Castillo y Perla García Casillas *Perla García Casillas SINTESIS Y CARACTERIZACION DE NANOPARTICULAS DE MAGNETITA SUBSTITUIDA CON COBALTO COMO MEDIADOR TERMICO EN HIPERTERMIA* 2015

<https://laboratoriodeforja2.wordpress.com/ferrita/>

(PDF) *Obtención y caracterización de ferritas...* Available from: https://www.researchgate.net/publication/28209831_Obtencion_y_caracterizacion_de_ferritas_ternarias_de_manganeso_por_mecanosintesis [accessed Aug 17 2018].

<https://www.ecured.cu/Ferrita>

Noor Azeerah, A;Haliza, A A, et. Al.(2012) Co-precipitation technology for prepaton of solid catalyst in oleochemical processes.

OBTENCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS PRESENTES EN LA SEMILLA DE YACA (ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS)

Torres Mena Emma Sofía¹ y Grajales Lagunes Alicia²

RESUMEN

La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) es un fruto que pertenece a la familia Moraceae. Su peso promedio es de 3.5 a 10 kg y proporciona aproximadamente 2 MJ de energía por kg, además contiene altos niveles de proteína, almidón, calcio y tiamina. La yaca está constituida de corteza, pulpa amarilla comestible y semillas que representan del 8 al 15% del peso del fruto. Las semillas son un producto de desecho, pero se caracterizan por tener un alto contenido de carbohidratos y proteínas, así como lignanos, isoflavonas y antioxidantes, estos fitonutrientes aportan beneficios a la salud debido a que se ha demostrado que pueden tener efectos anticancerígenos y antihipertensivos. Por lo anterior el objetivo de este estudio fue extraer compuestos bioactivos a partir de la harina de semillas de yaca con la finalidad de aprovechar sus componentes y poderlos utilizar en la elaboración de nuevos productos alimenticios. La extracción de carbohidratos y almidón resistente, así como la extracción de proteínas y su fraccionamiento fueron realizados. Se encontró que la composición de carbohidratos de la harina de semillas de yaca fue 18% de azúcares totales, de los cuales 17.27% corresponden a inulina, lo cual es un interesante resultado debido a que se ha reportado que la inulina tiene efecto prebiótico. En los resultados del fraccionamiento de proteínas, pudo observarse que la fracción de glutenina es la que se encuentra en mayor proporción, seguida de la prolamina, mientras que la globulina y albumina se encuentran en menor proporción. La fracción de glutenina, que fue la que presentó mayor concentración de acuerdo al método de Biuret, fue también la que presentó mayor número de bandas de proteínas de acuerdo a la electroforesis. En base a los resultados obtenidos es posible utilizar la harina de yaca en la elaboración de nuevos productos alimenticios.

ABSTRACT

The yackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) is a fruit that belongs to the Moraceae family. Its average weight of 3.5 to 10 kg and contributes approximately 2 MJ of energy per kg, besides containing high levels of protein, starch, calcium and thiamine. The jackfruit is composed of bark, edible yellow pulp and seeds that represent 8 to 15% of the weight of the fruit. The seeds are a waste product but are characterized by having a high content of carbohydrates and proteins as well as lignans, isoflavones and antioxidants, these phytonutrients provide health benefits that may have anti-cancer and antihypertensive effects. Therefore, the objective of this study was to extract bioactive compounds from the yaca seed flour for specific purposes and possible uses in the elaboration of new food products. The extraction of carbohydrates and resistant starch as well as the extraction of proteins and their fractionation were carried out. It was found that the carbohydrate composition of the yaca seed flour was 18% of total sugars, of which 17.27% correspond to inulin, which is an interesting result because has been reported that inulin has an effect prebiotic. In the results of proteins fractionation, it was observed that glutenin fraction is the one that was found in greatest proportion, followed by prolamine, while globulin and albumin are found in smaller proportion. The glutennin fraction, which was the highest concentration according to the Biuret method, was also the highest amount of protein bands according to the electrophoresis. Based on the results obtained it is possible to use the yaca flour in the elaboration of new food products.

Palabras clave: Yaca, semillas, harina, carbohidratos, proteínas.

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO; emmasofia_torresmena@hotmail.com

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO; grajales@uaslp.mx

INTRODUCCIÓN

La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) es un fruto que pertenece a la familia Moraceae. Crece abundantemente en la India, Bangladesh y en muchas partes de Asia Suroriental (Rahaman et al., 1999). El peso promedio de la fruta es de 3.5 a 10 kg y, puede alcanzar hasta 25 kg (Shrikant Baslingappa et al., 2012). La fruta proporciona aproximadamente 2 MJ de energía por kg (Ahmed et al., 1986) y contiene altos niveles de proteína, almidón, calcio y tiamina (Burkill 1997).

El fruto de la yaca contiene humedad (6,7%), glucósidos (38,0%), lípidos (0,7%), proteínas (1,7%) y celulosa (59,0%) (Perkin y Cope 1895). También contiene azúcares libres (sacarosa), ácidos grasos, ácido elágico y aminoácidos como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y otros. La yaca contiene vitamina A, vitamina C, tiamina, riboflavina, calcio, potasio, hierro, sodio, zinc y niacina, tiene un contenido energético de 94 calorías por 100 g (Shrikant Baslingappa et al., 2012).

La yaca contiene fitonutrientes como: lignanos, isoflavonas y saponinas. Estos fitonutrientes tienen propiedades anticancerígenas, antihipertensivas, antiulcerosas y antienvjecimiento. También contiene niacina que se conoce como vitamina B3 y es necesaria para el metabolismo, la función nerviosa y la síntesis de ciertas hormonas (Shrikant Baslingappa et al., 2012).

La yaca está constituida de corteza, pulpa amarilla comestible y semillas que representan del 8 al 15% del peso del fruto (Shrikant Baslingappa et al., 2012).

Dentro de los efectos benéficos a la salud que ha tenido la yaca se encuentra que mejora la salud cardiovascular, la piel, previene la úlcera estomacal, mejora la digestión, fortalece los huesos, previene la anemia y mantiene una glándula tiroidea saludable (Shrikant Baslingappa et al., 2012).

Por otro lado, las semillas de yaca presentan un alto contenido de carbohidratos y proteínas (Babitha et al., 2007; Tulyathan et al., 2002) y generalmente es un producto de desecho. Como las semillas frescas no pueden mantenerse durante mucho tiempo, la harina de semillas puede ser un producto alternativo, para ser utilizado en otros productos alimenticios (Shrikant Baslingappa et al., 2012). Anteriormente se ha estudiado sobre las propiedades funcionales de la harina de yaca (Odoemelam, 2005).

La semilla de yaca contiene lignanos, isoflavonas, saponinas, todos los fitonutrientes y sus beneficios para la salud abarcan desde anticancerígenos hasta antihipertensivos, antioxidantes, antiulcerosos, etc. (Omale y Friday 2010). Se reporta que el contenido de proteínas, lípidos crudos e hidratos de carbono de semillas de yaca como 31.9%, 1.3% y 66.2%, respectivamente. Kumar et al., (1988) también reportaron la composición de semillas de 2 variedades de yaca. El contenido de proteínas, lípidos crudos e hidratos de carbono fue de 17.8% a 18.3%, 2.1% a 2.5% y 76.1%, respectivamente.

Las semillas de yaca son una buena fuente de almidón (22%) y fibra dietética (3.19%) (Hettiarachchi et al., 2011). Se ha observado que el contenido de almidón de la semilla se incrementa con la madurez y con las diferentes ubicaciones de procedencia del fruto (Rahman et al., 1999).

De igual forma se ha demostrado que la harina de yaca tiene propiedades funcionales como capacidad de absorción de agua, absorción de grasa, formación de espuma, estabilidad de la espuma y poder de hinchamiento (Ocloo et al., 2010; Rodríguez Trejo et al., 2018).

Gracias a los estudios realizados con anterioridad, los cuales indican que las semillas de yaca tienen componentes que pudieran ser extraídos y utilizados en la elaboración de nuevos productos alimenticios, el objetivo del presente estudio fue extraer compuestos bioactivos a partir de la harina de semillas de yaca para su futura aplicación.

METODOLOGIA

Caracterización de carbohidratos presentes en harina de yaca mediante HPLC

Extracción de carbohidratos

1 gramo de harina se mezcló con 2 mL de agua desionizada y 2 mL de isooctano. Se calentó a 100°C y 150 watts utilizando un microondas CEM discover modelo 90805 por 10 minutos. La fase orgánica se descartó y la fase acuosa se pasó a 22 través de un filtro Sephadex G.25 con membrana de nailon de 0.45µm. El volumen obtenido se llevó a 10 mL con agua desionizada en un matraz volumétrico.

Hidrólisis de carbohidratos

Se tomó una alícuota de 1 mL de la solución acuosa de la extracción y se agregó 100 mL de ácido clorhídrico concentrado. Se calentó a 100 °C en el mismo equipo y bajo las mismas condiciones de la extracción. Se permitió disminuir la temperatura de la solución y finalmente se neutralizó con NaHCO₃.

Cuantificación de carbohidratos

A través de la metodología propuesta por Cuello Michel et al., (2012) se analizaron 20 µL de muestra utilizando un cromatógrafo HPLC Waters 600. El equipo está equipado con un dispositivo desgasificador, bomba cuaternaria y un detector de índice de refracción modelo Waters 410. Se utilizó una columna de intercambio de iones modelo Aminex HPX-87C (7.8 mm d.i. x 300mm) como fase estacionaria. La fase estacionaria fue agua desionizada grado HPLC con un flujo de 0.4 mL/min a 83°C. El programa Quick Start Empower 5.0 se utilizó como sistema de control y análisis de datos. Los azúcares de referencia o estándares fueron: arabinosa, fructosa, galactosa, glucosa, lactosa, maltosa, manosa, ribosa, sacarosa y xilosa además de la inulina de achicoria, todos de la marca de laboratorio Sigma-Aldrich. El tiempo de resolución fue de 35 minutos y los carbohidratos presentes en la muestra analizada se identificaron al comparar el tiempo de retención con los de los azúcares de referencia. La cuantificación se obtuvo en función de la curva de calibración de carbohidratos de referencia ($r = 0.99$).

Extracción de almidón resistente

100g de harina de yaca fueron desgrasados y se agregaron en 300 ml de NaOH 0.05 M, con agitación magnética, durante 6 h. Se dejó reposar durante 16 h a 4⁰ C y se agregó 80 ml de NaOH, el sobrenadante fue eliminado por decantación. Se realizó nuevamente la extracción con NaOH bajo las mismas condiciones, se retiró y sobrenadante, se decantó y retiró la capa marrón de la parte superior. Se resuspendió en agua destilada y se filtró, se neutralizó el filtrado con HCl 0.1 M hasta un pH de 7, se centrifugó (12 000 rpm, 30 min, 4⁰ C). Se drenó el sobrenadante y se retiró la capa marrón, se enjuagó con agua destilada, se centrifugó bajo las mismas condiciones y se secó (Javalois 2017).

Extracción de proteínas

Se suspendió harina/ ácido bórico al 0.5% (15:1), se ajustó el pH a 10.5 con NaOH 2M y se agitó por 30 min. Se decantó y rescató el sobrenadante, se ajustó el pH a 4.5 con H₂SO₄ 1N y se agitó por 15 min. Se centrifugó (3000 rpm, 15 min, 4⁰ C) y posteriormente se dejó secar. (Robles Flores et al., 2012).

Fraccionamiento de proteínas

Para la muestra de contenido proteico inicial, se añadió 1g de extracto proteico a 10 ml de agua destilada, se agito manualmente y se separó el contenido disuelto por decantación. Posteriormente se formó una suspensión de extracto proteico/ agua (1:10), con agitación magnética 1 h, se centrifugó (13 000 rpm, 15 min, 4°C), el sobrenadante correspondió a la fracción albumina. Se preparó la suspensión precipitado / NaCl al 10% (1:10), con agitación magnética 3 h y se centrifugó bajo las mismas condiciones, esto correspondió a la fracción globulina. Se suspendió precipitado/ propanol al 70% (1:10), con agitación magnética 3 h a 4°C y se centrifugó, fracción prolamina. Por último, se suspendió precipitado/ NaOH 0.1 N (1:10), con agitación magnética 3 h a 4°C, se centrifugó y se obtiene la fracción glutelina (Akinhanmi y otros 2008).

Cuantificación de proteínas por el método de Biuret

Se añadió a 1 ml de cada fracción proteica 3 ml de reactivo de Biuret. Se mezcló y dejó a temperatura ambiente 20 minutos en la oscuridad. Se leyó a 540 nm la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro (Kangle y otros 2017). El método de Biuret se basa en la formación de un complejo coloreado entre el Cu²⁺ y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. Una molécula de Cu²⁺ se acompleja con 4 de NH. La intensidad de coloración es

directamente proporcional a la cantidad de proteínas (enlaces peptídicos). La determinación de la concentración se realizó mediante la absorbancia obtenida utilizando la curva estándar realizada con albumina bovina (BSA).

Caracterización de proteína por electroforesis

Dodecil sulfato sódico no reductor y reductor Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE Molecular weight standards, Broad Range)

Se preparó SDS-PAGE no reductora y reductora usando un sistema de tampón discontinuo en un gel separador al 12% y 3% de gel de apilamiento según lo descrito por Zhao, Li, Sun, y Mo (2016). Brevemente, se combinó una alícuota (1 mg) de TPSP con 1 ml de solución reductora de muestra que contenía 0,2 ml de Tris-HCl (0,05 M, pH 8,0), SDS al 1%, glicerol al 10%, azul de bromofenol y 1% 2-mercaptoetanol. Se cargó una alícuota (10µL) de la solución de proteína inicial y de las diferentes fracciones en distintos carriles y se hizo correr a 15 mA durante 40 min en el gel de apilamiento y 30 mA durante 2 h en el gel separador. El gel se tiñó en solución de tinción con azul brillante de Coomassie (R-250) durante 30 min y se decoloró con un agente decolorante (ácido acético glacial, metanol y agua destilada). Después de 2 días, las bandas de proteína se visualizaron en los geles. (Lei-Lei Gao y otros 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los análisis obtenidos en el HPLC se encontró que la composición de carbohidratos de la harina de semillas de yaca fue 18% de azúcares totales, de los cuales 17.27% corresponden a inulina lo cual es un interesante resultado debido a que se ha visto que la inulina de otras fuentes como los fructanos de Agave salmiana presentan un efecto prebiótico, lo que contribuye a tener efectos benéficos en la salud del ser humano. Es decir que estos prebióticos ayudan a incrementar la proliferación de los microorganismos benéficos conocidos como probióticos. De igual manera se encontró que el almidón resistente presenta efectos prebióticos. Por lo tanto, estos resultados le dan un valor agregado a la harina de las semillas para que puedan ser utilizados en la elaboración de nuevos productos alimenticios.

Tabla 1. Concentración proteica

Fracción	Concentración (g/ml)	Promedio (g/ml)
Albumina	1.4577	1.6108 ± 0.22
	1.7640	
Globulina	1.9441	1.9982 ± 0.08
	2.0523	
Prolamina	4.5748	4.6919 ± 0.16
	4.8090	
Glutenina	16.971	17.1063 ± 0.19
	17.241	

En la tabla 1 se presentan los resultados del fraccionamiento de las proteínas, como puede observarse dentro de las fracciones se encontró que la glutenina es la que se encuentra en mayor proporción, seguida de la prolamina, mientras que la globulina y albumina se encuentran en menor proporción.

Estos resultados sugieren que el elevado contenido de gluteninas y prolaminas de la harina de semillas de yaca, esta harina pudiera ser utilizada en la elaboración de productos de relacionados con masa panaria debido a que estas proteínas ayudan a la formación del gluten en la elaboración del pan. Sin embargo, es importante mencionar que en la actualidad existe la intolerancia a la harina de trigo a través de la enfermedad conocida como celiaca. Por lo tanto, el utilizar la harina de yaca para la elaboración de pan podría ser una alternativa para disminuir esta intolerancia.

En la figura 1 se presentan los resultados de electroforesis de las fracciones de proteína obtenidas de la harina de semillas de yaca. Inicialmente es importante mencionar que se realizaron 4 geles y presentaron resultados similares.

De dicha figura se puede observar, que la corrida de los estándares se realizó correctamente. La fracción correspondiente a albumina presentó una banda muy tenue de 6.5 kDa, llamada aprotinina. Lo cual tiene congruencia con la concentración anteriormente obtenida por el método de Biuret, la cual fue relativamente baja.

La fracción globulina se observaron bandas de peso molecular de 200 kDa y entre 21.5, 14.4 y 6.5 kDa, estas últimas probablemente corresponden a inhibidor tripsina, lisozima y aprotinina, respectivamente. De igual forma el resultado es consistente al tener una concentración mayor y una presencia más alta de bandas retenidas.

En la fracción de prolamina no se logró observar bandas de proteínas debido a que quizá no se lograron retener en el gel o que tuvieran un peso molecular muy alto como para no ser retenidas.

Mientras tanto, la fracción de glutenina, que fue la que presentó mayor concentración de acuerdo al método de Biuret, fue también la que presentó mayor número de bandas de proteínas de acuerdo a los resultados de electroforesis. Seis bandas correspondientes a los pesos moleculares del inhibidor tripsina, lisozima y aprotinina, fueron observadas. Estos resultados corroboran lo indicado durante la cuantificación de proteínas por el método de Biuret. Es importante recalcar que pudieran existir péptidos que pudieran tener una actividad biológica, sin embargo, es necesario caracterizarlos para evaluar su actividad.

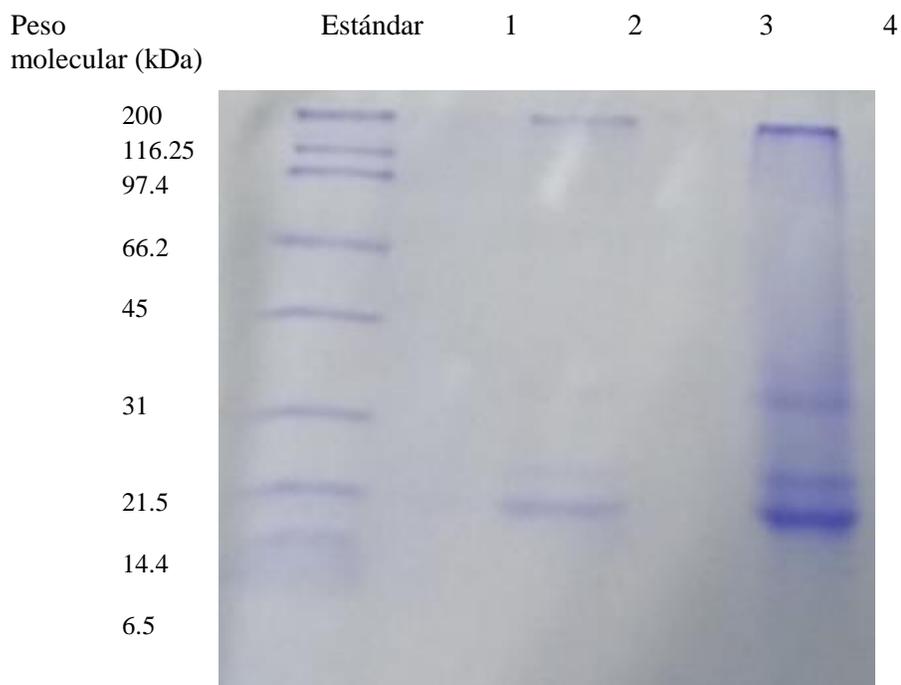


Figura 1. Gel de electroforesis
1. albumina, 2. globulina, 3. prolamina, 4. glutenina.

CONCLUSIONES

Se logró aprovechar las semillas de yaca, que normalmente son residuo, en una harina comestible.

Las semillas de la yaca, tiene un gran potencial proteico benéfico a la salud.

Se obtuvieron concentraciones altas de proteína y fracciones proteicas importantes.

Se determinó que uno de los carbohidratos de mayor proporción fue la inulina, el cual podría proporcionarle un efecto prebiótico a la harina de semilla de yaca

Es posible utilizar la harina de las semillas de yaca en la elaboración de nuevos alimentos funcionales.

BIBLIOGRAFIA

- Ahmed K, Malek M, Jahan K, Salamatullah K. 1986. Nutritive value of food stuff. 3rd ed. Institute of Nutrition and Food Science. Bangladesh: University of Dhaka. p 16–7.
- Akinhanmi, T., Arogundade, L., Tihamiyu, M., Oloruntoba, E., Osiname, B., (2008). Protein fractions of legumes and cereals consumed in Nigeria. *ASSET An International Journal*, 1, 54-62.
- Babitha S, Sandhya C, Pandey A. 2004. Natural food colorants, *Appl Bot Abstr* 23:258–66.
- Bobbio FO, El-Dash AA, Bobbio PA, Rodrigues LR. 1978. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus*). *Cereal Chem* 55:505–11.
- Burkill HM. 1997. The useful plants of west tropical Africa. Vol. 4, 2nd Ed. Royal Botanic Gardens: Kew, U.K. p 160–1.
- Cuello Michel C., Ortiz Cerda I., Morelo Vilet L., Grajales Lagunes A., Moscota Santillan M., Bonnin G., Gonzalez Chavez. & Ruiz Cabrera M.A. (2012). Study of enzymatic hydrolysis of fructans of Agave Salmiana: Characterization and kinetic Assessment. *The Scientific World Journal*.
- Gabriela del C. Robles-Flores, Lucía María C. Ventura-Canseco, Rocío Meza-Gordillo, Alicia Grajales-Lagunes, Miguel A. Ruiz-Cabrera, Federico A. Gutiérrez-Miceli, Miguel Abud-Archila. 2012 Development and evaluation of a film and edible coating obtained from the *Cajanus cajan* seed applied to fresh strawberry fruit. Tesis, Tecnológico Nacional de México, 18 páginas.
- Hettiarachchi UPK, Ekanayake S, Welihinda J. 2011. Nutritional assessment of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) meal. *Ceylon Med J* 56(2):54–8.
- Javalos López, A., Morales Ovando, M., Tirado Gallegos, J., 2017. Caracterización de harina y almidón de semilla de *Artocarpus heterophyllus* Lam. Tesis profesional, Ingeniería en Agroalimentos, Chiapas.
- Kangle Zheng, Liqing Wu, Zhangjing He, Bin Yang, Yi Yang., (2017). Measurement of the total protein in serum by biuret method with uncertainty evaluation. *Measurement* 112, 16-21.
- Lei-Lei, G., Ying-Qiu, L., Zhao-Sheng, W., Gui-Jin, S., Xiang-Ming, Q., Hai-Zhen, M., (2018). Physicochemical characteristics and functionality of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed protein. *Food Chemistry* 240, 980-988.
- Morton J. 1987. Jackfruit.: Fruits of warm climates. by Morton Julia F., Miami FL. p. 58–64.
- Odoemelam SA. 2005. Functional properties of raw and heat processed jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) flour. *Pakistan J. Nutr* 4(6):366–70.
- Ocloo FCK, Bansa D, Boatin R, Adom T, Agbemavor WS. 2010. Physico-chemical, functional and pasting characteristics of flour produced from jackfruits (*Artocarpus heterophyllus*) seeds. *Agric Biol J N Am* 1(5):903–8.
- Omale J, Friday E. 2010. Phytochemical composition, bioactivity and wound healing potential of *Euphorbia Heterophylla* (Euphorbiaceae) leaf extract. *Intl J Pharm Biomed Res* 1(1):54–63.
- Perkin G, Cope F. 1995. The constituents of *Artocarpus integrifolia*. *J Chem Soc* 67:937–44.
- Rahman MA, Nahar N, Mian AJ, Moshuuzzaman M. 1999. Variation of carbohydrate composition of two forms of fruit from jack tree (*Artocarpus heterophyllus* L) with maturity and climatic condition. *Food Chem* 65: 91–7.
- Safoura Akbari-Alavijeh, Sabihe Soleimani-Zad, Mahmoud Sheikh-Zeinoddin, Sarwar Hashmi. 2017. Pistachio hull water-soluble polysaccharides as a novel prebiotic agent. *Journal of Biological Macromolecules*, 108, 808-816.
- Shrikant Baslingappa, S., N. J. Thakor, P. M. Haldankar, S. B. Kalse, (2012). Jackfruit and its many functional components as related to human health: A review. *Comprehensive Reviews of food science and food safety*, 11, 565-576.

CINÉTICA DE ADSORCIÓN Y MODELADO 3D DE PARACETAMOL EN PELLETS DE CARBÓN ACTIVADO EN SOLUCIÓN ACUOSA

Rodríguez Jonguitud Enoé¹ y Ocampo Pérez Raul²

RESUMEN

El modelado 3D es una herramienta que puede facilitar el análisis de los mecanismos de transferencia de masa que ocurren en materiales porosos. Así en este trabajo se investigó la velocidad de adsorción de paracetamol sobre pellets de carbón activado. Los pellets de carbón fueron empleados en forma natural y revestidos con silicón para evaluar su efecto en la difusión de paracetamol. Las cinéticas de adsorción se obtuvieron en un reactor de canastillas rotatorias a 25 ° C y pH 7. Los datos experimentales se interpretaron con un modelo difusional que toma en cuenta la transferencia de masa externa, la difusión intraparticular y la adsorción en un sitio activo. Los resultados demostraron que la difusión superficial es más importante que la difusión en el volumen del poro. Adicionalmente, se observó que cuando se revisten los pelles la velocidad de adsorción es mucho más lenta, lo cual puede indicar que la difusión en dirección radial y axial es diferente.

ABSTRACT

3D modeling is a tool that can facilitate the analysis of the mechanisms of mass transfer which occurred in porous materials. In this work, the rate of paracetamol adsorption by activated carbon pellets was investigated. The active carbon pellets were used in their natural form and covered with silicon in order to evaluate the effect in paracetamol diffusion. A spinning basket reactor was used to obtain the adsorption kinetics at 25 ° C and pH 7. The experimental data was interpreted with a diffusional model which considers external mass transfer, intraparticle diffusion and adsorption in the active site. The results showed that superficial diffusion is more important than pore volume diffusion. It was observed that with covered pellets the adsorption rate was slower, this could mean that diffusion in axial and radial is different

Palabras clave: modelado 3D, carbón activado, paracetamol, difusión, adsorción

INTRODUCCIÓN

La difusión se puede definir como la transferencia de moléculas individuales a través de un fluido por medio de los desplazamientos individuales y desordenados de las molécula, en el caso de la transferencia convectiva de masa se aplica un medio mecánico para incrementar la velocidad de difusión (Geankoplis, 2006). La definición general de adsorción es un enriquecimiento de una especie química de un fluido a la superficie de un líquido o un sólido. La adsorción ha sido de gran utilidad en los procesos de eliminación de múltiples solutos, como iones y moléculas, en el tratamiento de agua. Se llama adsorbato al compuesto que se adsorbe y donde ocurre la adsorción se le conoce como adsorbente. Un material adsorbente posee una estructura porosa, superficie heterogénea; una magnitud grande de área específica, algunos de los más utilizados son el carbón activado, las zeolitas, sílica gel y alúmina activada.

La mayoría de las sustancias de origen farmacéutico no son biodegradable y no son completamente eliminados con los métodos convencionales del tratamiento de aguas. El paracetamol o paracetamol es uno de los fármacos analgésicos y antipiréticos más consumidos a nivel mundial y se ha encontrado con frecuencia en todo tipo de aguas alrededor del mundo (Margarida Galhetas, 2013), razón por la cual fue elegido como molécula de prueba para el modelo.

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No. 6,C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., enrojo96@hotmail.com;

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No. 6,C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P. raul_iqi@yahoo.com.mx

En el proceso global de adsorción primero el soluto se difunde desde el lecho del fluido hacia la superficie exterior de la partícula, los mecanismos de transporte es el convectivo y la difusión molecular; luego se difunde hacia el interior de los poros hasta llegar a los sitios activos de su superficie, este transporte puede ocurrir por difusión molecular en el volumen del poro, por difusión superficial sobre la superficie o por ambos métodos; y finalmente el soluto se adsorbe sobre el sitio activo, este fenómeno se puede representar matemáticamente con la isoterma. (Geankoplis, 2006) (Ocampo Pérez, 2011).

La isoterma de adsorción es una relación matemática entre la masa de soluto adsorbido por unidad de masa del adsorbente y la concentración del soluto en la solución cuando se ha llegado al equilibrio; las isotermas más utilizadas en sistemas líquido sólido son Langmuir, Fredlich y Prausnitz-Radke . (Leyva Ramos, 2007).

MARCO TEORICO

En el modelo matemático se considera que la transferencia de masa ocurre en dirección radial y axial, se asume que difusión entre las partículas ocurre por difusión en el volumen de poro y por su superficie, la adsorción en los sitios activos es instantánea, las partículas son rígidas, homogéneas e isotrópicas y el transporte convectivo dentro de los poros es despreciable comparando con la difusión; también se considera la difusividad (D_{AB}) y el coeficiente de masa (k_i) constantes (R. Ocampo-Perez, 2017). Los modelos utilizados, fueron los siguientes:

$$V \frac{dC_{AS}}{dt} = -mSk_l(C_{AS} - C_{AP}) \quad (1)$$

$$\varepsilon_p \frac{\partial C_{AP}}{\partial t} + \rho_p \frac{\partial q}{\partial t} = \nabla(D_{ep} \nabla C_{AP} + D_s \rho_p \nabla q) \quad (2)$$

La condición inicial ($t=0$) es $C_{AS}=0$ mg/L y $C_{AP}=0$ mg/L. La condición frontera entre la solución y el pellet está dada por:

$$-n_{p-s}(D_{ep} \nabla C_{AP} + D_s \rho_p \nabla q) = k_l(C_{AS} - C_{AP}) \quad (3)$$

La ecuación (1) el balance de masa representa la pérdida del adsorbato del seno del fluido y el adsorbato que entra en el adsorbente. La ecuación (2) es un balance de masa del adsorbato dentro de los poros del adsorbente, la parte derecha representa la difusión en el volumen del poro y la difusión en su superficie, la parte de la izquierda representa la acumulación del soluto en el volumen del poro y lo que esta adsorbido en su superficie. (R.Leyva-Ramos, 1985). C_{AS} representa la concentración del ACP en la solución y C_{AP} dentro de la partícula. Se utilizó la isoterma de Langmuir (4), para poder expresar el equilibrio entre la concentración de ACP dentro del poro y la masa de ACP adsorbida en la superficie del poro

$$q = \frac{q_m K C_{AP}}{1 + K C_{AP}} \quad (4)$$

MÉTODOS Y MATERIALES

Para poder seguir la cinética de paracetamol en carbón activado se colocó 2 gramos de pellets de carbón activado en una canastilla de acero inoxidable. La canastilla estaba conectada a un rotor cuya velocidad establecida fue de 200 rpm y fue colocado en un reactor batch que contenía un litro de una solución de 500 mg/L de paracetamol, se mantuvo la temperatura a 25°C y de 7 pH. Se extrajeron alícuotas de 2 mL en diferentes intervalos para su posterior análisis, se tomaron 0.50 mL que se aforaban hasta 10 mL para poder analizarlas en el espectrofotómetro, en este caso, se utilizó Halo XB-10 UV-VIS de Haz Simple.

Para el caso del estudio de la transferencia de materia en los diferentes ejes, se llevó a cabo de la misma manera que la cinética, sólo que los pellets fueron aislados con silicón F109 en la parte superior e inferior (tapas).

El paracetamol utilizado fue adquirido en Sigma-Aldrich, sus propiedades se encuentran en la tabla 1.

Los pellets de carbón activado fueron adquiridos en la empresa mexicana Carbotecnia, bajo el nombre de Carvapur Pelet cuya materia prima es concha de coco. Sus propiedades se encuentran en la tabla 2. Las medidas utilizadas en la simulación fueron: diámetro de 3.6mm y altura de 6.5mm (R. Ocampo-Perez, 2017)

Se utilizó el programa basado en elemento finito para realizar la simulación del cambio de la concentración dependiendo de la posición y el tiempo. Las ecuaciones 1) y 2) se adimensionalizaron, así como las condiciones frontera e iniciales. Los números adimensionales fueron los siguientes

$$\phi_A = \frac{C_{AS}}{C_{A0}} \quad \chi_1 = \frac{D_{ep}}{D_{AB}} \quad \xi = \frac{r}{R} \quad N_{sh} = \frac{2k_L R}{D_{AB}}$$

$$\eta_A = \frac{C_{AP}}{C_{A0}} \quad \chi_2 = \frac{D_s}{D_{AB}} \quad \alpha = \frac{mSR}{V} \quad \theta = \frac{D_{AB} t}{R^2}$$

$$\omega = \frac{\rho_p q_0}{C_{A0}} \times 1000$$

Para la isoterma de Langmuir se utilizaron los valores de K de 0.107 L/mg y q_m de 219.9 mg/g (R. Ocampo-Perez, 2017). Los valores de χ_1 y χ_2 fueron modificados empíricamente hasta que la línea resultante del modelo fuera lo más parecida a los datos experimentales.

Tabla. 1. Estructura molecular y propiedades fisicoquímicas del paracetamol

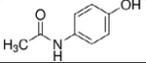
Componente	Estructura molecular	Peso molecular	Tamaño de la partícula (Å)	Log (Kow)	pKa	$D_{AB} \times 10^6$ (cm ² /s)
Paracetamol C ₈ H ₉ NO ₂		151.17(g/mol)	X=10.74, Y=6.58 Z=3.76	0.46-.049	9.86	6.27

Tabla. 2. Propiedades del carbón activado

Material	Volumen total de poros	Diámetro promedio de los poros	Fracción de vacío	Total de sitios ácidos	Total de sitios básicos
Paracetamol	0.53 cm ³ /g	2.2 nm	0.49	0.287 meq/g	.304 meq/g

RESULTADOS

El primer experimento (sin recubrimiento) el equilibrio de adsorción se alcanzó en un tiempo adimensional de 10 el cual equivale a 5760 minutos. Este tiempo tal largo es debido como se observa en la Tabla 2 a que los pellets de carbón están compuestos principalmente por microporos, los cuales tienen tamaño similar al paracetamol. Los valores de los coeficientes encontrados para el experimento fueron 8.78×10^{-12} cm²s⁻¹ y 2.95×10^{-8} cm²s⁻¹ para D_{ep} y D_s , respectivamente. En la figura 1.a se puede apreciar la aproximación del promedio de la concentración de paracetamol con los datos experimentales donde se puede observar que el modelo predice de manera satisfactoria los datos experimentales, además se puede observar que el valor de D_{ep} es mucho menor a D_s indicando que la difusión superficial es más relevante que la difusión en el volumen del poro.

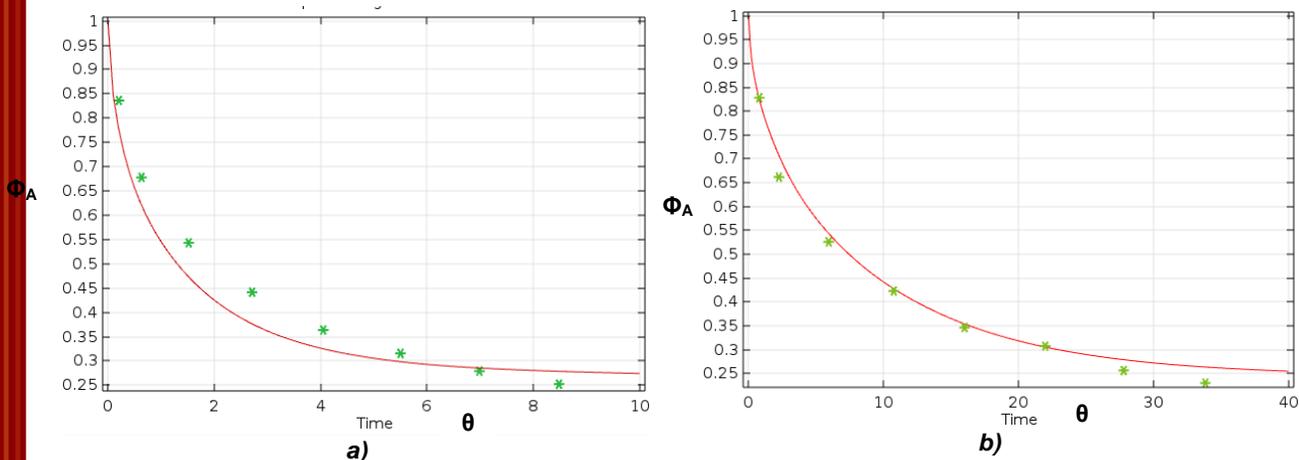


Figura 1. Curvas de cambio de concentración de paracetamol adimensional con respecto al tiempo adimensional a 25°C y pH 7 utilizando pellets de carbón activado sin aislante (a) y con aislante (b)

En las figuras 2a y 2b, se puede apreciar que hay una tendencia a la acumulación de paracetamol en los bordes superiores e inferiores, esto se debe a que en esa parte del sólido la difusión ocurre de forma axial y radial. En las figuras 2a y 2b, se puede observar que la dirección del Flux de paracetamol va dirigido hacia el centro del sólido, las flechas rojas representan el flux de paracetamol dentro del pellet; también se puede notar por su posición e inclinación que, a tiempos mayores, la magnitud en el eje axial es mayor a la del radial.

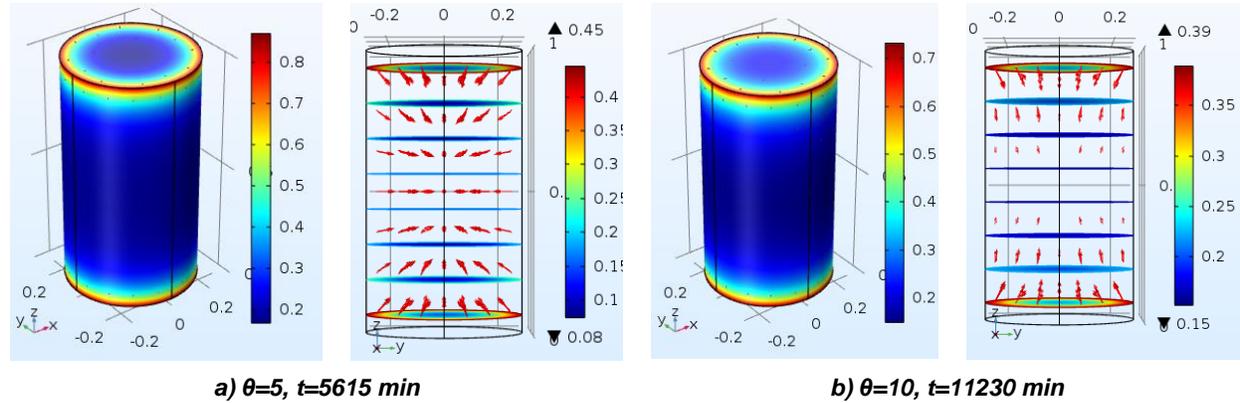


Figura 2. Modelado de Φ_A y η_A de pellet de carbón activado sin aislar en $\theta=5$ y $\theta=10$. Los cortes están realizados en el plano z, r

Para poder realizar el modelado de los pellets con las tapas aisladas, se volvió a calcular el área externa por unidad de masa de carbón activado (S) en cm^2/s y el coeficiente de transporte externo de masa en fase líquida (k_L) en cm/s , para este último se utilizó la ecuación (5) durante las primeras horas

$$\left[\frac{d\left(\frac{C_{AS}}{C_{A0}}\right)}{dt} \right]_{t=0} = q \frac{-mSk_L}{V} \quad (5)$$

El reactor que contenía los pellets de carbón activado aislados tuvo un tiempo de residencia adimensional de casi 40 lo cual corresponde a un tiempo de 39340 minutos. Los valores encontrados para D_{ep} y D_s fueron $8.78 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}^{-1}$ y $6.90 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}^{-1}$ respectivamente, si se compara con los valores del primer modelo, la magnitud de D_{ep} fue mayor mientras que D_s disminuyó; sin embargo, ambos valores siguen siendo menores que D_{AB} . Un posible motivo por el cual D_s fue menor en el pellet aislado puede considerarse que el gradiente de concentración dentro de la partícula es mayor que el del pellet sin aislante y esto se refleja en que el tiempo que tardó el segundo experimento en llegar al equilibrio fue mayor que en el primero.

En la figura 3, se puede observar el cambio en la concentración de la solución, especialmente en la tapa que, a pesar de estar aislada, la concentración va aumentando con dirección al centro, mientras la concentración en lo que resta del cuerpo va disminuyendo, esto podría deberse a que la solución se va difundiendo de manera axial dentro de la partícula.

En la figura 4, se observan cortes del pellet en el plano zx , la concentración dentro de la partícula es mayor en la parte que es más cercana a las paredes y es menor en la parte central del pellet, la tendencia del transporte de masa es de ir hacia el centro de la partícula de forma radial. Las orillas de las tapas, comparando con la figura 2, no tienen acumulación de concentración debido a que el aislante impide la difusión en forma axial.

Se podría esperar que de haber aislado los pellets de carbón activado dejando expuestas solamente las tapas, la dirección dominante de la difusión en el pellet sería la axial, y que el tiempo de residencia sería mayor que el del pellet con solo las tapas aisladas

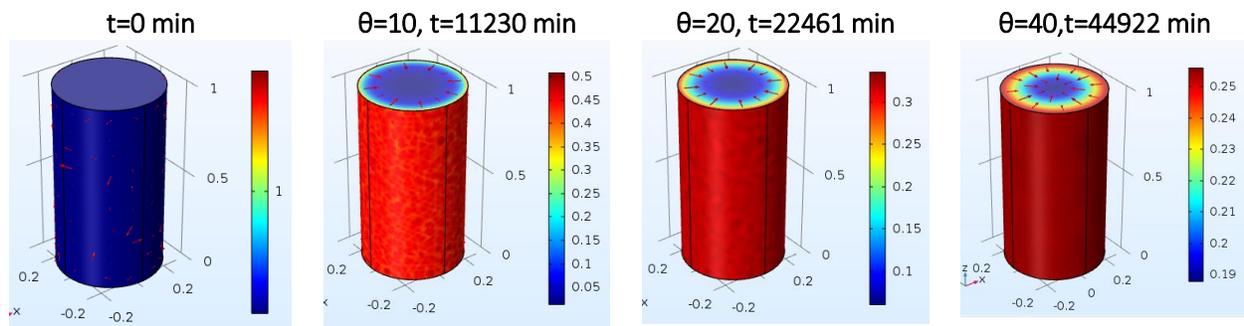


Figura 3. Modelado de Φ_A de pellet de carbón activado con sus tapas aisladas en $\theta=0, 10, 20$ y 40 .

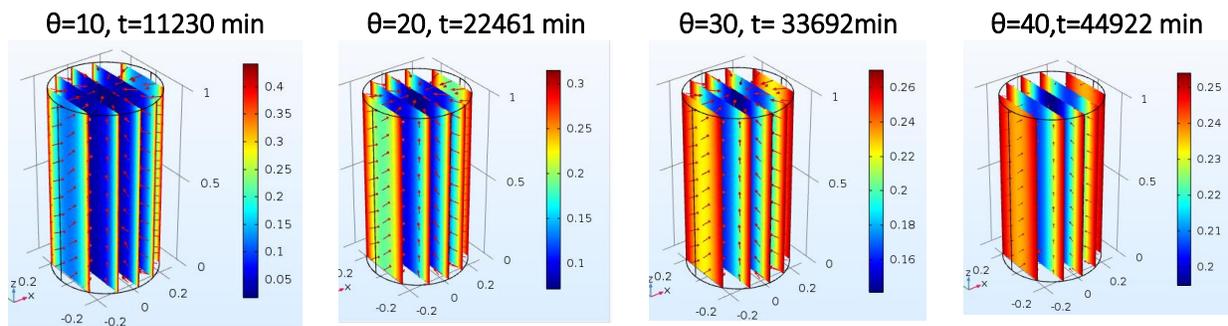


Figura 4. Modelado de η_A de pellet de carbón activado con sus tapas aisladas en $\theta=0, 10, 20$ y 40 .

CONCLUSIONES

El modelo en 3D es una forma de poder estudiar los mecanismos de transferencia de masa: se puede realizar un análisis más completo por la consideración de la difusión en el volumen del poro y la difusión en la superficie, además del estudio del estudio del flux, el análisis de la concentración de paracetamol en la partícula como en la solución y la posibilidad de crear perfiles de concentración. En este caso, se pudo observar que la dirección del flux tiende a estar dirigida al centro de la partícula

La forma de la partícula influye en la adsorción del soluto, así como la superficie de la partícula lo que se ve reflejado en el tiempo que tardó en llegar al equilibrio al aislar las tapas del pellet de carbón activado.

La magnitud de D_{ep} fue pequeña en ambos casos, por lo que se puede suponer que la difusión en el volumen del poro puede ser despreciada comparada con la difusión en la superficie.

BIBLIOGRAFIA

Libros:

- *GEANKOPLIS, C. J. (2006). Procesos de Transporte y Principios de Procesos de Separación. Mexico: CECSA.
- *LEYVA RAMOS, R. (2007). Importancia y aplicaciones de la adsorción en fase líquida. Uniandes.

Tesis

- *OCAMPO PÉREZ, R. (2011). Modelado de las cinéticas de adsorción y aplicación de procesos de oxidación avanzada para la eliminación de contaminantes orgánicos en solución acuosa. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Artículos de revistas:

- *MARGARIDA GALHETAS, A. S. (2013). Carbon-based materials prepared from pine gasification residues. Chemical Engineering Journal.
- *R. OCAMPO-PEREZ, C. A.-M.-B. (2017). 3D modeling of overall adsorption rate of acetaminophen on activated. Chemical Engineering Journal, 510-520.
- *R. LEYVA-RAMOS, C. (1985). Model simulation and analysis of surface diffusion of liquids in porous solids. Chemical Engineering Science, 799-807.

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

¹Erick Díaz Ruiz y Ana Angélica Feregrino Pérez²

RESUMEN

Se analizaron fenoles, polifenoles (taninos y flavonoides) y capacidad antioxidante en salsas de origen industrial de marcas como "La Costeña", "San Marcos" y "Herdez" en sus diferentes presentaciones: casera, verde y chipotle, y de 4 salsas caseras obtenidas en la ciudad de Santiago de Querétaro, Querétaro, México, para su posterior comparación.

Desde hace ya varios años se ha hablado de los efectos positivos que tiene la ingesta de polifenoles sobre la salud, específicamente sobre el sistema cardiovascular. Se sabe que las enfermedades cardiovasculares representan una de las principales causas de muerte en el mundo. Los efectos de los polifenoles son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes.

ABSTRACT

Phenols, polyphenols (tannins and flavonoids) and the antioxidant capacity of industrial sauces from brands such as "La Costeña", "San Marcos" and "Herdez" were analyzed in their different presentations (casera, verde and chipotle). As well as 4 homemade sauces obtained in the city of Santiago de Querétaro, Querétaro, Mexico, for later comparison. The positive effects of polyphenols on health has been a topic for several years now, specifically on the cardiovascular system. It is known that cardiovascular diseases represent one of the world's leading causes of death. The effects of polyphenols are mainly a consequence of their antioxidant properties. Key words: Polyphenols, antioxidant capacity, health.

Palabras clave: Polifenoles, capacidad antioxidante, salud.

INTRODUCCIÓN

Los productos alimenticios que hoy en día llegan al consumidor lo hacen en gran parte, tras ser sometidos a una serie de procesos de manipulación o transformación. Bien sea para consumo inmediato, bien para su conservación posterior, el objetivo de estos procesos es diverso: la obtención de alimentos seguros, la obtención de alimentos nutricionalmente adecuados o cubrir las expectativas organolépticas de sabor, aroma, apariencia o calidad. Cada una de estas propiedades pueden ser afectadas de distinta forma en función del tipo de proceso, durabilidad del proceso o tipo de alimento procesado.

Este trabajo está enfocado en la pérdida o ganancia que pueda tener una salsa de uso cotidiano en su composición química, específicamente en el contenido de fenoles y/o polifenoles y de su capacidad antioxidante, si ésta es preparada de manera casera contra una que tiene paso por procesos industriales. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Los fenoles son sintetizados por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta.

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, CP: 27275, Torreón, Coahuila. erickdrr12@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Av. Junípero Serra, antiguo aeropuerto, Campus Aeropuerto S/N., CP. 76140, Santiago de Querétaro, Querétaro. feregrino.angge@hotmail.com

MÉTODOS Y MATERIALES

Se elaboraron curvas de calibración para fenoles, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante por dos métodos: 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) y por ABTS. Posteriormente se llevaron a cabo las diferentes técnicas que se presentan a continuación para cada metabolito y los resultados se incorporaron a la curva.

Se utilizó la misma técnica para la extracción de muestra, únicamente cambiando los tiempos de agitación dependiendo de la concentración a la que se requería según el tipo de salsa y que aparecen en la Tabla 1.

Tabla 1. Preparación de muestras

	FENOLES	FLAVONOIDES	TANINOS	DPPH	ABTS
CASERAS	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 6 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador.	- 1 g de muestra en 3 mL de metanol. - 4 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. 8 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador
COMERCIALES	- 1 g de muestra en 3 mL de metanol. - 4 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 6 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador.	- 1 g de muestra en 3 mL de metanol. - 4 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. 8 hrs en el agitador	- 1 g de muestra en 10 mL de metanol. - 8 hrs en el agitador

Notas: Después de dejar reposar en el agitador por los tiempos establecidos para cada muestra, se llevan a centrifugar a 5000 rpm por 10 min a 4°C. Todos los experimentos se realizan por triplicado.

Fenoles.

Para la determinación de fenoles se tomó una alícuota de 40 µl de sobrenadante de cada salsa y se colocó en un vial ámbar. Se le añadieron 460 µl de H₂O destilada, 250 µl de solución folin y 1250 µl de una solución de Na₂CO₃ al 20%. Se dejan reposar por 2 hrs en la oscuridad y posteriormente se toman 200 µl de cada vial, se colocan en una microplaca se leen en un MULTISKAN a 760 nm utilizando como blanco metanol.

Flavonoides.

Para la determinación de flavonoides se tomó una alícuota de 50 µl de sobrenadante de cada salsa y se colocaron en una microplaca. Se le añadieron 180 µl de metanol y 20 µl de 2-aminoetildifenil borato al 1%. La placa se lee en un MULTISKAN a 404 nm utilizando como blanco 50 µl del extracto metanólico adicionado con 200 µl de metanol.

Taninos.

Para la determinación de taninos se toman 50 µl de sobrenadante de cada salsa y se colocan en una microplaca. Se le adicionan 200 µl de una solución 1:1 de HCL 8%, Vainillina 1%, cuidando agregar de 50 en 50 µl hasta completar los 200. Leer la microplaca en el MULTISKAN a 492 nm utilizando como blanco 250 µl de metanol.

Capacidad antioxidante por DPPH.

Para la determinación de la capacidad antioxidante se colocan 20 µl de cada concentración de salsas en una microplaca y se le añaden 200 µl de la solución de DPPH (0.0015 g de DPPH aforados a 25 ml con metanol) y posteriormente se lee a 520 nm en el MULTISKAN utilizando como blanco 20 µl de metanol y 200 µl de H₂O destilada (HPLC) y como control 20 µl de metanol y 200 µl de DPPH en los tiempos 0, 30, 60 y 90 min.

Capacidad antioxidante ABTS.

Se preparó una solución stock de ABTS 7 µM y otra de K₂S₂O₈ a una concentración de 140 µM. Para la generación del radical se mezclan 5 ml de la solución stock de ABTS y 88 µM de K₂S₂O₈ en un vial y se dejan reposar en la oscuridad 12 hrs a temperatura ambiente. Pasadas las 12 hrs se toman 500 µl de esta solución y se le añaden de 20 a 25 ml de etanol, hasta que la absorbancia a 734 nm resulte entre 0.7 y 1. Posteriormente se colocan en una microplaca 20 µl de cada muestra de salsa y se le añaden 230 µl de la solución final de ABTS y se lee la absorbancia en el MULTISKAN 734 nm utilizando como blanco 230 µl de etanol y 20 µl de metanol, y como control 230 µl de ABTS y 20 µl de metanol.

RESULTADOS

Flavonoides, taninos y fenoles totales.

Tabla 2. Resultados de fenoles, taninos y flavonoides en salsas comerciales y caseras.

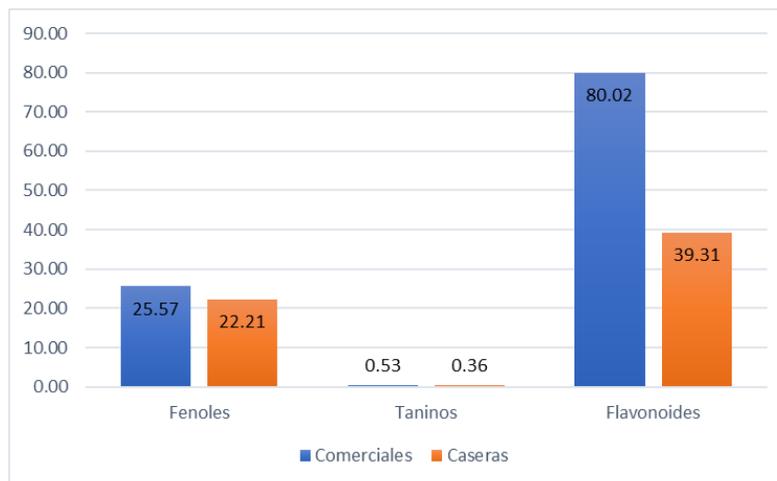
NOMBRE	FENOLES	FLAVONOIDES	TANINOS
COMERCIALES			
COST CASERA	20.35	101.70	ND
COST CHIPOTLE	33.33	111.48	0.40
COST VERDE	19.54	95.26	ND
HRDZ CASERA	22.01	56.59	-
HRDZ CHIPOTLE	25.06	121.33	ND
HRDZ VERDE	17.21	66.07	ND
SM CASERA	34.63	42.37	ND
SM CHIPOTLE	39.53	104.59	0.65
SM VERDE	18.44	20.74	ND
CASERAS			
T. VERDE/SERRANO	24.61	18.59	ND
JIT/HABANERO	18.08	38.59	ND
JIT/JALAPEÑO	18.14	53.11	ND
JIT/CHIPOTLE	28.00	46.96	0.36

Tabla 3. Concentraciones de curva de calibración para Taninos.

Mg/ml	ABS
0.8	0.2821
0.6	0.2102
0.4	0.1347
0.2	0.0597
0.1	0.0324

La *Tabla 2* muestra la cantidad de metabolito encontrado en miligramos por cada gramo de muestra (mg/gr). Los códigos utilizados son: “ND” significa no detectado, en salsas caseras T.VERDE/SERRANO para tomete verde con chile serrano, JIT para jitomate.

En la *tabla 3* la columna “ABS” nos muestra la absorbancia obtenida en la curva de calibración de taninos. Esto nos indica que los valores que resultaron del análisis para taninos de las muestras de salsas tanto comerciales como caseras, en su gran mayoría no entraron en nuestra curva de calibración que se muestra en la *Tabla 3*, lo que nos indica que están por debajo del 0.1 mg por cada gramo de muestra.



Gráfica 1. Promedio de muestras comerciales y caseras.

Capacidad antioxidante.

Para la evaluación del % de inhibición ó la actividad antirradical (% I ó % Ara), hicimos uso de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{Abs Ctrl} - \text{Abs muestra})}{(\text{Abs Ctrl})} \times 100$$

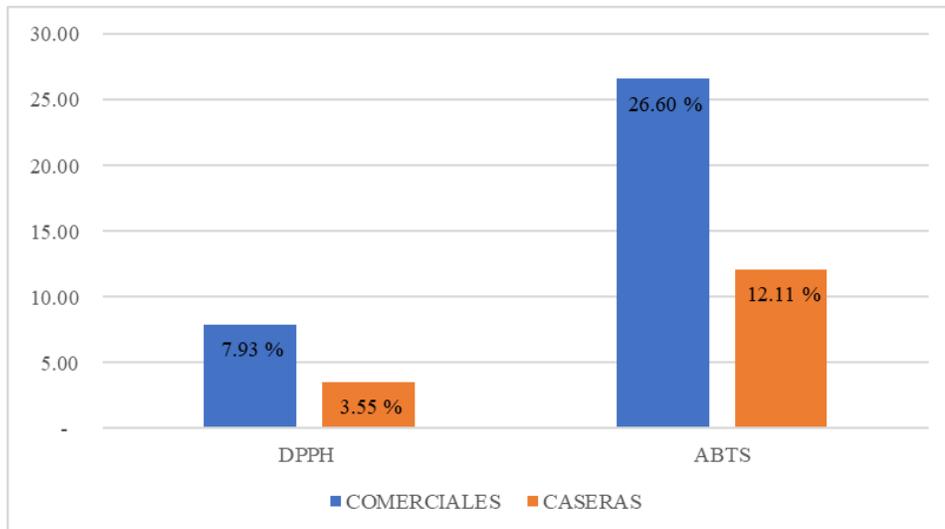
Donde:

Abs ctrl: Absorbancia del control a 520nm

Abs muestra: Absorbancia de la muestra a 520nm

Nota: al obtener esta cinética debemos seleccionar el tiempo en el cual nuestra muestra se pueda leer. Esto depende de la estabilidad de la capacidad oxidante del DPPH que puede ser a un tiempo de 30, 60 o 90min. Comúnmente se seleccionan los 90 min porque a este tiempo el radical ya es estable y con estas absorbancias de cada concentración de trolox podemos realizar la recta de una $R^2=0.99$ aprox.

Los resultados obtenidos se muestran en la *Gráfica 2*.



Gráfica 2. Porcentajes de inhibición en ABTS y DPPH

CONCLUSIONES.

El análisis para fenoles totales arroja que, por lo menos, todas las muestras contienen una cantidad considerable de compuestos fenólicos y que en general hay mucha similitud entre ambos tipos de salsas. En cuanto al análisis de taninos, ambos tipos de salsa no contienen una cantidad significativa de taninos. Esto puede deberse en primer lugar, a que los ingredientes con que son preparados las salsas son muy pobres en taninos. Los taninos se encuentran principalmente en plantas. Algunos alimentos comunes con niveles considerables de taninos son: uvas y vino tinto, té, café, membrillo, caqui, manzana, grosella, arándano, fresa, espinacas, nueces, etc. También se encuentran en gran número de infusiones. El análisis de flavonoides arrojó una diferencia significativa. El contenido promedio de compuestos fenólicos para flavonoides en salsas comerciales es casi el doble que el de la salsas caseras. A manera de hipótesis, esto podría deberse al estrés al que son sometidas la plantas de uso agrícola para la producción industrial de las salsas, ya que a mayor estrés, el aumento de compuestos fenólicos tiende a aumentar. Las pruebas de capacidad antioxidante nos confirman una mayor presencia de compuestos fenólicos en salsas comerciales, puesto que el promedio de % de inhibición fue mayor en ambas técnicas (*Gráfica 2*).

BIBLIOGRAFÍA

Nava, Manuel Alejandro. 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universias Autónoma de Queretaro. Consultado en: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf (fecha de consulta: 02-07-2018).

Rizner Hras, A., Hadolin, M., Knez, Z., & Baumann, D. (2000). Comparision of antioxidative and synergistic eggects of rosemary extraction with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. Food Chemistry, 71, 236-340.

E. Marta KUSKOSKI2, , Agustín G. ASUERO, Ana M. TRONCOSO, Jorge MANCINI-FILHO & Roseane FETT. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Consultado en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf> (fecha de consulta: 02-07-2018).

M. Quiñones, M. Miguel y A. Aleixandre. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Consultado en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009 (fecha de consulta: 26-07-2018).

Rizner Hras, A., Hadolin, M., Knez, Z., & Baumann, D. (2000). Comparision of antioxidative and synergistic eggects of rosemary extraction with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. Food Chemistry, 71, 236-340.

Ana Baranda. Procesado de alimentos e impacto nutricional. 2012. Consultado en: <http://www.interempresas.net/Alimentaria/Articulos/99930-Procesado-de-alimentos-e-impacto-nutricional.html> (fecha de consulta: 27-06-2018).

Eva Gimeno Creus. 2004. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Consultado en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508> (fecha de consulta: 02-07-2018).

MSc. Yaixa Beltrán Delgado, Dr. C. Humberto J. Morris Quevedo, Lic. Enrique Reynaldo de la Cruz, Yanelis Quevedo Morales, Dra. C. Rosa Catalina Bermúdez Savón. 2013. Contenido de fenoles totales en extractos de Pleurotus obtenidos con solventes de diferente polaridad. Consultado en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002013000200001 (fecha de consulta: 12-07-2018).

M. Luisa Cabrera Soto, Yolanda Salinas Moreno, Gustavo A. Velázquez Cardelas, Edgar Espinosa Trujillo. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. Consultado en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000800006 (fecha de consulta: 27-06-2018).

ANODIZADO CON INYECCION Y SIN INYECCION DE AIRE AL ALUMINIO COMERCIAL CON ELECTROLITO DE ACIDO SULFURICO H_2SO_4

Ernesto Hinojos de Hoyos¹ y Adrián Moisés García Lara²

RESUMEN

El aluminio posee propiedades únicas, es capaz de protegerse así mismo con la oxidación que sufre al ambiente en cuestión de segundos, lamentablemente esta propiedad no es efectiva ante ambientes más agresivos. El anodizado resuelve la debilidad de esta propiedad, se crea artificialmente una capa más gruesa de óxido de aluminio también conocida como alúmina. Durante la estancia del 20º verano de la ciencia de la región centro se estudiaron e investigaron diferentes artículos ya publicados, se comprendió el uso de este proceso para el aluminio y las ventajas que aportaba en el material expuesto a este proceso, además de buscar diferentes resultados con diferentes procesos o variables utilizadas. Se propuso un diseño innovador, así como su implementación.

ABSTRACT

Aluminum has unique properties, it is also able to protect itself with the oxidation it suffers to the environment in a matter of seconds, unfortunately this property is not effective against the most aggressive. Anodizing resolves the weakness of this property, artificially creating a thicker layer of aluminum oxide also known as alumina. During the stay of the 20th summer of the science of the central region, different articles and advertisements are studied and investigated, including the use of this process for aluminum and the advantages it brought in the material exposed to this process, as well as looking for different results with different processes or variables used. An innovative design was proposed, as well as its implementation.

Palabras Clave: Aluminio, Anodizado, Alúmina

INTRODUCCION

La mayoría de los materiales metálicos suelen presentar en su superficie cambios al exponerse al medio ambiente, los cambios más comunes son: el color, la textura, el espesor, composición química y las propiedades físicas. Debido a esto, se ha tratado de contrarrestar el fenómeno de la corrosión, utilizando pinturas o algunos métodos electroquímicos que pueden retrasar o impedir la aparición de dicho fenómeno.

El empleo de métodos familiares que promueven la protección del material ante la corrosión son: la electrodepositación y las pinturas o barnices; pero estos procesos son más aplicables a otros metales como el acero, ya que en el aluminio y sus aleaciones resulta complejo la realización de estos procesos. Para recubrir el aluminio con cromo, níquel o cobre es necesario eliminar primero la capa de óxido, lo que complica el tratamiento y aumenta el coste, mientras las pinturas y barnices no adhieren bien, inicialmente, sobre la superficie.

Por lo antes expuesto, el Objetivo principal del presente trabajo de investigación es el de “Obtener películas anódicas electrolíticas sobre aluminio comercial (99% Al) en H_2SO_4 , variando sistemáticamente los parámetros de temperatura del electrolito y con y sin inyección de aire”.

Para poder cumplir con el objetivo principal planteado, se requieren los siguientes Objetivos particulares:

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, C. Barranquilla S/N, Col. Guadalupe, C.P. 25750, Monclova, Coahuila, hinojosdehoyos@gmail.com

² Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, C. Barranquilla S/N, Col. Guadalupe, C.P. 25750, Monclova, Coahuila, adrian.garcia@uadec.edu.mx

1. Establecer el diseño experimental, especificando las variables fijas y manipulables, los niveles alto y bajo y las variables respuesta a medir.
2. Preparar los electrodos de trabajo de acuerdo a Norma ASTM E3-95.
3. Una vez realizado cada uno de los tratamientos planteados, se caracterizarán cada uno de los electrodos por MEB.

MARCO TEORICO

El aluminio se encuentra en el 3 lugar del elemento más abundante, es utilizado en diferentes áreas industriales esto se debe a sus propiedades mecánicas y físicas. El aluminio presenta una propiedad en particular, se protege a si mismo de ambientes corrosivos, esto sucede por causa a su propia oxidación al contacto en segundos con el medio ambiente. En cuestión es resistente a estos ambientes normales de operación, pero no presenta la misma defensa en ambientes agresivos, esto toma solución al realizar un anodizado y sellado al material.

El proceso de anodizado es un proceso electrolítico de pasivación utilizado para incrementar el espesor de la capa natural de óxido en la superficie de piezas metálicas. Esta técnica suele emplearse sobre el aluminio para generar una capa de protección artificial mediante el óxido protector del aluminio, conocido como alúmina. La capa se consigue por medio de procedimientos electroquímicos, y proporciona una mayor resistencia y durabilidad del aluminio. La protección dependerá en gran medida del espesor de esta capa (en micras μm) que van desde las 5 μm hasta las 20 μm dependiendo del ambiente en que se vayan a utilizar.

En general el anodizado de aluminio es un proceso de oxidación basado en la electrólisis (proceso que separa los elementos de un compuesto por medio de la electricidad), que evita el deterioro del metal, debido a que aumenta su dureza superficial e incrementa su resistencia a la corrosión, por medio de una nueva capa de óxido creada artificialmente por reacción química.

En la industria se obtienen capas de diferentes espesores dependiendo al ambiente donde se le dará su uso. Actualmente existe dos anodizados y estos se diferencian por el espesor de la capa de óxido, capas inferiores a los 30 μm son considerados anodizados en blando, los anodizados que presenten capas de óxido de aluminio de 30 a 100 μm son considerados como anodizados en duro.

Se utilizan diferentes electrolitos para producir la oxidación del metal, entre los más comunes se encuentra el ácido sulfúrico (H_2SO_4), ya que es el más utilizado en la industria en general. La técnica consiste en hacer crecer la capa de óxido en el elemento, esto se logra al sumergir el metal a anodizar y un metal con dimensiones similares al acido electrolítico, aplicando una corriente eléctrica a la solución con los polos, cátodo y ánodo. La capa de óxido formada durante la anodización es proporcional a los diferentes factores, como lo sería la densidad de corriente, tiempo, temperatura.

METODOS Y MATERIALES

La metodología consistió de las siguientes actividades:

- Revisión Bibliográfica.

La recopilación de información se hizo durante todo el tiempo en que se realizó el trabajo de investigación y las fuentes principales fueron artículos de revistas indizadas, tesis y libros impresos y digitales.

- Naturaleza del electrolito.

De acuerdo a la bibliografía investigada se seleccionó como electrolito el ácido sulfúrico (H_2SO_4) debido a los buenos espesores de anodizado alcanzados en estudios anteriores en aleaciones de aluminio de la serie 6XXX, además que se considera menos agresivo que el HNO_3 y viable económicamente.

- Diseño experimental.

Las selecciones de variables de operación durante el proceso de anodizado se muestran en la Tabla 1 y se especifican como fijas o manipulables de acuerdo al diseño experimental propuesto:

Tabla 1. Clasificación de las variables de operación

<i>Variables de operación</i>	<i>Fijas</i>	<i>Manipulables</i>
Voltaje	✓	
Densidad de corriente	✓	
Tipo de celda	✓	
pH	✓	
Distancia interelectrodo	✓	
Electrolito	✓	
Concentración del electrolito	✓	
Tiempo de tratamiento	✓	
Inyección de aire		✓
Temperatura del electrolito		✓

En la Tabla 2 se muestra el rango de valores de las variables de operación.

Tabla 2. Valores de las variables manipuladas durante el proceso de anodizado

<i>Variable</i>	<i>Datos</i>	<i>Datos</i>
Temperatura	60 °C	60 °C
Inyección de aire	Sin	Con

- Tratamiento de los electrodos de trabajo.

Los electrodos de trabajo tuvieron una geometría cuadrada de 9 cm², el cátodo y ánodo trabajado fueron de aluminio comercial (99% Al) y acero inoxidable AISI 304 respectivamente. El espesor de los electrodos fue de 3 mm. El valor de densidad de corriente empleado durante los experimentos fue de 0.33 A dm⁻², el cual se ajustó a través de la relación entre corriente aplicada y área total expuesta con el electrolito.

Una vez cortados los electrodos se sometieron a limpieza con acetona por dos minutos para la eliminación de aceite y polvo residual, posteriormente se enjuagaron con agua destilada.

Posterior al proceso de limpieza, se desbastaron con papel de carburo de silicio de granulometría 80, 120, 600, 800, 1200, 1600, 2000, 2500 y 3000, esto con el fin último de obtener casi grado espejo (Norma ASTM E3 – 95).

Caracterización de los electrodos anodizados.

- Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) – Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDX)

La técnica de MEB permitió realizar un análisis morfológico de la capa anódica depositada en cada uno de los electrodos procesados.

Mediante la técnica de EDX se determinaron los elementos presentes en las películas obtenidas y sus cantidades relativas, la ventaja que presenta esta técnica es que permite analizar áreas puntuales dentro de la superficie.

RESULTADOS

Se presentaron resultados defectuosos en cada una de las muestras realizadas, estas presentan superficies fragmentadas (fig. 1) y superficies cristalizadas (fig.2).



Figura 2. Análisis de la capa anódica a condiciones en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) bajo condiciones de 60 °C de la solución electrolítica sin inyección de aire.



Figura 2. Análisis de la capa anódica a condiciones en Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) bajo condiciones de 60 °C de la solución electrolítica, con inyección de aire.

Esto como consecuencia a las altas temperaturas manejadas al momento de realizar el anodizado, se visualizan porosidades esperadas del proceso de anodizado en la muestra analizada, pero con tamaños irregulares en cada

visualización. "Effect of Anodizing Parameters on Film Morphology and Corrosion Resistance of AA2099 Aluminum-Lithium Alloy"

CONCLUSIONES

Es importante conocer los mecanismos y parámetros que afectan el anodizado, y sus efectos para conseguir las características deseadas. Se recomienda emplear modelos matemáticos y técnicas específicas de caracterización para obtener resultados más precisos.

El parámetro densidad de corriente es un factor importante, el cual incrementa la densidad de la capa anódica; mientras que la inyección de aire favorece considerablemente la formación de la capa de óxido.

La temperatura es un factor crítico para una correcta adherencia y estabilidad de la capa de alúmina creada artificialmente, es importante mantener la temperatura en un rango de 20°C a 30°C donde la literatura menciona que son rangos óptimos para el anodizado en aluminio.

BIBLIOGRAFIA

OROZCO, R. (2005). "Corrosión fenómeno natural, visible y catastrófico" en Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad de Veracruz, Vol. XX No. 2.

LIZARBE, R (1984). "Oxidación anódica, coloración y sellado del aluminio" en Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C), Madrid: Ed. Grafimad. S.A. Madrid.

WERNICK, S., PINNER, R., SHEASBY, P. G (1996). "The Surface Treatment and Finish of Aluminium and Alloys" en Surface & Coatings Technology, Vol.2, [pp 112-140].

M.H. ROBERT, D. DELBIN (2006). "Production of cellular A2011 alloy from semi-solid state" en Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, 17, [pp. 137-140].

M. WIERZBIŃSKA, J. SIENIAWSKI (2006). "Effect of morphology of eutectic silicon crystals on mechanical properties and cleavage fracture toughness of AlSi5Cu1 alloy" en Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, 14, [pp. 31-36].

TSANGARAKI-KAPLANOGLU, S. THEOHARI, TH. DIMOGERONTAKIS, Y. WANG, H. KUO, S. KIA (2006). "Effect of alloy types on the anodizing process of aluminum" en Surface & Coatings Technology, [pp. 2634 – 2641].

K. P. HAN, J. L. FANG (1996). "Decorative-protective coatings on aluminium" en Surface and Coatings Technology, 88, [pp. 178-182].

H. KONNO, K. UTAKA, R. FURUICHI (1996). Two step of anodizing process of aluminium as a means of improving the chemical and physical properties of oxide films, Corrosion Science, 38, (1996), pp. 2247-2256

PREPARACIÓN DE COMPUESTOS DE IRIDO CON LIGANTES SACNAC

Evani Sebastián López Santos¹ y Crispín Silvano Cristóbal Gasga²

RESUMEN

En este trabajo se muestra la síntesis de complejos que contienen iridio como átomo aceptor de electrones, en este sentido, los ligantes Sacnac y Acnac, son la fuente donadora de electrones en estos sistemas. El procedimiento realizado consta de dos partes. La primera de ellas consiste en la preparación de los ligantes Acnac mediante una reacción de condensación a reflujo, su posterior intercambio de un átomo de oxígeno por azufre conduce a la formación de sus análogos Sacnac. En la segunda parte se involucran reacciones de acomplejamiento con el centro metálico. La purificación posterior de los complejos formados mediante tratamientos bajo atmósfera de nitrógeno inerte, conduce a la formación de una serie de compuestos organometálicos de color naranja.

ABSTRACT

In this project, the synthesis of some complexes containing an iridium atom like electrons acceptor is shown, in this sense, Sacnac and Acnac ligands are electrons donor entities in these molecules. The methodology can be mentioned in two parts. The first one consists in the preparation of Acnac ligands through a condensation reaction, an exchange of oxygen by sulphur atom takes place in another reaction to produce Sacnac ligands. The second step involves complexation reactions with the metal center. After that, purification treatment under inert nitrogen atmosphere produces the formation of a series of orange organometallic compounds.

Palabras Clave: Complejos, Ligantes, Coordinación, Síntesis, Purificación.

INTRODUCCIÓN

En el siglo pasado se creía que los metales sólo formaban enlaces iónicos. En el caso de algunos metales, como los del grupo IA, esto es verdad, pero para muchos otros, en especial los metales de transición y de los metales de post-transición no lo es. Los iones de dichos metales con frecuencia se unen con bastante fuerza a aniones o moléculas neutras con el fin de formar especies más complejas que se llaman iones complejos o sencillamente complejos (Brady, 2004). En tales sustancias, el ion metálico se comporta como un ácido de Lewis y se une en forma covalente a otras especies que sirven como bases de Lewis (Brady, 2004).

Las bases de Lewis que se fijan a los iones metálicos se llaman ligandos. El átomo del ligando que cede el par de electrones al ion metálico, se le llama átomo donador y se dice que el propio ion metálico es el receptor. Como se puede enfocar la formación de un complejo como producto de la formación de enlaces covalentes coordinados del ligando al ion metálico, los compuestos que contienen complejos se llaman compuestos de coordinación (Brady, 2004).

Existen diversos tipos de ligandos o ligandos con los cuales se puede llevar a cabo la síntesis de compuestos de coordinación, pero el requisito es que el ligante contenga átomos con pares de electrones libres o pares de electrones de valencia no compartidos, tal es el caso del oxígeno, nitrógeno y azufre, por mencionar algunos. Así se pueden encontrar en la literatura ligandos que tienen en su estructura más de un átomo donador con capacidad para coordinar a uno o incluso a más centros metálicos.

De nuestro interés son los ligandos de tipo acetilacetatos (Acac) que son derivados de pentanodionas, y que presentan dos oxígenos como átomos donadores. Los ligandos denominados Acnac y Sacnac son análogos del ligante Acac, aunque en estos casos los átomos donadores son nitrógeno y oxígeno, y nitrógeno y azufre, respectivamente. A

¹Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de Bioquímica; Av. Universidad # 940, Ciudad Universitaria, C.P: 20131, Aguascalientes, Ags, evanisebastian31@gmail.com

²Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas-Campus Guanajuato, Departamento de Química, Noria Alta s/n. C.P: 36050, Guanajuato, Gto, cs.cristobal@ugto.mx

pesar de esa diferencia, toda esta familia de ligantes tienen características similares, es decir, estos pueden actuar de manera bidentada y una vez coordinados se caracterizan por ser ligantes monoaniónicos.

De manera particular, en este trabajo se utilizaron dos especies diferentes de ligantes Acnac y dos más de Sacnac, de tal manera que se consideró la variación de un sustituyente aromático enlazado al átomo donador de nitrógeno en ambos tipos de ligantes. Así, se obtuvo una serie de ligantes con los grupos 2,4,6-trimetilfenilo o mesitilo (Mes) y 2,6-diisopropilfenilo (Dipp), los cuales fueron estudiados en su reacción de acomplejamiento con iridio a través de su reacción con un complejo de partida bis- μ -cloro-di(1,5-ciclooctadieno) diiridio(I).

El objetivo principal de esta investigación es el estudio de la reactividad de los ligantes, así como el conocimiento de la estabilidad de los productos formados, con objeto conocer sus propiedades químicas, y de esta manera encaminar los resultados a futuras investigaciones en el área de catálisis o su aplicación en sistemas biológicos.

MÉTODOS Y MATERIALES

Las síntesis fueron llevadas a cabo en atmósfera de nitrógeno en una línea Schlenk y los solventes diclorometano, tetrahidrofurano (THF), éter etílico y hexanos fueron secados mediante tratamientos a reflujo con sodio metálico e hidruro de calcio. Para el análisis espectroscópico se realizaron pruebas de protón en RMN usando un equipo de 500 MHz y cloroformo deuterado (CDCl_3) como solvente. La metodología de las síntesis de los ligantes fue análoga a la reportada por Hernández (2017) y Rivas (2016), mientras que la preparación del compuesto bis- μ -cloro-di(1,5-ciclooctadieno)diiridio(I), se realizó mediante la metodología reportada por van Koten y colaboradores (van Koten, 1993). Para la determinación de puntos de fusión se utilizó un aparato de la marca FISHER JOHNS provisto de un termómetro de mercurio.

- Síntesis de los ligantes Acnac.

En un matraz balón provisto de un sistema de reflujo, se colocaron 1.62 g (10 mmol) de 1-fenilbutanodiona y cantidades estequiométricas de la amina correspondiente (2,4,6-trimetilfenilamina o 2,6-diisopropilfenil amina). La mezcla de reacción se realiza a temperatura ambiente, y a esa misma temperatura se agregan 50 mL de Tolueno y 50 mg de ácido *p*-toluensulfónico. Posteriormente, la reacción se lleva a calentamiento, a temperatura de reflujo durante un tiempo de 24 h. Después de llevar a sequedad, la mezcla se separa por columna cromatográfica utilizando una mezcla de acetato de etilo con hexanos (2:8), para obtener un sólido beige con un rendimiento aproximado del 83%.

- Síntesis de los ligantes Sacnac

En matraces balón de tipo Schlenk se agregan de manera separada 10 mmol de cada uno de los ligantes Acnac previamente sintetizados, junto con 5 mmol (2.02 g de 2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiodifosfetano (Reactivo de Lawesson) disueltos en 20 mL de cloruro de metileno. Ambos matraces se mantienen en agitación a 35 °C durante 1.5 h. Posteriormente se evaporan las sustancias volátiles y se realiza la separación mediante cromatografía en columna de gel de sílice. Después de la elución con una mezcla de hexano con acetato de etilo en relación 50:1 se obtienen los correspondientes compuestos de color rojo brillante con buenos rendimientos.

- Síntesis de bis- μ -cloro-di(1,5-ciclooctadieno)diiridio(I)

Para la síntesis de $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\text{COD})_2]$ se utilizó un matraz de tres bocas con 18.2 mmol (6.4 g) de $\text{IrCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ disueltos en 90 ml de una mezcla de EtOH/ H_2O (2:1) a 45 °C. Posteriormente se agregó 0.83 g de hidroquinona y 69.3 mmol (6.4 g) de 1,5-ciclooctadieno (COD). Toda la reacción se mantiene en un sistema provisto de un condensador con un flujo constante de nitrógeno y se calienta a la temperatura de reflujo durante 5 horas. Finalmente se obtiene un sólido rojo pulverulento después del tratamiento de purificación mediante lavados sucesivos a temperatura ambiente con etanol frío.

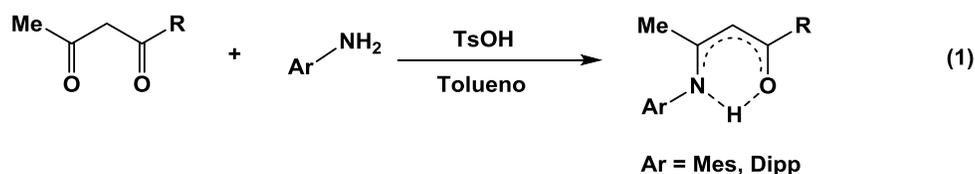
- Síntesis de los complejos de iridio con los ligantes.

En tubos Schlenk se colocan de manera separada 0.25 mmol cada uno de los ligantes Acnac y Sacnac sintetizados junto con 0.5 equivalentes de bis- μ -cloro-di(1,5-ciclooctadieno) diiridio(I) previamente sintetizado, se agregan 15

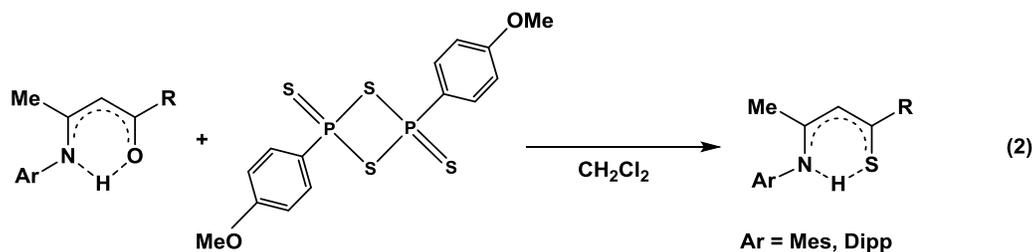
mL de THF, aproximadamente 0.5 mL de agua y 1 equivalente de hidróxido de potasio. Las reacciones se mantienen en agitación constante por 5 horas y posteriormente se llevan a sequedad usando alto vacío. Los respectivos productos finales se obtienen tras un tratamiento por difusión en una mezcla de cloruro de metileno con hexanos a una temperatura de $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

RESULTADOS

La reacción de formación del compuesto Acnac se da mediante una reacción de condensación entre una cetona y una amina aromática en medio ácido, tal como se muestra en la ecuación 1). Los ligantes Acnac pueden existir en equilibrio con sus formas tautoméricas análogas del tipo ceto-enol que experimentan las dicetonas, por lo que es más apropiado llamarles β -cetoiminas a estos compuesto de naturaleza N,O-donadoras.



Por su parte, los ligantes Sacnac, aquellos que presentan naturaleza N, S-donadora, se preparan a partir de los compuestos Acnac en presencia del Reactivo de Lawesson utilizando cloruro de metileno como disolventes tal como se muestra en ecuación 2). Al igual que sus precursores Acnac, estas especies también son mejor descritas como β -tioacetaminas.



En la Figura 1, se presenta el análisis por RMN de protón, en la que se precia claramente una señal a campo bajo ($\delta = 15.42\text{ ppm}$) misma que corresponde al hidrogeno puente entre ambos heteroátomos. Otra señal de gran importancia y muy característica de estos compuestos es aquella que se observa a 6.75 ppm , que corresponde al hidrógeno CH del fragmento Sacnac. Las señales restantes pueden asignarse completamente mediante estudios completos de resonancia magnética nuclear llevados a cabo a temperatura ambiente. Lo mismo se ha realizado para cada uno de los ligantes Sacnac y Acnac preparados en este trabajo, lo que pone de manifiesto la formación de las especies propuestas.

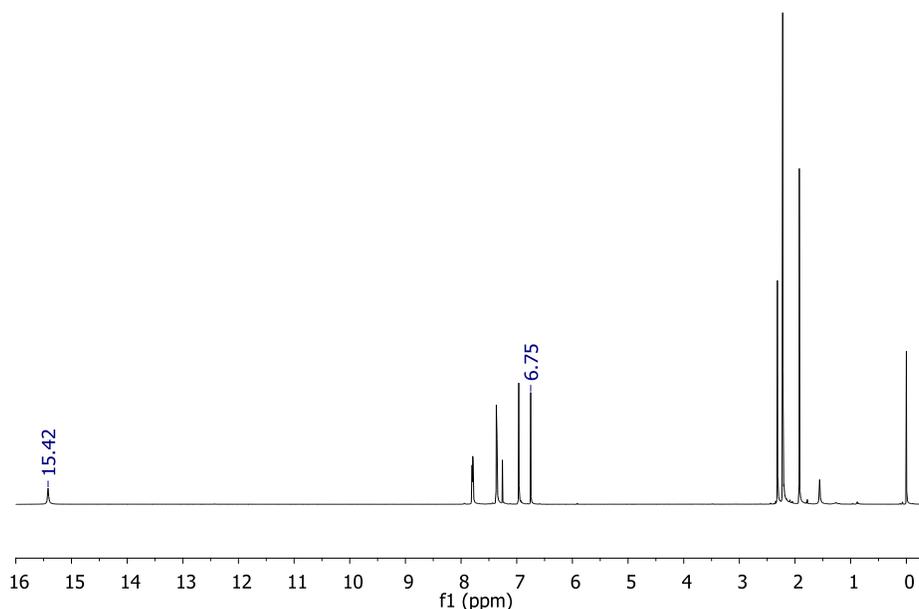


Figura 1. Espectro RMN de ^1H de uno de los ligantes Sacnac.

De particular importancia en los sistemas con el grupo 2,6-diisopropilfenilo se puede observar claramente en la región de baja energía, una señal en forma de heptuplete (Figura 2). La formación de esta señal es precisamente debida a que el campo magnético generado por los núcleos hidrógenos de los grupos metilos cercanos a él, se afectan de manera importante, y la señal se desdobra según la ecuación $m = 2nI + 1$ (donde m , n e I son la multiplicidad, los núcleos vecinos y el valor del spin nuclear del hidrógeno), (Joseph,1982). La fuerza de interacción de los campos magnéticos de 6.8 Hz, con el desplazamiento a campo alto de los grupos metilos indican que, los núcleos de estos últimos se encuentran protegidos electrónicamente, por lo que requieren una fuerza de campo magnético mayor para su resonancia, lo que significa que mantienen relativamente una mayor protección (McMurry, 2008).

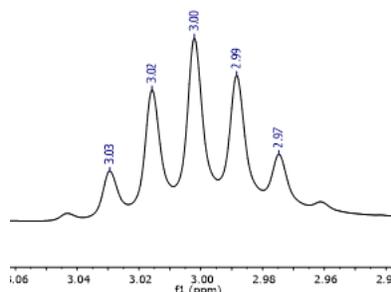


Figura 2. Desdoblamiento en un heptuplete de la señal correspondiente al metino (CH) de los grupos isopropilos enlazados al fragmento aromático.

Cuando se realiza la reacción de los respectivos ligantes Acnac y Sacnac con el compuesto bis- μ -cloro-di(1,5-ciclooctadieno) diiridio(I), se observa por resonancia magnética nuclear que el hidrógeno $\text{N}\cdots\text{H}\cdots\text{S}$ se ha desprendido del respectivo ligante libre, lo que pone de manifiesto la coordinación con el centro metálico. Este no es el único cambio que se observa, ya que el resto de las señales sufre un desplazamiento relativo. Por ejemplo, el grupo metino del fragmento Sacnac se desplaza 0.30 ppm a energías más altas por influencia del metal sobre la deslocalización electrónica de los átomos N-C-C-C-S del fragmento. Lo interesante de estos compuestos es que el grupo 1,5-ciclooctadieno se mantiene enlazado al átomo de iridio, así sus hidrógenos son fácilmente distinguibles mediante estudios bidimensionales de RMN-COSY. El mismo comportamiento sucede con las especies formadas con los ligantes N,O-donadoras, como se demuestra en el espectro de RMN de ^1H de la Figura 3. Cabe hacer

mención que en estos compuestos, bajo las condiciones de estudio, el ligante no se consume completamente, por lo que se deben mejorar las condiciones de reacción, sin embargo es evidente la presencia del producto esperado.

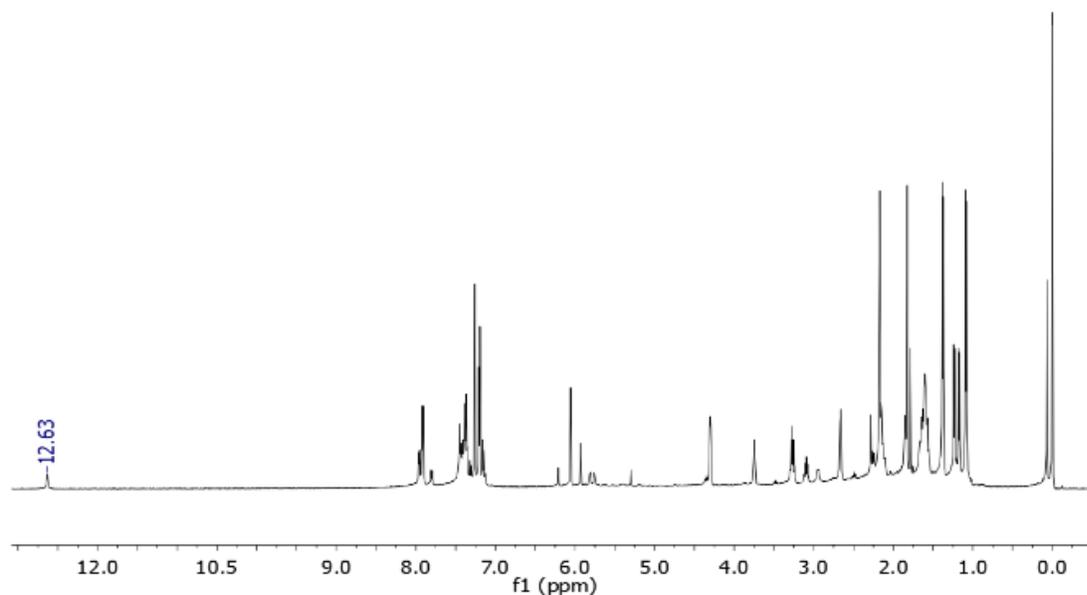


Figura 3. Espectro de RMN de 1H de la reacción de bis- μ -cloro-di(1,5-ciclooctadieno) diiridio(I) con un ligantes N,S-donador.

CONCLUSIONES

Mediante estudios de resonancia magnética nuclear, se confirma la síntesis tanto de los ligantes bidentados Sacnac, conteniendo como átomos donadores al N y S, así como los correspondientes complejos de iridio. Se obtuvo también el compuesto $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\text{COD})_2]$, el cual sirvió como material de partida para la formación de los complejos. Los ligantes Sacnac y Acnac son parte de una línea amplia de ligantes de tipo β -dicetonatos que presenta una potencial actividad catalítica en procesos biológicos, por lo que el estudio de su reactividad hacia diversos metales es de gran relevancia para nuestro grupo de investigación. Los compuestos preparados presentan cierta estabilidad térmica bajo las condiciones estudiadas, por lo que pueden ser almacenados a temperatura ambiente y sometidos a condiciones más drásticas en futuras reacciones. La síntesis y purificación de los ligantes Sacnac por los métodos descritos, generan compuestos de una pureza relativamente alta, lo mismo que sucede con los complejos metálicos, aunque desde luego, es preciso utilizar una técnica como el análisis elemental para confirmar estos resultados de manera inequívoca.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la SEP por el financiamiento a través del apoyo PRODEP 2017-2018 número 511-6/17-8070, a la Universidad de Guanajuato y al Comité Organizador del 20° Verano de la Ciencia de la Región Centro, por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo de investigación.

E.S.L.S agradece al CONACYT y al Departamento de Apoyo a la Investigación de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por la beca concedida y las gestiones para la realización de estancia de verano de investigación.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Beyer, Hans Beyer, Wolfgang Walter. (1987). Manual de química orgánica. Reverte. Barcelona. España.
- [2] Brady, James E. (2004). Química básica: principios y estructura. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional
- [3] Hernández, Edson. (2017). Estudio sobre la potencial aplicación de ligantes Sacnac en la estabilización de metales en bajos estados de oxidación (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guanajuato. Guanajuato. México.
- [4] Joseph. Pedro Nathan. (1982). Resonancia magnética nuclear de hidrogeno-1 y de carbono-13. Estados Unidos de América. Texas. Organization of American States
- [5] McMurry, J. (2001). Química Orgánica, 7ª. Edición, México, Ed. International Thomson Editores, S.A. de C.V.
- Rivás, Christopher. (2016). Complejos de Níquel y Paladio con ligantes Acnac y Sacnac (Tesis de licenciatura). Universidad de Guanajuato. Guanajuato. México.
- [6] Wehman – Ooyevaar, Ingrid. Drenth, Wiendelt. Grove, David. Van Koten, Gerard. (1993). Stereoselective Isomeration in Organoiridium (III) Complex Induced by the Presence of Rigid C, N Chelatin Ligands. Inorganic Chemistry. Núm. 32, pp. 3347 - 3356.
- [7] Wehman-Ooyevaar, I. C. M.; Drenth, W.; Grove, D. M.; van Koten, G. (1993) Stereoselective isomerization in organoiridium(III) complexes induced by the presence of rigid C,N chelating ligands. Inorganic Chemistry. 32, 3347–3356.

RIQUEZA Y DIVERSIDAD DE ESPECIES DE AVES EN ZONAS CONSERVADAS Y PERTURBADAS DE TRES MUNICIPIOS DE SAN LUIS POTOSÍ

Fátima Magdiel Cantera Rangel¹ y Leonardo Chapa Vargas²

RESUMEN

Se registra la riqueza y diversidad de aves en seis áreas dentro de San Luis Potosí (Río Verde, Charcas y Tamasopo) divididas en dos sitios cada una: conservado y perturbado como contribución a las investigaciones sobre la presencia de malaria en las especies de aves del estado. Se registraron 87 especies en total; 14 en la zona conservada de Río Verde y 16 en la perturbada, 17 en la zona conservada de Charcas y 11 en la perturbada, 18 en la zona conservada y 11 en la zona perturbada de Tamasopo sin embargo en cuanto diversidad Tamasopo es el que obtuvo un índice más alto mientras que Charcas el más bajo. En todos los casos se debe aumentar el esfuerzo de muestreo debido a que este análisis únicamente se realizó durante la temporada reproductiva y con esto conocer de manera más amplia la cantidad de aves que habitan en San Luis Potosí y cuántas son propensas a estar parasitadas.

ABSTRACT

Bird richness and diversity are recorded in six areas within San Luis Potosí (Río Verde, Charcas and Tamasopo). Each area is divided in two sites: preserved and disturbed, in order to analyze the status of the birds as a contribution to research related to infection by malaria in birds of this state bird species. A total of 87 species were; 14 in the conserved area of Río Verde and 16 in the disturbed zone, 17 in the conserved area of Charcas and 11 in the disturbed area, 18 in the conserved zone and 11 in the disturbed area of Tamasopo. Tamasopo yielded highest diversity value and Charcas had the lowest value. In all cases the sampling effort should be increased because this analysis was only carried out during the reproductive season. This would allow knowing in greater detail the number of birds that inhabit San Luis Potosí and how many of these are prone to be parasitized.

Palabras clave: Diversidad, Riqueza, Similitud, Aves, Perturbado, Conservado.

INTRODUCCIÓN

Por su variedad de ecosistemas, y su cantidad de especies de flora y fauna silvestres, San Luis Potosí es reconocido por tener una alta diversidad biológica. En cuanto a la cantidad de aves presentes en el estado se calcula que aproximadamente este alberga 200 especies de aves a través de todo su territorio. Actualmente la rápida transformación del paisaje por actividades humanas ha promovido la dispersión de hemoparásitos al representar una zona de reproducción favorable para los vectores de estos (Pérez *et al*, 2001).

La forma en que las perturbaciones de determinados sitios de esta zona aún no han sido investigadas, mucho menos las repercusiones que afectan la estructura poblacional de grupos de animales como las aves (Brawn *et al*, 2001). Los ecosistemas de San Luis Potosí representan sistemas idóneos para estudiar todo lo que conlleva el efecto de las perturbaciones sobre las aves y las zonas conservadas que aún prevalecen en él muestra la contraparte del problema.

Actualmente no se cuenta con la información pertinente acerca de la distribución y abundancia de muchas especies de fauna (Altamirano *et al*, 2002). En este sentido es importante caracterizar en términos de riqueza y diversidad la avifauna del estado de San Luis Potosí ya que en pocos trabajos se han documentado las especies terrestres hasta el momento (López-Ornat, 1990). Los análisis de diversidad nos brindan un conocimiento más acertado de cómo se encuentran cada uno de los sitios que estamos estudiando, la similitud o disimilitud entre estos y por supuesto, el esfuerzo de muestreo que estamos teniendo para con esto decidir en cuales sitios habrá que poner mayor atención. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la avifauna estimando riqueza y diversidad divididas por zonas conservadas y perturbadas dentro de 3 sitios de San Luis Potosí.

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ). Av. de las Ciencias s/n. Juriquilla, C.P. 7230, Santiago de Querétaro, Qro. famagdy@hotmail.com

²Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica AC. (IPICYT), División de Ciencias Ambientales, Camino a la Presa San José #2055 Col. Lomas 4a. C.P.78216, San Luis Potosí, SLP. lichapa@ipicyt.edu.mx

METODOLOGÍA

El trabajo de campo se llevó a cabo en seis sitios, tres conservados y tres perturbados dentro de tres municipios de San Luis Potosí (Río Verde perturbado (A) 22°09'26.21" N-99°54'12.00"O, Río Verde conservado (B) 22°11'10.5"N- 99°54'04.23"O, Charcas conservado (B) 23°7'40.4"N -101°6'49.0" O, Charcas perturbado (A) 23° 10'5.86" N- 101°1'12.83" O, Tamasopo conservado (B) 21°55'40.38"N-99°24'52.5"O y Tamasopo perturbado (A) 21°55'40.16"N-99°25'09.74"O) (Figura 1) con tipo de vegetación matorral xerófilo en Río Verde, izotal en Charcas y selva mediana en Tamasopo.

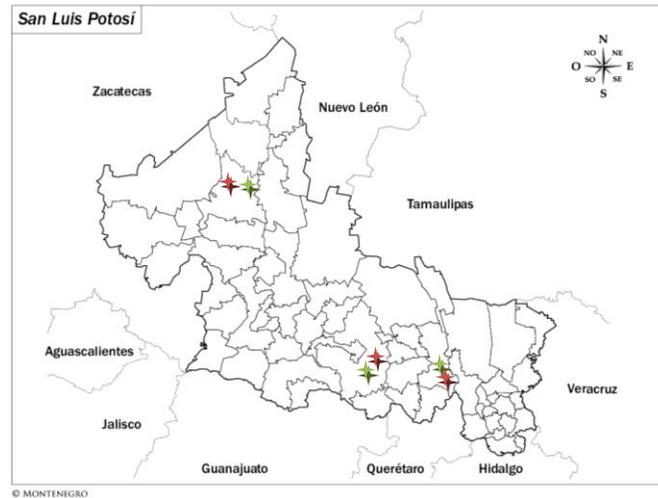


Figura 1. Mapa de San Luis Potosí distinguiendo los sitios perturbados con una marca de color rojo y los conservados con marca verde

El trabajo de campo comprendió cinco semanas; de la segunda semana de junio a la segunda de julio del 2018. Se realizaron de manera consecutiva, una semana por sitio a excepción de Tamasopo, ahí se hicieron los muestreos de manera simultánea en ambos sitios (conservado y perturbado) en la semana cuatro.

En cada área se ubicaron entre ocho y diez redes de niebla por las tardes del primer día de trabajo; las redes se colocaron según se observaba el paso de las aves o en zonas estratégicas donde no fueran de fácil detección para los individuos. A la mañana siguiente se abrían las redes antes del amanecer, luego de 20/30 minutos se realizaba un circuito de revisión cubriendo todas las redes y extrayendo a las aves encontradas en ellas, se trasladaban en un saco de tela hacia el sitio de procesamiento donde se identificaban con guías visuales para campo (Howell, 1995; Van Perlo, 2006) y se tomaban datos morfométricos: tamaño, peso, edad, sexo en caso de haber dimorfismo sexual, si se les y se verificaba la salud externa de cada uno de los individuos (Figura 2). Posteriormente cada una de las aves fue liberada cerca de la red donde fue extraída. Conforme iba avanzando el día el circuito era más frecuente para evitar que las aves estuvieran expuestas al sol o mucho tiempo en las redes teniendo sumo cuidado con aquellas que se encontraban anidando y/o empollando.

Por las tardes, aproximadamente a las 18:00 hrs se cerraban las redes y si alguna de estas no había obtenido ningún ejemplar o muy pocos durante el día se le cambiaba de lugar, esto como estrategia para obtener una mejor captura en los días siguientes.



Figura 2. Muestra el procedimiento de extracción de las aves de las redes e identificación de los organismos

Por último, con el programa Past (Hammer *et al*, 2001) se calcularon los índices de Shannon, el número efectivo de especies y la similitud entre los sitios con Jaccard.

RESULTADOS

Durante los días de muestre se registraron 87 especies en total; 14 en la zona conservada de Río Verde y 16 en la perturbada, 17 en la zona conservada de Charcas y 11 en la perturbada, 18 en la zona conservada y 11 en la zona perturbada de Tamasopo. Las familias con mayor número de individuos encontrados fueron Emberizidae y Parulidae.

El muestreo total fue de 25 días que en total suman 300 horas de muestreo, se capturaron 294 individuos. De acuerdo a los valores que se muestran en la Tabla 1, la diversidad más alta de especies se encuentra en el sitio de Río Verde B seguido de Tamasopo B y el más bajo para Charcas B.

El índice de similitud de Jaccard (Tabla 2, Figura 3) nos arrojó que los sitios más parecidos son Río Verde B-Tamasopo B y Charcas A-Charcas B.

Mientras que la mayor riqueza de especies la posee Tamasopo A

Tabla 1. Riqueza, abundancia y diversidad de especies en cada una de las áreas de estudio

Variables	Áreas de estudio					
	Río Verde A	Río Verde B	Charcas A	Charcas B	Tamasopo A	Tamasopo B
Riqueza	32	49	50	53	60	50
Shannon	2.118	2.474	2.422	2.002	2.101	2.41
Número efectivo de especies	8.31449186	11.8698313	11.2683735	7.403849	8.17434017	11.1339611
Simpson	0.8561	0.8938	0.8705	0.832	0.8556	0.8736

Tabla 2. Porcentajes de similitud (índice de Jaccard)

	Río Verde A	Río Verde B	Charcas A	Charcas B	Tamasopo A	Tamasopo B
Río Verde A	1	0.04	0.28571429	0.10526316	0	0
Río Verde B	0.04	1	0.13793103	0.17391304	0.08	0.18518519
Charcas A	0.28571429	0.13793103	1	0.33333333	0	0.064516129
Charcas B	0.10526316	0.17391304	0.33333333	1	0	0.08
Tamasopo A	0	0.08	0	0	1	0.125
Tamasopo B	0	0.18518519	0.064516129	0.08	0.125	1

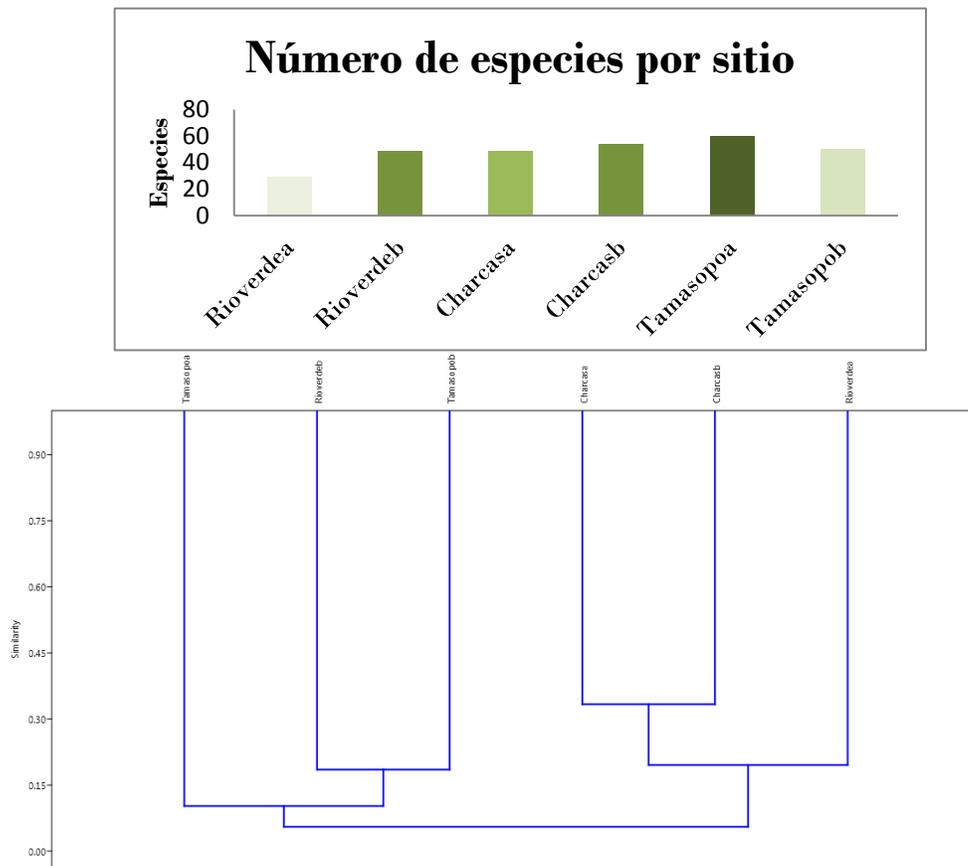


Figura 3. Gráfico de índice de similitud

DISCUSIÓN

El estudio documentó la riqueza y diversidad de aves así como su comparación entre sitios perturbados y conservados arrojando que las zonas perturbadas poseen una menor diversidad de aves pero mayor o igual riqueza que las zonas conservadas. En este sentido se ha señalado que la estratificación tanto horizontal como vertical de la vegetación podría promover la coexistencia de un mayor número de especies de aves (Levey, 1988) ya que estas podrían utilizar la cobertura protectora y recursos alimenticios disponibles sin embargo no todas las especies son capaces de adaptarse a este tipo de cambios con que provoca la población de nuevos sitios antes conservados (McIntyre, 1995).

Los valores de Tamasopo son mayores debido a la complejidad de su estructura vegetal, particularmente porque existe un plano vertical debido a la perturbación intermedia según lo que refiere Cornell (1978). La biodiversidad está directamente relacionada con la alteración recibida por el sitio de estudio. MacArthur *et al.* (1962) indica que la heterogeneidad influye en la distribución horizontal y vertical de las comunidades de aves, las que a su vez pueden ser indicadores del estado de ciertos ecosistemas.

Algunos trabajos se han realizado, pero únicamente en selvas medianas de Veracruz (Bojorges, 2005) y en selvas altas de Chiapas (Ramírez-Albores, 2006) por lo que este trabajo puede ser el complemento de estos trabajos.

CONCLUSIÓN

Las especies de aves como otro tipo de organismos se han ido adaptando a los cambios provocados por la aparición del hombre y de estructuras necesarias para su supervivencia. Hace falta conocer más sobre la diversidad de aves en San Luis Potosí, no sólo de manera general sino más específica, como lo pudimos observar, dentro del mismo estado con tan solo unos kilómetros de distancia y la composición de especies fue completamente diferente. Falta conocer como los patrones de riqueza y diversidad fluctúan a través del tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

- Altamirano, M., Martín, M. & G. Cartas. 2002. Ocurrencia, distribución y abundancia del género *Passerina* en la Reserva de la Biosfera La Sepultura, Chiapas. *Acta Zool. Mex.(n.s.)* 75:125-142.
- Brawn, J. D., S. K. Robinson, and F. R. Thompson. 2001. The role of disturbance in the ecology and conservation of birds. *Rev. Ecol. Syst.* 32:251-276
- Bojorges B, J. C., y L. López M. 2005. Riqueza y diversidad de especies de aves en una selva mediana subperennifolia en el centro de Veracruz, México. *Acta Zool. Mex. (Nueva Serie)* 21(1):1-20.
- Connell, M. L. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science Wash.* 199:1302-1310.
- Hammer, Ø., Harper, D, Ryan, P 2001. PaPaquete de software de estadísticas paleontológicas para educación y análisis de datos . *Palaeontologia Electronica* 4 (1): 9pp.
- Hamilton, W & M. Zuk, 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science.* 218: 384-387.
- Howell, S. N. G. & S. Webb. 1995. A guide to the birds of Mexico and Northern Central America. Oxford University Press. New York. USA. 851pp
- Levey, D. J. 1988. Spatial and temporal variation in Costa Rican fruit and fruit-eating bird abundance. *Ecol.Monog.*58:257-269.
- López-Ornat, A. 1990. Avifauna de la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an. Diversidad biológica en la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, México.
- MacArthur, R. H., J. W. MacArthur, and J. Preer. 1962. On bird species diversity II. Prediction of bird census from habitat measurements. *The Am. Nat.* 96(888):167-174
- McIntyre. N. E. 1995. Effects of forest patch size on avian diversity. *Lands. Ecol.* 10:85-99
- Pérez, G. & L. García. 2001. Los parásitos en el contexto de la biodiversidad y la conservación. *CONABIO. Biodiversitas* 34:11-15
- Ramírez-Albores J., E. 2006. Variación en la composición de comunidades de aves en la Reserva de la Biosfera de Montes Azules y áreas adyacentes, Chiapas, México. *Biota Neotropica* 6(2):1-19
- Scott, M. 1988. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. *Conservation Biology.* 2: 40-56.
- Van Perlo, B. 2006. Birds of Mexico and Central America. Princeton University Press and Oxford. New Jersey. USA. 336 pp

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Leonardo Chapa por recibirme y por todas las atenciones prestadas. A las estudiantes de doctorado Larissa Ortega Guzmán, Patricia Zaldivar Ortega y al Dr. José Romeo Tinajero Hernández por su guía y su paciencia a lo largo de este proyecto. A todo el personal de la División de Ciencias Ambientales del IPICYT por su amabilidad durante la estancia.

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS MICROBIANOS LIGNOCELULOLÍTICOS PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS ÁRIDOS DEL NORTE DE MÉXICO

Fernando Jasso Juárez¹ Argel Gastélum Arellánez², y José Luis Hernández Flores³

RESUMEN

En el presente proyecto se evaluó el halo de hidrólisis de carboximetilcelulosa en medio sólido producido por cinco aislados microbianos recuperados de suelo o sedimento del valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Dichos aislados habían mostrado capacidad celulolítica en un estudio precedente. El halo de hidrólisis a estudiar es consecuencia de la liberación de celulasas al medio extracelular por parte de los microorganismos, y es revelado gracias a su interacción con el compuesto rojo congo. El interés de este trabajo recae en el potencial del uso de estas enzimas en la creciente industria de biocombustibles. Aquellos aislados que mostraron un halo de hidrólisis mayor fueron seleccionados para posteriores estudios.

ABSTRACT

On this project, we evaluate the carboxymethylcellulose hydrolysis halo of five microbial isolates recovered from soil or sediment from the Cuatro Cienegas Basin in Coahuila. Those isolates had shown cellulolytic capacity in a previous study. The hydrolysis halo to be studied is a consequence of the cellulases releasing into the extracellular medium by the microorganisms, and it is observable thanks to the interaction with Congo red. The isolates that showed a bigger hydrolysis halo were selected for further studies.

Palabras Clave: Cuatro Ciénegas, celulosa, celulolítico, carboximetilcelulosa, celulasas

INTRODUCCIÓN

El valle de Cuatro Ciénegas es un oasis en el desierto de Chihuahua dentro del estado de Coahuila en el norte de México. Se ha reportado que las cuencas de esta región contienen una concentración muy baja de fósforo, condición que ejerce una presión selectiva a las comunidades biológicas que habitan en la zona (Souza *et al.*, 2006). En algunos estudios se ha observado que el valle de Cuatro Ciénegas tiene una gran abundancia y diversidad de bacterias (Arocha Garza *et al.*, 2017). Los grupos microbianos clave relacionados con el desarrollo de microbios en esta zona son cianobacterias, bacterias heterotróficas aeróbicas, bacterias reductoras de sulfato, bacterias oxidantes de sulfuro y bacterias fermentativas (Visscher and Stolz, 2005).

La capacidad celulolítica de microorganismos cobra especial atención en la investigación nacional enfocada a la producción de etanol a partir de residuos agroindustriales, material con un contenido abundante en celulosa y hemicelulosa. Dada la presión selectiva de la microbiota endémica del valle de Cuatro Ciénegas, se estima que algunas de estas bacterias presentan una actividad de degradación de celulosa de relevancia para su uso extensivo en la nascente industria del biocombustible.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. Venustiano Carranza esquina con Ing. José Cárdenas Valdés s/n, Colonia República Oriente C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, jasso.f@uadec.edu.mx

² Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, Omega no. 201 Col. Industrial Delta C.P. 37545, León, Guanajuato, agastelum@ciatec.mx

³ Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, Departamento de ingeniería genética, Km. 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León, C.P. 36824, Irapuato, Guanajuato, jose.hernandezf@cinvestav.mx

En trabajos precedentes (Que y Álvaro, 2017) se estudiaron los halos de hidrólisis producidos por algunos aislados bacterianos en medio sólido definido a base de carboximetilcelulosa o xilano como única fuente de carbono. Algunas de estas cepas presentaron halos de hidrólisis que ocuparon por completo la superficie del medio. En el presente trabajo se realizan pruebas de hidrólisis de cinco cepas identificadas como celulolíticas en dicho estudio, por mostrar crecimiento en dicho medio, mas no habían sido evaluadas anteriormente en cultivo en placa Petri mediante la técnica de halos de hidrólisis.

METODOLOGÍA

Los aislados con los que se trabajó fueron resembrados en el medio definido descrito en la tabla 1 en placa Petri de 6 cm de diámetro con 10 mL de medio por caja. Se incubaron por 14 días a 28 °C en condiciones aerobias. La técnica de resiembra utilizada en este caso fue por estriado, procurando una inoculación uniforme en toda la superficie del medio.

Tabla 1. Medio de cultivo salino con carboximetilcelulosa como única fuente de carbono

Reactivo	Concentración (g/L)
Carboximetilcelulosa (CMC) SIGMA C5658	5.00
Agar bacteriológico DIBICO 1298	15.0
Sales marinas Kent Marine (Reef Salt Mix) 751906000433	25.0
Fosfato de potasio monobásico (KH ₂ PO ₄) CTR Scientific 02752	2.00
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄ CTR Scientific 04460	0.35
Urea CO(NH ₂) ₂ Jamelk U6925-250	0.0748
Ajustar a pH 7.0 y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C y 15 psi	

Para las pruebas de halo de hidrólisis se realizaron 3 repeticiones por cada aislado de la siguiente manera:

Luego del periodo de incubación posterior a la resiembra se procedió a inocular por bocado en placa Petri de 9 cm de diámetro con 35 mL del medio descrito en la tabla 1, se incubaron por 4 días a 28 °C en condiciones aerobias y se realizó el revelado de los halos de hidrólisis vertiendo 7 mL de rojo Congo 1 g/L y reposando por una hora, luego de lo cual se realizaron dos lavados de 7 mL de NaCl 1 M durante 5 minutos por cada placa para retirar el exceso de colorante. El rojo Congo es afín a los enlaces β-1,4 de la carboximetilcelulosa que son los sitios de hidrólisis de las celulasas, por lo que el lavado con rojo Congo deja teñido el medio de color rojo con menor intensidad en el sitio de actividad de celulasas secretadas por los aislados (Teather & Wood, 1982).

Se midieron los diámetros de halos de hidrólisis utilizando el software ImageJ 1.52e y el análisis estadístico se realizó en el software R 3.5.1. La normalidad y homogeneidad de las varianzas fueron evaluadas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey fueron aplicados cuando las muestras se distribuyeron de manera normal y homogénea (paquete "stats"). Para las muestras que no se distribuyeron normalmente fue aplicado el método ANOVA max-t, un procedimiento estadístico para evaluar múltiples medias, en las que no es necesaria ninguna suposición con respecto a la distribución, el tamaño de la muestra o la homogeneidad de la varianza. En el caso de muestras heterogéneas, se compararon las medias mediante el método ANOVA max-t, el cual considera la heterogeneidad utilizando la estimación de covarianza coherente heterogénea HC3 (max-t + HC3). Tanto los métodos max-t como max-t + HC3 fueron aplicados con la opción de prueba de Tukey para todas las comparaciones de medias (paquetes "multcomp" y "sandwich"), (Herberich et al., 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados no mostraron crecimiento de biomasa, aunque sí presentaron halos de hidrólisis de pequeño diámetro. Adjudicamos esto al corto tiempo de incubación que se les dio a las pruebas, siendo mínimas las diferencias entre cuatro de los cinco aislados (Figuras 1 y 2), solo el aislado CMC1 (Figura 3) no presentó un halo de hidrólisis. Se estima que este último aislado tiene capacidad celulolítica ocasionada no por la liberación de celulasas al medio extracelular, sino por la presencia de complejos membrana-enzima conocidos como celulosomas (Artzi et al., 2016).

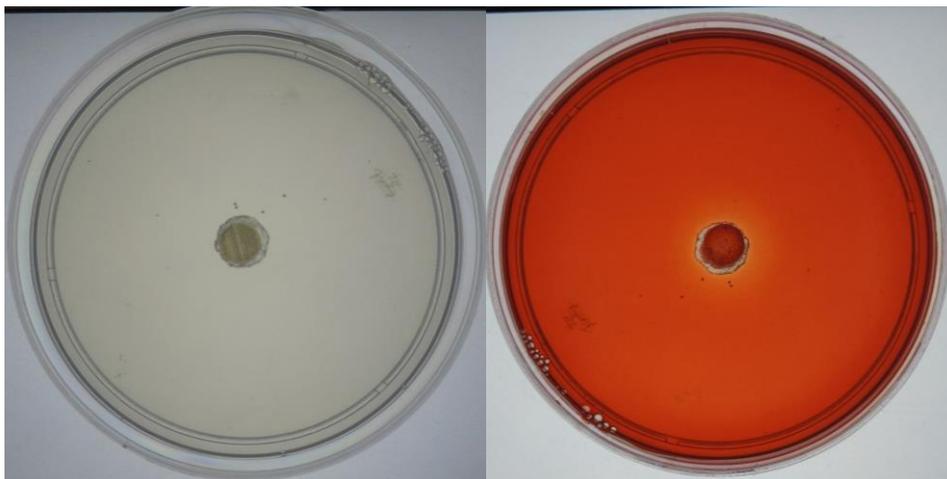


Figura 1. Prueba de hidrólisis del aislado CMC5 (izquierda), el revelado con rojo congo (derecha) muestra un halo anaranjado

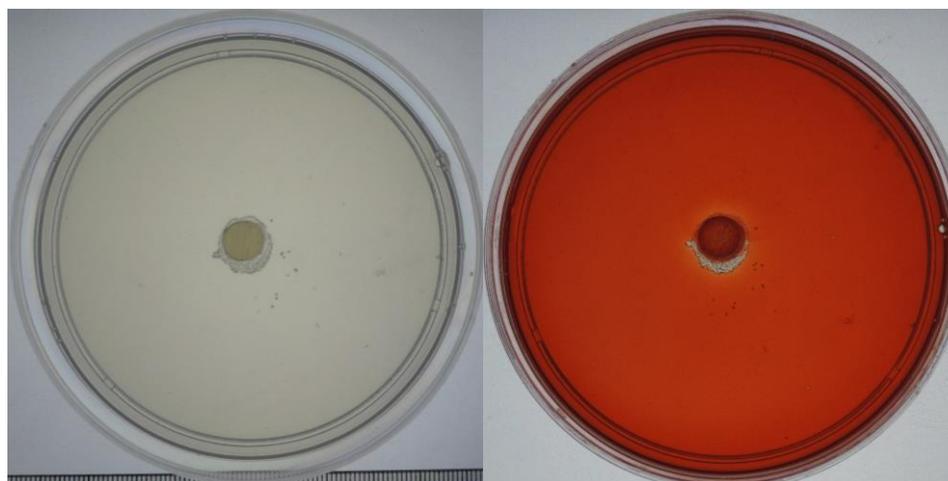


Figura 2. Prueba de hidrólisis del aislado CMC4 (izquierda), el revelado con rojo congo (derecha) muestra un halo anaranjado

En la tabla 2 se muestra el diámetro de halo promedio de las tres repeticiones, su error estándar y el grupo de homogeneidad en el que se encuentran cada uno de los aislados. El aislado con un mayor diámetro de halo es el identificado con el código CMC2, el aislado CMC5 pertenece al mismo grupo de homogeneidad, aunque el error estándar es más grande debido a la variación en los resultados de las tres repeticiones. Se esperan mejores resultados de estos dos aislados en posteriores estudios.

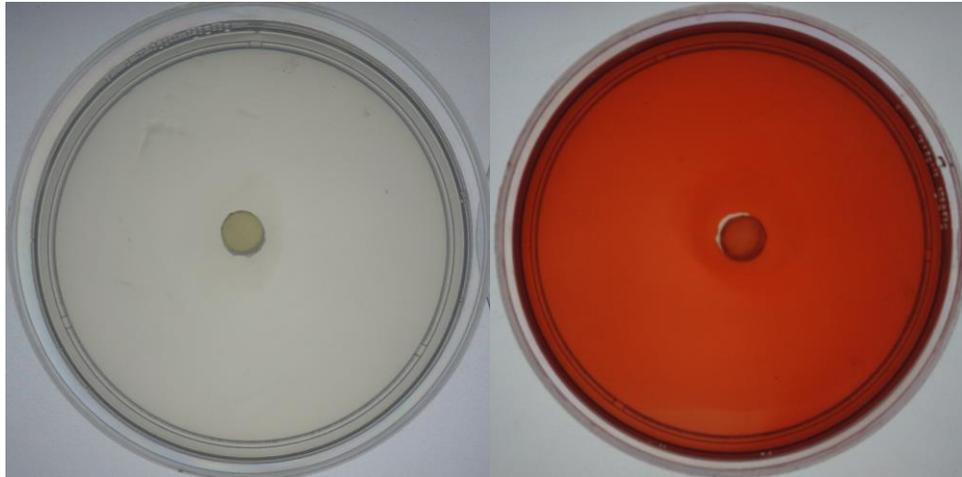


Figura 3. Prueba de hidrólisis del aislado CMC1 (izquierda), el revelado con rojo congo (derecha) no muestra halo

Tabla 2. Resultados de la prueba de hidrólisis de carboximetilcelulosa

Aislado	Diámetro de halo promedio (mm)
CMC2	18.9 ± 0.66 A
CMC5	17.05 ± 1.31 AB
CMC3	14.65 ± 0.6 B
CMC4	13.88 ± 0.5 B
CMC1	0 ± 0 C

Para el análisis de los resultados expuestos en la tabla 2 se realizó la prueba ANOVA max-t + HC3 para datos heteroscedásticos y residuos con distribución normal.

CONCLUSIONES

De los cinco aislados con que se trabajó destacaron CMC2 y CMC5 por mostrar un halo de hidrólisis significativamente mayor que los otros tres aislados. Aunque se requieren de estudios más específicos para definir la característica de los aislados o de las enzimas por las que hayan tenido un buen desempeño en esta prueba, se espera que tengan un buen desempeño en pruebas posteriores y finalmente para su aplicación en la industria. El aislado CMC1 no mostró halo de hidrólisis, se estima que su capacidad celulolítica es causada por la presencia de celulosomas en su membrana, aunque también podría ser consecuencia de un corto tiempo de incubación, por lo que sugerimos que para la realización de esta prueba en trabajos subsiguientes los aislados sean incubados por al menos 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

ETHEL PAOLA QUE BAÑOS, EDGAR ÁLVARO ARCOS (2017). Memoria profesional, Selección de aislados microbianos lignocelulolíticos obtenidos de Cuatro Ciénagas, Coahuila. Universidad Tecnológica del Usumacinta.

VALERIA SOUZA, LAURA ESPINOSA-ASUAR, ANA E. ESCALANTE, LUIS E. EGUIARTE, JACK FARMER, LARRY FORNEY, LOURDES LLOREF, JUAN M. RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, XAVIER SOBERO,

RODOLFO DIRZO Y JAMES J. ELSER (2006). "An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert" en Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Núm. 17, Vol. 103, 25 de Abril de 2006, [pp. 6565-6570]

HECTOR FERNANDO AROCHA GARZA, RICARDO CANALES DEL CASTILLO, LUIS E. EGUIARTE, VALERIA SOUZA, SUSANA DE LA TORRE ZAVALA (2017) "High diversity and suggested endemicity of culturable Actinobacteria in an extremely oligotrophic desert oasis" en PeerJ. Consultada en <https://peerj.com/articles/3247/> (fecha de consulta 17 -08-2018).

PIETER T. VISSCHER, JOHN F. STOLZB. (2005). "Microbial mats as bioreactors: populations, processes, and products" en Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. Núms. 1-2, Vol. 219, 11 de abril de 2005, [pp. 87-100]

R. M. TEATHER Y P. J. WOOD. (1982). "Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen" en Applied and Environmental Microbiology, Núm. 4, Vol. 43, Abril de 1982, [pp. 777-780]

ESTHER HERBERICH, JOHANNES SIKORSKI, TORSTEN HOTHORN. (2010) "A Robust Procedure for Comparing Multiple Means under Heteroscedasticity in Unbalanced Designs" en PLoS ONE. Núm 3, Vol. 5, 29 de Marzo de 2010. [pp. 1-8]

LIOR ARTZI, EDWARD A. BAYER, SARAH MORAÏS. (2016) "Cellulosomes: bacterial nanomachines for dismantling plant polysaccharides" en Nature Reviews Microbiology. Volumen 15, 12 de diciembre del 2016 [pp. 83-95]

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Leonardo Sepúlveda que me apoyó en los quehaceres burocráticos necesarios para poder participar en este verano de investigación.

A Marisol Verdín, una excelente compañera de trabajo que logró animarme en cada prueba fallida.

Especialmente a Rogelio y Samara. Por todo. Porque nada me faltó.

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS MICROBIANOS LIGNOCELULOLÍTICOS PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS ÁRIDOS DEL NORTE DE MÉXICO

Fernando Jasso Juárez¹ y Argel Gastélum Arellánez², José Luis Hernández Flores³

RESUMEN

En el presente proyecto se evaluó el halo de hidrólisis de carboximetilcelulosa en medio sólido producido por cinco aislados microbianos recuperados de suelo o sedimento del valle de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Dichos aislados habían mostrado capacidad celulolítica en un estudio precedente. El halo de hidrólisis a estudiar es consecuencia de la liberación de celulasas al medio extracelular por parte de los microorganismos, y es revelado gracias a su interacción con el compuesto rojo congo. El interés de este trabajo recae en el potencial del uso de estas enzimas en la creciente industria de biocombustibles. Aquellos aislados que mostraron un halo de hidrólisis mayor fueron seleccionados para posteriores estudios.

ABSTRACT

On this project, we evaluate the carboxymethylcellulose hydrolysis halo of five microbial isolates recovered from soil or sediment from the Cuatro Cienegas Basin in Coahuila. Those isolates had shown cellulolytic capacity in a previous study. The hydrolysis halo to be studied is a consequence of the cellulases realeasing into the the extracellular medium by the microorganisms, and it is observable thanks to the interaction with Congo red. The isolates that showed a bigger hydrolysis halo were selected for further studies.

Palabras Clave: Cuatro Ciénegas, celulosa, celulolítico, carboximetilcelulosa, celulasas

INTRODUCCIÓN

El valle de Cuatro Ciénegas es un oasis en el desierto de Chihuahua dentro del estado de Coahuila en el norte de México. Se ha reportado que las cuencas de esta región contienen una concentración muy baja de fósforo, condición que ejerce una presión selectiva a las comunidades biológicas que habitan en la zona (Souza *et al.*, 2006). En algunos estudios se ha observado que el valle de Cuatro Ciénegas tiene una gran abundancia y diversidad de bacterias (Arocha Garza *et al.*, 2017). Los grupos microbianos clave relacionados con el desarrollo de microbiolitos en esta zona son cianobacterias, bacterias heterotróficas aeróbicas, bacterias reductoras de sulfato, bacterias oxidantes de sulfuro y bacterias fermentativas (Visscher and Stolz, 2005).

La capacidad celulolítica de microorganismos cobra especial atención en la investigación nacional enfocada a la producción de etanol a partir de residuos agroindustriales, material con un contenido abundante en celulosa y hemicelulosa. Dada la presión selectiva de la microbiota endémica del valle de Cuatro Ciénegas, se estima que algunas de estas bacterias presentan una actividad de degradación de celulosa de relevancia para su uso extensivo en la naciente industria del biocombustible.

En trabajos precedentes (Que y Álvaro, 2017) se estudiaron los halos de hidrólisis producidos por algunos aislados bacterianos en medio sólido definido a base de carboximetilcelulosa o xilano como única fuente de carbono. Algunas de estas cepas presentaron halos de hidrólisis que ocuparon por completo la superficie del medio. En el presente

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. Venustiano Carranza esquina con Ing. José Cárdenas Valdés s/n, Colonia República Oriente C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, jasso.f@uadec.edu.mx

² Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, Omega no. 201 Col. Industrial Delta C.P. 37545, León, Guanajuato, agastelum@ciatec.mx

³ Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, Departamento de ingeniería genética, Km. 9.6 Libramiento Norte Carretera Irapuato-León, C.P. 36824, Irapuato, Guanajuato, jose.hernandezf@cinvestav.mx

trabajo se realizan pruebas de hidrólisis de cinco cepas identificadas como celulolíticas en dicho estudio, por mostrar crecimiento en dicho medio, mas no habían sido evaluadas anteriormente en cultivo en placa Petri mediante la técnica de halos de hidrólisis.

METODOLOGÍA

Los aislados con los que se trabajó fueron resembrados en el medio definido descrito en la tabla 1 en placa Petri de 6 cm de diámetro con 10 mL de medio por caja. Se incubaron por 14 días a 28 °C en condiciones aerobias. La técnica de resiembra utilizada en este caso fue por estriado, procurando una inoculación uniforme en toda la superficie del medio.

Tabla 1. Medio de cultivo salino con carboximetilcelulosa como única fuente de carbono

Reactivo	Concentración (g/L)
Carboximetilcelulosa (CMC) SIGMA C5658	5.00
Agar bacteriológico DIBICO 1298	15.0
Sales marinas Kent Marine (Reef Salt Mix) 751906000433	25.0
Fosfato de potasio monobásico (KH ₂ PO ₄) CTR Scientific 02752	2.00
Sulfato de amonio (NH ₄) ₂ SO ₄ CTR Scientific 04460	0.35
Urea CO(NH ₂) ₂ Jamelk U6925-250	0.0748
Ajustar a pH 7.0 y esterilizar durante 15 minutos a 121 °C y 15 psi	

Para las pruebas de halo de hidrólisis se realizaron 3 repeticiones por cada aislado de la siguiente manera:

Luego del periodo de incubación posterior a la resiembra se procedió a inocular por bocado en placa Petri de 9 cm de diámetro con 35 mL del medio descrito en la tabla 1, se incubaron por 4 días a 28 °C en condiciones aerobias y se realizó el revelado de los halos de hidrólisis vertiendo 7 mL de rojo Congo 1 g/L y reposando por una hora, luego de lo cual se realizaron dos lavados de 7 mL de NaCl 1 M durante 5 minutos por cada placa para retirar el exceso de colorante. El rojo Congo es afín a los enlaces β -1,4 de la carboximetilcelulosa que son los sitios de hidrólisis de las celulasas, por lo que el lavado con rojo Congo deja teñido el medio de color rojo con menor intensidad en el sitio de actividad de celulasas secretadas por los aislados (Teather & Wood, 1982).

Se midieron los diámetros de halos de hidrólisis utilizando el software ImageJ 1.52e y el análisis estadístico se realizó en el software R 3.5.1. La normalidad y homogeneidad de las varianzas fueron evaluadas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey fueron aplicados cuando las muestras se distribuyeron de manera normal y homogénea (paquete "stats"). Para las muestras que no se distribuyeron normalmente fue aplicado el método ANOVA max-t, un procedimiento estadístico para evaluar múltiples medias, en las que no es necesaria ninguna suposición con respecto a la distribución, el tamaño de la muestra o la homogeneidad de la varianza. En el caso de muestras heterogéneas, se compararon las medias mediante el método ANOVA max-t, el cual considera la heterogeneidad utilizando la estimación de covarianza coherente heterogénea HC3 (max-t + HC3). Tanto los métodos max-t como max-t + HC3 fueron aplicados con la opción de prueba de Tukey para todas las comparaciones de medias (paquetes "multcomp" y "sandwich"), (Herberich et al., 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislados no mostraron crecimiento de biomasa aunque sí presentaron halos de hidrólisis de pequeño diámetro. Adjudicamos esto al corto tiempo de incubación que se les dio a las pruebas, siendo mínimas las diferencias entre cuatro de los cinco aislados (Figuras 1 y 2), solo el aislado CMC1 (Figura 3) no presentó un halo de hidrólisis. Se estima que este último aislado tiene capacidad celulolítica ocasionada no por la liberación de celulasas al medio extracelular, sino por la presencia de complejos membrana-enzima conocidos como celulosomas (Artzi et al., 2016).

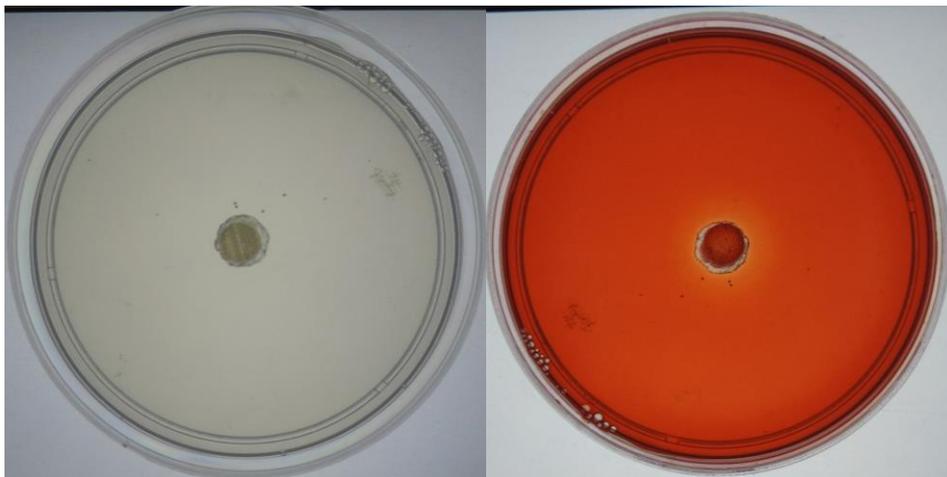


Figura 1. Prueba de hidrólisis del aislado CMC5 (izquierda), el revelado con rojo congo (derecha) muestra un halo anaranjado

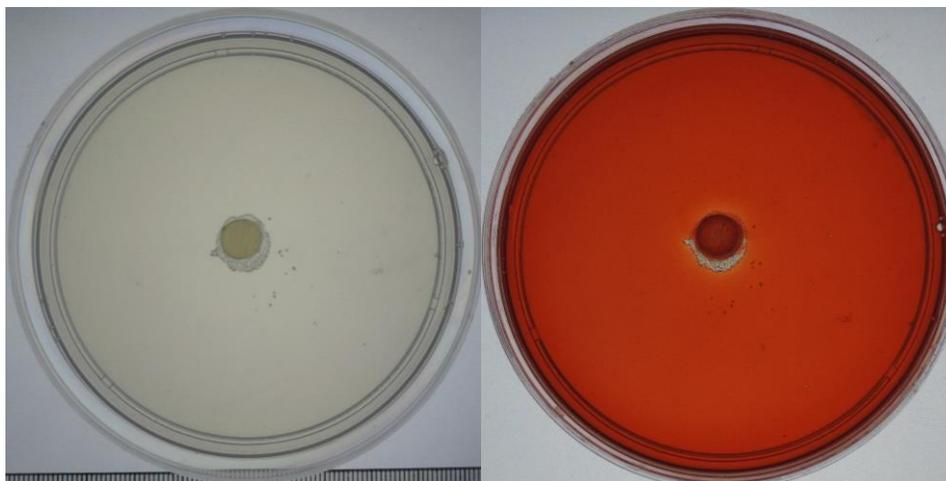


Figura 2. Prueba de hidrólisis del aislado CMC4 (izquierda), el revelado con rojo congo (derecha) muestra un halo anaranjado

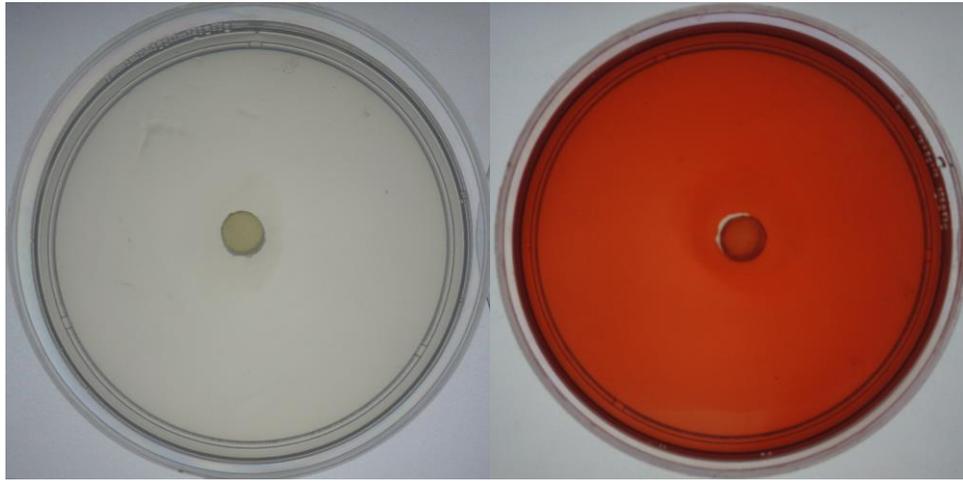


Figura 3. Prueba de hidrólisis del aislado CMC1 (izquierda), el revelado con rojo congo (derecha) no muestra halo

En la tabla 2 se muestra el diámetro de halo promedio de las tres repeticiones, su error estándar y el grupo de homogeneidad en el que se encuentran cada uno de los aislados. El aislado con un mayor diámetro de halo es el identificado con el código CMC2, el aislado CMC5 pertenece al mismo grupo de homogeneidad, aunque el error estándar es más grande debido a la variación en los resultados de las tres repeticiones. Se esperan mejores resultados de estos dos aislados en posteriores estudios.

Tabla 2. Resultados de la prueba de hidrólisis de carboximetilcelulosa

Aislado	Diámetro de halo promedio (mm)
CMC2	18.9 ± 0.66 A
CMC5	17.05 ± 1.31 AB
CMC3	14.65 ± 0.6 B
CMC4	13.88 ± 0.5 B
CMC1	0 ± 0 C

Para el análisis de los resultados expuestos en la tabla 2 se realizó la prueba ANOVA max-t + HC3 para datos heteroscedásticos y residuos con distribución normal.

CONCLUSIONES

De los cinco aislados con que se trabajó destacaron CMC2 y CMC5 por mostrar un halo de hidrólisis significativamente mayor que los otros tres aislados. Aunque se requieren de estudios más específicos para definir la característica de los aislados o de las enzimas por las que hayan tenido un buen desempeño en esta prueba, se espera que tengan un buen desempeño en pruebas posteriores y finalmente para su aplicación en la industria. El aislado CMC1 no mostró halo de hidrólisis, se estima que su capacidad celulolítica es causada por la presencia de celulosomas en su membrana, aunque también podría ser consecuencia de un corto tiempo de incubación, por lo que sugerimos que para la realización de esta prueba en trabajos subsiguientes los aislados sean incubados por al menos 8 días.

BIBLIOGRAFÍA

ETHEL PAOLA QUE BAÑOS, EDGAR ÁLVARO ARCOS (2017). Memoria profesional, Selección de aislados microbianos lignocelulolíticos obtenidos de Cuatro Ciénagas, Coahuila. Universidad Tecnológica del Usumacinta.

VALERIA SOUZA, LAURA ESPINOSA-ASUAR, ANA E. ESCALANTE, LUIS E. EGUIARTE, JACK FARMER, LARRY FORNEY, LOURDES LLOREF, JUAN M. RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, XAVIER SOBERO, RODOLFO DIRZO Y JAMES J. ELSER (2006). “An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert” en Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Núm. 17, Vol. 103, 25 de Abril de 2006, [pp. 6565-6570]

HECTOR FERNANDO AROCHA GARZA, RICARDO CANALES DEL CASTILLO, LUIS E. EGUIARTE, VALERIA SOUZA, SUSANA DE LA TORRE ZAVALA (2017) “High diversity and suggested endemism of culturable Actinobacteria in an extremely oligotrophic desert oasis” en PeerJ. Consultada en <https://peerj.com/articles/3247/> (fecha de consulta 17 -08-2018).

PIETER T. VISSCHER, JOHN F. STOLZB. (2005). “Microbial mats as bioreactors: populations, processes, and products” en Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. Núms. 1-2, Vol. 219, 11 de abril de 2005, [pp. 87-100]

R. M. TEATHER Y P. J. WOOD. (1982). “Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen” en Applied and Environmental Microbiology, Núm. 4, Vol. 43, Abril de 1982, [pp. 777-780]

ESTHER HERBERICH, JOHANNES SIKORSKI, TORSTEN HOTHORN. (2010) “A Robust Procedure for Comparing Multiple Means under Heteroscedasticity in Unbalanced Designs” en PLoS ONE. Núm 3, Vol. 5, 29 de Marzo de 2010. [pp. 1-8]

LOR ARTZI, EDWARD A. BAYER, SARAH MORAIS. (2016) “Cellulosomes: bacterial nanomachines for dismantling plant polysaccharides” en Nature Reviews Microbiology. Volumen 15, 12 de diciembre del 2016 [pp. 83-95]

AGRADECIMIENTOS (Opcional)

Al doctor Leonardo Sepúlveda que me apoyó en los quehaceres burocráticos necesarios para poder participar en este verano de investigación.

A Marisol Verdín, una excelente compañera de trabajo que logró animarme en cada prueba fallida.

Especialmente a Rogelio y Samara. Por todo. Porque nada me faltó.

EVALUACIÓN DE EFECTOS FITOTOXICOS DE AS, CR Y CD EN MEZQUITE: ESTUDIO PREELIMINAR PARA EL FITOMANEJO DE RESIDUOS INDUSTRIALES 20 VCRC.

Francisco Javier Cruz Silva¹ y Gustavo Cruz Jimenez²

RESUMEN

En el presente documento se muestran los resultados del estudio que se llevó a cabo para evaluar la toxicidad en *Prosopis spp.* comúnmente llamada mezquite, en medios con arsénico, cadmio y cromo. Se prepararon soluciones con estos metales a diferentes concentraciones: 0 ppm, 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm y 2 ppm y 5 ppm. Se realizaron tres repeticiones. Posteriormente se evaluó su crecimiento mediante mediciones de las radículas e hipocótilos después de 15 días de la siembra. En los tratamientos con los metales pesados de este trabajo se observó que ninguno de estos metales evitó la germinación de las semillas y crecimiento de las plántulas.

ABSTRACT

This document shows the results of the study that was conducted to evaluate the toxicity in *Prosopis spp.* commonly called mesquite in hydroponic media with arsenic, cadmium and chromium. Solutions with these metals were prepared at different concentrations: 0 ppm, 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm and 2 ppm and 5 ppm. Three repetitions were made. Subsequently, its growth was evaluated by the measurement of the radicles and hypocotyls after 15 days of sowing. In the treatments with the heavy metals of this work it was observed that none of these metals prevented germination of the seeds and seedlings growth.

Palabras clave: Fitomanejo, metales pesados, mezquite

INTRODUCCIÓN

La contaminación del ambiente se produce por la incorporación de cualquier tipo de energía, organismo o sustancia, que afecta las características de los ecosistemas, modificando negativamente sus propiedades y su capacidad para asimilarlas o degradarlas (Delgadillo A. *et al.* 2011). La contaminación por metales pesados es un problema que ha incrementado debido a las actividades antrópicas. Entre las principales fuentes de contaminación se encuentran la minería, la metalúrgica, la agricultura, los vehículos automotores y el aporte natural en ciertos acuíferos (Covarrubias y Peña, 2017). Los metales pesados son aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm³ cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20 (Vardanyan y Ingole, 2006).

Los metales pesados pueden incorporarse a un sistema de abastecimiento de agua por medio de residuos industriales que son vertidos sin previos tratamientos, los que posteriormente se depositan en lagos, ríos y distintos sistemas acuíferos (García *et al.*, 2005). Hay evidencia que el plomo (Pb) y el cadmio (Cd) han sido causa de efectos en la salud humana, en los animales y el disturbio de ecosistemas naturales (Valdez y Cepeda *et al.*, 2006). Dependiendo del tipo de metal o metaloide, pueden producir desde daños en órganos vitales hasta desarrollos cancerígenos (Combariza, 2009; Nava-Ruiz & Méndez Armenta 2011)

Es por esto que día a día se han buscado nuevas alternativas para remediar los sitios contaminados por metales pesados. Una de estas alternativas es la fitorremediación la cual se define como un conjunto de tecnologías que reducen *in situ* o *ex situ* la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a ellas (Delgadillo A. *et al.* 2010).

Objetivo

El objetivo del presente trabajo se enfoca en determinar la tolerancia y los efectos fitotóxicos de los metales pesados: arsénico (As), cadmio (Cd) y Cromo (Cr) en *Prosopis spp.* (mezquite) para poder evaluar su factibilidad en el fitomanejo de sitios contaminados.

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ingeniería Bioquímica; Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5, El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, javiercruzsil@hotmail.com

²Universidad de Guanajuato, Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Noria alta S/N, Noria Alta, C.P. 36050, Guanajuato, Guanajuato, cruzg@ugto.mx.

MÉTODOS Y MATERIALES

Recolección de semillas

Las semillas de *Prosopis spp* se recolectaron de forma manual en la zona del copal en la ciudad de Irapuato, Guanajuato. El sitio de recolección está localizado a 20°44'12. Latitud Norte 101°20'13.8" Latitud oeste.

Tratamiento de semillas

Se realizó una esterilización mediante un lavado con una solución de agua e hipoclorito de sodio (al 8%), se dejó en agitación por 30 minutos, para después lavarlas con agua desionizada por triplicado (Sánchez, 2009).

Tratamiento pre-germinativo

Posteriormente se llevó a cabo un tratamiento pre-germinativo el cual consistió en remojar las semillas en agua a 80°C por 4 minutos, después se cambió el agua por agua a temperatura ambiente y se dejó remojar por 24 horas (Germinación de mezquite, 2018).

Preparación de soluciones

Para la preparación de la solución Hoagland, se tomaron 10 mL de las siguientes soluciones: KNO₃ (0.255 µM), Ca(NO₃)₂ (0.357 µM), CuSO₄ (0.0044 µM), MoO₃ (0.0000695 µM), KH₂PO₄ (0.968 µM), FeNO₃ (10 µM), CaCl₂ (2.14 µM), Zn(NO₃)₂ (0.0037 µM), MnCl₂ (0.004 µM), H₃BO₃ (23.1), MgCl₂ (0.91 µM) y se añadieron 500 mL de agua desionizada. Después se ajustó el pH a 5.6, añadiendo gotas de HCl o NaOH a 1 N. Posteriormente se aforó a 1L. Se realizaron por triplicado seis tratamientos para As, Cr y Cd: 0 ppm, 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm, 2 ppm y 5 ppm.

La solución madre de los metales se preparó a partir arsenato de sodio 1000 ppm, dicromato de potasio a 1000 ppm y de nitrato de cadmio a 1000 ppm.

Sembrado

Las semillas fueron colocadas en cinco toallas, conteniendo 10 semillas/toalla, y se colocaron en frascos de 500 ml con solución de cada tratamiento en triplicado (R₁, R₂ y R₃).

Evaluación

Después de 15 días se realizaron mediciones de las raíces e hipocótilos de cada uno de los tratamientos mediante un vernier marca Steren®.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante el uso del paquete estadístico MINITAB versión 2018, Los datos se analizaron por el método de ANOVA (análisis de varianza de un solo factor) para comprobar la igualdad entre los diferentes tratamientos y posteriormente se realizó la prueba de comparación de Tukey (p<0.05) para evaluar las diferencias entre los tratamientos.

RESULTADOS

Después de los 15 días que se les dio a las semillas para que germinaran y crecieran, se observó que no todas se desarrollaron. Sin embargo, hubo muy poca presencia de hojas por lo cual no se realizó un análisis estadístico de éstas.

El mezquite creció en todos los tratamientos realizados en este trabajo. Los resultados del crecimiento a diferentes tratamientos, de las plántulas de *Prosopis spp*. se observan en las figuras 1, 2 y 3. En la figura 1 se observa que el crecimiento de la plántula es mayor y se vio menos afectada en la presencia de arsénico. Además, se muestra que la concentración en la cual se presentó un mayor crecimiento de las radículas e hipocótilos fueron las de 1ppm y 0.1 ppm respectivamente. Mientras que el menor crecimiento se observa en las concentraciones de 0.01ppm para las radículas y 1 ppm para los hipocótilos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (p>0.05).

Por otro lado, el tratamiento con cadmio (figura 2) se observa, que la concentración de 5 ppm y la de 0 ppm fue donde hubo un mayor crecimiento de las radículas e hipocótilos. No obstante, las concentraciones donde hubo una menor elongación de las radículas e hipocótilos fueron las de 0.1 ppm y 2 ppm respectivamente.

[Escriba aquí]

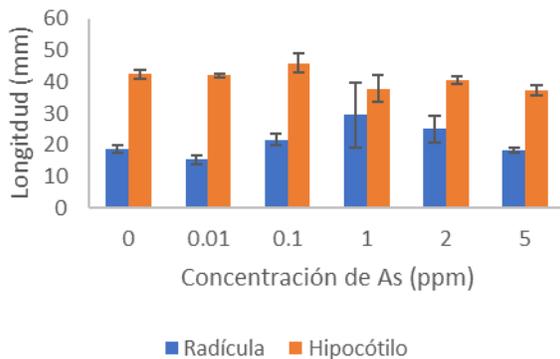


Figura 1 Efecto del tratamiento con arsénico en el crecimiento de radícula e hipocótilo de *Prosopis spp.* en presencia de arsénico. Las barras de error representan el error estándar de la media.

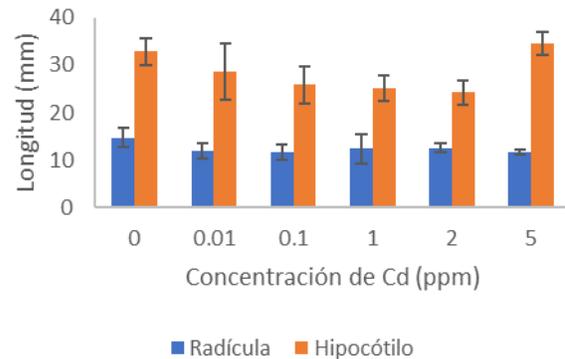


Figura 2 Efecto del tratamiento con cadmio (Cd) en el crecimiento de radícula e hipocótilo de *Prosopis spp.* en presencia de cadmio. Las barras de error representan el error estándar de la media.

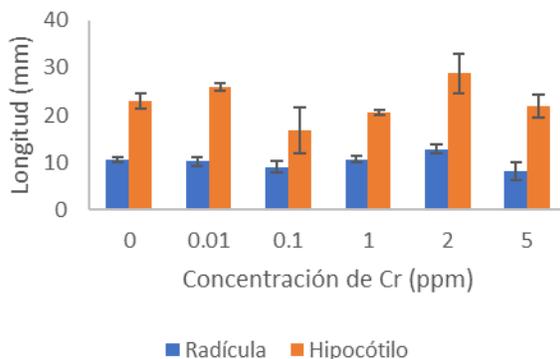


Figura 3 Efecto del tratamiento con Cromo (Cr) en el crecimiento de radícula e hipocótilo de *Prosopis spp.* en presencia de cromo. Las barras de error representan el error estándar de la media.

En la figura 3 se muestra el tratamiento para cromo donde el más favorable para las radículas e hipocótilos fue la de 2 ppm y en donde hubo menor crecimiento fue la de 5 ppm y 0.1 ppm.

De acuerdo a los análisis estadísticos realizados en el programa MINITAB los resultados mostrados en las figuras 1, 2 y 3 no muestran diferencias significativas ($p < 0.05$), lo cual indica que no hay un alto índice de toxicidad.

Al realizarse una comparación con el trabajo de Alpizar y Cruz (2012) quienes experimentaron con las semillas de huizache yóndiro (*Acacia farnesiana*) en presencia de cadmio, se muestra que hay un efecto tóxico significativo incluso en la concentración más baja de este metal la cual era de 0.01ppm. Esto hace ver que *Prosopis spp.* tiene mayor tolerancia al cadmio que *Acacia farnesiana*.

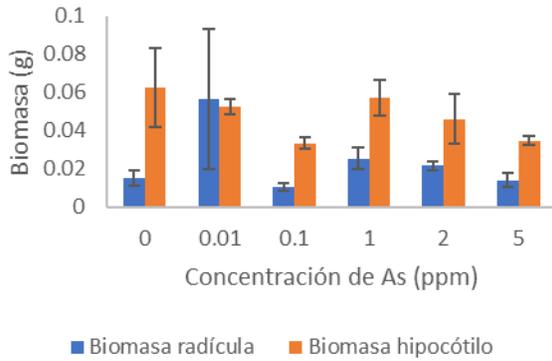


Figura 4 Efecto del As en la producción de la biomasa (radículas e hipocótilos) de *Prosopis spp.* Las barras de error representan el error estándar.

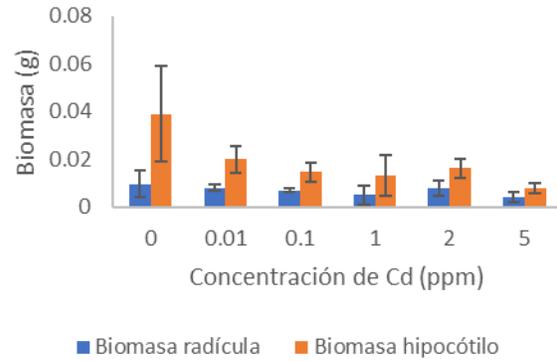


Figura 5 Efecto del Cd en la producción de la biomasa (radículas e hipocótilos) de *Prosopis spp.* Las barras de error representan el error estándar.

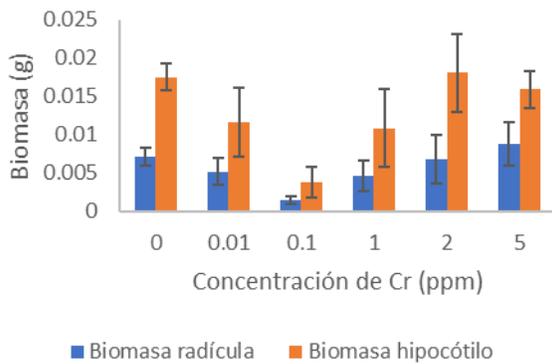


Figura 6 Efecto del Cr en la producción de la biomasa (radículas e hipocótilos) de *Prosopis spp.* Las barras de error representan el error estándar.

Como se puede observar en las figuras 4, 5 y 6 se muestra la biomasa obtenida de las plántulas después de los tratamientos con los diferentes metales. En la figura 4 se ve que en presencia de as hubo una mayor producción de biomasa. Observando una disminución en el tratamiento con Cd (Figura 5) y una mayor disminución de la biomasa obtenida en el tratamiento con Cr (Figura 6). Sin embargo, al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, por lo anterior, no se puede afirmar un efecto en la biomasa ($p > 0.05$).

CONCLUSIONES

El arsénico fue el metal pesado en el cual se mostró un mayor crecimiento de las plántulas de *Prosopis spp.* Sin embargo, en los otros tratamientos no se mostraron diferencias significativas a la hora de realizarse los análisis estadísticos. Por lo que se puede concluir que a las concentraciones menores a 5 ppm y con los metales trabajados en este proyecto el mezquite resulto ser tolerante. En los tratamientos no se presentaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato por el apoyo otorgado para realizar la estancia de este Verano Regional, y al Laboratorio de Evaluación Toxicológica y Riesgo Ambientales (LETRA),

Al Dr. Gustavo Cruz Jiménez quien dirigió este proyecto y por todo su apoyo y paciencia brindada para poder realizar el proyecto.

A la Q.F.B. Claudia Karina Sánchez Sánchez por su apoyo para poder desarrollar y culminar este proyecto. Además, por la paciencia y confianza mostrada en este verano.

REFERENCIAS

Alpizar Negrete A. G. y Cruz Jiménez G. (20012) Evaluación de la toxicidad de cadmio en las semillas de hizache yóndiro (*Acacia farnesiana*). Memoria de veranos de la investigación científica UG. pp. 338-343

Combariza, B.D.A. (2009). Contaminación por Metales Pesados en el embalse del Muña y su relación con los niveles en sangre de Plomo, Mercurio y Cadmio y alteración de salud en los habitantes del municipio de Sibaté (Cundinamarca) pp.1– 115. Trabajo de Maestría, Universidad Nacional de Colombia.

Covarrubias S. y Peña J. (2017). “Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación” en Rev. Int. Contam. Ambie., Núm. 33, pp. 7-21.

Delgadillo López A., González-Ramírez C. A., Prieto García F., Villagómez Ibarra J. R., & Acevedo Sandoval O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. Tropical and subtropical agroecosystems, 14: pp. 597-612.

García I. y Dorronsoro C. (2005). Contaminación por Metales Pesados. En Tecnología de Suelos. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola. <http://edafologia.ugr.es>

Germinación de Mezquite (2018). Blogspot consultada de <http://germinacionmezquite.blogspot.com/> (fecha de consulta 25 de junio del 2018)

Nava Ruíz C. y Méndez Armenta M., (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). Archivos de Neurociencias, 16(3): pp.140–147.

Rodríguez Ortiz J. C., Valdez Cepeda R. D., Lara Mireles J. L., Rodríguez Fuentes H., Vázquez Alvarado R. E., Magallanes Quintanar R., García-Hernández J.L. (2006). Soil nitrogen fertilization effects on phytoextraction of cadmium and lead by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Bioremediation Journal. 10(3): pp. 105-114.

Sánchez Sánchez C. K. (2009). Efecto del selenio en la toxicidad del Cd y As en frijol (*Phaseolus vulgaris*L.). Tesis de Licenciatura en Q.F.B., Universidad de Guanajuato, México, 2009

Vardanyan, L. G., Ingole, B. S. (2006). Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. Environment International. 32: pp. 208-218.

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS

Francisco Galván Pantoja¹ y Adriana Carolina Flores Gallegos²

RESUMEN

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) tienen gran potencial biotecnológico, ya que participan en múltiples procesos fermentativos de alimentos gracias a la producción de metabolitos que cumplen con diversas funciones como: producción de ácidos orgánicos, bacteriocinas, exopolisacáridos (EPS), diacetilo, modificaciones proteicas entre otras, todas ellas confieren características organolépticas a los alimentos e inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos lo que ayuda a la bioconservación de los mismos (Rondón *et al.*, 2008; Parra Ricardo, 2010). En el presente trabajo se realizaron diversas pruebas con el objetivo de observar el potencial biotecnológico de bacterias ácido-lácticas aisladas de fuentes diferentes: leche de cabra y brócoli. Se trabajó con un total de 43 cepas de leche de cabra y 22 cepas de brócoli. Las BAL de leche de cabra se aislaron a partir de leches de dos regiones geográficas distintas del estado de Coahuila y de leches de cabra que fueron alimentadas de manera diferente con el fin de observar como la variabilidad genética otorgada por la alimentación, la región geográfica o la naturaleza de donde provienen, repercute sobre este potencial.

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) have great biotechnological potential, since they participate in multiple food fermentation processes thanks to the production of metabolites that fulfill many functions such as: production of organic acids, bacteriocins, exopolysaccharides, diacetyl, protein modifications among others, all of them confer organoleptic characteristics to food and inhibit the growth of pathogenic microorganisms, which helps in the bioconservation of them. In the present work, several tests were carried out in order to evaluate the biotechnological potential of lactic acid bacteria isolated from different sources: goat's milk and broccoli. A total of 43 strains from goat milk and 22 from broccoli were used. BAL of goat's milk were isolated from milks from two different geographical regions of the state of Coahuila and from goat's milk that were fed differently in order to observe how the genetic variability granted by the food, the geographical region or the nature of where they come from, has an impact on this potential.

Palabras clave: bacterias ácido-lácticas, diacetilo, exopolisacáridos, inhibición de patógenos

INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son microorganismos con un gran potencial biotecnológico, por lo que son ampliamente utilizados a nivel industrial, especialmente en fermentaciones de alimentos para la fabricación o modificación de diversos productos. Además, debido a su actividad metabólica de proteínas, lípidos y carbohidratos producen sustancias que contribuyen a la formación de características organolépticas, como el sabor, olor, aroma, textura, también aportan propiedades terapéuticas, valor nutrimental y ayudan a la bioconservación de los alimentos, ya que tienen actividad antimicrobiana e inhiben el crecimiento de diversos microorganismos patógenos.

Dentro de las sustancias que producen las BAL se encuentran: los exopolisacáridos que modifican características como la textura y viscosidad de los alimentos fermentados, el diacetilo que es producto de la fermentación de citratos y confiere a los alimentos sabor y aroma agradable, al igual que la actividad proteolítica y lipolítica. Además, gracias a todos los beneficios aportados por las BAL facilitan su uso como probióticos, lo que contribuye a mejorar la salud de los consumidores de productos que los contengan.

MÉTODOS Y MATERIALES

Actividad proteolítica. Primeramente, las bacterias ácido-lácticas conservadas tanto de leche de cabra como de brócoli se reactivaron en tubos con medio MRS, con ayuda de una micropipeta se añadieron 20 ml de cada cepa en cada tubo y posteriormente se incubaron a 37 °C durante 24 horas para favorecer su crecimiento. Una vez crecidas las bacterias, estas se inocularon en cajas Petri que contenían agar leche (peptona de caseína + agar bacteriológico + leche descremada al 1.5%). Las cajas Petri se dividieron en segmentos y se colocó una microgota de 10 µL de cada

¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Sede Mutualismo; Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060 Celaya, Guanajuato, México, f.galvanpantoja@ugto.mx

²Universidad Autónoma de Saltillo Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas; Boulevard. Venustiano Carranza s/n, Col. Republica Oriente, C.P. 25280 Saltillo, Coahuila, México, carolinaflores@uadec.edu.mx

cepa en cada uno de ellos, una vez inoculadas, nuevamente se incubaron a 37 °C por 24 horas, y después de este tiempo se observó si tenían actividad proteolítica o no mediante la formación de un halo alrededor de la colonia.

Producción de diacetilo. De los tubos donde se reactivaron las cepas, se tomo 1 ml de cada uno de ellos y se colocaron en tubos eppendorf de 2 ml, estos se centrifugaron a 6000 rpm y 4 °C durante 6 minutos, posteriormente se decantó el sobrenadante y el botón celular luego de ser resuspendido en 1 ml de solución fisiológica, se inoculó en tubos con leche entera ultrapasteurizada y se incubaron a 37 °C por 24 horas. Después, se adiciono 1 ml de cultivo a una solución de 0.5 ml de α -naftol al 6 % y 0.5 ml de KOH al 16 %, seguido de esto se incubaron durante 10 min a 37 °C. La producción de diacetilo fue indicada por la formación de un halo rojo en los tubos y se clasifico como fuerte, medio o débil según la intensidad del color.

Producción de exopolisacáridos. Al sobrenadante decantado en la prueba de producción de diacetilo, se le adiciono etanol frio al 96 % en proporción 2:1. Los tubos se refrigeraron por 24 horas y se centrifugaron a 10000 gravedades y 4 °C por 6 minutos; luego se decantó el sobrenadante y se pusieron a baño seco (60 °C) durante 1 hora aproximadamente para evaporar los residuos del etanol. Los tubos fueron pesados en una balanza analítica, y el peso del exopolisacárido se obtuvo restando el peso de los tubos limpios al obtenido después del baño seco.

Efecto antimicrobiano. Los cultivos reactivados se inocularon en cajas petri con agar MRS y se incubaron por 24 horas a 37 °C al igual que los patógenos (*E. coli* y *Salmonella*), pero estos en tubos con medio Mueller Hinton; una vez crecidos los patógenos, se vertieron en agar Mueller Hinton y este se agrego a las cajas Petri donde se encontraban las BAL. La inhibición de los patógenos por parte de las BAL fue indicada por la formación de un halo alrededor de la colonia.

RESULTADOS

Proteólisis. Todas las BAL de la leche de cabra exhibieron actividad proteolítica; los halos proteolíticos fueron variables, lo que nos indica que algunas cepas tienen mayor actividad que otras. Los mejores resultados los presentaron las cepas de leche de Parras como puede apreciarse en la gráfica 1 (cepas desde LP2 hasta LT1). Contrario a las BAL de la leche de cabra, las del brócoli no presentaron actividad proteolítica, es decir, no son capaces de hidrolizar las caseínas lo que puede deberse a la naturaleza de las cepas. Las cepas SA1 y LS17 también son proteolíticas; sin embargo, su crecimiento irregular impidió la medición del halo.

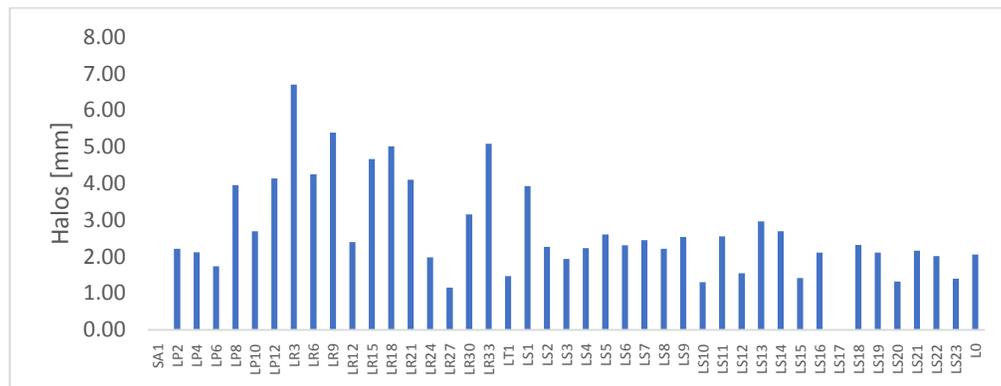


Figura 1. Actividad proteolítica de BAL de leche de cabra

Producción de diacetilo y exopolisacáridos. En las tablas 1 y 2 se muestran únicamente las cepas productoras de diacetilo, así como la clasificación otorgada según la intensidad del color rojo que presentaban (figura 2). De las 43 BAL de leche de cabra solo 22 son productoras de diacetilo, mientras que de las 22 BAL de brócoli 19 de ellas lo producen, siendo más eficientes estas debido a la mayor presencia de citratos en este alimento. Respecto a los exopolisacáridos, el 79.06 % de las cepas de leche de cabra producen esta sustancia, lo puede resultar fundamental para la elaboración de productos fermentados, por otro lado, solo el 54.54 % de las BAL de brócoli lo producen, lo que resulta normal ya que muchas bacterias aisladas de vegetales poseen genes para la producción de EPS.

¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Sede Mutualismo; Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060 Celaya, Guanajuato, México, f.galvanpantoja@ugto.mx

²Universidad Autónoma de Saltillo Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas; Boulevard. Venustiano Carranza s/n, Col. Republica Oriente, C.P. 25280 Saltillo, Coahuila, México, carolinaflores@uadec.edu.mx

Tabla 1. Producción de diacetilo por BAL de leche de cabra

Cepa	Clasificación
Parras	
LP2	Fuerte
LP12	Fuerte
LR6	Débil
LR9	Medio
LR27	Débil
LT1	Débil
San Pedro	
LS3	Débil
LS4	Fuerte
LS6	Fuerte
LS7	Medio
LS8	Medio
LS9	Débil
LS10	Débil
LS12	Medio
LS15	Débil
LS16	Débil
LS17	Medio
LS18	Débil
LS19	Fuerte
LS21	Fuerte
LS23	Medio
L0	Medio

Tabla 2. Producción de diacetilo por BAL de brócoli

Cepa	Clasificación
I0	Medio
I2	Débil
1I2	Débil
2I2	Fuerte
2I4	Medio
2I6	Fuerte
2I8	Medio
4C2	Débil
11C4	Débil
13C4	Débil
14C4	Medio
15C4	Medio
16C4	Débil
20C6	Débil
21C6	Fuerte
22C6	Medio
23C6	Fuerte
25C10	Débil



Figura 2. Clasificaciones de producción de diacetilo: a) Fuerte, b) Medio, c) Débil, d) Sin producción

Tabla 3. Producción de exopolisacáridos por BAL de leche de cabra

Cepa	Peso tubo [g]	Peso exopolisacárido [g]
SA1	1.1347	0.0165
LP2	1.1633	0.017
LP4	1.0471	0.0889
LP6	1.1624	0.0161
LP8	1.1527	0.0064
LP10	1.1509	0.0046
LR3	1.155	0.0087
LR6	1.155	0.0087

Tabla 4. Producción de exopolisacáridos por BAL de brócoli

Cepa	Peso tubo [g]	Peso exopolisacáridos [g]
I0	1.1536	0.0073
1I2	1.1471	0.0008
2I4	1.1531	0.0068
4C2	1.1494	0.0031
11C4	1.1498	0.0035
13C4	1.1299	0.0117
16C4	1.1512	0.0049

¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Sede Mutualismo; Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060 Celaya, Guanajuato, México, f.galvanpantoja@ugto.mx

²Universidad Autónoma de Saltillo Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas; Boulevard. Venustiano Carranza s/n, Col. Republica Oriente, C.P. 25280 Saltillo, Coahuila, México, carolinaflores@uadec.edu.mx

LR12	1.1626	0.0163	21C6	1.1494	0.0031
LR15	1.1609	0.0146	22C6	1.1297	0.0115
LR18	1.1638	0.0175	23C6	1.1475	0.0012
LR24	1.1319	0.0137	24C8	1.1489	0.0026
LR27	1.1546	0.0083	25C10	1.1532	0.0069
LR30	1.1544	0.0081			
LT1	1.1635	0.0172			
LS1	1.1555	0.0092			
LS2	1.1206	0.0024			
LS3	1.1542	0.0079			
LS4	1.1326	0.0144			
LS5	1.1467	0.0004			
LS7	1.1508	0.0045			
LS8	1.1567	0.0104			
LS9	1.1627	0.0164			
LS11	1.1466	0.0003			
LS14	1.0475	0.0893			
LS15	1.1368	0.0186			
LS16	1.1246	0.0064			
LS17	1.1389	0.0207			
LS18	1.1561	0.0098			
LS19	1.1278	0.0096			
LS20	1.1498	0.0035			
LS21	1.1625	0.0162			
LS23	1.1337	0.0155			
L0	1.1319	0.0137			

Efecto antimicrobiano. Todas las BAL evaluadas inhibieron el crecimiento tanto de *E. coli* como de *Salmonella*. Sin embargo los halos de inhibición fueron variables, obteniendo los mejores resultados las cepas de brócoli.

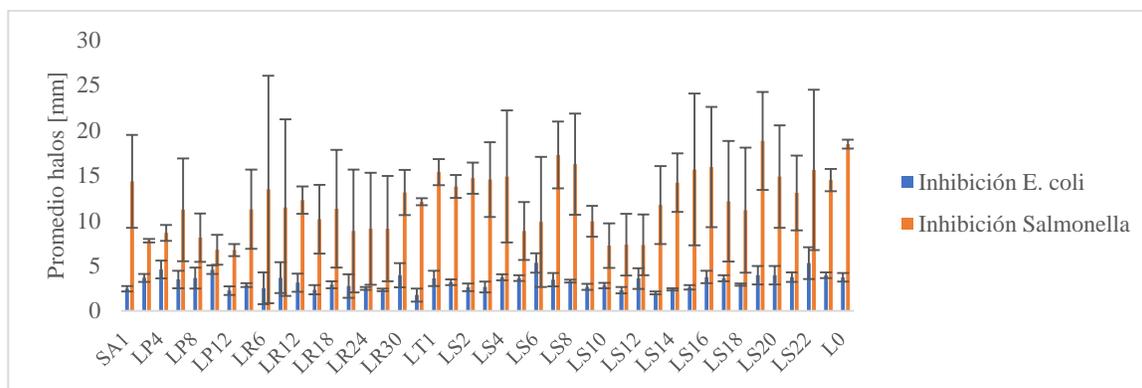


Figura 3. Gráfico de las inhibiciones producidas por BAL de leche de cabra sobre *E. coli* y *Salmonella*

¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Sede Mutualismo; Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060 Celaya, Guanajuato, México, f.galvanpantoja@ugto.mx

²Universidad Autónoma de Saltillo Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas; Boulevard. Venustiano Carranza s/n, Col. Republica Oriente, C.P. 25280 Saltillo, Coahuila, México, carolinaflores@uadec.edu.mx

En las figuras 3 y 4 se muestran los gráficos de los halos producidos por las BAL de leche de cabra y las de brócoli respectivamente. Se obtuvo un promedio debido a que la prueba se hizo por duplicado.

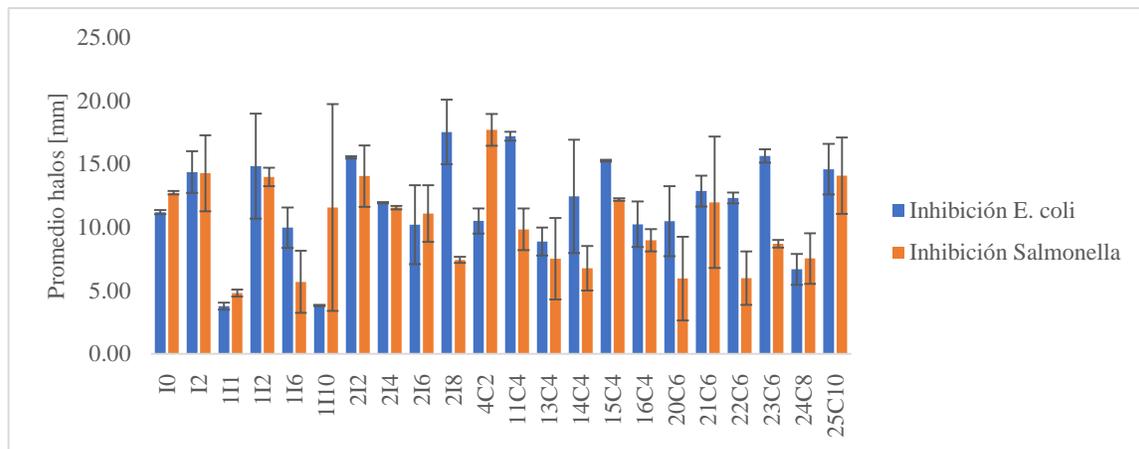


Figura 4. Gráfico de las inhibiciones producidas por BAL de brócoli sobre *E. coli* y *Salmonella*

CONCLUSIONES

Las bacterias ácido-lácticas tienen gran potencial biotecnológico y por ello han sido ampliamente utilizadas a nivel industrial, ya que además de proporcionar características particulares a los alimentos contribuyen a mejorar nuestra salud. Una vez caracterizadas las BAL empleadas en el presente trabajo, podrían ser utilizadas como cepas iniciadoras para la elaboración de diversos productos; según las características que se deseen en el producto o la utilización de este podrá elegirse la cepa adecuada basándose en los resultados obtenidos, debido a que algunas cepas resultaron mejor que otras para la producción de las sustancias evaluadas en las diferentes pruebas. Además, abre el panorama para la búsqueda de bacterias ácido-lácticas en alimentos similares que puedan tener alguna de estas actividades u otras de interés industrial

BIBLIOGRAFÍA

- Parras, R. (2010). "Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos" en Scielo, Núm. 1, Vol. 8, Enero-Junio, [pp. 94-102].
- Ramírez, C., Rosas, P., Velázquez, M., Ulloa, J. y Arce, F. (2011). "Bacterias lácticas: Importancia en los alimentos y sus efectos en la salud" en Fuente, Núm. 7, Año 2, Abril-Junio, [pp. 1-13].
- Sánchez, L. y Tromps, J. (2014). "Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico" en Salud Animal, Núm. 2, Vol. 36, Mayo-Agosto, [pp. 125-128].
- Rondón, A., L. Samaniego, L., Bocourt, R., Rodríguez, S., Milián, G., Ranilla, M., Laurencio, M. y Pérez M. (2008). "Aislamiento, identificación y caracterización parcial de las propiedades probióticas de cepas de *Lactobacillus* sp. procedentes del tracto gastrointestinal de pollos de ceba" en CyTA, Núm. 1, Vol. 6, [pp. 56].

¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Sede Mutualismo; Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060 Celaya, Guanajuato, México, f.galvanpantoja@ugto.mx

²Universidad Autónoma de Saltillo Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas; Boulevard. Venustiano Carranza s/n, Col. Republica Oriente, C.P. 25280 Saltillo, Coahuila, México, carolinaflores@uadec.edu.mx

SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE IRIDIO CON LIGANTES TIPO BETA-TIOCETIOMINATOS

Gabriel Silvestre Castillo¹ y Crispín Silvano Cristóbal Gasga²

RESUMEN

En la actualidad existen muchos usos de los complejos con metales de transición, un ejemplo es la aplicación en procesos de catálisis que implican varias transformaciones como activaciones de enlaces, y en sistemas bioinorgánicos para mimetizar la función de las metaloenzimas. En cualquiera de los casos existen moléculas orgánicas que interaccionan con centros metálicos para lograr una función específica. El presente trabajo de investigación, trata sobre el estudio de complejos metálicos y su interacción con ligantes derivados de acetilacetatos. El desarrollo de esta química requiere el uso de una técnica anaerobia como la técnica Schlenk, debido principalmente a la alta reactividad de los compuestos hacia el oxígeno y a la humedad del medio ambiente. Particularmente en este trabajo, se estudió a los complejos con iridio como centro metálico, ya que este es un elemento que presenta alta afinidad a formar compuestos de coordinación y organometálicos. Para el estudio de estos sistemas y sus reacciones se utilizó un equipo de RMN de 500 MHz, así como el equipo de espectroscopia infrarroja (IR) con transformada de Fourier. La metodología empleada fue basada en trabajos previos del grupo y en información publicada por otros grupos de investigación con algunas variantes para conseguir mejores resultados.

ABSTRACT

At present there are many applications of transition metal complexes, some of them are very important in catalytic processes that involve several transformations as diverse bond activation, others are used for mimic transformations in bioinorganic systems that simulate how metalloenzymes work. In any of that cases, there are organic molecules that interact with metal centers to achieve a specific function. This research deals with the study of metal compounds and their interaction with ligands derived from acetylacetonates species. The development of this chemistry requires the use of an anaerobic technique known as the Schlenk technique. Due to the high reactivity of the compounds toward oxygen and the humidity of the environment, this kind of technique is required. Particularly in this work, complexes with iridium as a metallic center are studied. Compounds using this transition metal are very interesting because of their high affinity to produce coordination and organometallic compounds. For the study of these systems and their reactions, a 500 MHz NMR equipment was used, as well as the infrared (IR) spectroscopy equipment with Fourier transform. The methodology used was based on previous work of the group and on information published by other research groups with some changes to obtain better results.

Palabras Clave: Schlenk; espectroscopia; complejos; alquenos; Iridio (I).

INTRODUCCIÓN

El estudio de los ligantes denominados β -acetilacetatos (AcAc), y la formación de complejos de coordinación con elementos de transición, se remonta a muchos años atrás [1]. En la actualidad, los derivados de los ligantes Acac continúan siendo muy importantes tanto en química de coordinación como en química organometálica por todas las aplicaciones que se han descubierto [2].

La estructura y funcionalidad de los ligantes sobre los metales se han modificado a través del cambio de grupos funcionales. Es así que, mediante la sustitución de uno o de los dos átomos de oxígeno presentes en el ligante Acac por átomos de nitrógeno o de azufre, se logra la síntesis de ligantes β -cetoiminatos (AcNac), y β -tioacetoinminatos (SacNac) respectivamente, tal como se expresa en la Figura 1. Además, es posible cambiar grupos funcionales sobre el grupo aromático, lo que se traduce en “ajustar o afinar” las propiedades químicas a la hora de enlazarse a un ion

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Ing. Bioquímica, Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia El Copal. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato., gabosilvestre74@hotmail.com

²Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas-Campus Guanajuato, Departamento de Química, Noria Alta s/n. C.P. 36050, Guanajuato, Gto, cs.cristobal@ugto.mx

metálico. Esto finalmente da como resultado la formación de nuevos compuestos metálicos con características particulares, con estabilidad o reactividad inusuales hacia nuevas especies [3].

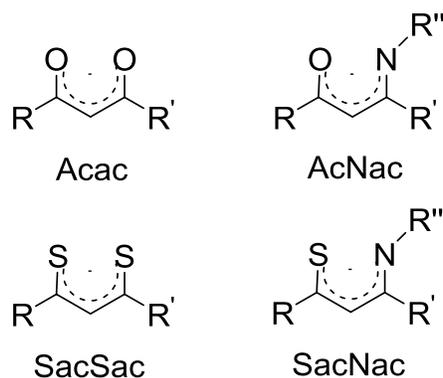


Figura 1. Ligantes obtenidos tras la sustitución de uno o dos átomos donadores en los ligantes precursores de tipo Acac. R' y R'' son grupos funcionales que pueden ser iguales o diferentes entre ellos.

Por su parte, los complejos metálicos de transición que contienen 1,3-dienos coordinados, han jugado un papel importante en el desarrollo y la comprensión de la química, es así que muchas son especies intermedias en varios procesos catalíticos, y también son útiles como reactivos estequiométricos en síntesis orgánica. Particularmente, estos complejos metálicos están involucrados en una variedad de reacciones que incluyen acoplamiento carbono-carbono con olefinas, acilos u otras fracciones orgánicas con heteroátomos. Además de que son buenos catalizadores en reacciones de isomerización, escisión de enlaces C—H, y favorecen la adición de reactivos nucleófilos y electrófilos a diversos sustratos [4].

En este trabajo se realizaron estudios encaminados a la preparación de complejos de iridio conteniendo el ligante SacNac, la caracterización de los compuestos formados y sus propiedades, mismas que serán de importancia para desarrollar y descubrir futuras aplicaciones. Para ello se sintetizaron los ligantes siguiendo la metodología conocida en nuestro laboratorio, y el complejo de partida de iridio(I), se preparó mediante la técnica descrita previamente en la bibliografía con algunas modificaciones.

MÉTODOS Y MATERIALES

Los reactivos y disolventes marca Sigma-Aldrich, fueron usados sin previa purificación, únicamente los disolventes como éter etílico ($C_2H_5)_2O$ y diclorometano (CH_2Cl_2) se secaron a reflujo por dos horas bajo atmósfera de nitrógeno ($N_{2(g)}$) siguiendo la técnica de Schlenk [5]; como agente secante para el diclorometano y éter etílico, se utilizó sodio metálico (Na) e hidruro de calcio (CaH_2), respectivamente. Los ligandos fueron purificados mediante cromatografía soportada en gel de sílice utilizando como eluyente mezclas de los disolventes hexano y acetato de etilo a diferentes relaciones volumétricas. Las determinaciones de las fracciones obtenidas fueron analizadas primeramente mediante cromatografía en placa fina de gel de sílice soportadas en aluminio y posteriormente mediante técnicas espectroscópicas comunes. El precursor di- μ -clorotetrakis(cicloocteno)diiridio(I) abreviado $[Ir(\mu-Cl) coe_2]_2$ [6] y el ligante SacNac [1] fueron preparados en base a las técnicas reportadas en la bibliografía. Todas las reacciones se realizaron bajo atmósfera de N_2 utilizando la línea de vacío de Schlenk.

La espectroscopia IR se llevó a cabo en un equipo de Transformada de Fourier marca Bruker, las muestras se analizaron en forma de pastilla con bromuro de potasio (KBr) de pureza $\geq 99\%$, en un rango de frecuencia de 400 a 4000 cm^{-1} . La espectroscopia de RMN de 1H , $^{13}C\{^1H\}$, así como los espectros bidimensionales COSY, HMBC y HSQC de las muestras analizadas, se obtuvieron en un equipo Bruker de 500 MHz empleando benceno deuterado (C_6D_6) como disolvente y usando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

RESULTADOS

En la preparación de los materiales de partida se realizaron algunos cambios en la metodología descrita anteriormente [1], pues para la síntesis de L_1 y L_2 se reporta el uso de 20 mL de CH_2Cl_2 , sin embargo, se añadió hasta 40 mL debido principalmente a la baja solubilidad a altas concentraciones de los reactivos; principalmente del reactivo de Lawesson. De la misma forma, el último paso de la reacción que se muestra en Figura 2, se mantuvo en agitación durante un tiempo más prolongado, cumpliendo un total de 8 horas para que la reacción se completara. Los rendimientos, aunque moderados (oscilaron alrededor de 66%), mostraron una alta pureza (>95%) que fue confirmada mediante análisis por RMN de 1H .

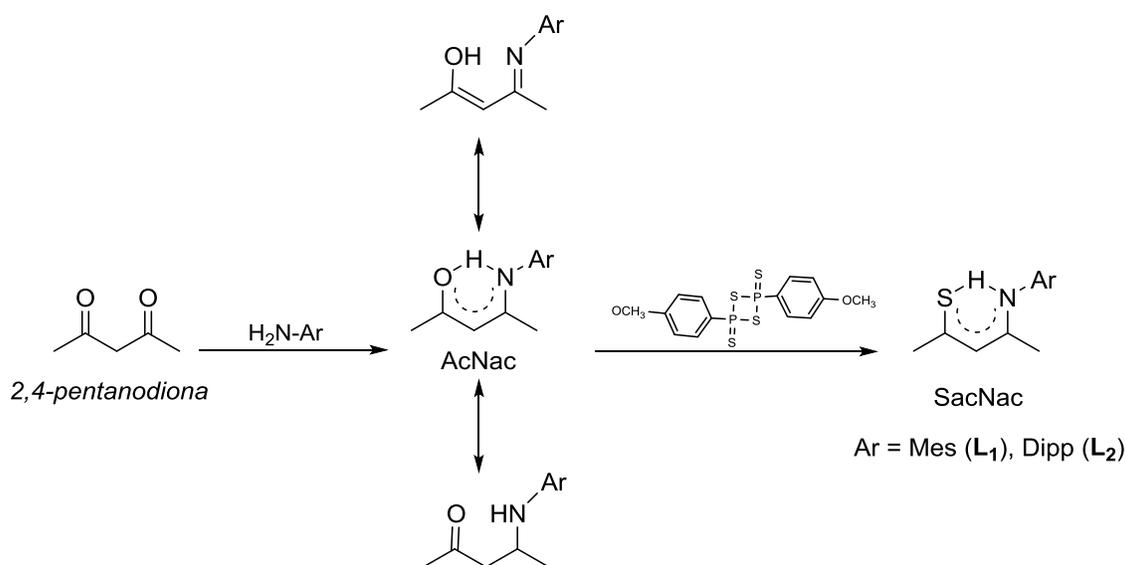


Figura 2. Reacción general para la síntesis de los ligantes SacNac L_1 y L_2 .

Por su parte, la síntesis del compuesto precursor de iridio se obtuvo mediante la reacción de $IrCl_3 \cdot 6H_2O$ en presencia de un exceso de cicloocteno (coe) sin ningún tratamiento previo, utilizando una mezcla de alcohol isopropílico con agua (40 mL: 20 mL) bajo calentamiento a la temperatura de reflujo y con una presión constante de nitrógeno gaseoso. Al final de la reacción que se muestra en la Figura 3, se obtiene el producto como un sólido pulverulento de color naranja que se obtiene con un rendimiento del 80%. El compuesto fue siempre almacenado en un tubo Schlenk bajo atmósfera de gas inerte, posterior a su uso en cada reacción, para evitar su descomposición.

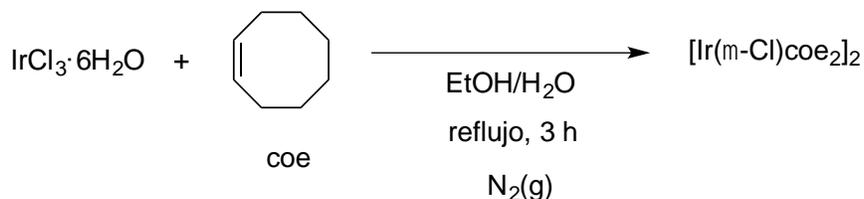


Figura 3. Síntesis del complejo de iridio(I).

Las reacciones correspondientes de los ligandos L_1 y L_2 se realizaron nuevamente bajo nitrógeno mediante la técnica Schlenk. Para ello se utilizaron disolventes previamente secos de diferente polaridad; éter etílico, CH_2Cl_2 , THF (tetrahidrofurano), y mezcla de hexanos. Inicialmente las reacciones se realizaron a temperatura ambiente utilizando una relación de dos equivalentes de los ligandos L_1 y L_2 , con respecto al compuesto di- μ -clorotetrakis(cicloocteno)diiridio(I), durante un tiempo de 16 h y manteniendo una agitación constante. El resultado

fue la formación de una solución de color café oscura y la formación de un precipitado del mismo color. El análisis por RMN de protón muestra un patrón de señales que indica la formación de varios productos sin la obtención de uno mayoritario.

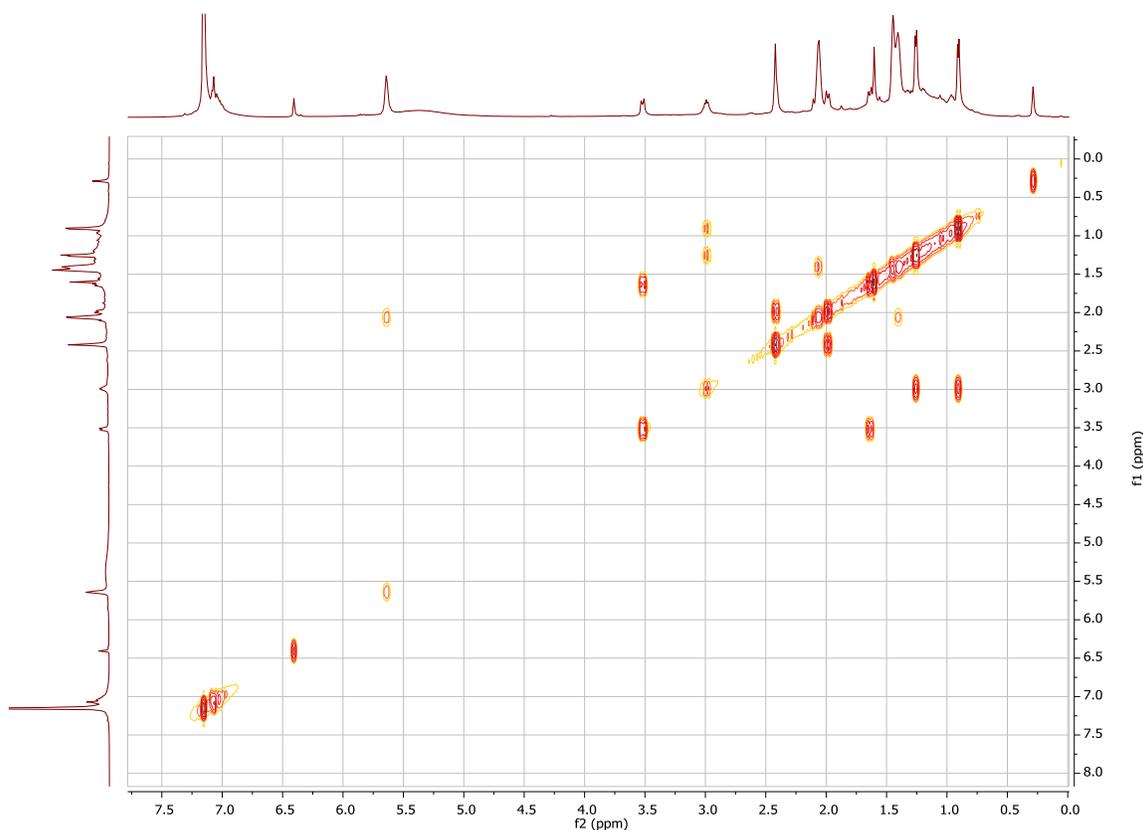


Figura 4. Espectro COSY de la reacción del complejo $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{coe}_2]_2$ con el ligante SacNac L_2 .

CONCLUSIONES

El compuesto di- μ -clorotetrakis(cicloocteno)diiridio(I) es un gran precursor organometálico para varias reacciones con diferentes ligantes AcNac, aquí se ha demostrado que también reaccionan con ligantes SacNac y pueden formar una gran variedad de compuestos en tiempos de reacción prolongados. Debido a la alta reactividad, se han obtenido los mejores resultados en tiempos de reacción cortos, desde 0.5 a 1.5 h de reacción en el caso de ambos ligantes. Aquí es importante también el medio de reacción, ya que, con disolventes no secos, se obtienen reacciones secundarias que dan productos indeseables. Este trabajo motiva a profundizar en los estudios para entender el mecanismo de formación de los productos.

Mediante el trabajo experimental se ha obtenido el conocimiento de las diversas técnicas espectroscópicas comúnmente utilizadas en química, además de que se ha conocido el manejo adecuado de la técnica Schlenk. Finalmente se ha conocido la reactividad de los compuestos de iridio en complejos organometálicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Comité Organizador del 20° Verano de la Ciencia de la Región Centro, a la Universidad de Guanajuato y la SEP por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto a través del apoyo PRODEP 2017-2018 número 511-6/17-8070.

G.S.C. agradece al Departamento de Investigación del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) y al CONACYT por la beca concedida y las gestiones para la realización de estancia de verano de investigación, así como a los Drs. Crispin Silviano Cristobal Gasga, Jorge Albino López Jiménez, Carlos Alvarado Monzón, Rebecca Jazmín Pérez Rodríguez y a los compañeros del laboratorio, por el apoyo, asesoría, aprendizaje y convivencia que esta experiencia ha dejado la cual no hubiese sido posible sin ellos.

G.S.C da un agradecimiento especial a Silvia Gabriela Pérez Ramírez por su apoyo durante la estancia del 20° VRC y por brindar su amistad.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Rivas López, Christopher Emmanuel, (2016) “Complejos de níquel y paladio con ligantes ACNAC y SACNAC”. *Tesis de licenciatura*. Universidad de Guanajuato.
- [2] J. Feldman, S. J. McLain, A. Parthasarathy, W. J. Marshall, C. J. Calabrese, S. D. Arthur, (1997). Electrophilic Metal Precursors and a β -Diimine Ligand for Nickel(II)-and Palladium(II)-Catalyzed Ethylene Polymerization. *Organometallics*, 16, 1514–1516.
- [3] Noels, A. F.; Hubert, A. J., (1988). Industrial Applications of Homogeneous Catalysis, Mortreux, A., Petit, F., Eds.; D. Reidel Publishing Co.: Boston, MA, 1988; Chapter 3.1.3
- [4] Olivier Boutry, Manuel L. Poveda, Ernesto Carmona. (1996). Formation of 1,2,3-eta-3-butadienyl derivatives by photochemical C-H activation of Ir(I)-eta-4-1,3-diene complexes containing tris(pyrazolyl) borate ligands. *Journal of Organometallic Chemistry*, 528, 143-150.
- [5] Shriver, D.F., (1986) “The manipulation of Air-Sensitive compound” *Wiley, Interscience*.
- [6] Yamagata, T., Nagata, M., Mashima, K. & Tani, K. (2008). Di- μ -chlorido-bis-[bis-(η^2 -cyclo-octene)iridium(I)]. *Acta Crystallographic*, E64, m579-m580.

PROYECTO: MANEJO DE RESIDUOS URBANOS Y SU RELACIÓN CON EL CICLO DE SUSTENTABILIDAD.

Gabriela Monserrath Lozano Gaspar ¹ e Ing. Mayela del Carmen Valadez Zamarrón ²

RESUMEN.

La presente investigación se cataloga dentro de lo que es proyecto factible, ya que persigue el diseño y promoción de un proyecto de reciclaje; a la vez que se logra la instrucción, educación y capacitación de cómo llevarlo a cabo. Tal proyecto se dirige específicamente al alumnado del Instituto Tecnológico Superior de Monclova. El propósito principal de este trabajo no fue otro que dar a conocer a la comunidad del ITSM la gran importancia que tiene el reciclaje a nivel mundial, ya que es uno de los medios primordiales para la preservación del planeta y del equilibrio ecológico, del cual no podemos prescindir; y que con la práctica adecuada de éste, se pueden obtener cuantiosos beneficios. Al invertir de una manera inteligente, (los fondos recibidos por la recolección de los materiales reciclables) en pro de las necesidades presentes en el instituto.

ABSTRACT

The present investigation is considered a feasible project, because it is aimed to design and promotion of a recycling project and at the same time allows the instruction and training to implement it.

This project is intended specifically for the students OF Monclova's Technological Top Institute.

The main intention specifically for this work was to proclaim to the community of the ITSM the great importance of recycling in the whole world. Recycling is one of the most important ways to preserve the planet and the ecological balance which will be very difficult without recycling.

Besides, with suitable practice of recycling we can obtain great benefits because, investing in an intelligent way, the funds acquired from the recyclable material go in a favor of the institute's present needs.

Palabras clave: Reciclaje, residuos urbanos, equilibrio ecológico

INTRODUCCIÓN

Dentro del Instituto Tecnológico Superior de Monclova, cada día se generan grandes cantidades de residuos y desechos urbanos los cuales son simplemente tirados a la basura, motivo por el cual se inició con el proyecto de reutilización de restos arrancando con una encuesta para definir cuáles y en qué cantidades se producen.

Una vez generada esta información y con ayuda de diferentes métodos de medición, graficación y estadísticas pudimos crear un enfoque sobre el cual trabajaríamos para el diseño del plan de manejo y desecho de los residuos urbanos.

¹ITSMEM, Departamento o dependencia: Antonio Villarreal #116, Morelos, C.P: 25626, Frontera, Coahuila, Mex. clavel_lozano@live.com.mx

²ITSMEM, Profesora de Ingeniería Informática; Domicilio, Colonia, Nombre, C.P: 00⁰⁰⁰, Ciudad, Edo, mayela2009@institución.edu.mx

Viabilidad.

Pocos proyectos industriales revisten y reportan tanta importancia e impacto económico, social y ambiental tan positivo como el de inversión e instalación de líneas de reciclaje, por lo que significaría una fuente de ahorro en costos y en consecuencia de aumento de la eficiencia económica para todas las cadenas de valor relacionadas con materias primas susceptibles de reciclaje (aluminio, plásticos, vidrios, papel, etc).

Dado que estos residuos son generados todos los días por la comunidad tecnológica en grandes cantidades, se decidió gestionar un proyecto con el cual pudiéramos apoyar a la cultura ecológica y de limpieza al mismo tiempo que generábamos una fuente de ingresos para el plantel.

Este proyecto cuenta con varias características destacables por las cuales se vuelve más que rentable, una de las más importantes sería, sin duda, que no necesita una inversión inicial para ponerse en funcionamiento, además de que genera varios beneficios remarcables para nuestra comunidad tecnológica, como lo son el uso correcto de los residuos urbanos para ayudar al planeta, ganar recursos monetarios para mejoras en el plantel a partir de la venta de dichos residuos que puedan reutilizarse, generar conciencia ecológica en los alumnos y administrativos así como mejorar la imagen de la universidad.

MÉTODOS Y MATERIALES

Para la primera parte de esta investigación se identificó la población que sería parte de este estudio siendo estas el alumnado de la institución, personal administrativo, y estudiantes de nuevo ingreso, una vez hecha esta parte se continuo con la utilización de una calculadora de resultados con la cual, obtendríamos la muestra necesaria para la óptima realización de las encuestas a cada uno de estos grupos.

Para dicha actividad se utilizaron los datos de tamaño de población, margen de error y la puntuación que deseamos, una vez generados estos datos se utiliza la siguiente formula, a partir de ésta se nos genera la cantidad muestral a la que deberá aplicarse las encuestas para obtener los mejores resultados.

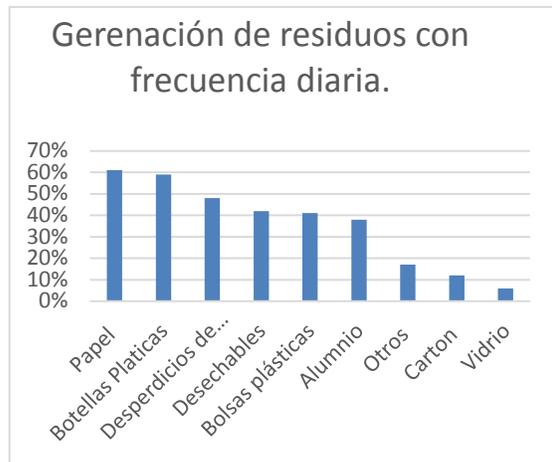
$$\text{Tamaño de la muestra} = \frac{\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2 N} \right)}$$

Finalizada esta fase, se inicia la realización de encuestas en cuya redacción se incluyen los temas principales a tratar en este proyecto, siendo los más importantes, materiales más desechados dentro de la institución, modo de desechar dichos recursos y conocimiento previo del sujeto acerca de la importancia y formas del reciclaje.

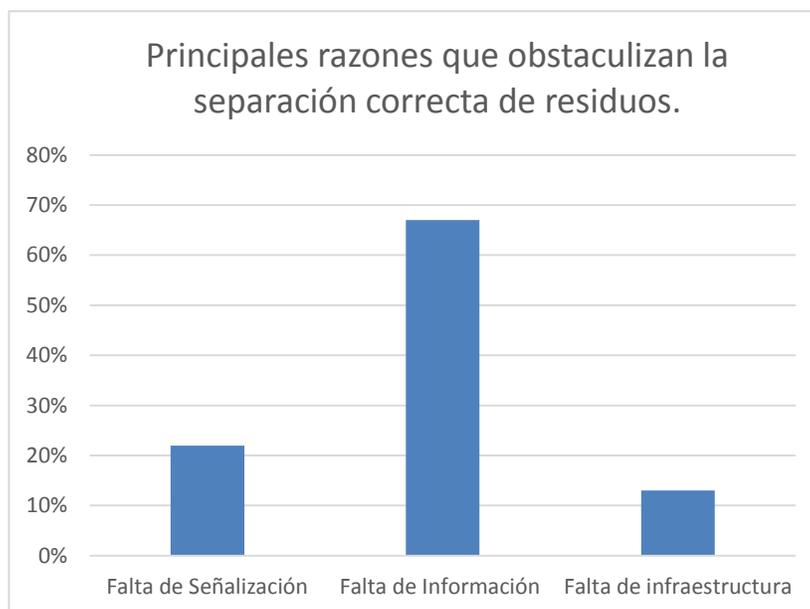
A partir de esta investigación se generó una serie de resultados que nos ayudarían a esclarecer el panorama general de la problemática a tratar, con la finalidad de crear la metodología a seguir, dichos datos fueron tratados en hojas de Excel y Minitab con la finalidad de organizar la información en gráficas.

RESULTADOS

Una vez registrada y organizada la información se generaron los siguientes resultados:



<i>Residuo según nivel de generación.</i>	<i>Alternativas</i>	<i>Viabilidad</i>	<i>Análisis Técnico de recursos institucionales.</i>
Papel	Reutilización	En proceso de análisis	En proceso.
	Entrega a proveedor para proceso de reciclaje.		
Botellas Plásticas	Venta de PET		
	Creación de compactadora.		
Desperdicios de Comida	Creación de composta.		
	Entrega a proveedor.		
Vidrio	Fundición de vidrio.		
	Entrega a proveedor.		
Bolsas plásticas	Principalmente la fabricación de artículos.		
Aluminio	Remano facturar aluminio.		
	Venta de Cartón.		

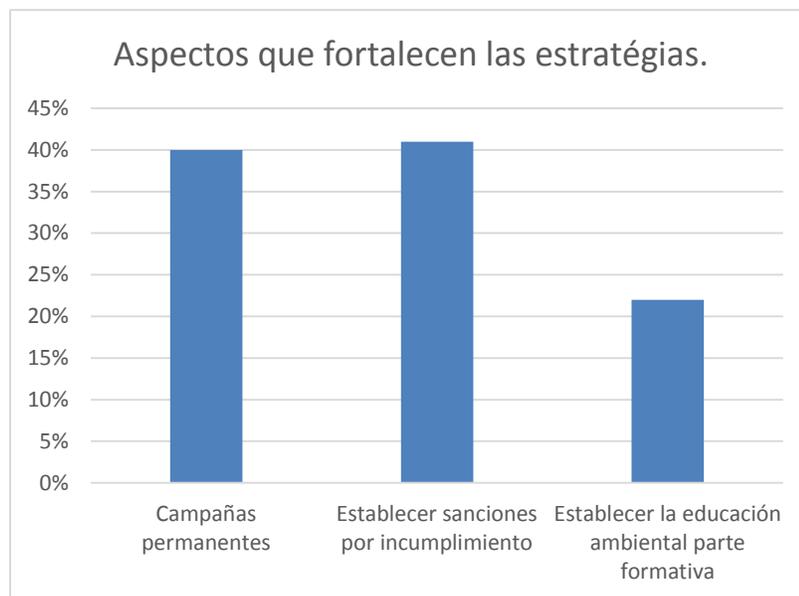


En la opinión de los encuestados la principal razón que obstaculiza la separación de residuos es la falta de información, lo que implica atender esta variable como área de oportunidad del sistema de gestión integral. Para ellos no es necesaria una infraestructura para realizar la separación adecuada y solo alrededor del 20% opina que también se debe atender la señalización.

Después de la revisión de las gráficas obtenidas se inició el proceso de la correlación problemática-solución a través de las cuales se inició el proceso final del proyecto, la gestión e implementación de estrategias de solución.

CONCLUSIONES

Después de hacer una inspección a los datos arrojados en las gráficas se inició el diseño de estrategias a seguir para la implementación de este proyecto, haciendo una última grafica de los aspectos que debían fortalecerse en la institución para el correcto manejo de residuos urbanos.



Dados estos cálculos se pretende iniciar con la campaña de reforzamiento para los alumnos del ITSM en las cuales se recalque de forma clara y concisa los métodos de separación de desechos, así como los botes específicos donde deben depositarse.

De igual forma se pedirá a los alumnos dejar constancia del estado en que dejan el salón de clases al terminar el día, estos resultados se compararán con los datos por los conserjes con la finalidad de llevar un registro de cada grupo en cuanto al cuidado ecológico de las instalaciones.

Este sistema ayudará a conocer los resultados de la actividad propuesta, además de ayudar en caso de necesitar reforzar un área específica.

EXTRACCIÓN DE DNA ANTIGUO

Gladis Isabel Lujan García¹ y Rafael Montiel Duarte²

RESUMEN

Los restos biológicos pueden preservar el ADN por un largo tiempo principalmente en restos óseos por la compactación de los mismos a través del análisis del ADN antiguo se pueden estudiar procesos evolutivos y también explicar relaciones genéticas entre los organismos extintos y sus parientes contemporáneos. El estudio del ADN antiguo requiere de medidas estrictas de control de contaminación desde la recuperación de los restos fósiles, la extracción del ADN, amplificación por PCR y los estudios moleculares posteriores. Es por ello que para que los resultados obtenidos puedan ser auténticos se debe trabajar en el cumplimiento de los nueve criterios de Cooper y Poinar. En base a dichos criterios se realizó la extracción y purificación de ADN antiguo de manera exitosa de una muestra de cráneo humano del complejo arqueológico de Xalla en el laboratorio de ADN antiguo del LANGEBIO, CINVESTAV Irapuato que cuenta con todas las medidas para el análisis de ADN antiguo.

Palabras clave: ADN antiguo, Ultracentrifugación, PCR.

INTRODUCCIÓN

El ADN antiguo es todo ADN recuperado de restos biológicos preservados natural o artificialmente, se puede encontrar en huesos, dientes también en herramientas de sacrificio y molienda. el análisis del ADN antiguo nos permite estudiar los procesos evolutivos y también explicar las relaciones genéticas entre los organismos extintos y sus parientes contemporáneos. Así como comprobar o refutar hechos históricos. Una de las primeras muestras de ADN extraída y secuenciada fue la de un equido en Sudafrica en 1984. Este espécimen había muerto 140 años atrás y con él se demostró que una gran parte de ADN extraído era principalmente de origen microbiano o fúngico mientras que el ADN antiguo se encontraba en bajas concentraciones y en fragmentos cortos y dañados. Así fue como se identificó uno de los principales problemas en el estudio del ADN antiguo; la degradación del ADN y como consecuencia la recuperación de cantidades insuficientes de secuencias de ADN para obtener respuestas claras y concluyentes. La degradación del ADN se debe a la inestabilidad post mortem como consecuencia del daño celular acumulado es por esto que la mayoría de los especímenes antiguos que aun preservan ADN únicamente es de fragmentos no mayores a 160pb. Con la invención de la técnica de PCR en 1985 por Kary Mullis fue posible amplificar una gran cantidad de ADN antiguo a partir de unas pocas copias, lo que permitió que los estudios con ADN antiguo se diversificaran rápidamente. el uso de la de esta técnica en el estudio del ADN antiguo trajo consigo una nueva problemática debido al enorme poder de amplificación de la PCR la contaminación con ADN moderno se incrementó considerablemente y por ende los falsos positivos. Es por ello que Cooper y Poinar delinearon nueve criterios para el estudio con ADN antiguo que garantizan la calidad de los datos y fiabilidad de los mismos. Los nueve criterios son los siguientes; Aislamiento de áreas de trabajo, Extracciones y amplificaciones de control negativo, Comportamiento molecular apropiado, Reproducibilidad, Clonación de productos, Replicación independiente, Conservación bioquímica, Cuantificación y Restos asociados. En base al cumplimiento o incumplimiento de dichos criterios se puede autenticar los resultados o no. Con el fin de aprender cómo se trabaja en un laboratorio de ADN antiguo y conocer los lineamientos y protocolos requeridos, así como la aplicación de técnicas para extracción y cuantificación de ADN antiguo en el presente trabajo expone la metodología clásica con algunas modificaciones para el trabajo con muestras que son candidatas a preservar ADN antiguo. El procesado de la muestra y la extracción de ADN se realizó de acuerdo a los lineamientos descritos por Cooper y Poinar. Se trabajó en el Laboratorio de ADN antiguo del LANGEBIO, CINVESTAV Irapuato que cuenta condiciones de estrictas para

¹ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y exactas; Noria Alta S/N, Noria Alta, CP: 36050, Guanajuato, Guanajuato, isabel.lujan@ugto.mx

² Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, Unidad de Genómica Avanzada, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Irapuato, Guanajuato; Libramiento Norte Carretera Leon Km 9.6, CP: 36821, Irapuato, Guanajuato, rafael.montiel@cinvestav.mx

el análisis de ADN antiguo. Las muestras utilizadas fueron proporcionadas por el Instituto de investigaciones antropológicas de la UNAM provenientes del complejo arquitectónico Xalla localizado en la zona arqueológica de Teotihuacán en el Estado de México. Xalla se ubica entre las pirámides del sol y la luna, fue construido entre los años 300 y 600 d.c . La arqueóloga y antropóloga Linda Manzanilla cree que pudo haber funcionado en la antigüedad como un Palacio de los Gobernantes.

MATERIALES Y METODOS

La muestra de hueso correspondiente a un fragmento de cráneo (X-71746) fue proporcionada por la Dra Linda R. Manzanilla del Instituto de investigaciones antropológicas de la UNAM provenientes de excavaciones en el complejo arquitectónico Xalla. Los experimentos se realizaron bajo las medidas necesarias para evitar la contaminación de las muestras en el Laboratorio de DNA antiguo del Langebio CINVESTAV, México; que cuenta con las condiciones para el análisis de DNA antiguo. Además de contar con espacios separados para las reacciones de PCR. La muestra X-71746 se procesó con un taladro dental para obtener 0.1 gr de polvo fino que se incubó 48 hr a 37 °C en Buffer de extracción (50 mM Tris HCL pH 8,0, 0,425 M EDTA, 0,5% SDS, 0,1 mg/ml proteinasa k). La extracción de ADN se realizó por el método fenol-cloroformo según Montiel 2001, posteriormente se concentró en un volumen menor por medio de ultracentrifugación con Amikon-Centricon 10K y se purificó por Minielute. Para la eliminación de ADN de alto peso molecular se realizó una segunda ultracentrifugación con Amicon Ultra 4 100K. Se analizaron alícuotas del extracto de ADN por Agilent 2100 Bioanalyzer y Nanodrop para cuantificar y evaluar la calidad del ADN extraído.

RESULTADOS

Evaluación de la calidad de muestra de ADN

El gráfico de X-71746 (Figura 1) presenta una absorbancia alta a 260 nm que corresponde a una concentración 23.41 ng/μl en comparación con el blanco de extracción (Figura 2) que tiene absorbancia de 0.00 (-0.1229 ng/μl) a dicha longitud de onda. La muestra X-71746 tiene una buena calidad de ADN con base en la relación 260/280 también presenta una cantidad considerable de inhibidores en la región de 220-230 nm propios de las muestras de ADN antiguo.

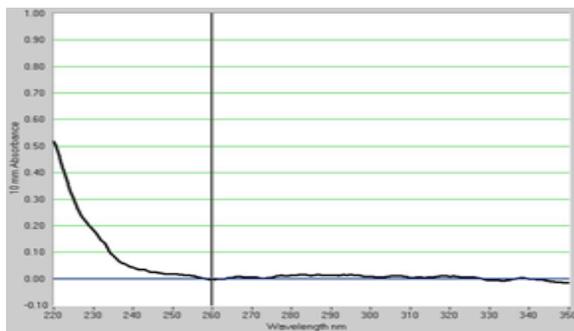


Figura 1. Grafica de Nanodrop para KE con Amikon-Centricon 10K (blanco de extracción) absorbancia vs longitud de onda.

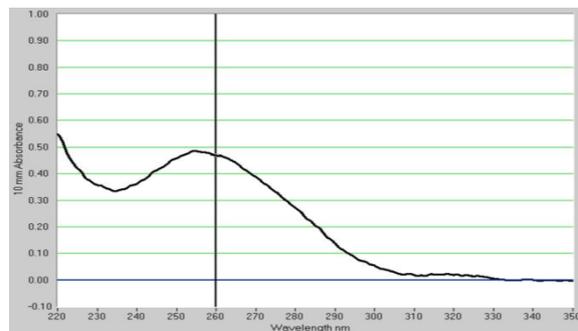


Figura 2. Grafica de Nanodrop para X-71746 con Amikon-Centricon 10K absorbancia vs longitud de onda

Para verificar que el ADN extraído (X-71746) es antiguo se evaluó el tamaño de los fragmentos recuperados por bioanalyzer agilent 2100. Debido a la inestabilidad post-mortem del ADN los fragmentos de interés se encuentran en el intervalo de 50-100 pb (Figura 4.) El gráfico muestra una buena cantidad de ADN en este intervalo, aunque también presenta una gran cantidad de fragmentos mayores a 1000 pb. El control negativo (KE) no registro fluorescencia (Figura 3)

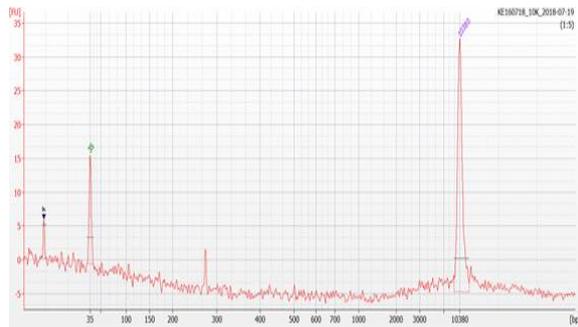


Figura 3. Gráfico de Fluorescencia vs tiempo para KE

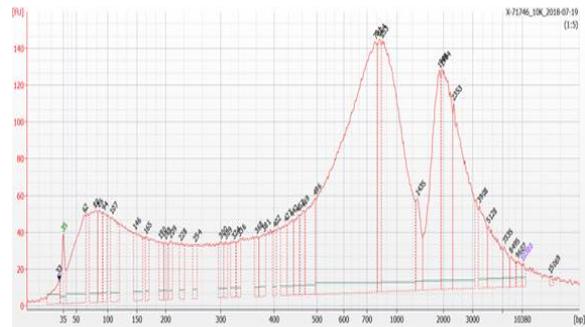


Figura 4. Gráfico de Fluorescencia vs tiempo para X-71746.

El extracto de ADN se ultracentrifuga una vez más con Amikon ultra 4 100K más para eliminar los fragmentos alta peso molecular. Se evaluó la calidad de ambas fracciones, el filtrado y lo retenido en la membrana. El filtrado (Figura 5.) que corresponde a los fragmentos de mayor tamaño presenta una concentración de 23.16 ng/μl la figura 5 muestra una gran cantidad de ADN recuperado en el filtrado y no presenta inhibidores. La figura 6 corresponde al ADN de bajo peso molecular y se observa una disminución en la absorbancia en comparación con la primera ultracentrifugación aunque sigue la presencia de inhibidores en la longitud de onda de 230-240 nm.

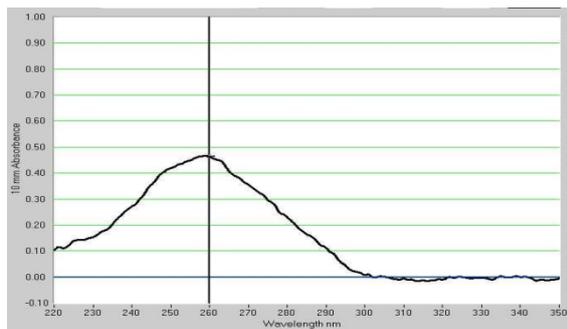


Figura 5. Grafica de Nanodrop para el filtrado (ADN de alto peso molecular) X-71746 con Amicon Ultra 4 100K, absorbancia vs longitud de onda

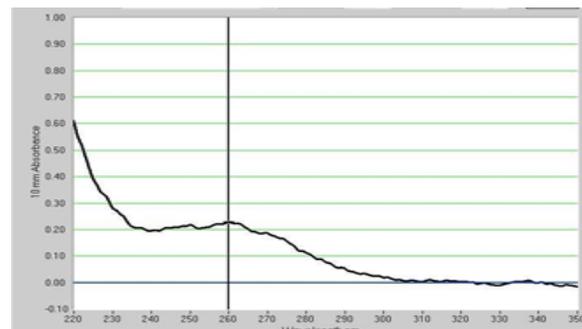


Figura 6. Grafica de Nanodrop para X-71746 retenido en la membrana (ADN de bajo peso molecular) con Amicon Ultra 4 100K., absorbancia vs longitud de onda

Para verificar que el ADN recuperado (X-71746) de la segunda ultra centrifugación ya no contiene grandes cantidades de ADN de alto peso molecular se evaluó el tamaño de los fragmentos recuperados por bioanalizer aligent 2100. La figura 7 muestra una disminución considerable del pico de los fragmentos mayores 1000 pb considerando la figura 4. El control negativo (KE) no registro fluorescencia (Figura 8)

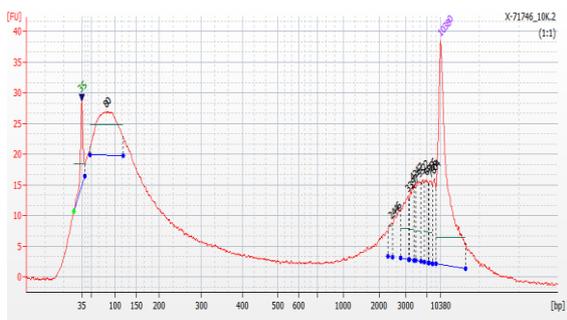


Figura 7. Gráfico de Fluorescencia vs tiempo para X-71746



Figura 8. Gráfico de Fluorescencia vs tiempo para KE

CONCLUSIONES

Se aisló, cuantifico y purifico ADN antiguo de una muestra de Cráneo humano proveniente de excavaciones en el Complejo Arqueológico de Xalla obteniendo resultados satisfactorios de extracción de ADN así como la eliminación de manera eficiente de ADN de alto peso molecular después de las dos ultra centrifugaciones. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a los lineamientos del Laboratorio de ADN antiguo del LANGEBIO, CINVESTAV Irapuato obteniendo resultados libres de contaminación de ADN moderno con base en los resultados de los controles negativos. Uno de los primeros pasos para la aplicación de técnicas de paleogenómica es la recuperación de ADN antiguo de buena pureza por lo cual el extracto recuperado es un candidato viable a futuros estudios.

REFERENCIAS

Allentoft ME, Sikora M, Sjögren KG, Rasmussen S, Rasmussen M. (2015). "Population genomics of Bronze Age Eurasia" en *Nature*, Núm. , Vol. 522, Junio [pp. 167-72].

Álvarez-Sandoval, B. A., Manzanilla, L. R., & Montiel, R. (2014). "Sex Determination in Highly Fragmented Human DNA by High-Resolution Melting (HRM) Analysis" en *PLoS ONE*, Núm 8, Vol. 9, Agosto, [pp. e104629].

Gilbert, M. T. P., Bandelt, H. J., Hofreiter, M., Barnes, I. (2005) "Assessing ancient DNA studies" en *TRENDS in Ecology and Evolution*, Núm 10, Vol. 20, Octubre, [pp.]

Rizzi, E., Lari, M., Gigli, E., De Bellis, G., y Caramelli, D. (2012). Ancient DNA studies: new perspectives on old samples en *Genetics Selection Evolution*, Núm . 21, Vol. 44, Julio [pp. 1-19]

Montiel, R., Malgosa, A., & Francalacci, A.M. (2001). Authenticating Ancient Human Mitochondrial DNA. *Human Biology*, ,Núm. 5, Vol. 73, Octubre [pp. 689–713].

CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES OBTENIDOS DE PUNTOS DE VERIFICACIÓN DE METODOLOGÍA PROPUESTA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SITIOS CONTAMINADOS

Gonzalo Hernández Guerrero¹ y Dra. María de la Luz Pérez Rea²

RESUMEN

La contaminación siempre ha sido un tema en la sociedad; ha últimas instancias podemos hablar de sitios contaminados ya sea por hidrocarburos, aguas residuales, o bien el lixiviado generado por la basura. En este trabajo abordamos la caracterización de sitios potencialmente contaminados para su posterior remediación. De esta manera pensando en suelos posiblemente contaminados se obtuvieron muestras de diferentes sitios como por ejemplo del río San Juan, Peñamiller, etc. Y se les realizaron pruebas a fines para conocer su composición y para verificar su posible contaminación.

ABSTRACT

Pollution has always been a topic in our society; lately, we can talk about hydrocarbons, residual water or the leached, caused by garbage.

On this research, we take on the characterization of places potentially polluted for its later remedial. With this in mind, thinking about places possibly contaminated, there were samples obtained from different locations like San Juan, Peñamiller, etc. And they were put through processes that determined its composition and to verify its possibility to be contaminated.

Palabras Clave: contaminación, hidrocarburo, suelo.

INTRODUCCIÓN

La disposición final de los residuos sólidos urbanos (RSU) en rellenos sanitarios (RESA), en sitios controlados o en tiraderos a cielo abierto, da lugar a la generación de lixiviado y biogás, derivados de los procesos de descomposición microbiana y de los componentes de los residuos.

Los lixiviados contienen concentraciones elevadas de contaminantes orgánicos e inorgánicos, incluyendo ácidos húmicos, sustancias orgánicas, nutrientes y metales pesados (MP), así como, sales inorgánicas que elevan la conductividad eléctrica y agentes infecciosos. Los tipos de materia orgánica (MO) tienen influencia en la toxicidad de los MP. La interacción de las sustancias orgánicas solubles con los metales puede ser afectada por el pH, de manera que los MP tienden a separarse de los sólidos cuando el pH decrece, y cuando se incrementa se adsorben o precipitan, pero sólo hasta cierto límite, después del cual son de nuevo solubilizados.

Los componentes de los lixiviados pueden ser movilizados hacia el suelo, estar en posición de ser absorbidos por las plantas o infiltrarse hacia los mantos acuíferos y afectar los suministros de agua potable.

Las aguas de residuales son aquellas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas y como se mencionaba anteriormente en la zona industrial de San Juan del Río donde las industrias vierten sus aguas tras terminar de usarlas.

Los hidrocarburos son combustibles fósiles ampliamente utilizados alrededor del mundo como generadores fundamentales de diversas formas de energía, ellos están en la naturaleza gracias a la acumulación de biomasa durante millones de años. Sin embargo, es posible que en su extracción se genere contaminación en agua y suelos debido a constantes derrames accidentales, los cuales son muy comunes en países productores.

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Ingeniería Civil; Cerro de las campanas, Centro Universitario, C.P: 76010, Querétaro, Querétaro, gonzalohn32@gmail.com

² Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería; Cerro de las campanas, Centro Universitario, C.P: 76010, Querétaro, Querétaro, perea@uaq.mx

El sector de hidrocarburos se ha expandido de manera importante en los últimos años, convirtiéndose en pieza clave del crecimiento de la economía mundial, el consumo de energía, la exploración, las reservas y la producción han aumentado de manera considerable y este es actualmente considerado como motor del crecimiento económico en varios países del mundo. Debido al crecimiento que han tenido los hidrocarburos, la contaminación por estos ha sido de igual forma, significativa. Los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con la atmosfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que, dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos lo que ocasiona una mayor toxicidad generando de esta manera graves consecuencias ambientales tanto en la flora como en la fauna.

MÉTODOS Y MATERIALES

Los métodos bajo los cuales estuvieron sujetos el trabajo realizado fueron a través de la realización de pruebas para determinar las propiedades índices, así como la distribución del tamaño de grano de cada una de las muestras adjuntas, hidrómetros y por último el análisis de espectrometría de fluorescencia de rayos x de reflexión.

Con este último se pueden definir sus características físicas y químicas mediante la determinación de los siguientes parámetros: textura, pH, sólidos disueltos totales, oxígeno disuelto y la existencia de metales.

Se inicio con la selección de las zonas potencialmente contaminadas, estos fueron a criterio personal donde había tiradero de desechos, partiendo de esto se obtuvieron muestras en distintos puntos a lo largo de la zona industrial San Juan del Río y un basurero en Peñamiller. Magnoflex: dedicada a la fabricación de zapatos de seguridad industrial, Lala: enfocada a la producción de productos lácteos, Cartones Ponderosa, Río San Juan donde diversas fabricas tiran los desechos industriales.

De esta manera cada muestra fue tomada de manera superficial con alrededor de 2 kilogramos de suelo.

Posteriormente se checo su humedad, y se procedió a su secado en caso de ser necesario, pues realizar la granulometría de esta manera fue un caso tanto difícil.

Después la determinación de propiedades índice e hidrómetros, por último, se realizó la prueba del análisis de espectrometría de fluorescencia de rayos x de reflexión esta solo fue utilizada para la muestra de agua, pues a través de la práctica comprendimos que como la mayoría de las fabricas antes mencionados vierten sus aguas a el río san juan y que al realizar pruebas a las muestras de suelo no mostraba ningún contaminante pues decidimos realizar pruebas al agua.

RESULTADOS

Del análisis granulométrico se obtuvieron los siguientes resultados:

Muestra de Magnoflex: 1.64% de grava, 90.89% de arena y 7.47% de limos y arcilla, es decir, es un suelo grueso, como se puede observar Figura 1. Este tipo de suelo es más rígido y resistente a la erosión, puede densificarse mediante vibración.

Muestra de Lala, tiene 10.18% de grava, 76.97% de arena y 12.85 de limos y arcilla, es decir, el suelo es grueso, como se puede observar en la Figura 2.

Muestra Cartones Ponderosa: tiene 1.84% de grava, 87.57% de arena y 10.59% de limos y arcilla, es decir, el suelo es grueso, como se puede observar en la Figura 3.

Muestra Río San Juan: tiene 16.75% de grava, 76.90% de arena y 6.35% de limos y arcilla, es decir, el suelo es grueso, como se puede observar en la Figura 4.

Muestra Basurero: tiene 4.95% de grava, 92.91% de arena y 2.14% de limos y arcilla, es decir, el suelo es grueso, como se puede observar en la Figura 5.

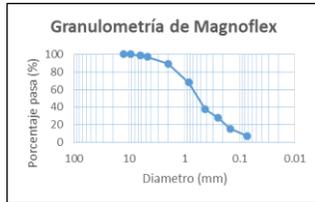


Figura 1. Curva Granulométrica, Magnoflex.

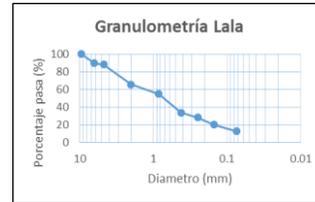


Figura 2. Curva Granulométrica, Lala.

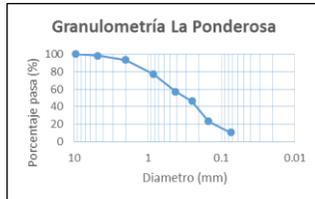


Figura 3. Curva Granulométrica, Cartones Ponderosa.

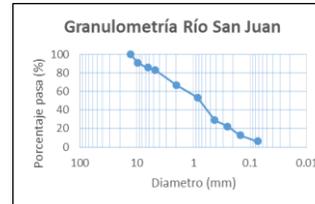


Figura 4. Curva Granulométrica, Río San Juan.

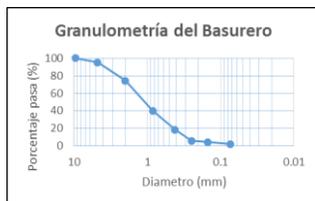


Figura 5. Curva Granulométrica, Basurero.

Para el suelo de la muestra de Lala, se obtuvo un límite líquido de 41.35%, límite plástico de 29.66%, índice de plasticidad de 15.65% y límite de contracción de 39.42% con estos datos la carta de plasticidad nos indica que es un suelo de baja plasticidad (ML ó OL).

Finalmente, del análisis al agua del Río San Juan se obtuvieron los siguientes datos: pH: 6.98, sólidos disueltos totales: 173.9 ppm, Oxígeno disuelto: 57.99% y del análisis de espectrometría de fluorescencia de rayos X de reflexión total no mostró la presencia de metales pesados en la muestra de agua.

CONCLUSIONES

De lo anterior podemos comentar que hubo algunos contratiempos con la investigación pues por ejemplo en el análisis de el agua del río San Juan la muestra de agua fue almacenada en una botella de plástico que da a lugar a una anomalía puesto que como se sabe los contaminantes de pueden adherir a el plástico, para esto debimos utilizar recipientes de vidrio, por otra parte cuando se obtuvo dicha muestra de agua era días en los cuales había llovido entonces los contaminantes pudieron haberse diluido por eso los resultados en la ultima prueba no pueden ser concluyentes.

Y por otro lado con las otras pruebas incipientes no hubo ningún por menor así que se clasificaron los suelos de acuerdo a los procedimientos y normativa en general.

BIBLIOGRAFIA

González E., Tornero A., Cruz A. y Bonilla N. (2009). Concentración total y especiación de metales pesados en biosólidos de origen urbano. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 25, 15-22.

Bourg A. y Loch J. (1995). Mobilization of heavy metals affected by pH and redox conditions. En: *Biogeo-dynamics of pollutants in soils and sediments: Risk Assessment of delayed and non-linear response* (W. Salomons, B. Stigliani, Eds.). Springer- Verlag, Berlín, pp. 87-102.

Álvarez E., Mochon M., Sánchez. J. y Rodríguez M. (2002). Heavy metals extractable form in sludge from wastewater treatment plants. *Chemosphere* 47, 765-775.

Kiss G. y Encarnación G. (2006). Los productos y los impactos de la descomposición de residuos sólidos urbanos en los sitios de disposición final. *Gaceta Ecológica* 79, 39-51.

Benavides, L., Quintero, G., Guevara, A.L., Jaimes, A., Gutiérrez, S.M. & García, J. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *NOVA Publicación científica*. Vol.4 No. 5.

Castro, F., Forero, D., Ramírez, J. & Reina, M. (2014). Evaluación de la contribución económica del sector de hidrocarburos colombiano frente a diversos escenarios de producción. *FEDESARROLLO para la Unidad de Planeación Minero Energética –UPME*.

Díaz-Martínez, E., Alarcón, A., Ferrera- Cerrato, R., Almaraz-Suarez, J. J. & García- Barradas, O. (2013). Crecimiento de *Casuarina equisetifolia* (Casuarinaceae) en suelo con diesel, y aplicación de bioestimulación y bioaumentación. *Biol. Trop.* Vol. 61 (3): 1039-1052.

CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DE MEMBRANAS DE ULTRAFILTRACIÓN MODIFICADAS, MEDIANTE ÁNGULO DE CONTACTO Y ESPECTROSCOPIA RAMAN

Goretti López de Lara Núñez¹ y María del Pilar González Muñoz².

RESUMEN

En este trabajo se describen diferentes maneras de modificación de membranas de Ultrafiltración de polietersulfona (PES) con un peso molecular de corte de 50 Kda, se trabajó con un polímero llamado Poly(acrylamide-co-diallyldimethyl-ammonium chloride) y óxido de titanio, los cuales se pusieron en la superficie de las mismas y hubo exposición a luz UV para observar el efecto que ésta causa sobre las membranas, posteriormente se caracterizaron mediante ángulo de contacto y espectroscopia Raman con el objetivo de buscar maneras para mejorar el rendimiento de las membranas de ultrafiltración.

ABSTRACT

Different ways of modifying PES 50KDa membranes for ultrafiltration were described, we worked with a polymer called Poly (acrylamide-co-diallyldimethyl-ammonium chloride) and titanium oxide, which were put on the surface thereof and there was exposure to light UV to observe the effect that it causes on the membranes, later they were characterized by contact angle and Raman spectroscopy in order to look for ways to improve the performance of the ultrafiltration membranes.

Palabras clave: Ultrafiltración, modificación, caracterización.

INTRODUCCIÓN

El uso de membranas poliméricas se ha incrementado en los últimos años debido a sus propiedades de separación y bajo consumo de energía en comparación con otros procesos. En ese sentido, se han desarrollado metodologías de modificación de membranas a fin de mejorar su desempeño, acondicionándolas para cubrir requerimientos específicos. La caracterización de membranas permite elucidar los cambios ocurridos con la modificación, así como los fenómenos que se llevan a cabo durante el proceso de separación. Es por ello que se ha recurrido a la modificación de membranas de UF para su aplicación en la separación de especies de menor tamaño. Dicha modificación se puede lograr bajo diversos tipos de técnicas como el tratamiento ácido/básico de membranas, el recubrimiento superficial, la utilización de plasma o la adición de compuestos hidrofílicos durante la síntesis. Luego de la modificación, las propiedades de las membranas, como la selectividad y la carga superficial cambian de manera significativa, convirtiendo las membranas de UF modificadas en una nueva opción en el tratamiento de aguas.

Muchas de las modificaciones se encuentran enfocadas a realizar cambios en la hidrofiliidad de las membranas y con ello disminuir el ensuciamiento que es el principal problema en las tecnologías con membranas. Para la evaluación de estos cambios se utilizan diversas técnicas de caracterización, entre las que se encuentran la espectroscopia Raman y la medición del ángulo de contacto, a partir de la primera se evaluarán los posibles cambios químicos en las superficies de las membranas, en tanto que la segunda técnica permitirá evaluar cambios en la hidrofiliidad superficial de las membranas.

En este trabajo se muestran los resultados de la caracterización de membranas de Ultrafiltración de Polietersulfona (PES) modificadas mediante deposición de poli(acrilamida-co-dialildimetil amonio (PAADA) y nanopartículas de TiO₂ con la finalidad de obtener superficies más hidrofílicas con mayor resistencia al ensuciamiento. Se ha evaluado

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria Carretera Torreón-Matamoros km 7.5, C.P. 27000, Torreón, Coahuila, México, g-lopez@uadec.edu.mx

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química. Sede Pueblito de Rocha Cerro de la Venada s/n. Pueblito de Rocha. C.P. 36040, Guanajuato, Guanajuato, México, gomupi@ugto.mx

también su desempeño funcional y se ha evaluado estabilidad bajo la acción de luz UV para saber si podrían ser utilizadas en procesos de fotocatalisis.

METODOLOGÍA

Lavado de membranas. Antes de utilizar las membranas de ultrafiltración de polietersulfona (PES) se realizó un procedimiento de limpieza para eliminar sus conservadores, el cual consistió en colocarlas durante 20 minutos en agua destilada en 3 periodos, desechando el agua en cada uno.

Modificación de membranas. Para llevar a cabo la modificación, se preparó una solución de Poli(acrilamida-co)dimetilamonio al 0.05% w/v y otra del mismo polímero al 0.1% agregando además 0.005 gr de óxido de titanio, las soluciones se filtraron a través de las membranas PES utilizando una celda de filtración de la marca Millipore de flujo muerto (dead end), la celda tiene un sistema de agitación magnético y trabaja bajo presión de un gas inerte (N_2), a una presión de 20 lb/in², sin agitación. Después se llevaron a secar en una estufa a 55°C durante dos horas para colocarlas posteriormente en una solución pH 2 con UV durante 1,2,4 y 6 horas, haciendo igualmente cortes de las membranas y sacando en el tiempo indicado. La membrana nueva también fue expuesta a luz UV y solución ácida pH 2 a diferentes tiempos.

Caracterización de las membranas PES.

Ángulo de contacto. Los trocitos de membrana modificados se montaron e identificaron sobre portaobjetos con ayuda de cinta doble cara y se les realizó la medición de ángulo de contacto utilizando un equipo Contact Angle System OCA (dataphysics), se utilizaron tres líquidos diferentes (agua, formamida y etilenglicol), sacando 3 mediciones en cada membrana. Una vez medido el ángulo de contacto se determinó la energía libre superficial.

Espectroscopia Raman. Los trocitos de membrana modificados se montaron e identificaron sobre portaobjetos con ayuda de cinta de aluminio. Se utilizó un equipo DXR Raman Microscope (Thermo Scientific).

Funcionalidad. Se filtraron a través de las membranas modificadas y sin modificar 150 ml de una solución de BSA al 0.002 % (w/v), se determinó el flujo y el porcentaje de retención de la proteína.

RESULTADOS

Primeramente, se llevó a cabo la caracterización de la membrana de ultrafiltración de PES expuesta a luz UV y solución ácida pH 2, los resultados se muestran en la Tabla 1. Como se puede observar en dicha tabla no se observa una tendencia clara en los valores de ángulo obtenidos al utilizar agua, cuando la membrana es expuesta a luz UV a diferentes tiempos, durante las primeras horas se observa un decremento del ángulo respecto al de la membrana que no ha sido expuesta, lo cual indica que la superficie se torna más hidrofílica y podría estar sufriendo degradación de la polietersulfona por la acción conjunta del ácido y la luz UV, sin embargo a las 6 horas el ángulo obtenido es muy similar al de la membrana sin exponer, lo cual puede ser debido a que los cambios en la superficie de la membrana no se dan de manera homogénea. En la misma tabla se tienen los valores de ángulo de contacto para las membranas que han sido modificadas, se observa que los ángulos disminuyen respecto al observado con la membrana nueva, esta disminución es mayor cuando la membrana ha sido modificada con el copolímero PAADA y las nanopartículas de TiO_2 , lo que nos indica que con la modificación se obtienen superficies más hidrofílicas, en el caso de la modificación con el copolímero la hidrofiliidad puede ser atribuida a la presencia del grupo amonio, en tanto que cuando hay TiO_2 se debe a la presencia de OH^- . Los ángulos de contacto se mantienen prácticamente constantes cuando las membranas modificadas son expuestas a la luz UV en medio ácido, lo cual nos indica que la modificación hace las membranas más resistentes a la acción de la luz UV, es decir no hay indicios de la degradación superficial del polímero.

Se determinó también el ángulo de contacto utilizando además de agua, etilenglicol y formamida, para las membranas sin modificar y modificadas y expuestas a luz UV en medio ácido. A partir de estas medidas se calculó:

la energía libre superficial (γ^{Tot}), la componente dispersiva (γ^{LW}) y la componente polar (γ^{ab}), la energía superficial se define como la suma de todas las fuerzas intermoleculares que se encuentran en la superficie de un material, es decir el grado de atracción o repulsión que la superficie de un material ejerce sobre otro, esta definición

nos ayuda a entender la razón por la cual, cuando la membrana tiene un ángulo de contacto con un mayor valor, es decir, cuando la membrana es más hidrofóbica, la energía superficial será mayor puesto que al utilizar agua que es un líquido con una tensión superficial alta y la superficie de la membrana, indicándonos que las fuerzas de atracción se incrementan.

Como podemos observar en la Tabla 1, la energía libre superficial se incrementa en aquellas membranas expuestas a luz UV y solución ácida, durante 1 y 3 horas, así como las modificadas superficialmente por deposición, el mayor incremento en la energía libre superficial respecto a la membrana PES pura se da cuando se ha modificado con PAADA y TiO₂, siendo también para estas membranas donde se observa la mayor aportación de la componente polar, concordando con el valor obtenido de ángulo de contacto, con la mayor hidrofobicidad de las membranas habrá un menor ensuciamiento de la superficie de las mismas por parte de las especies a las que se encuentre expuesta.

Tabla 1. Ángulo de contacto con agua y energía libre superficial (componente dispersiva y componente polar) para la membrana PES pura, modificada y expuesta a luz UV.

Membrana PES en solución pH2 con luz UV a diferentes tiempos				
TIEMPO	θ AGUA	γ^{LW}	γ^{ab}	γ^{Tot}
0 horas	91.77	16.21	5.37	21.58
1 hora	73.75	6.84	23.23	30.07
3 horas	74.78	8.52	22.08	30.61
6 horas	93.88	25.54	2.14	27.68
Membrana PES con PAADA en solución pH2 con luz UV a diferentes tiempos				
1 hora	84.60	11.05	11.58	22.62
2 horas	80.65	12.81	12.79	25.6
4 horas	82.12	9.22	14.42	23.64
6 horas	84.35	19.38	7.32	26.69
Membrana PES con PAADA + óxido de titanio en solución pH2 con luz UV a diferentes tiempos				
1 hora	65.23	4.28	34.5	38.78
2 horas	65.83	7.39	29.13	36.52
4 horas	54.50	5.43	42.39	47.82
6 horas	66.28	6.13	30.29	36.42

La caracterización por espectroscopia Raman de las membranas pura, modificada y expuesta a la luz UV y solución de pH 2 no muestran cambios en la estructura de la membrana, debido a lo anterior se muestran solo algunos de los espectros ya que todos son similares. En la figura 1 se muestra el espectro Raman de la membrana de PES, en dicho espectro se pueden observar las bandas características de la polietilsulfona, la banda alrededor de los 3000 cm⁻¹ corresponde C-H aromáticos, a 1500 cm⁻¹ se observa la banda característica de C=C, también se observan dos bandas en 1165 – 1120 cm⁻¹ las cuales corresponden al grupo SO₂. El espectro de la membrana expuesta a la luz UV durante 6 horas se muestra en la figura 2, se puede observar que este espectro es muy similar al de la membrana de PES pura, lo cual nos indica que el polímero no se está descomponiendo y que es estable a la acción de la luz UV. En la figura 3 tenemos el espectro de la membrana modificada con PAADA y TiO₂, para este espectro se buscaron zonas donde se observarían partículas y esas fueron enfocadas con el microscopio. En dicho espectro se pueden observar las bandas características en la región de 100-800 cm⁻¹. Los picos a 140, 395, 516 y 640 cm⁻¹ son atribuidos a los cristales de TiO₂ en su fase cristalina conocida como anatasa. La banda a 140 cm⁻¹ se observa como una señal intensa y también es atribuida al TiO₂ en fase anatasa. Estas mismas bandas se observan en el espectro de la Figura 5, que corresponde a la membrana modificada y usada para la filtración de BSA, al obtener un espectro similar al obtenido para la membrana modificada sin usar, nos indica que el TiO₂ permanece en la membrana al menos durante el tiempo que dura el experimento. Por otra parte, no se observan nuevas bandas que puedan atribuirse a la proteína que pudiera estar adsorbida en la superficie de la membrana, lo cual concuerda con los datos de ángulo de contacto, pues estas membranas presentan superficies hidrofílicas que ayudan a disminuir el ensuciamiento sobre las superficies de las membranas.

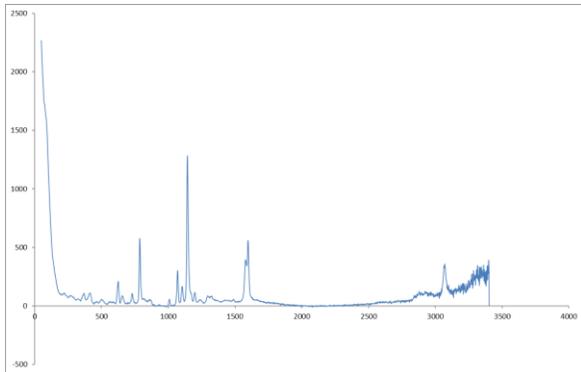


Figura 1. Espectro Raman de la Membrana de PES

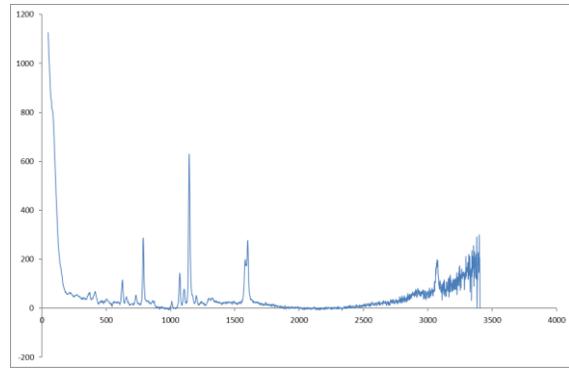


Figura 2. Espectro raman de la membrana de PES expuesta a luz UV por 6 horas

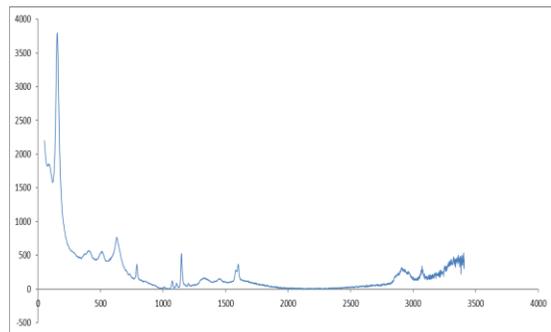


Figura 3. Espectro raman membrana PES modificada con copolímero PAADA y TiO₂

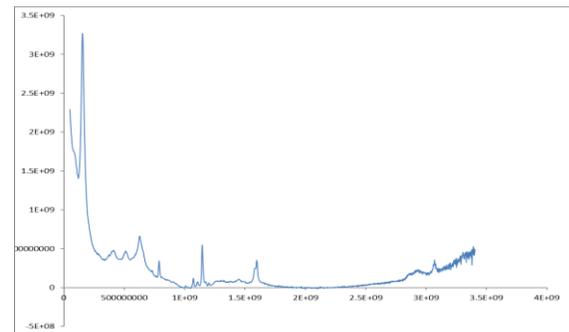


Figura 4. Espectro raman membrana PES con copolímero y TiO₂ usada en la filtración de BSA.

Después de llevar a cabo la caracterización superficial de las diferentes membranas, se llevó a cabo un estudio del desempeño funcional de las membranas modificadas y la membrana de PES pura, para lo cual se permeó una solución de proteína BSA a través de las diferentes membranas y se evaluaron el flujo y la retención de proteína.

En la tabla 2 se encuentran reportados los valores de flujo de permeado y % Retención de BSA para cada una de las membranas estudiadas. En la tabla se puede observar que los valores de flujo para la membrana pura son de alrededor de 410 L/m² h, y se mantienen durante el tiempo que dura el experimento, en tanto que los porcentajes de retención de la proteína BSA son muy bajos (3%). Este comportamiento es diferente cuando las membranas son modificadas, el flujo se reduce de manera drástica respecto al observado para la membrana pura, esta reducción puede ser atribuida a que la modificación no sólo afectó la superficie de las membranas, si no que los poros han sido reducidos por la adsorción del PAADA, cuando la membrana se modifica con la mezcla PAADA + TiO₂ se observa un ligero incremento en el flujo respecto a la membrana que solo se modifica con PAADA, esto se atribuye a que la superficie de la membrana modificada con la mezcla presenta una mayor hidrofiliicidad .

En el caso de la retención podemos observar que esta se presenta un incremento de más del 90% respecto al observado para la membrana sin modificar. Así cuando la membrana se modifica con PAADA se tienen retenciones por arriba del 80 % en tanto que cuando se utiliza la mezcla PAADA + TiO₂ para modificar se obtienen retenciones del 100 %.

El incremento en las retenciones se atribuye a la presencia de nuevos grupos funcionales en la superficie de la membrana que generan carga superficial, lo que da lugar a interacciones de tipo electrostático (repulsión) con el soluto (BSA), además de la reducción del tamaño de poro, es decir las elevadas retenciones de BSA por las membrana modificadas se deben a dos fenómenos conjugados, reducción de los poros de las membranas e interacciones de tipo electrostático.

Finalmente, cuando se probó que el copolímero PAADA + TiO₂ son buenos agentes modificadores de la membrana de PES, se llevó a cabo un tratamiento de estas membranas con un plasma de CO₂ con potencia media y un tiempo

de 15 minutos, esto con la finalidad de que la capa de polímero y nanopartículas se establezca en la superficie de la membrana y la modificación sea estable. Los resultados obtenidos sobre el desempeño funcional de esta membrana se muestran en la Tabla 3. Se puede observar que los flujos se incrementan respecto al observado para las membranas modificadas sin tratamiento con plasma, esto nos indica que el tratamiento con plasma transforma la superficie, lo cual puede ser debido a dos factores, el primero sería el entrecruzamiento de la cadena de PAADA o bien al devastado de la capa polimérica o a ambos. En el caso de la retención sucede lo contrario que para el flujo es decir decrece respecto al observado en las membranas sin tratamiento con plasma, sin embargo, sigue siendo elevado (68 %), lo cual indica que el devastado si ocurrió fue muy pequeño.

Tabla 2. Desempeño funcional de las membranas PES 50 Kda modificadas y pura. Flujo de permeado (Flux) y % Retención de BSA.

# Pemeado	Membrana PES con PAADA		Membrana PES 50KDa sin modificación		Membrana PES con PAADA y TiO ₂	
	Flux (L/m ² h)	%Retenido	Flux (L/m ² h)	%Retenido	Flux (L/m ² h)	%Retenido
1	22.937	86.67	425.10	1.212	37.627	100
2	23.299	89.06	410.61	1.818	39.253	100
3	23.780	92.58	415.18	4.848	40.397	100
4	24.262	92.83	410.35	4.545	41.300	100
5	24.804	92.70	400.55	3.333	41.481	100

Tabla 3. Desempeño funcional de las membranas PES 50 Kda modificadas con PAADA + TiO₂ y tratamiento con plasma de CO₂. Flujo y % Retención de BSA.

Membrana PES modificada con Plasma CO ₂		
# Permeado	Flux (L/m ² h)	%Retenido
1	234.31	68.923
2	215.97	69.077
3	207.82	69.385
4	195.60	69.538
5	154.85	69.538

CONCLUSIONES

A partir de los espectros Raman, podemos decir que las membranas de PES no presentan degradación por efecto de la luz UV, cuando se encuentran sumergidas en soluciones en condiciones ácidas; el tratamiento de modificación genera cambios en las propiedades superficiales de la membrana, la capa de PAADA es muy delgada ya que no es posible observar alguna señal de este polímero por Raman, sin embargo, es posible observar bandas atribuibles al TiO₂ en fase anatasa.

La modificación con PAADA + TiO₂ logra que las superficies de las membranas sean más hidrofílicas, lo que ayuda a reducir el fenómeno de ensuciamiento superficial,

El desempeño funcional de las membranas cambia con los tratamientos de modificación, reduciendo los flujos e incrementando la retención de la proteína BSA.

El espectro de Raman muestra que la proteína BSA no se adsorbe sobre la superficie de la membrana modificada con PAADA + TiO₂ durante la prueba de desempeño, lo cual corrobora que se han mejorado las características de antiensuciamiento en las membranas.

BIBLIOGRAFIA

- Porter, Mark C. (1990). Handbook of Industrial Membrane Technology. United States: Noyes Publications.
- Baker, Richard W. and et al. (1991). Membrane Separations Systems: Recent Developments and Future Directions. United States : Noyes Data Corp.
- Porter, Mark C. (1990). Handbook of Industrial Membrane Technology. United States: Noyes Publications.
- Cheryan, Munir. (1998). Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. s.l. : Technomic Publishing Co.

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por la oportunidad y realización de este tipo de actividades para nosotros los estudiantes y al Laboratorio Nacional LACAPFEM (Laboratorio de Espectroscopia Raman) que es parte de la Universidad de Guanajuato por darnos acceso al uso de equipo muy sofisticados para poder realizar las diferentes actividades, también quiero agradecer a la Dra. María del Pilar Gonzales Muñoz, encargada del proyecto asignado por su compromiso y disposición hacia nosotros.

¹BIOPROSPECCIÓN GENÓMICA DE EXTREMÓFILOS DEL ALTIPLANO EN SAN LUIS POTOSÍ, RESERVORIO DE NUEVOS GENES DE PRODUCTOS NATURALES CON APLICACIÓN INDUSTRIAL DEL 20°VCRC

¹Guadalupe Angélica Muro Valdivia y Sandra Pérez Miranda²

RESUMEN

Existen actinobacterias extremófilas, bacterias Gram positivas filamentosas, capaces de solubilizar fósforo ya sea fosfatos o fósforo inorgánico para que las plantas puedan hacer uso de este nutriente (Ortiz *et al.*, 2016; Prada 2013), por lo tanto, como un paso primordial, la caracterización de tales actinobacterias es importante para una posterior identificación de actinobacterias solubilizadoras de fósforo y finalmente una bioprospección genómica de genes involucrados en rutas metabólicas solubilizadoras de fósforo y así lograr un impacto industrial en el campo de la agricultura convencional de forma más sustentable (Jiménez, 2010). En este trabajo se logró aislar y caracterizar morfológicamente cepas de actinobacterias posibles solubilizadoras de fósforo obtenidas de zonas áridas de Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

ABSTRACT

There are extremophile actinobacteria, filamentous Gram positive bacteria, able to solubilize phosphorus either phosphate or inorganic phosphorus so that plants can make use of this nutrient (Ortiz *et al.*, 2016; Prada 2013), therefore, as a primordial step, the characterization of such actinobacteria is important for a later identification of phosphorus solubilizing actinobacteria and finally a genomic bioprospection of genes involved in phosphorus solubilizing metabolic pathways and thus achieve an industrial impact in the field of conventional agriculture in a more sustainable way (Jiménez, 2010). In this work it was possible to isolate and characterize morphologically possible strains of actinobacteria phosphorus solubilizers obtained from arid zones of Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

Palabras Clave: Actinobacterias solubilizadoras de fósforo, aislamiento, caracterización, identificación.

MÉTODOS Y MATERIALES

Aislamiento de cepas por estría. Se reactivó la cepa por placa vertida en medio AN, MM, SFM, GA según la cepa identificada se incubaron a 28°C por 24horas hasta 72horas dependiendo de la cepa. Para el aislamiento de la cepa fue por estría en cajas Petri usando el medio previamente usado para cada cepa. Se incubaron a 28°C por 24horas.

Caracterización de actinobacterias.

- Macroscópicamente: se observaron las colonias aisladas en el estereoscopio para obtener las características morfológicas de las colonias como forma, borde, elevación, aspecto, consistencia, color, color de la espora, superficie.
- Tinción de Gram: de cada cepa se tomó una muestra de las colonias aisladas para la observación microscópica de los filamentos. La tinción se realizó de la siguiente manera: se añadía cristal violeta a la muestra por un minuto, después se enjuagó con agua destilada; se agregó lugol por un minuto, después enjuague con agua destilada; la cetona se aplicó por 30 segundos, después enjuague; finalmente la safranina por un minuto y enjuague.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Ciencias Biológicas; Carretera Torreón-Matamoros, C.P: 00000, Torreón, Coah., guadalupeuro@uadec.edu.mx

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, División de Biología Molecular; Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4^a secc., C.P: 78216, San Luis Potosí, SLP, sandra.perez@ipicyt.edu.mx

Obtención de biomasa en glicerol para la conservación de cepas axénicas. Se agregó 2ml de glicerol al 40% en cada caja Petri. Con puntillas de micropipetas se removieron las esporas, posteriormente se recolectaron las esporas en un vial y se mantuvieron en un ultracongelador a -80°C.

Recuento en cámara de Neubauer. Se homogeniza la muestra para sacar una muestra, se coloca en la cámara de Neubauer con el cubreobjetos. Se realiza el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/ml) y se realizan los cálculos correspondientes con la siguiente fórmula genérica.

$$\frac{X \text{ levaduras}}{Y \text{ cuadros}} \times \frac{\# \text{ cuadros cámara}}{\text{Volumen cámara}} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ cm}^3 \text{ (o 1 mL)}} = x \text{ millones de levaduras / mL}$$

Resiembra en medio NBRIP sólido. Para la identificación de las actinobacterias solubilizadoras de fósforo, se resiembró la cepa en un medio NBRIP, el cual contiene como indicador $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ o fósforo inorgánico. En una caja Petri cuadrada se divide en nueve partes para la posterior comparación, en base al conteo de la cámara de Neubauer se toma una alícuota que contenga una concentración de 1×10^6 UFC/ml, se incubó a 28°C y se seleccionan las cepas con la medición de los halos claros producidos descartando las que no crecieron o no produjeron el halo (Lara, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Al principio se contaban con 20 cepas obtenidas de la región de Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, a medida que se fueron aislando para purificar las cepas se encontraron, macroscópicamente (forma, aspecto, consistencia, color, espora, superficie) y microscópicamente, otras colonias diferentes características a los cuales se les asignó un nuevo ID, resaltadas con amarillo en la tabla 1. Asimismo, se descartaron algunas cepas por su filamento similar como SS4-5 y SS3-40, mientras que la cepa SS4-3 se descartó debido a que era una bacteria rosa.

Cepa descartada	Cepa conservada
SS4-4	= SS4-5
SS3-52	= SS3-40
SS4-3	bacteria rosa

Dentro de ellas algunas cepas presentaban pigmentos como el SS3-49 de color morado, mientras que su espora era de color blanca. Por otro lado, la cepa SS3-31 presentó un claro ejemplo de las simbiosis de las actinobacterias y bacterias, segregando en ocasiones líquido estando en una situación de estrés y creciendo unidas de forma muy arraigada, como se muestra en la imagen 1.

En total se obtuvieron cinco cepas axénicas que se conservaron en glicerol al 40%. Debido a la inesperada contaminación de la totalidad las cepas se detuvo el protocolo de identificación de las actinobacterias solubilizadoras de fósforo en medio de cultivo NBRIP sólido, pues para obtener resultados óptimos y significativos en la posterior la bioprospección genómica se requiere de cepas puras.

CONCLUSIONES

En la ciencia, la ética es importante para llevarse a cabo los objetivos de los proyectos de investigación ya que implica gastos de material, equipo y tiempo, los cuales son muy valiosos para que la ciencia avance. A pesar de la limitante contaminación se logró aislar cinco actinobacterias axénicas. Se requiere más investigaciones

sobre la relación simbiótica de las bacterias y actinobacterias en un ambiente de estrés, ya que se sabe poco de ello,

# cepas	ID	Nuevo ID	Origen	MC	Origen M	cultivo	Forma	Borde	Elevación	Aspecto	Consistencia	Color	Espora	Superficie	Gram	Glicerol
1	SS3-40		sedimento	AN	SFM	circular	continuo	elevado	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	
2	SS3-41				SFM	circular	continuo	elevado	opaco	dura	beige	blanca	blanca	rugoso	+	
3	SS3-42 a				SFM	circular	continuo	plana	opaco	dura	traslúcida	blanca	blanca		+	
b		SS3-35			SFM	circular	continuo	umblicada	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	
4	SS3-43		sedimento	AN	SFM	puntiforme	erosionado	elevada	opaco	dura	traslúcida	blanca	blanca		+	
		SS3-17			SFM	circular	continuo	umbonada	opaco	dura	traslúcida	blanca	blanca		+	*
5	SS3-44		sedimento	AN	SFM	circular	continuo	convexo	opaco	dura	traslúcida	amarillo	rugoso		+	
6	SS3-45		sedimento	AN	SFM	circular	continuo	umblicada	opaco	dura	traslúcida	rugoso			+	
7	SS3-46		sedimento	MM	SFM	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	
8	SS3-47				SFM	circular	continuo	umblicada	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	
		SS3-31			SFM	circular	continuo	umbonada	opaco	dura	traslúcida	blanca	blanca		+	*
9	SS3-48 a		sedimento	MM	SFM	puntiforme	continuo	umblicada	opaco	dura	beige	verdoza			+	
b		SS3-36			SFM	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanco			+	
10	SS3-49		sedimento	MM	SFM	puntiforme	continuo	convexo	opaco	dura	morado	blanca	blanca		+	
11	SS3-50a		sedimento	MM	SFM	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	blanca	lisa	+	
b		SS3-37			SFM	circular	continuo	umbonada	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	
12	SS3-51		sedimento	MM	SFM	puntiforme	continuo	convexo	opaco	dura	traslúcida	blanca	blanca		+	
13	SS3-53		sedimento	MM	SFM	irregular	continuo	pulvinada	opaco	dura	amarillo	blanca	blanca		+	
14	SS3-54 a		sedimento	MM	SFM	puntiforme	continuo	umblicada	opaco	dura	beige	amarillo pálido			+	
b		SS3-38			SFM	circular	continuo	umbonada	opaco	dura	beige	blanca	blanca	lisa	+	
15	SS3-55		sedimento	MM	SFM	puntiforme	ondulada	plana	opaco	dura	traslúcida		blanca	lisa	+	
16	SS3-56		sedimento	MM	MM	irregular	lobulado	umbonada	opaco	dura	beige	blanco			+	
17	SS3-57		sedimento	MM	SFM	puntiforme	continuo	convexo	opaco	dura	beige	amarillo			+	*
18	SS4-1		sedimento	GA	GA	circular	continuo	elevado	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	*
19	SS4-2		sedimento	GA	GA	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	**
20	SS4-5		sedimento	MM	GA	puntiforme	continuo	plano	opaco	dura	beige	blanca	blanca		+	

Tab. 1. Lista de actinobacterias de Salinas de Hidalgo y sus características correspondientes

BIBLIOGRAFÍA

Jiménez, G., & Tatiana, Y. (2010). *Los actinomicetos: una visión como promotores de crecimiento vegetal* (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias)

Lara, C., Sanes, S. C., & Oviedo, L. E. (2013). Impacto de bacterias nativas solubilizadoras de fosfato en el crecimiento y desarrollo de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.). *Biotechnología Aplicada*, 30(4), 276-279

Ortiz, Tatiana, Ocampo, Valeria, Prada, Luis Daniel, & Franco-Correa, Marcela. (2016). Métodos de conservación para actinobacterias con actividad solubilizadora de fósforo. *Revista Colombiana de Biotechnología*, 18(2), 32-39. <https://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.47683>

Prada, L. D. (2013). *Identificación de ácidos orgánicos causantes de la solubilización de fósforo inorgánico sintetizados por actinomicetos aislados de suelos en los andes orientales colombianos* (Doctoral dissertation, Tesis de Maestría en Ciencias–Microbiología). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia

PURIFICACIÓN BIOLÓGICA DE BIOGAS MEDIANTE MICROORGANISMOS METANÓGENOS HIDROGENOTRÓFICOS

Hernández Gómez Guillermo¹ y Arriaga García Sonia Lorena²

RESUMEN

Este proyecto, describe un proceso de purificación del biogás, aprovechando el CO₂ existente, incrementando el porcentaje de CH₄ presente entre 95-100% para lograr un gas de alta pureza, conocido como biometano, combustible eficiente con capacidad calorífica similar al gas natural. Como beneficios, se reducen emisiones de gases a la atmósfera y se realiza una producción limpia de combustible. La generación de biometano se realiza en un proceso *ex situ* con una alimentación exógena de H₂ y una fuente de C de CO₂ a través de la reacción de Sabatier con un inóculo adaptado de microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos. El presente reporte, introduce aspectos generales del proyecto y describe las actividades desarrolladas por el estudiante del Verano de la Ciencia 2018 en el IPICYT, realizadas como parte de las pruebas de toxicidad, biodegradabilidad y cinéticas, que sirven para determinar las condiciones óptimas del medio para una mayor producción de biometano.

ABSTRACT

This project describes a process of biogas upgrading, increasing the percentage of CH₄ present in the biogas up to 98% obtaining a high purity biomethane, an efficient fuel with similar heat capacity of natural gas. As benefits, emissions of gases such as CO₂ into the atmosphere are reduced and a clean production of fuel is carried out. The generation of biomethane was carried out in an *ex situ* process with an exogenous H₂ supply and a C source of CO₂ through the Sabatier reaction with an adapted inoculum containing methanogenic hydrogenotrophic microorganisms. This report introduces general aspects of the project and describes the activities developed by the student of the Summer of Science 2018 in the IPICYT, carried out as part of the toxicity, biodegradability and kinetics tests, which serve to determine the optimal conditions of the medium for a greater production of biomethane.

Palabras clave: biometano, hidrogenotrófico, microorganismos

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una gran preocupación por las problemáticas ambientales que prevalecen en la actualidad principalmente por actividades antropogénicas, mismas que han derivado, en problemas como: el calentamiento global y el cambio climático. De acuerdo con Bajón-Fernández (2017) el dióxido de carbono (CO₂) es la principal razón del cambio climático y del calentamiento global, es por esto, que los enfoques tecnológicos para la generación de alternativas para la captura de este gas se han intensificado de manera exponencial, buscando obtener beneficios a partir de la no emisión de este gas contaminante a la atmósfera.

Existen técnicas físicas y químicas diseñadas para llevar a cabo la captura de CO₂ de la atmósfera, tales como los almacenamientos geológicos y oceánicos, utilizados como reservorios de carbono. Sin embargo, estas alternativas resultan poco prácticas debido a su costo de operación y el posible efecto colateral al implicar un impacto ambiental directo al ecosistema. Por otro lado, existen técnicas biológicas, una de ellas la biometanización, la cual, tiene como finalidad purificar el biogás (CO₂ + CH₄), aprovechando el CO₂ que contiene, con la finalidad de incrementar el porcentaje de metano (CH₄), hasta en un 98% para lograr un gas de alta pureza, conocido como biometano, un combustible eficiente con capacidad calorífica similar al gas natural, con un impacto ambiental mucho menor al tener un enfoque sustentable de generación de combustible.

¹ UASLP, Facultad de Ingeniería, Avenida Doctor Manuel Nava 304, Bellas Lomas, C.P: 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México, memo_snl@hotmail.com

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, División de Ciencias Ambientales, sonia@ipicyt.edu.mx

El proceso llevado a cabo se realiza por medio de la acción de los microorganismos hidrogenotróficos, los cuales producen CH_4 a partir del consumo de hidrógeno (H_2) como donador de electrones y del CO_2 como fuente de carbono, proceso descrito por la reacción de Sabatier, ver ecuación 1). De acuerdo con los experimentos realizados por (XU, H., 2015) se sugiere la relación adecuada de mayor producción de metano en condiciones de pH propicias para el desarrollo de los microorganismos *Methanobacterium thermoautotrophicum*, la cual es 4:1 (H_2 : CO_2) para procurar las condiciones de alcalinidad del medio en donde estos se desarrollan con un pH de 7-7.5.



El H_2 es un gas muy poco soluble en fase acuosa, lo cual representa un obstáculo para el mayor consumo de este por parte del inóculo. Como alternativa a esta problemática, se añade una fase oleosa al medio (Aceite de Silicona), capaz de retener el H_2 y formar cápsulas dentro de la fase acuosa, permitiendo un mayor consumo de H_2 y, por ende, mayor producción de CH_4 . Como parte del análisis llevado a cabo para determinar el efecto de la mezcla de los gases suministrados, (CO_2 - H_2 , CO_2 - H_2 - CH_4) con modalidades con y sin fase oleosa, con y sin microorganismos y con y sin medio mineral. Los efectos son observados y cotejados para obtener una base de datos que describa las condiciones ideales para la generación del biometano con un alto grado de pureza.

El proyecto en el cual se realizó colaboración corresponde a un proyecto de tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Ambientales en el IPICYT, donde, el grupo de investigación conformado por la Dra. Sonia Arriaga y la estudiante de maestría Mónica Cortés, realizó previamente un desarrollo teórico-experimental que permitió sentar las bases de los experimentos realizados por parte de su servidor en esta estancia. Se presentan de manera resumida los resultados y datos estadísticos generados por el grupo de investigación. El objetivo de este reporte es dar a conocer las actividades realizadas por el estudiante del Verano de la Ciencia de la UASLP 2018 en la División de Ciencias Ambientales del IPICYT dentro de este proyecto, las cuales consistieron en la realización de pruebas de toxicidad y biodegradabilidad y dos cinéticas, mismas que tienen por objetivo, las primeras, corroborar el efecto de la fase oleosa en el medio, para no inhibir la actividad microbiana y favorecer el transporte de masa de H_2 de la fase gas a los microorganismos y así obtener una mayor producción de CH_4 y las segundas, favorecer la velocidad de producción del mismo gas, respectivamente.

MÉTODOS Y MATERIALES

Obtención de inóculo y preparación de medio mineral. Se obtuvo un inóculo (microorganismos) de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria tequilera Casa Herradura, ubicada en Guadalajara, Jalisco, México. Con base en la literatura, se determinó la composición del medio mineral que favoreciera una buena actividad microbiana, en el cuál están presentes en mayor medida compuestos como: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (200mg/L), NaCl (200 mg/L), $\text{MgCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (16.05 mg/L), entre otros.

Prueba de biodegradabilidad y toxicidad con Hexadecano y Aceite de Silicona. Se llevaron a cabo estas pruebas con dos fases oleosas distintas, para determinar la menor biodegradabilidad y menos toxicidad para el inóculo por la presencia de ambos aceites en el medio.

Determinación del coeficiente de partición. Se determinó por medio de mediciones de equilibrio entre el gas en fase gaseosa y fase no acuosa con los gases, CO_2 , H_2 , CH_4 , con los aceites del punto anterior, y medio mineral (M.M)

Cromatografía de gases. El análisis de composición CH_4 , CO_2 e H_2 , se realizó mediante cromatografía de gases en un equipo (Thermo Trace serie 1300) equipado con TCD (detector de conductividad térmica), y una columna Carboxen-1010 PLOT (30 m x 0.53 mm), utilizando nitrógeno como gas acarreador. Para el análisis de los gases se utilizaron los siguientes parámetros: temperatura del horno 160 °C, temperatura del detector TCD 230°C.

Aclimatación del lodo anaerobio. Como parte del experimento se determinó aclimatar el inóculo para favorecer la reproducción de microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos para la producción de CH_4 , el inóculo, inicialmente no presentaba una población mayoritaria de este tipo de microorganismos, por lo cual, se aclimató, mediante cuatro etapas al inóculo para consumir H_2 y CO_2 .

Resultados. Como parte de los resultados obtenidos previamente por el grupo de investigación destacan:

- Aclimatación y enriquecimiento exitoso de microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos
- Determinación del aceite a utilizar, por resultados de pruebas de toxicidad y biodegradabilidad: Aceite de silicona
- Observancia del efecto del medio mineral con respecto a los coeficientes de partición para los gases, los cuales resultaron ser menores en comparación a las sustancias no acuosas

Actividades realizadas durante la estancia

- **Pruebas de Toxicidad y Biodegradabilidad.** Se realizaron estas pruebas con una duración de 30 días, en las que, se llevó a cabo un registro de las áreas bajo la curva obtenidas a partir de cada medición de los “Tratamientos”, como fueron etiquetadas las botellas para estas pruebas. El objetivo de estas pruebas fue analizar el efecto que tenía el aceite de silicona (F.O.) en el medio en las botellas de diferentes composiciones en cuanto a su toxicidad y biodegradabilidad, esto es, que no sea tóxico para el inóculo (no inactivo no mate a los microorganismos), efecto observado a través de la producción de CH₄; y por otro lado, por parte de la biodegradabilidad, que fuera menos biodegradable para el inóculo, esto es, que no sea consumido por el mismo, para no inhibir la retención de H₂ en la fase acuosa, efecto observado a través de la producción de CO₂. El total de botellas fue de 30.
- **Cinéticas.** Con la finalidad de comprobar el efecto de aumento en la velocidad de producción de CH₄, así como la retención de H₂, ambos, por medio de la acción del aceite de silicona (F.O.), observando estos efectos en la producción de CH₄ realizando una comparativa en cuanto a la velocidad de producción en la cinética con y sin fase oleosa, y a su vez, por medio de controles experimentales. Se prepararon “Experimentos” y “Controles” con botellas preparadas con composiciones iguales y por triplicado, siendo la distinción que en una de las pruebas se adicionó F.O. para analizar el efecto de forma directa. El total de botellas fue de 42 por cada prueba de cinética.

Preparación de botellas serológicas. Se prepararon las botellas serológicas con diferentes composiciones, para ser analizadas por cromatografía de gases en un periodo de tiempo de un mes y quince días, de acuerdo con el tipo de prueba que se realizó (Toxicidad y biodegradabilidad y Cinéticas respectivamente). Se prepararon inicialmente treinta botellas serológicas con volumen de 60 mL, en las cuáles había diez diferentes composiciones, denominadas tratamientos, mismas que se prepararon por triplicado. La preparación constó de 40 mL totales de gases (en caso de llevar), por 20 mL de composición mineral, fase oleosa y/o microbiana (en caso de llevar). La composición de los tratamientos determinada por la Dra. con la estudiante colaboradora fue la siguiente:

- T. 1 y Experimentos de Cinéticas CON F.O.: H₂-CO₂-CH₄, (24, 6, 10 mL), F.O. 2 mL, M.O. 6.2 mL, M.M. 11.8 mL
- T. 2: H₂-CO₂, (32, 8 mL), F.O. 2 mL, M.O. 6.2 mL, M.M. 11.8 mL
- T. 3 y Experimentos de Cinéticas SIN F.O.: H₂-CO₂-CH₄, (24, 6, 10 mL), M.O. 6.2 mL, M.M. 13.8 mL
- T. 4: H₂-CO₂, (32, 8 mL), M.O. 6.2 mL, M.M. 13.8 mL
- T. 5 y Controles de Cinéticas SIN F.O.: M.O. 6.2 mL, M.M. 13.8 mL
- T. 6 y Controles de Cinéticas CON F.O.: M.O. 6.2 mL, M.M. 11.8 mL, F.O. 2 mL
- T. 7: H₂-CO₂-CH₄, (24, 6, 10 mL), M.M. 20 mL
- T. 8: H₂-CO₂, (32, 8 mL), M.M. 20 mL
- T. 9: H₂-CO₂-CH₄, (24, 6, 10 mL), M.O. 6.2 mL, F.O. 2 mL
- T. 10: H₂-CO₂, (32, 8 mL), M.O. 6.2 mL, F.O. 2 mL

M.O.: Microorganismos M.M.: Medio mineral F.O.: Fase oleosa

- **Liberación de botellas, lavado y etiquetado.** Se tomaron botellas limpias y botellas con muestras de experimentos anteriores, que fueron desocupadas, retirando el arillo de recubrimiento de aluminio y el tapón de goma, posteriormente, se lavaron y finalmente fueron etiquetadas de acuerdo con la nueva nomenclatura.
- **Colocación de muestras fase acuosa.** Por medio de la utilización de 10, 100 y 1000 µL, se tomaron las muestras de M.O., F.O. y M.M. de acuerdo con cada tratamiento y siendo colocadas en las botellas asignadas.
- **Intercambio de atmósfera.** Se realizó dentro de las botellas, esto es, por medio de un gas inerte, en este caso el N₂ que es inyectado a las botellas, libera el aire y/o gases presentes previamente en la botella, se

realiza colocando dos agujas en la botella, una con la manguera que lleva N_2 y la otra libera los gases, posterior a este paso, las botellas quedan listas para recibir los gases inyectados.

- **Inyección de gases.** De acuerdo con la cantidad establecida para cada botella, se inyectan, por medio de jeringas de 5 y 25 mL los gases a las botellas ya flusheadas. Los gases son extraídos de bolsas Tedlar, por medio de una aguja especial, siendo esta intercambiada por una más gruesa, con la que se atravesaba el tapón de goma que sellaba las botellas.
- **Análisis de muestras en Cromatógrafo de Gases.** Para el análisis cromatográfico del gas, se extrajo, por medio de una jeringa de 10 μ L, una muestra de cada botella, con la utilización de dos agujas, una para extraer el gas de la botella, y otra, para inyectar la muestra al cromatógrafo. Se utilizó el equipo X donde, la medición de la muestra se expresaba en un área bajo la curva, misma que era observada en la computadora conectada al equipo. Cada muestra tenía una duración de alrededor de 12 minutos, donde la curva mostraba presencia de, entre otros gases, H_2 - CO_2 - CH_4 , presentándose en los intervalos (7-8.5;8.5-9.5;9.5-11) respectivamente, los cuáles eran los gases de interés para análisis en el trabajo.
- **Toma de muestras para análisis de AGVs.** Como parte de las cinéticas realizadas, se llevó a cabo la toma de muestras de fase acuosa de las botellas preparadas, la cual consistió en extraer 1.5 mL por medio de una jeringa de 3 mL y colocarlos en cápsulas especiales para estas muestras. Este análisis se realiza con la finalidad de determinar presencia de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) por electroforesis capilar.

RESULTADOS

Para el periodo de la estancia del Verano de la Ciencia UASLP 2018 correspondiente a un mes, de acuerdo a la agenda interna del IPICYT se realizaron fundamentalmente tres pruebas: una de toxicidad y biodegradabilidad y dos de cinéticas, las cuáles consistieron fundamentalmente en analizar muestras en el cromatógrafo de gases, obteniendo valores de área bajo la curva, necesarios para realizar interpretaciones de concentraciones y volúmenes de los gases analizados, llenando bases de datos para la realización de recursos gráficos que presenten los resultados de estas pruebas.

Cinética H_2 - O_2 - CH_4 Sin Fase Oleosa

En la prueba de cinética sin fase oleosa, se pudo apreciar una notable producción de CH_4 para los experimentos, conforme pasaron los días el crecimiento fue mucho mayor con respecto a la producción en los controles; respecto a los gases H_2 y CO_2 , se observaron diferencias poco significativas entre experimentos y controles. Sin embargo, en ambos casos, la tendencia fue de disminuir concentraciones y su equivalente en volúmenes en comparación con la producción de CH_4 en los experimentos, los efectos descritos se pueden observar en la Figura 1.

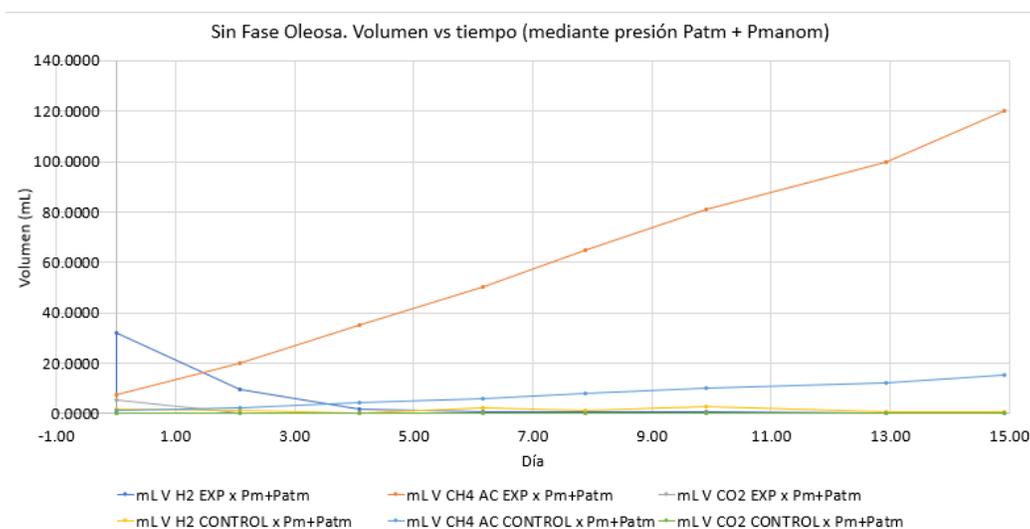


Figura 1. Representación gráfica de los resultados de la Cinética Sin Fase Oleosa

Cinética H₂-CO₂-CH₄ con Fase Oleosa

En la prueba de cinética con fase oleosa, de la misma forma, la producción de CH₄ en los experimentos fue considerablemente más alta con relación a la de los controles, la diferencia, con relación a la cinética sin fase oleosa, fue que la producción de CH₄ fue más rápida, observando un 99.7% de CH₄ producido para la séptima medición contra un 98.97% equivalente para la cinética sin F.O., corroborando el efecto esperado por el aceite de retener el H₂ y hacerlo disponible para los microorganismos en el medio. Por otro lado, si bien, la tendencia de los gases H₂ y CO₂ era que fuera a la baja, debido al consumo de estos por parte del inóculo y esta se confirma, el gráfico denota un cambio poco significativo relacionándolo con la producción de CH₄. Se espera que la tendencia de este experimento siga la tendencia hasta ahora descrita en la Figura 2, favoreciendo la producción de CH₄ con un porcentaje de producción cercano al cien por ciento.

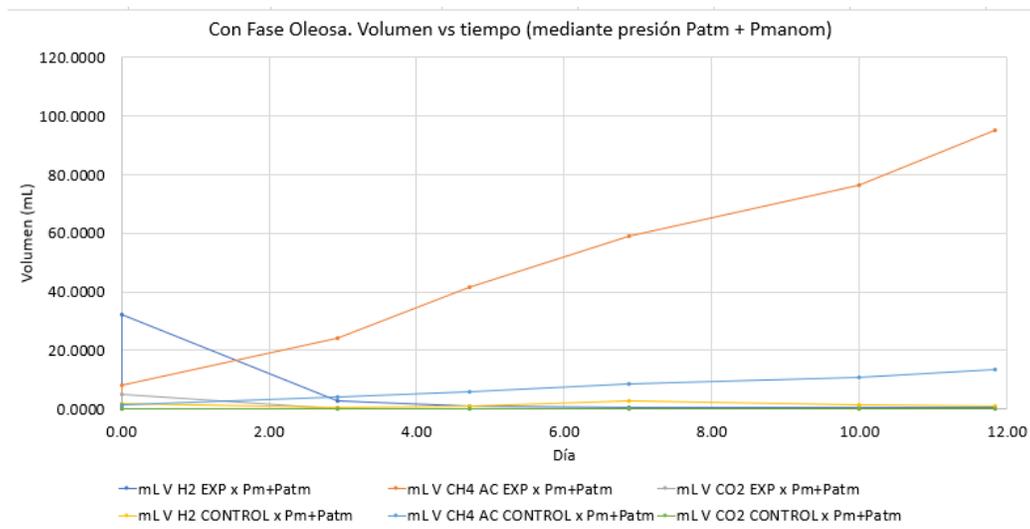


Figura 2. Representación gráfica de los resultados de la Cinética Con Fase Oleosa

Las pruebas realizadas corroboran los resultados sugeridos por la literatura, y a su vez, otorgan validez a los experimentos realizados previamente por el grupo de investigación, observando la reproducibilidad de estos. A nivel experimental y con volúmenes de trabajo relativamente pequeños, se observa un efecto positivo para la finalidad del proyecto, en este caso, la producción de CH₄, encontrando eficaces las metodologías y medidas tomadas para optimizar un proceso que ya es realizado obteniendo mejores rendimientos.

No se reportan resultados de Pruebas de Toxicidad y Biodegradabilidad debido a la necesidad de obtención de información adicional para la base de datos mismos que se habrán de generar después de la estancia de verano.

CONCLUSIONES

Por medio de las pruebas experimentales y análisis llevados a cabo por parte del grupo de investigación, pudimos comprobar los efectos esperados de forma teórica y en experimentos previos. De manera general, y para las pruebas realizadas en el periodo de la estancia, observamos cómo es que, en efecto, primeramente, el inóculo fue adaptado de manera satisfactoria, de tal manera que por medio de la alimentación de H₂ y CO₂, se llevó a cabo la producción de CH₄ en gran medida, y, siendo este efecto favorecido por la implementación de la fase oleosa, el aceite de silicona, que facilita la disponibilidad del H₂, en una fase acuosa, donde se encuentran presentes los microorganismos, a pesar de la insolubilidad de este gas. Con las diversas mediciones llevadas a cabo, se hicieron determinaciones tales que

permitieron conocer la composición del medio más adecuada para favorecer condiciones óptimas para preservar el inóculo, con un consumo de gases significativo y una producción por demás satisfactoria de gas metano.

Como parte de esta estancia del Verano de la Ciencia, me he adentrado en el proyecto, conociendo más a fondo la finalidad, la dinámica, la relevancia y la complejidad de este, y, a su vez, el importante trabajo tanto de investigación como de experimentación realizado hasta el momento. Al analizar la información generada, determinamos que la experimentación se ha realizado de forma correcta y, de la misma manera, soy consciente de la contribución personal en la consecución de esta.

BIBLIOGRAFIA

BAJÓN FERNÁNDEZ, Y., SOARES, A., KOCH, K., VALE, P., & CARTMELL E. (2017). Bioconversion of carbon dioxide in anaerobic digesters for on-site carbon capture and biogas enhancement – A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47:17, 1555–1580.

XU, H., GONG, S., SUN, Y., MA, H., ZHENG, M. & WANG, K. (2015). High-rate hydrogenotrophic methanogenesis for biogas upgrading: the role of anaerobic granules. *Environmental Technology*, 36:4, 529-537.

ESTUDIO DINAMICO DE PROPIEDADES MECANICAS DE CELULAS HUMANAS

Héctor Alejandro Contreras Sánchez¹ y Beatriz Morales Cruzado²

RESUMEN

Las pinzas ópticas, conocidas también como trampas ópticas, consisten en un dispositivo que puede aplicar y medir fuerzas del orden de los picoNewtons (10^{-12}Newtons) sobre un objeto dieléctrico de tamaño microscópico usando un haz de luz enfocado. Esta característica hace que las trampas ópticas sean útiles para estudiar y manipular sistemas biológicos como: plegamiento de macromoléculas, resistencia de la membrana celular, movimiento flagelar, entre otros, lo que hace a las pinzas ópticas una gran herramienta en el área de la biofísica. En este trabajo se usa un sistema de dos pinzas ópticas para atrapar dos partículas adheridas a los extremos de un eritrocito con el objetivo de estudiar sus propiedades viscoelásticas a través de la respuesta ante deformaciones que dependen del tiempo, es decir, al estirar y comprimir el eritrocito a diferentes frecuencias.

Palabras clave: manipulación óptica, eritrocitos, propiedades viscoelásticas.

ABSTRACT

Optical tweezers, also known as optical traps, consists in an optical system that can apply and measure forces on the order of picoNewtons (10^{-12}Newton) on a microscopic dielectric object using a laser beam. This feature makes optical traps useful to study and manipulate biological systems as: macromolecules folding, cellular membrane resistance, flagellar movement, and others, making optical tweezers a big tool in biophysics area. In this work, a two optical tweezers system was used to trap two particles attached to the extremes of a red blood cell in order to study their viscoelastic properties through its response to deformations that depends on time, that is, extend and compress the erythrocyte at different frequencies.

Keywords: optical manipulation, erythrocytes, viscoelastic properties.

INTRODUCCIÓN

El estudio de sistemas biológicos a través de pinzas ópticas es cada vez más utilizado debido a las características que ofrece esta herramienta para el análisis de sistemas microscópicos, como lo puede ser la célula. Un claro ejemplo es el reciente trabajo de Díaz Santana [1], quien desarrolló una metodología para estudiar las propiedades mecánicas de células cancerígenas con un sistema de pinzas ópticas duales. La importancia surge de la relación que pueda tener la resistencia mecánica de la membrana celular con algunas patologías. Por lo que, con el método de estudio diseñado por Díaz Santana, es posible realizar esta investigación. Los objetivos para este trabajo son: entender y utilizar un arreglo de pinzas ópticas holográficas para obtener experimentalmente las propiedades viscoelásticas de la membrana celular de eritrocitos utilizando un sistema dinámico de deformación celular.

MARCO TEORICO

Una pinza óptica se basa en la fuerza que ejerce un haz de luz fuertemente enfocado para confinar partículas micro y nanométricas. Esto se logra mediante un objetivo de microscopio de alta apertura numérica, que concentra un haz de luz.

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias; Lateral Av. Salvador Nava s/n, Lomas, C.P: 78290, San Luis Potosí, San Luis Potosí, hectoralexcs.bio@gmail.com

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ingeniería; Manuel Nava #8, Zona Universitaria, C.P: 72890, San Luis Potosí, San Luis Potosí, beatriz.morales@uaslp.mx

Las fuerzas resultantes que provocan el atrapamiento se clasifican en: fuerza de gradiente, que impulsa a la partícula hacia la zona de mayor intensidad en el punto focal de la lente; y fuerza de *scattering* o dispersión, que impulsa la partícula lejos del foco en la dirección de propagación del haz [2].

Las partículas coloidales tienen la característica de estar en movimiento browniano; es decir, que tienen un movimiento aleatorio debido al golpeteo de las moléculas de solvente que las rodean. Si por alguna razón una partícula atrapada en una pinza óptica es movida de su punto de equilibrio; las fuerzas de *scattering* y de gradiente se encargan de regresarla a la posición de equilibrio. La fuerza de restitución que siente la partícula atrapada en una pinza óptica es semejante a un oscilador armónico simple que obedece la ley de Hooke. Existen diferentes métodos de calibración de la pinza óptica [3]. Aquí se utilizará el teorema de equipartición de la energía, el cual nos relaciona la temperatura del sistema con su energía media de la siguiente manera:

$$\langle U \rangle = \left\langle \frac{1}{2} k_x (x - x_0)^2 \right\rangle = \frac{1}{2} k_B T \quad (1)$$

donde, $\langle U \rangle$ es la energía media del sistema por grado de libertad, x_0 es la posición de equilibrio de la trampa óptica, k es la constante de rigidez de la pinza, k_B es la constante de Boltzmann y T es la temperatura.

El arreglo de pinzas ópticas del laboratorio de termofluidos de la facultad de ingeniería de la UASLP tiene acoplado un modulador espacial de luz (MEL), que permite modificar espacialmente la llegada de la luz sobre la muestra. Este modulador nos da la ventaja de generar más de un punto de atrapamiento y con distancias específicas entre puntos. El MEL cuenta con una pantalla de cristal líquido de 1920 x 1080 píxeles. A esta pantalla llega el haz de luz, que se puede ver como un frente de onda plano; es decir, la luz que incide sobre cada píxel lleva la misma fase. Este haz interactúa con cada píxel de tal manera que, al reflejarse ocurren diversos cambios de fase. Este modulador funciona con hologramas; imágenes en escalas de grises diseñados de tal manera que, al aplicarles la transformada de Fourier, mediante el objetivo de microscopio, generen una imagen con las características de interés, en nuestro caso dos puntos brillantes para lograr las dos trampas.

Para este trabajo, es de interés que se generen los dos puntos de atrapamiento, ya que, se estudiará la deformación de la membrana celular pegando dos partículas de poliestireno en los extremos de una célula, con las pinzas ópticas se atraparán esas partículas y se irá aumentando y disminuyendo la distancia de separación entre las dos trampas, logrando que la célula se relaje y se contraiga armónicamente.

MÉTODOS Y MATERIALES

Análisis del sistema de pinzas ópticas. El arreglo experimental que se muestra en la figura 1 consiste en diversos componentes ópticos cuyas funciones se describen a continuación: La luz para formar la pinza óptica proviene de un láser de onda continua de potencia variable (0-2000 mW) a una longitud de onda de 532nm. Esta fuente de luz es expandida por medio de dos lentes simples y es dirigida, a través de espejos, al modulador espacial de luz. Posteriormente, se ajusta el diámetro de la mancha del láser para que sobrellene la parte posterior de un objetivo de microscopio de alta apertura numérica, que lo enfoca sobre la muestra generando el atrapamiento. Por otro lado, está el sistema de formación de imágenes, cuya fuente de iluminación es una lámpara de luz blanca y el mismo objetivo de microscopio sirve para generar la imagen del plano de atrapamiento, esta imagen es llevada a una cámara de video a través de elementos ópticos.

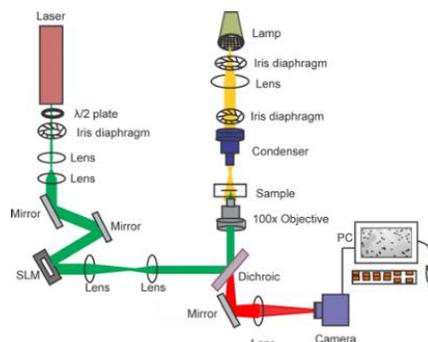


Figura 1. Arreglo experimental de pinzas ópticas holográficas.

Diseño de hologramas para dos puntos de atrapamiento. El diseño de hologramas se elabora primero con el diseño de una imagen de 1920*1080 pixeles en donde, se colocan dos circunferencias de 5 pixeles de radio en el centro de la imagen, con una distancia de separación entre círculos variable. Esta imagen se pasa a un programa en Matlab, que diseña una imagen tal que, al aplicarle la transformada de Fourier, se muestre la imagen que diseñamos inicialmente. La imagen que resulta del programa es nuestro holograma. Se repite este procedimiento para varias imágenes con distintas separaciones entre circunferencias. Los círculos representan nuestros puntos de atrapamiento en las pinzas ópticas.

Preparación de muestras de partículas coloidales. Las muestras preparadas para la calibración de la pinza óptica constan de una mezcla de agua y partículas de poliestireno (Bangs Laboratories Inc) de 2 μm de diámetro, colocada entre un portaobjetos y un cubreobjetos, separados una distancia de 100 μm aproximadamente y selladas con pegamento epóxico de secado rápido.

Calibración para dos puntos de atrapamiento. Los hologramas diseñados se despliegan en el modulador espacial de luz con ayuda de una computadora. En la muestra se observarán los dos puntos de atrapamiento separados cierta distancia. El objetivo de microscopio de las pinzas ópticas hace la transformada de Fourier del holograma desplegado por el modulador. Con ayuda de la platina se llevan dos partículas a cada punto de atrapamiento y se graban videos de 2000 *frames*. Se rastrea la posición de las partículas usando algunos programas implementados en Trackpy [4] y se calculan las constantes de rigidez a una temperatura de 29°C.

Diseño de una función senoidal para dos puntos de atrapamiento. El modulador de luz puede desplegar hologramas a 60fps, con esta característica es posible diseñar funciones de desplazamiento entre las distancias de separación de los dos puntos de atrapamiento. Se diseñó una función del tipo seno,

$$f(x) = A \sin\left(\frac{2\pi}{\tau} x\right) \quad (2)$$

dónde: A es la amplitud y τ es el periodo tiempo que tarda la función seno en dar un ciclo completo. La idea es que el modulador despliegue una secuencia de hologramas tal que, el cambio entre las distancias de los puntos de atrapamiento varíe como una función seno. El modulador cuenta con un software que permite desplegar a 60fps la secuencia de imágenes que representa nuestra función. Esto se hizo para diferentes periodos.

Preparación de las muestras de eritrocitos con partículas coloidales. Se toma una muestra de 30 μL de sangre extraída de un voluntario y se pasa a un tubo eppendorf. En seguida, se prepara una muestra de 500 μL de agua con 100 μL de partículas stock de 2 μm de diámetro. Después, se centrifuga durante 60 seg a 1000 rpm y se retira el líquido sobrenadante. Se repite este proceso 3 veces. Por último, se le añade 100 μL de solución PBS (phosphate buffered saline) al pellet de partículas. Por otro lado, se mezclan 10 μL de la muestra de sangre con 30 μL de partículas y se dejan mezclando de 10 a 15 minutos. Posteriormente, se añaden 50 μL de PBS para diluir nuestra solución de células con partículas y se toman 10 μL de la última muestra, se deposita en un portaobjetos, se le coloca un cubreobjetos, previamente lavado, encima y se sella con pegamento epóxico.

Grabación y rastreo del sistema. Al observar en el arreglo de pinzas ópticas la muestra de eritrocitos con partículas, se busca una célula que tenga unida dos partículas en sus extremos (ver figura 2). Esta célula será la que se utilice para aplicarle la deformación armónica. Con la célula de interés encontrada, se procede a realizar grabaciones con las funciones tipo seno diseñadas con anterioridad a diferentes frecuencias, y se analizan los videos con los programas implementados en Trackpy.



Figura 2. Partículas coloidales unidas a los extremos de un eritrocito. Las partículas se encuentran atrapadas por las pinzas ópticas.

RESULTADOS

En la figura 3 se muestra la posición de las partículas atrapadas durante varios ciclos de aumento y disminución de la distancia de separación, de acuerdo con la función senoidal de la ecuación 2). Ambas partículas oscilaron alrededor de su posición de equilibrio una amplitud de 0.5 μm . Se puede observar que las funciones llevan un desfase entre ellas de π radianes, lo que es congruente con el hecho de que las partículas en cualquier instante de tiempo se mueven en direcciones opuestas con el objetivo de estirar o comprimir a la célula.

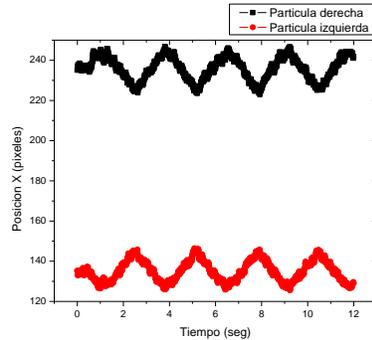


Figura 3. Gráfico de la posición en x de las partículas atrapadas con la función senoidal de separación entre trampas con periodo de 2.51seg.

Se realizó un ajuste al gráfico anterior con la siguiente función:

$$f(x) = x_0 + A \sin\left(\frac{2\pi}{\tau} x + \delta\right) \quad (3)$$

donde x_0 es la posición inicial de la partícula, δ es la fase y τ es el periodo de oscilación. Las figuras 4 y 5 muestran simultáneamente los datos experimentales y el ajuste sinusoidal.

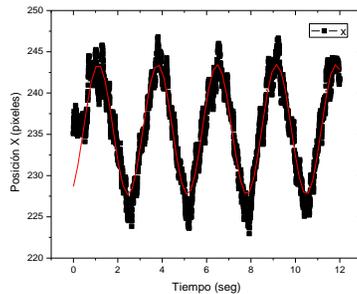


Figura 4. Ajuste de la posición a una función tipo seno.

Model: seno
 Equation: $x_0 + A \sin(2 * 3.1416 * x / \tau + \text{phase})$
 Weighting: y No weighting
 Chi²/DoF = 3.89553
 R² = 0.88625
 x0 235.5342 ±0.03618
 A 9 ±0
 tau 2.67952 ±0.00185
 phase 5.23468 ±0.01099

Figura 5. Datos estadísticos obtenidos del ajuste.

Se probaron 8 frecuencias de oscilación (de 0.1 a 2.5 Hz) con únicamente las partículas atrapadas y posteriormente se realizaron los experimentos con célula adherida a las partículas. El comportamiento de la fase en función del periodo de oscilación es creciente, lo que implica que hay un tiempo de retraso mayor entre la cámara y el modulador de luz mientras el periodo aumenta. Esto es debido a que la secuencia de imágenes es cada vez más grande y el programa del modulador tiene un tiempo de retraso al cargar los hologramas.

En la figura 6 se muestra una comparación de la posición de una partícula con y sin célula. Se observa que la partícula muestra un movimiento armónico ruidoso. Con célula, la partícula no llega al máximo de amplitud debido a que la membrana ejerce una fuerza que impide a la partícula moverse a su posición de equilibrio. Además, hay una restricción de la célula para ser comprimida, ya que ésta inició comprimida con la

separación inicial de 7 μm . La diferencia de fase que hay entre la partícula libre y con célula proporciona información sobre las propiedades viscoelásticas que presenta la membrana de la célula, cuando la diferencia de fases es 0 o múltiplo de π , las propiedades son puramente elásticas, si la diferencia es de $\pi/2$, se tienen propiedades viscosas. Cuando la diferencia es de $\pi/4$, se tiene ambas propiedades [5].

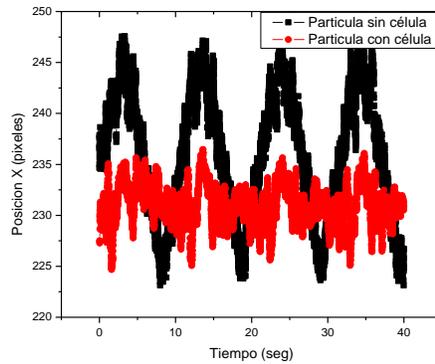


Figura 6. Gráfico de la posición en X de la partícula derecha con y sin célula a un periodo de 10 segundos.

Debido a que los datos obtenidos con célula son muy ruidosos, se calculó la diferencia de fases manualmente con la separación entre máximos de las funciones y convirtiendo este valor a radianes. Los resultados se muestran en la figura 7 y se puede observar que, en el intervalo de frecuencias estudiado, la membrana presenta propiedades completamente elásticas. Se observó que existe un intervalo de frecuencias donde la partícula de la derecha tiene un desfase de π respecto a la partícula libre. Es decir, las partículas izquierda y derecha oscilan en la misma dirección y no en direcciones opuestas, como lo harían si no estuvieran unidas al eritrocito.

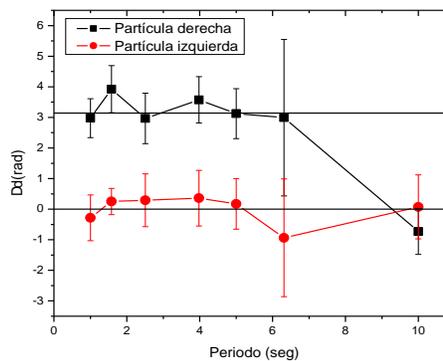


Figura 7. Gráfico de la diferencia de fases entre partícula libre y con célula para ambas partículas.

CONCLUSIONES

De acuerdo con la literatura consultada, el experimento es muy novedoso y a pesar de que se realizaron pocos ensayos, hay resultados preliminares que indican que el eritrocito humano a las frecuencias estudiadas exhibe un comportamiento puramente elástico, faltaría incrementar la frecuencia de oscilación para evaluar el intervalo donde este comportamiento es válido, ya que la literatura también ha reportado comportamientos viscoelásticos de eritrocitos, claramente con otras metodologías muy diferentes a las pinzas ópticas.

REFERENCIAS

- [1] DIAZ SANTANA SAINZ, R. “Estudio de Estudio de las propiedades mecánicas de células cancerígenas mediante un ensayo de tensión por pinzas ópticas duales”, Tesis de Maestría, UASLP, 2017.
- [2] MIT Department of Physics (2017). *Optical Trapping*. Lab manual.

- [3] JONG-HO BAEK (2007). *Trap stiffness in optical tweezers*, Asian Symposium for Precision Engineering and Nanotechnology.
- [4] RIVERA, A.; PÉREZ, D. (2017) UASLP. *Protocolo de calibración de pinzas ópticas usando video microscopía*.
- [5] MACOSKO, C. W. (1994). *Rheology Principles Measurements and applications*, Wiley-VCH.

CARACTERIZACIÓN DE LEVADURAS EPÍFITAS DE FLOR Y FRUTO DE MANZANO (*Malus domestica*) Y SU POSIBLE POTENCIAL ANTAGONISTA IN VITRO CONTRA EL HONGO *Penicillium expansum*.

Rivera Díaz Ingrid¹ y Pacheco Aguilar Juan Ramiro².

RESUMEN

El manzano *Malus domestica* es un cultivo que ha despertado el interés en la investigación científica pues es muy conocido y consumido en el mundo. El manzano en Querétaro es una de las especies más ampliamente distribuidas ya que se cultiva en las zonas serranas de bajas temperaturas. *Penicillium expansum* es uno de los principales patógenos post-cosecha de ésta fruta perdiéndose una gran parte de la producción, es por ello la necesidad encontrar alternativas de biocontrol de patógenos de forma sostenible, en este trabajo se evaluó y midió la actividad quitinolítica y antagonista de cepas de levaduras epífitas de flor y fruto de manzano mediante ensayos in vitro contra *Penicillium expansum* encontrándose que existe actividad antifúngica de levaduras provenientes de flor, lo que representa una oportunidad de estudio de la microbiota de cultivos de la región como potencial biotecnológico.

ABSTRACT

The apple tree *Malus domestica* is a crop that has awakened the interest in scientific research because it is well known and consumed in the world. The apple tree in Querétaro is one of the most widely distributed species since it is cultivated in the low temperature mountain areas. *Penicillium expansum* is one of the main post-harvest pathogens of this fruit losing a large part of the production, this is why the need to find biocontrol alternatives of pathogens in a sustainable way, in this work was evaluated and measured the chitinolytic activity and antagonist of Epiphytic yeast strains of apple flower and fruit by means of in vitro tests against *Penicillium expansum*, finding that there is antifungal activity of flower yeasts, which represents an opportunity to study the microbiota of crops in the region as a biotechnological potential.

Palabras clave: Actividad quitinolítica, Antagonismo, Microorganismos autóctonos, Patógeno

INTRODUCCIÓN

La manzana es un fruto que presenta una alta demanda en el mercado nacional e internacional, esto debido su valor nutricional y sabor, de acuerdo con el cierre en el 2016, la manzana presentó una producción total en el país de 716,930 toneladas con un valor de 4.66 mil millones de pesos. El manzano *Malus domestica* es un frutal de clima templado, comúnmente producido en zonas serranas con altitudes superiores a los 2,000 m con temperaturas medias anuales de 15 °C, en el estado de Querétaro los principales municipios productores son San Joaquín, Cadereyta de Montes, Pinal de Amoles y Amealco del Bonfil. [1].

Durante el manejo y transporte de las manzanas, se han registrado importantes pérdidas de producto, esto originado por el crecimiento de hongos, de los cuales más del 80% son daños post-cosecha atribuidos al hongo *Penicillium expansum* [2], lo cual representa una importante desventaja en la comercialización del fruto, ocasionando pérdidas de hasta una tercera parte de la producción.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la microbiota autóctona en la filósfera del manzano, específicamente en la flor y el fruto de las variedades “Joya”, “Golden Delicious” y “Royal Gala” en sus diferentes etapas (Figura 1.), caracterizando y midiendo la actividad quitinolítica y antagonista que pudieran presentar cepas de levaduras epífitas contra hongos patógenos por métodos in vitro. Esta es una oportunidad en el área de la biotecnología para proponer un método que se acople a la dinámica fruto-microbiota y lograr potencializar la actividad antifúngica de las levaduras como método de biocontrol y visualizar el potencial biotecnológico de microorganismos de la región.

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. ixrxdx@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. environmentalbiochemistry@gmail.com



Figura 1. Flor y fruto del manzano en diferentes etapas. Flor 1) Rosa temprano, 2) Rosa, 3) Completa floración, 4) Pérdida de pétalos (Variedades “Royal Gala” y “Joya”). Fruto 1) Amarre de Frutos (Variedades “Royal Gala”, “Joya” y “Golden Delicious”).

MÉTODOS Y MATERIALES

Muestreo

El origen de las cepas de levaduras con las cuales se trabajó fueron aisladas de cuatro etapas de flor y una etapa del fruto de manzano (*Malus domestica*) de las variedades “Golden Delicious”, “Royal Gala” y “Joya” (Fig. 1) de un huerto localizado en el municipio de Amealco de Bonfil en el estado de Querétaro. Las cepas de levaduras se codificaron como “FLL” (levadura de flor Royal Gala y Joya), “L#GDE1” (Levadura Golden Delicious Etapa 1), “L#E1” (Levadura Etapa 1 de Royal Gala y Joya) para su identificación durante la experimentación.

Caracterización

Tinción de Gram y observación: Para la caracterización se llevó a cabo una tinción Gram [3] que posteriormente se visualizó bajo el microscopio con el objetivo 100x. También se observó bajo el estereoscopio la formación macroscópica de colonias, así como el color y apariencia general de las levaduras aisladas en medio YPD (extracto de levadura 10 g/L, peptona 20 g/L, dextrosa 20 g/L y agar 15 g/L).

Prueba en medio lisina: Las cepas de levaduras aisladas se sometieron a crecimiento en medio de cultivo lisina selectivo (para 100 mL; 6.6 g de lisina, 0.84 mL de lactato de potasio 60%, ajustado a pH 5 con ácido láctico al 10%, calentar hasta ebullición sin esterilizar) como método de identificación de levaduras del género *Saccharomyces*, con 3 pases consecutivos y siendo incubadas a 30 °C por 24 h cada pase.

Actividad quitinolítica: Las cepas de levaduras se sometieron a crecimiento en medio de agar quitina coloidal (1g/L de Sulfato de amonio, 175 g/L de Quitina coloidal, 0.1 g de Sulfato de Magnesio Heptahidratado, 0.5 g/L de Soya Tripticasa y 15 g/L de Agar.), se hicieron inóculos por triplicado de cada cepa y se incubaron a 30°C durante 1 semana. Para la evaluación de actividad quitinolítica se tomaron medidas del diámetro del halo formado, valor numérico correspondiente a la actividad evaluada.

Ensayo de antagonismo in vitro: Los inóculos microbianos para el ensayo de antagonismo se obtuvieron de la siguiente manera: el hongo *Penicillium expansum* se creció en agar v8 (200 mL/L de Jugo V8, 3 g/L de Carbonato de calcio y 15 g/L de Agar) a temperatura ambiente hasta su esporulación, posteriormente se preparó una suspensión con una concentración de 1×10^6 esporas/mL. Las levaduras se inocularon en caldo YPD en tubos (5 mL c/u) y se sometieron a incubación durante 48 h a 28 °C con agitación constante.

Se prepararon 18 cajas con medio de cultivo PDA (39 g/L de Agar Papa Dextrosa BD Bioxon ®) y se inoculó cada una en el centro con 20 µL de la suspensión hongo *Penicillium expansum* concentración 1×10^6 esporas/mL previamente preparada y se incubaron durante 62 h a 30 °C. Posterior a la incubación del hongo por 3 días, se inocularon en 15 cajas 20 µL de suspensión de levadura (5 levaduras por caja), cada una por triplicado, dejando 3 cajas como control de crecimiento del hongo, durante 3 semanas a temperatura ambiente.

Para evaluar el antagonismo se hicieron mediciones del diámetro de crecimiento de cada levadura y se sacó la media de cada repetición para obtener el porcentaje de inhibición radial.

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. ixrdx@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. environmentalbiochemistry@gmail.com

RESULTADOS

Tinción de Gram y observación:

Se logró realizar una clasificación general de las levaduras en base al órgano de donde se originó la muestra. (Figura 2)_De las 20 levaduras totales el 45% provienen de la flor y 55% de la superficie del fruto en la etapa 1 (amarre de frutos). La mayoría de las levaduras macroscópicamente presentan una gama de colores blancos o cremas (75%), algunas otras presentan colores amarillentos (15%) y en su minoría presentan colores con tonalidades rosáceas (10%). La tinción de Gram pese a que es una técnica para diferenciar bacterias Gram positivas y Gram negativas, funciona de forma óptima para teñir levaduras presentando una tinción positiva con colores azul/morado, esto debido a la composición de la pared celular de las levaduras mayormente conformada de polisacáridos y β -glucanos.

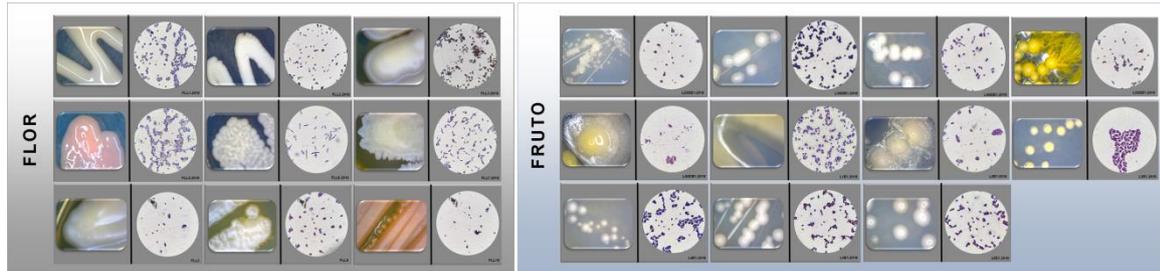


Figura 2. Organización de cepas de levaduras totales en base al órgano de origen con vista macroscópica y microscópica (con Tinción de Gram bajo objetivo 100x).

Prueba en medio lisina

Se llevó a cabo la prueba en medio lisina junto con un control "K1" que es una levadura comercial del género *Saccharomyces*, algunos ejemplos de los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1. Se observó que a excepción de K1 sólo la L4E1/2018 levadura de fruto etapa 1 presentó poco crecimiento desde la primera siembra aumentando su ausencia hasta finalmente anular su crecimiento en el tercer pase, esto nos indica que ésta levadura coincide con las características del género *Saccharomyces* al no ser capaz de metabolizar la lisina.

Los resultados estadísticamente indican que el 5% de las levaduras totales podrían pertenecer al género *Saccharomyces*, muestra proveniente del fruto en etapa 1 (amarre de frutos), ésta cepa representa un 9% de las levaduras aisladas de fruto, caso contrario a las levaduras aisladas de flor cuyo porcentaje de identificación de género *Saccharomyces* sería del 0%. Este resultado coincide con lo reportado por Miranda-Castilleja y colaboradores (2015) [4], en donde al estudiar la población de levaduras presentes en la uva cultivada en viñedos queretanos observaron que las cepas *Saccharomyces* son menores que las No *Saccharomyces*.

Tabla 1. Diferenciación en agar lisina. Siendo FLL2.2018 muestra de flor, L3GDE1/2018 y L4E1/2018 muestras de fruto y K1 *Saccharomyces*. La cepa L4E1/2018 dejó de crecer en el tercer pase.

CEPA	PASE 1	PASE 2	PASE 3
FLL2.2018			
L4E1/2018			
L3GDE1/2018			
K1			

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. jxrdx@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. environmentalbiochemistry@gmail.com

Actividad Quitinolítica

En base al crecimiento y las mediciones, se obtuvo la media de las tres repeticiones y se alojaron los resultados de la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la actividad registrada en medio de cultivo agar quitina coloidal, después de 1 semana de incubación. Siendo la media del diámetro del halo de las 3 repeticiones de cada cepa como actividad quitinolítica.

	ID CEPA	MEDIA DEL DIÁMETRO DEL HALO O ACTIVIDAD QUITINOLÍTICA ±0.22 (cm)	FLOR ETAPA 1-4	ID CEPA	MEDIA DEL DIÁMETRO DEL HALO O ACTIVIDAD QUITINOLÍTICA ±0.22 (cm)
FRUTO ETAPA 1	L2GDE1/2018	2.546		FLL1.2018	2.178
	L3GDE1/2019	2.457		FLL2.2018	2.159
	L4GDE1/2018	2.569		FLL3.2018	2.856
	L5GDE1/2018	2.495		FLL5.2018	1.977
	L6GDE1/2018	2.496		FLL6.2018	2.493
	L1E1/2018	2.447		FLL7.2018	2.167
	L2E1/2018	2.469		FLL3	2.613
	L3E1/2018	2.585		FLL9	2.350
	L4E1/2018	2.166		FLL19	2.340
	L5E1/2018	2.168			
	L6E1/2018	2.086			

Si bien el 100% de las levaduras presentaron actividad en el medio de agar quitina coloidal, se registró que el morfotipo de flor FLL3.2018 tuvo la mayor actividad (2.856 cm) en su halo de inhibición producto de la hidrólisis de la quitina (Figura 3) comparada con el control, también se observó que en promedio las levaduras de fruto (2.4 cm) tienen mayor actividad que las de flor (2.34 cm). Esta mayor actividad en fruto posiblemente esté relacionada con la presencia constante de hongos patógenos, a diferencia de la flor cuyos principales patógenos son bacterias [5]

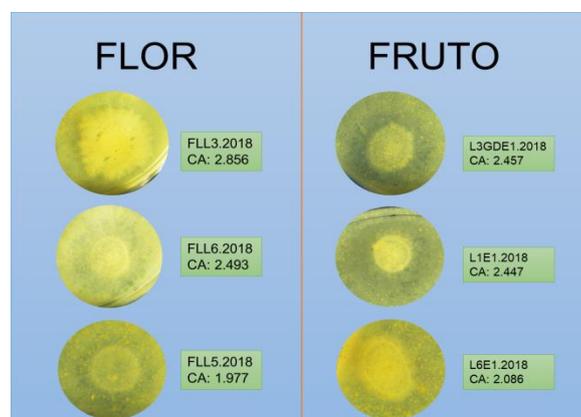


Figura 3. Formación del halo por actividad quitinolítica (AQ) alta, media y baja.

Ensayo de antagonismo in vitro

El hongo *Penicillium expansum* control presentó un crecimiento radial promedio de 2.73 cm (Figura 4). Como se puede observar en la Tabla 3 las cepas FLL6.2018, FLL7.2019 Y FLL9, levaduras de flor, presentaron los mayores valores de actividad quitinolítica en comparación al resto, donde se contrasta a diferencia con la cepa FLL3.2018, también de flor, donde a pesar de tener la mayor actividad quitinolítica (2.85) de todas las levaduras, una vez midiendo su actividad antagonista in vitro, presentó un bajo porcentaje de inhibición radial; Esto nos indica que a pesar de que la cepa FLL3.2018 tiene la capacidad de degradar quitina, una vez enfrentada contra el hongo, esta actividad se ve drásticamente disminuida, se desconoce el motivo comportamiento de la cepa en el ensayo pues puede ser motivo de muchos factores, sin embargo, se especula que está ligado a la inhibición de ciertas actividades metabólicas por la presencia del hongo.

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. jxrdx@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. environmentalbiochemistry@gmail.com

Tabla 3. Porcentajes de inhibición radial y actividad quitinolítica evaluada de cepas con mayor antagonismo.

Cepa	% de inhibición radial.	Actividad quitinolítica. (cm)
FLL6.2018	21%	2.49
FLL7.2018	15%	2.16
FLL9	18%	2.35
FLL3.2018	5%	2.85

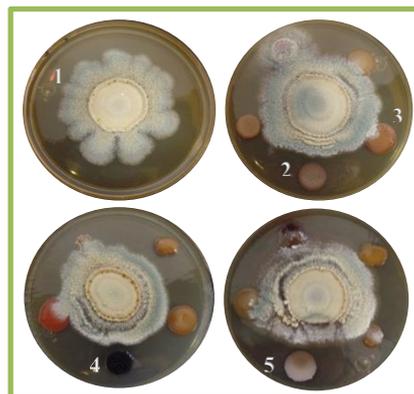


Figura 4. Ensayo de antagonismo in vitro. 1) *Penicillium expansum*, 2) FLL6.2018, 3) FLL3.2018, 4) FLL9, 5) FLL7.2018

Por otra parte, podemos observar que las cepas provenientes de flor presentaron resultados más favorables que las de fruto para asociarlas con una posible actividad antifúngica y como herramienta de biocontrol, otras investigaciones se han centrado en evaluar los microorganismos en frutos maduros [2], descartando el estudio de cepas epífitas de otros órganos del manzano, como la flor, esto nos da la posibilidad de seguir trabajando con éstos microorganismos no sólo en ensayos in vitro, sino, in vivo para evaluar si esta actividad se mantiene en un sistema natural con múltiples variantes.

CONCLUSIONES

Dado lo obtenido se muestra que la población de levaduras asociadas a la flor y fruto del manzano en su mayoría son géneros No *Saccharomyces*, además, que todos tienen la capacidad de producir enzimas quitinolíticas, sin embargo, se encontró que tres levaduras de flor tienen actividad antifúngica que da pie a la continuidad de éste estudio en pruebas in vivo para seguir evaluando su actividad como potencial biotecnológico en éstos microorganismos de la región.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Gonzáles, A., Fernández, M., Rumayor, A., Castaño, E., & Martínez, R. (2003). “Diversidad genética en poblaciones de manzano en Querétaro, México revelada por marcadores RAPD” en Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, pp.2. Consultada en: <http://www.redalyc.org/html/610/61028201/>
- [2] Sánchez, S., Martínez, R., Castillo, J., Fernández, E., (2014). “Antagonismo de levaduras nativas contra la pudrición azul en frutos de manzana” en Artículos Facultad de Química UAQ, pp 1-3. Consultada en: http://quimica.uaq.mx/docs/MCTA_2014/articulos/uaq_mcta_28_Articulo_Penicillium_Version.pdf
- [3] RODRIGUEZ, E. (2007), Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio, Editorial Universidad de Costa Rica
- [4] Miranda-Castilleja, D., Ortiz-Barrera, E., Arvizu-Medrano, S., Pacheco, R., Aldrete-Tápia, J. y Martínez-Peniche, R. (2015). Aislamiento, selección e identificación de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas de viñedos en Querétaro, México. *Agrociencia*, 49, 759- 773
- [6] Mikiciński, A., Sobiczewski, P., Puławska, J. and Maciorowski, R. (2016). Control of fire blight (*Erwinia amylovora*) by a novel strain 49M of *Pseudomonas graminis* from the phyllosphere of apple (*Malus* spp.). *Eur J Plant Pathol*, 145, 265–276.

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. jrxrdx@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n C.P: 76010. Santiago de Querétaro, Querétaro. environmentalbiochemistry@gmail.com

PRODUCCIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE CEPAS AISLADAS DE AZUFRES DE MICHOACÁN.

Israel Navarro Nieto¹ Y Divanery Rodríguez Gómez².

RESUMEN.

El estudio de enzimas termoestables o extremoenzimas obtenidas de microorganismos aislados de zonas con ambientes extremos es de gran importancia, debido a las propiedades catalíticas desarrolladas para adaptarse a estas condiciones, por ello en este trabajo se desarrolló el análisis cualitativo de actividad de lipasas, proteasas, amilasas, peroxidadas y lacasas de 30 aislados de la zona geotérmica "azufres de Michoacán", el análisis fue desarrollado mediante las diferentes pruebas bioquímicas específicas para cada una de ellas. Se encontró que algunos de los aislados presentaron más de una actividad enzimática, así como otras con un potencial mayor en cierta actividad. Se hizo una selección cualitativa de los aislados viables para futuros estudios cuantitativos de actividad enzimática y para el desarrollo de proyectos biotecnológicos.

PALABRAS CLAVE: lipasas, proteasas, amilasas, hongos.

ABSTRACT.

The study of thermostable enzymes or extremozymes obtained from microorganisms isolated from extreme environments is of great importance, due to the catalytic properties developed to adapt to such conditions. This work is based on a qualitative analysis of the enzymatic activity of lipases, proteases, amylases, peroxidases and laccases of 30 isolates obtained from the geothermal zone "Azufres de Michoacán". The analysis was developed by means of the specific biochemical tests. It was found that some isolates exhibited more than one enzymatic activity as well as others with a greater potential in certain activity. The final result was the qualitative selection of isolates in order to perform quantitative studies, as well as the development of future biotechnological projects.

KEYWORDS: Lipases, proteases, amylases, fungi.

INTRODUCCIÓN.

La región geotérmica de "Los Azufres", es una zona con condiciones de temperatura y pH extremos. Por ello los microorganismos asociados al suelo y brotes de agua de la zona resultan de interés por las capacidades metabólicas que les permiten crecer en tales condiciones (Quiñones Medina, 2014). Una de estas capacidades metabólicas es la producción de enzimas termoestables o extremoenzimas las cuales se caracterizan por tener propiedades valiosas como mayor termo estabilidad, óptima actividad a temperaturas elevadas y altas tasas de hidrólisis de sustrato y que funcionan de forma óptima en cualquier ambiente extremo (Ramírez, 2009).

Las enzimas hidrolíticas y oxidoreductasas de este estudio son de interés industrial debido a sus múltiples aplicaciones, las cuales se detallan a continuación: Las lipasas, catalizan la hidrólisis de triacilglicerol a glicerol y ácidos grasos, pueden catalizar reacciones de transesterificación e hidrólisis enantioselectivas. Estas enzimas son de amplia aplicación como aditivos en la formulación de detergentes, en la industria alimenticia para la elaboración de productos bajos en grasas y colesterol, en la industria del papel con el objetivo de eliminar la cera de la pulpa del papel, en la industria farmacéutica (Coca, 2001), y en el tratamiento de los cueros de la industria marroquinera, el tratamiento de aguas residuales específicamente en la degradación de sustratos grasos (aceitosos), y en la producción de biocombustibles (Aceves Diez & Castañeda Sandoval, 2012). Por otra parte, las proteasas hidrolizan los enlaces peptídicos tienen una aplicación potencial en una gran cantidad de procesos industriales tales como alimentos, detergente para ropa y productos farmacéuticos. Algunas de las proteasas fúngicas se usan en la producción de salsa de soja (Monteiro de Souza, 2015). Además, las amilasas hidrolizan las moléculas de almidón son de las enzimas

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Carretera Irapuato - Silao km 12.5, El Copal, 36821, Irapuato, Guanajuato, navarota71@gmail.com .

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Carretera Irapuato - Silao km 12.5, El Copal, 36821, Irapuato, Guanajuato, divanery.rodriguez@itesi.edu.mx .

industriales más importantes que tienen una amplia variedad de aplicaciones que van desde la conversión de almidón a jarabes de azúcar, hasta la producción de ciclodextrinas para la industria farmacéutica (Sivaramakrishnan, 2006).

Las peroxidases son oxidorreductasas que utilizan peróxido de hidrógeno para catalizar reacciones oxidativas, algunas de las posibles aplicaciones son la degradación del polímero de lignina, la degradación de una gran cantidad de contaminantes recalcitrantes ambientales tales como compuestos aromáticos poli cíclicos y clorados, DDT y otros pesticidas, tintes, cianuro y polímeros acrílicos reticulados, también se utilizan en la industria de papel (Conesa, 2002). Las lacasas pertenecen al grupo de las bencenodiol oxígeno oxidorreductasas, siendo diferenciadas gracias a la capacidad redox de sus átomos de cobre, mediante los cuales se cataliza la oxidación de un amplio espectro de compuestos fenólicos y aminas aromáticas mientras se produce la reducción de oxígeno molecular a agua. De forma natural, las lacasas producidas por hongos de podredumbre blanca están destinadas a la degradación o despolimerización de la lignina presente en la madera. Esta capacidad se ha utilizado como aplicación tanto en la industria papelera para el blanqueo de la pasta de papel como para la degradación de compuestos xenobióticos presentes en efluentes contaminados. Otro uso es en la industria alimenticia donde se utilizan como biosensores. En la industria textil como en la simulación de lavado a la piedra y la funcionalización de fibras. En la industria farmacéutica para la producción de medicamentos y cosméticos. Así como la limpieza de efluentes contaminados, ya sea en la biodegradación de tintes biodegradación de hidrocarburos aromáticos poli cíclicos (HAPs) y xenobióticos. (Fernández, 2013). Por todo lo anterior, es de gran interés analizar la capacidad de los hongos aislados de Michoacán sobre la producción de enzimas de interés industrial como las mencionadas anteriormente.

METODOLOGÍA.

Microorganismos.

Se analizó la actividad enzimática de 31 aislados de la colección del Laboratorio de Diversidad e Interacción microbiana LDIM-ITESI aislados de la zona de los azufres de Michoacán, los cuales fueron sembrados y se mantuvieron en condiciones axénicas en agar papa dextrosa para su posterior análisis.

Determinación de actividad de lipasas.

El medio base contenía extracto de levadura 1,25 g, caldo nutritivo 4,5 g y agar bacteriológico 10 g, en 450 ml de agua destilada. La emulsión lipoidal se preparó con 200 µl de Tween 80, 30 ml de aceite de oliva y 50 ml de agua ajustados a pH 7. Ambos se esterizaron a 121°C durante 15 minutos por separado. El colorante se preparó asépticamente añadiendo 50 mg de rodamina B a 50 ml de agua estéril y añadiendo 20 ml de solución mediante filtración de colorante a la emulsión lipoidal, mezclándose vigorosamente. Para un volumen final de 500 ml de Rodamina B Agar al 0,02% p/v, se añadieron 50 ml de colorante y emulsión lipoidal a los medios. Se sembraron los aislados por inoculación central, y se analizaron bajo luz UV, transcurridos los días de cultivo correspondiente (Ortiz Lechuga, 2016).

Determinación de actividad de proteasas.

El medio base o medio gelatina contenía en (g/l) extracto de carne 3, gelatina bacteriológica 120 y peptona de caseína 5. Se agregó la gelatina al agua y se dejó reposar por un periodo de 15 min, se calentó a 50°C hasta disolver la gelatina, se adicionó la peptona y extracto de carne, y se siguió calentando hasta disolver bien, ajustando a un pH entre 6.8 y 7.9. Se repartió en tubos de ensaye y se esterilizó a 121°C por 15 min. Se dejó enfriar el medio hasta temperatura ambiente y se inoculó por punción, después de inoculados se mantuvieron a temperatura ambiente por un periodo de 10 días, se metieron a refrigerar por 12 horas y se analizó la licuefacción de la gelatina.

Determinación de actividad de peroxidasa y lacasas.

Se preparó medio agar extracto de malta (AEM) ajustado a pH 4.5 y se esterilizó a 121°C durante 15 min, se vertió en placas Petri y se inoculó mediante estriado masivo. Se dejaron crecer los aislados por 5 días. Para detectar la actividad de lacasas se agregó una gota de Naftol 0.1 M y para la actividad peroxidasa se agregó una gota de solución de partes iguales de H₂O₂ al 4% y Pirogalol 1%. La reacción positiva se evidenció por el cambio de color en el medio, de lacasas a color morado y peroxidasas por un color amarillo-pardo 24 horas después de aplicada la gota de la solución reveladora (Martínez Herrera, 2017).

Determinación de actividad de amilasas.

Se usó la técnica modificada de Pochon & Tardieux (1965). El aislado a estudiar fue sembrado en tubos de ensayo que contenían agar-almidón al 2% y se dejaron crecer por 10 días a temperatura ambiente. La detección de la enzima se lleva a cabo agregando una solución de lugol (0.5 ml) a cada tubo con cultivo. Una reacción positiva corresponde a la aparición de una zona amarillenta alrededor de la colonia. La hidrólisis parcial o nula del sustrato se manifiesta por una coloración azul (González Quevedo, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En la tabla 1 se muestran los resultados cualitativos de la actividad enzimática para cada aislado, en algunos casos está ausente la prueba de alguna enzima debido a que presentaba una morfología distinta a la original y se optó por rechazar el resultado, en la tabla aparecen como no evaluados, por lo que es necesario rescatar el aislado y repetir el análisis.

Actividad de lipasas.

Al ser analizadas los aislados bajo luz UV se observó una diferencia de fluorescencias por la parte delantera y trasera de la caja Petri, por lo cual se propuso utilizar tres categorías, las cuales fueron representadas de la siguiente manera, fluorescencia de un solo lado de la caja (+) indica baja producción de lipasas, por ejemplo el aislado 10 A (figura 1, izquierda), fluorescencia por ambos lados de la caja (++) corresponde a una mediana producción de lipasas por ejemplo el aislado 13A (figura 1, derecha), y por último fluorescencia por ambos lados y halo de hidrólisis notorio (+++) como el aislado 271 (figura 2).

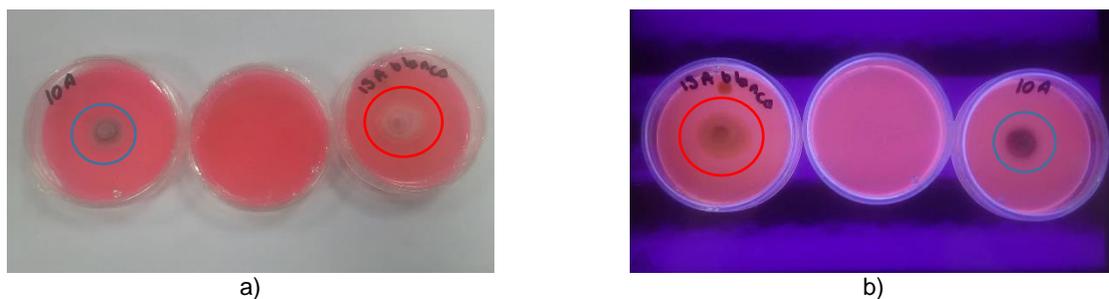


Figura 1. Cajas de prueba de lipasas, aislado 10 A (lado izquierdo), aislado 13 A (derecha) y control sin inocular (centro). a) Sin luz UV b) Visualización con luz UV. Aislado 13A presenta fluorescencia en la parte delantera de la caja.

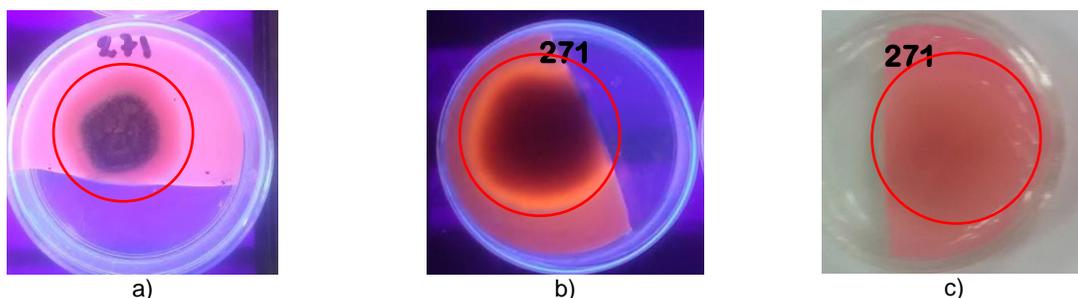


Figura 2. Ejemplo de fluorescencia y halo de hidrólisis de un aislado con resultado positivo (+++) aislado 271. a) fluorescencia por la parte delantera, b) fluorescencia por la parte trasera, c) halo de hidrólisis.

Actividad de proteasas y amilasas.

Seis aislados presentaron actividad de proteasas la cual se comprobó con la licuefacción de la gelatina de acuerdo a lo evidenciado en la figura 3. Respecto a la actividad amilasas, la mitad de los aislados dio positivo a la prueba, en la

Figura 4 se presentan los ejemplos de los resultados positivo y negativo obtenidos con los aislados 6.1 y 7.2, respectivamente.



Figura 3. Actividad de proteasas. Del lado izquierdo control negativo, en el centro aislado 6.1 y derecha el aislado 7.2



Figura 4. Actividad de amilasas. Del lado izquierdo se muestra el aislado 7.2 (positivo) y de lado derecho se muestra el aislado 6.1 (negativo)

Actividad de peroxidasas y lacasas.

Cuatro aislados dieron positivo en la prueba de peroxidasas y 4 aislados fueron positivo en la prueba de lacasas. En el caso de las lacasas, se evidenció la presencia de la enzima porque al revelarse el medio se tornó a un color morado-azul. De todos los aislados que dieron positivo para lacasas, el número 134 presentó una intensidad de color mayor. En el caso de las peroxidasas los cuatro aislados dieron un color amarillo-pardo claro. (No se cuenta con imágenes)

Tabla 1. Resultados cualitativos de la actividad enzimática. * Producción de lipasas, “+” baja producción, “++” mediana producción, “+++” alta producción de lipasas. N, negativo. P, positivo. NE, no evaluado.

Aislado	Actividad enzimática.				
	Lipasas*	Proteasas	Amilasas	Peroxidasas	Lacasas
17	N	N	P	N	P
19	+	N	N	NE	NE
3 Ari	+	N	P	N	N
12 Ari	N	N	P	N	N
3.2	+	N	P	N	N
5.1B	+	N	P	N	N
5.8A	+	N	N	P	N
6.1	N	P	N	N	N
7.2	++	P	P	N	N
7.4	+	N	P	N	P
134	++	P	N	N	P
136 (10A)	+	P	N	N	N
137	N	N	N	N	N
137 blanca	+++	N	N	N	N
253	+	P	P	N	N
254	+	N	P	N	N
255	+	N	P	N	N
262	+	N	P	N	N
264	+	N	N	P	N
265 oscura	+	N	N	N	N
265 blanca	N	N	P	N	N
267	N	N	P	N	N
271	+++	N	N	P	N
274 verde	++	N	N	P	N
274 blanca	N	N	NE	N	N
297	+++	N	P	N	N
339	+++	N	N	N	N
357	N	P	N	N	P
13A	++	N	N	N	N
270	+	N	P	N	N

CONCLUSIÓN.

De acuerdo a los resultados los aislados 134, 253, 271, 297, 274 verde, 357, 7.2, 7.4, I7 destacaron por tener más de una actividad enzimática y la actividad de lipasas mayor a una "+". En el caso de lipasas los mejores aislados son: 339, 297, 271 y 137, los cuales son candidatos para futuros estudios cuantitativos de actividad enzimática. Además, el aislado 134 presentó actividad lacasas con una intensidad de color mayor que los otros aislados. De igual manera destacan los aislados 253, 254, 255, 262, 265, 267, 297, 3 Ari, 3.2 y 5.1B por presentar actividad de amilasas y los aislados 264, 271, 274 y 5.8A para la actividad peroxidadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Aceves Diez, A. E., & Castañeda Sandoval, L. M. (2012). Producción biotecnológica de lipasas microbianas, una alternativa sostenible para la utilización de residuos agroindustriales. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 244-247.
- Coca, J. H., Hernández, O., Berrio, R., Martínez, S., Díaz, E., & Dustet, J. C. (2001). Producción y caracterización de las lipasas de *Aspergillus niger* y *A. fumigatus*. *Biotecnología aplicada*, 18, 216-220.
- Conesa, A. P. Punt, P. J., van den Hondel, C. A (2002). Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. *Journal of Biotechnology*, 93(2), 143-158.
- Fernández, M. F. (2013). Inmovilización de lacasa: métodos y potenciales aplicaciones industriales. *Tesis doctoral*. Universidad de Vigo.
- González Quevedo, D. C., Salazar Suarez A. G, González Ponce, M.R., Rodríguez Gómez, D. (2017). Evaluación cualitativa de la producción de amilasas y proteasas en cepas de hongos aislados de suelo de diferentes ambientes. *XVII Congreso nacional de biotecnología y bioingeniería*.
- Martínez Herrera, G. M. Martínez Martínez L.A., Rodríguez Nava, C.O., Rodríguez Gómez, D. (2017). Evaluación cualitativa de la producción de lacasas y peroxidadas en cepas de hongos aislados de suelo de diferentes ambientes. *XVII Congreso nacional de biotecnología y bioingeniería*.
- Monteiro de Souza, P. M. Bittencourt, M. L. D. A., Caprara, C. C., Freitas, M. D., Almeida, R. P. C. D., Silveira, D., ... & Magalhães, P. O (2015). A biotechnology perspective of fungal proteases. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46 (2), 337-346.
- Ortiz Lechuga, E. G. Zapata, I. Q., Niño, K. A. (2016). Detection of extracellular enzymatic activity in microorganisms isolated from waste vegetable oil contaminated soil using plate methodologies. *African Journal of Biotechnology*, 15(11), 408-416
- Quiñones Medina, I. A. Vargas, A. T., Ramírez López, V. (2015). Aislamiento y caracterización de hongos y levaduras provenientes de la región geotérmica de "Los Azufres", Michoacán. *Jóvenes en la ciencia*, 1(1), 180-187.
- Ramírez, C. Y. (2009). Producción de enzimas hidrolíticas a partir de microorganismos extremófilos. Tesis, Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). α -Amylases from Microbial Sources – An Overview. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 173-184.

IDENTIFICACIÓN DE PARÁSITOS DEL GRUPO HEMOSPORIDIO EN AVES DE LA REGIÓN DE SAN LUIS POTOSÍ

Itzel Solís Godoy¹ y Leonardo Chapa Vargas²

RESUMEN

En los últimos años ha existido la necesidad de conocer más sobre las enfermedades que amenazan la vida silvestre y la salud humana. La mayor parte de los estudios sobre parásitos sanguíneos que infectan a las aves han sido realizados en zonas templadas de Norte América y Europa, por esa razón, creemos que es importante estudiar a las aves endógenas de la región de San Luis Potosí para evaluar la presencia de parásitos del orden Haemosporida en aves de esta región para conocer la parasitemia del lugar. Se logró identificar los parásitos de 3 muestras de sangre mediante microscopía, y se corroboró con los resultados obtenidos de la PCR.

ABSTRACT

In recent years there has been a need to know more about diseases that threaten wildlife and human health. Most of the studies on blood parasites that infect birds have been carried out in temperate zones of North America and Europe, for that reason, we believe it is important to study the endogenous birds of the San Luis Potosí region to evaluate the presence of parasites of the order Haemosporida in birds of this region to know the parasitemia the place. The parasites of 3 blood samples were identified by microscopy, and corroborated with the results obtained from the PCR.

Palabras clave: Haemosporida, parasitemia, salud aviar, San Luis Potosí.

INTRODUCCIÓN

Después de años, los parásitos han sido objeto de renovado interés. Esto sucedió por un lado porque han resultado ser excelentes modelos para una serie de estudios fundamentales, y por otra parte porque existe una necesidad apremiante de conocer más sobre su ecología y evolución en el momento en que las enfermedades emergentes amenazan la vida silvestre y la salud humana (Poulin, 2011). Las aves son objeto de ardua investigación desde hace un siglo, puesto que representan un modelo para el estudio de enfermedades transmitidas por vectores en humanos, como es el caso de la malaria (Matta y col, 2001). La mayor parte de los estudios sobre parásitos sanguíneos que infectan a las aves han sido realizados en zonas templadas de Norte América y Europa (Santiago y col, 2015), dejando un enorme hueco en las zonas tropicales y templadas del hemisferio sur, por esa razón, nuestra investigación se centra en la región de San Luis Potosí. Los parásitos del orden Haemosporida (phylum: Apicomplexa) que infectan a las aves se dividen actualmente en cuatro géneros: *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Fallisia* y *Leucocytozoon*. Los hemosporidios son transmitidos por vectores dípteros (jejenes, mosquitos, chaquistes, moscas planas) e infectan comúnmente a anfibios, reptiles, aves y mamíferos (Santiago y col, 2015). Estos parásitos tienen ciclos de vida complejos que alternan entre un huésped artrópodo y un vertebrado. Los trofozoitos parasitan eritrocitos u otros tejidos del hospedador vertebrado. Los microgametos y macrogametos siempre se encuentran en la sangre. Los gametos son absorbidos por el insecto vector durante la ingestión de sangre. Los microgametos migran al intestino del insecto y se fusionan con los macrogametos. El macrogameto fertilizado se convierte ahora en un oocineto, que penetra en el cuerpo del vector. El oocineto se transforma a continuación en un ooquiste y se divide inicialmente por meiosis y luego por mitosis (ciclo de vida haploide) para dar lugar a los esporozoitos. Los esporozoitos se liberan del ooquiste y migran a las glándulas salivales del vector, desde donde se inyectan al nuevo huésped vertebrado cuando el insecto lo pica (Morrison, 2009).

Después de la infección, los esporozoitos viajan hasta el hígado, donde maduran para posteriormente ingresar en el torrente sanguíneo e infectar a los glóbulos rojos. Los parásitos se multiplican dentro de los glóbulos rojos, los cuales se rompen al cabo de 48 a 72 horas y continúan infectando (Murray y col, 2017).

MÉTODOS Y MATERIALES

Procesamiento de las aves. En cada sitio de estudio, las aves fueron atrapadas usando redes de 12 m × 2.5 m. Las redes se colocaron en ubicaciones al azar y las aves capturadas en ellas fueron correctamente procesadas como lo

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Departamento de Química; Av. Hidalgo S/N, Col. Bells, CP: 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, itzel.solis86mail.com. ² Instituto Potosino de Investigación Científica Y Tecnológica, División de Ciencias Ambientales; Camino a la Presa San José No. 2055, Lomas 4a Sección, CP: 78216, San Luis Potosí, San Luis Potosí, lchapa@ipicyt.edu.mx

describe Santiago y col, 2015. Se les extrajo sangre de la vena axilar, con un microcapilar para realizar los frotis, y con una micropipeta para la extracción del DNA (ésta fue depositada en tubos eppendorf con 2 ml de etanol para su almacenamiento a -20°C. Importante: La sangre extraída del ave nunca debe exceder al 10% de su peso.

Preparación de frotis. La sangre de las aves se extrajo mediante un tubo microcapilar que contiene heparina (anticoagulante). Primero se colocó una gota de sangre sobre un portaobjeto, se expandió la gota sobre la orilla de otro portaobjetos (en un ángulo de 45°) y se extendió sobre el portaobjeto para hacer el frotis. Se realizaron 5 frotis para cada muestra de sangre. Se dejaron secar a temperatura ambiente. Para fijar la muestra, se colocaron los frotis sanguíneos secos en cajas Copplin verticales con metanol al 100% durante 5 minutos. Luego se dejaron secar a temperatura ambiente. Si el clima se encuentra muy húmedo, las muestras deben secarse con ayuda de un ventilador. Los frotis fueron guardados en un lugar seco para su posterior tinción.

Tinción de frotis. En el laboratorio se tiñeron los frotis sanguíneos con Giemsa histológico (SIGMA-ALDRICH). Para preparación de 1 litro de buffer salino, se disuelven 1,0 g de fosfato de sodio di-básico (Na₂HPO₄) y 0,7 g de fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) en 1 litro de agua destinada. El pH del amortiguador debe ser ajustado entre 7,0 y 7,2. Posteriormente, se preparó la solución de Giemsa al 10% en el buffer salino previamente preparado (Pérez y col, 2015). Se colocaron los frotis en cajas Copplin para ser teñidos con la solución anterior y se dejó teñir durante una hora. Finalmente se dejaron secar a temperatura ambiente y fueron guardados en un lugar seco para su posterior visualización al microscopio.

Microscopía óptica. Los frotis fueron examinados usando un microscopio óptico con un objetivo de 100x. De esa forma se observó la presencia o ausencia de los parásitos observados de cada portaobjetos (Reynoso, 2016).

Extracción de DNA. Las extracciones de ADN que se realizaron fueron de sangre de aves capturadas en Charcas I y II. Se descongelaban las muestras que eran utilizadas en ese momento y la extracción se realizaba empleando el DNAeasy Blood & Tissue Kit siguiendo el protocolo establecido por Qiagen, 2006.

Diagnóstico molecular mediante PCR. La presencia o ausencia de parásitos del grupo hemosporidio también se pueden analizar a través de la amplificación de fragmentos de DNA utilizando los siguientes oligonucleótidos: forward HmNF1 (5' CATATATTAAGAGAANTATGGAG 3'), y reverse HmNR3 (5' ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC 3') para la primera reacción; y forward HaemF (5' ATGGTGCTTTCGATATATGCATG 3'), y reverse HaemR2 (5' GCATTATCTGGATGTGATAATGGT 3') para la segunda. Las reacciones se realizaron de acuerdo con el protocolo desarrollado por Bensch y col. (Bensch y col, 2000).

Electroforesis en gel de agarosa. Se corrieron geles de electroforesis para evaluar la integridad del DNA extraído de cada muestra y examinar los productos de PCR obtenidos. El gel de agarosa se preparó al 1% en 100ml de buffer SB 1X, partiendo de un Stock de 50X. El buffer se preparó de la siguiente manera: 20g de NaOH, 120g de H₃BO₃ y se ajustó el pH aproximadamente a 8.0. Este mismo amortiguador fue utilizado como buffer de corrida. Se utilizó el marcador de peso molecular 1 Kb plus, y como buffer de carga 2x.

Cuantificación de DNA. Se cuantificó la cantidad de DNA en ng/ul obtenidos de las extracciones, mediante el uso de nanodrop.

RESULTADOS

Tras el estudio en campo, los frotis fueron teñidos con Giemsa histológica en el laboratorio y se observaron al microscopio. Se realiza un conteo de leucocitos y eritrocitos, así como observar la presencia o ausencia de parásitos Haemosporidios en cada una de las aves capturadas y se valoró el nivel de parasitemia que presentarían. En la Figura 1 se muestran tres muestras de sangre, con parásitos encontrados.

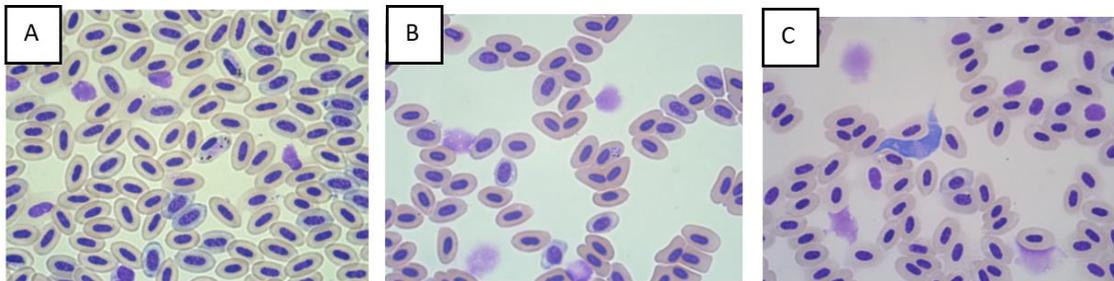


Figura 1. Microscopía. Se observan las células de algunas aves con parasitemia alta. A) (F1D119) Parásito *Haemoproteus sp.* encontrado en ave *Cardinalis cardinalis*. B) (F1318) Parásito *Plasmodium sp.* presente en ave *Basileuterus culicivorus*. C) Parásito *Trypanosoma sp.* observado en ave *Passerina versicolor*.

Para corroborar lo anterior, de 87 muestras de sangre se realizaron las extracciones de DNA, el cual fue verificado mediante la electroforesis en gel de agarosa (Figuras 2, 3 y 4). El DNA de las muestras de Charcas I se encuentran en las Figuras 2 y 3, mientras que los DNA de las muestras de Charcas 2 pueden encontrarse en la Figura 3. En algunas muestras hubo algunos inconvenientes al momento de la extracción. Los pocillos 6, 7 y 10 de la Figura 2 (muestras F1D406, F035 y F1D411) se observa muy poco DNA en el gel debido a que no se pudo obtener suficiente DNA; es la misma razón por la que en la cuantificación (Tabla 1) se obtiene una concentración muy baja (15.095, 12.803 y 21.916 ng/ul respectivamente). De igual manera, los pocillos 3 y 23 de la Figura 4 (muestras F2399 y F1709) se observan bandas muy tenues, debido al insuficiente DNA extraído; razón por la que, en la cuantificación se obtiene una concentración muy baja (18.085 y 19.591 ng/ul respectivamente).

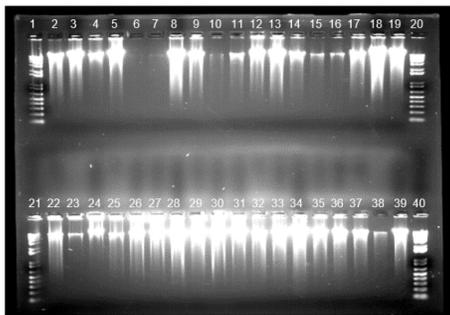


Figura 2. Gel 1 de electroforesis de extracciones de DNA. DNA extraído de muestras de sangre de aves capturadas en Charcas I. Los marcadores de peso molecular fueron cargados en los pocillos 1, 20, 21 y 40.

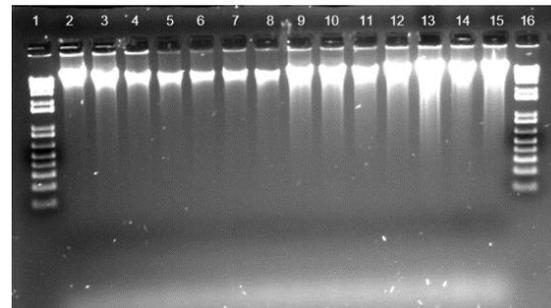


Figura 3. Gel 2 de electroforesis de extracciones de DNA. DNA extraído de muestras de sangre de aves capturadas en Charcas I. Los marcadores de peso molecular fueron cargados en los pocillos 1 y 6

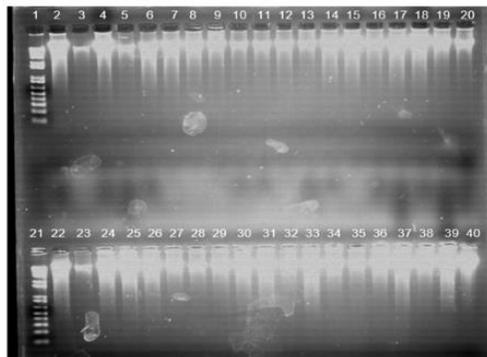


Figura 4. Gel 3 de electroforesis de extracciones de DNA. DNA extraído de muestras de aves capturadas en Charcas II. Los marcadores de peso molecular fueron cargados en los pocillos 1 y 21.

El DNA fue cuantificado y se pueden observar las concentraciones en la Tabla tanto de Charcas I como de Charcas II se encuentran la Tabla 1:

Tabla 1. Cuantificación del DNA en el nanodrop

Sitio Charcas	Ge	No. Pocillo	Anillo	280/260	ng/ul
I	1	2	F1D409	2.038	110.268
I	1	3	F0279	1.914	180.922
I	2	10	10	1.878	93.209
I	2	11	F1A107	1.874	62.958

I	1	4	F3106	1.922	79.425
I	1	5	F1426	1.968	219.284
I	1	6	F1D40 6	2.176	15.095*
I	1	7	F035	2.042	12.803*
I	1	8	F1D45	1.919	175.529
I	1	9	F1D40 8	1.913	103.037
I	1	10	F1D41 1	1.736	21.916*
I	1	11	F1428	1.817	29.569
I	1	12	F1D41 2	1.897	89.985
I	1	13	FID410	1.898	177.044
I	1	14	F1430	1.994	57.283
I	1	15	F1429	2.163	15.945
I	1	16	F3207	1.747	26.959
I	1	17	F1427	1.82	66.889
I	1	18	F037	1.961	494.107
I	1	19	F1432	1.942	199.589
I	1	22	F1431	1.954	69.769
I	1	23	F043	2.344	44.912
I	1	24	F1D14 3	1.943	110.011
I	1	25	F1439	1.971	60.748
I	1	26	F1444	1.912	90.645
I	1	27	F2107	1.909	129.519
I	1	28	F1440	1.909	212.981
I	1	29	F1442	1.924	131.411
I	1	30	F1436	1.937	164.543
I	1	31	F1121	1.9	166.197
I	1	32	F1433	1.969	62.763
I	1	33	F1438	1.931	97.606
I	1	34	F2109	1.943	172.913
I	1	35	F1437	1.861	66.041
I	1	36	0.362	1.927	74.166
I	1	37	F039	1.987	41.816

I	2	12	F1446	1.869	99.568
I	2	13	0.306E	1.927	239.83 1
I	2	14	ZEAS	1.907	130.84 9
I	2	15	F044	1.895	171.00 6
II	3	2	F2398	2.241	280.06 5
II	3	3	F2399	2.178	18.085 *
II	3	4	F1D14 8	1.969	300.03 5
II	3	5	F1D14 6	1.952	42.922
II	3	6	F2302	1.943	122.97 4
II	3	7	F2303	1.93	116.57 6
II	3	8	F2304	1.918	121.28 6
II	3	9	F2306	1.936	66.185
II	3	10	F3305	1.896	44.054
II	3	11	F2307	1.882	48.22
II	3	12	F00212	1.971	64.116
II	3	13	F2308	1.967	43.95
II	3	14	F2309	1.919	111.60 9
II	3	15	F2310	1.948	303.45 1
II	3	16	F2314	1.843	76.06
II	3	17	F1710	1.899	198.2
II	3	18	F1D12 4	1.969	222.87 1
II	3	19	F2311	1.977	99.465
II	3	20	F2313	1.979	80.226
II	3	22	F1D14 7	1.95	153.46
II	3	23	F1709	1.898	19.591 *
II	3	24	F1D12 3	1.937	122.46
II	3	25	F1D12 6	1.938	190.46 6
II	3	26	F2320	1.932	113.39 1
II	3	27	F2319	1.861	36.787
II	3	28	F1711	1.855	34.766
II	3	29	F2318	2.007	56.633
II	3	30	F2315	1.97	74.69

I	1	38	F040	2.24	15.333	II	3	31	F2316	1.925	82.568
I	1	39	F1434	1.938	97.055	II	3	32	F1D12 7	2.021	41.516
I	2	2	F1609	1.899	427.32	II	3	33	F1D14 5	1.974	106.64
I	2	3	F1441	1.898	89.696	II	3	34	F2312	1.956	70.906
I	2	4	F1018	1.851	58.521	II	3	35	F217	2.063	31.445
I	2	5	F1443	1.868	41.218	II	3	36	F1D12 8	1.957	95.56
I	2	6	F254	1.861	36.07	II	3	37	F3B30 3	1.967	169.73 9
I	2	7	F1435	1.853	37.882	II	3	38	F3307	1.963	94.45
I	2	8	F1445	1.828	46.564	II	3	39	F3306	1.94	304.89 8
I	2	9	F2108	1.854	100.935	II	3	40	F1712	1.923	122.77 6

Es necesario anillar a las aves con un código único, ya que nos sirve para llevar un correcto registro por si hay recaptura de alguna ave. Las concentraciones de algunos DNA fueron muy baja debido a los incidentes en la extracción, están marcadas con un (*) y se pueden comprobar en sus respectivos geles de electroforesis.

Posterior a eso, se realizó una PCR anidada con los DNA extraídos (Figura 5) con la cual se amplifican los fragmentos de aproximadamente 480 pb del gen del Citocromo B, el cual se encuentra en los parásitos del orden Haemosporida (Bensch y col, 2000). La PCR Finalmente, se pretendía identificar el género del parásito mediante la secuenciación, pero debido a la falta de tiempo no pudo realizar esta última acción.

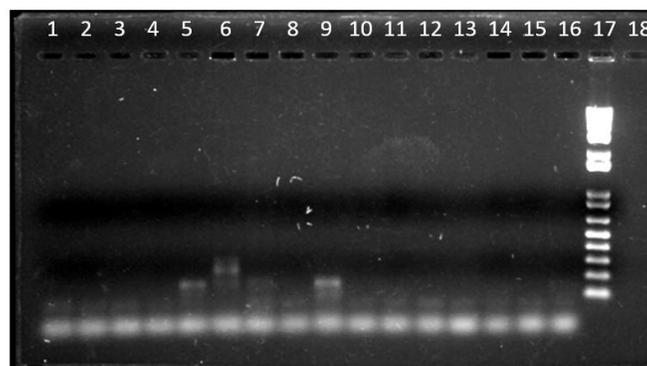


Figura 5. Verificación de PCR en electroforesis. Marcador de peso molecular fue cargado en el pocillo 17. Controles negativo y positivo se encuentran en los pocillos 15 y 16 respectivamente.

Los pocillos 5, 6 y 9 representan las muestras de sangre correspondientes a los frotis observados bajo el microscopio (Figura 1). De esta manera se comprobó la presencia de parásitos del orden *Haemosporiteus*. Es posible que se haya degradado la secuencia génica amplificada del control positivo debido al tiempo que ésta llevaba almacenada (3 años) y posibles malas condiciones en su conservación. Para conocer el género del parásito (*Plasmodium*, *Haemosporiteus*, *Fallisia* y *Leucocytozoon*) es necesaria la microscopía o bien, para más especificidad, una secuenciación del fragmento amplificado en la PCR.

CONCLUSIONES

Actualmente se vive un clima de protección al medio ambiente y un sentido orientado hacia la conservación de las especies por lo cual es de vital importancia el conocimiento de nuevas técnicas en nuestro ramo que sean capaces de

apoyar a la identificación de microorganismos que amenacen a la fauna. Teniendo en cuenta este contexto viene a bien el aporte en la identificación del Haemosporidios, ya que alrededor del mundo existen muy pocos estudios de diagnóstico de estos parásitos que causan tanta mortalidad en las aves. Para estos estudios, es vital la aplicación de diferentes métodos tanto en laboratorio como en trabajo de campo. Con conocimientos así es posible una identificación más precisa ya que es llevada a cabo hasta el nivel molecular. Con esto podemos asegurar que se está avanzando en el proceso de cuidado y conocimiento de las aves, para con esto contribuir al estudio y protección de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

- BENSCH S, Stjernman M, Hasselquist D, Ostman O, Hansson B, Westerdahl H. (2000). "Host specificity in avian blood parasites: a study of Plasmodium and Haemoproteus mitochondrial DNA amplified from birds" en *Proceedings Biological sciences*. Vol.CCLXVII [pp.1583–1589].
- MATTA NE, Rodríguez ÓA. (2001). "Hemoparásitos aviares" en *Acta Biológica Colombiana* Núm. 1 Vol. VI [pp. 27-34]
- MORRISON DA. (2009). "Evolution of the Apicomplexa: where are we now?" *Trends Parasitol*. Núm. 8 Vol. XXV [pp. 375-82].
- MURRAY PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. (2017). *Microbiología médica*, 8va ed. España: Elsevier.
- POULIN R. (2011). *Evolutionary Ecology of Parasites*, 2nd ed. Unated States of America: Princeton University Press.
- Qiagen. (2006). *DNeasy® Blood & Tissue Handbook*. Disponible en: http://diagnostics1.com/MANUAL/General_Qiagen.pdf
- SANTIAGO D, Carbó P. (2015). "Parásitos sanguíneos de malaria y géneros relacionados (orden: Haemosporida) en aves de México: recomendaciones metodológicas para campo y laboratorio" *Ornitología neotropical* Vol. XXVI [pp.59–77, 2015].

APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER

Espinoza Vázquez Jennifer¹ y Navarro Contreras Hugo Ricardo²

RESUMEN

El ácido siálico (AS) se ha utilizado como biomarcador en fluidos biológicos en humanos, tal es el caso de la saliva, en la cual se ha estudiado los niveles de concentración de este compuesto para individuos sanos y aquellos que presenten distintas patologías. En este proyecto se ha analizado este biomarcador para la detección temprana del cáncer cervicouterino invasor. La concentración de AS presente en la saliva se mide a través de la Espectroscopía Raman mediante la técnica SERS, basándose en la adsorción de dicho compuesto en nanopartículas metálicas de plata (AgNPs) demostrando que SERS logra amplificar exitosamente la señal dando lugar a una técnica rápida y sensible para la identificación de AS en la saliva.

ABSTRACT

The sialic acid (SA) has been used as biomarker in biological fluids in humans such as saliva. Previous work has studied the concentration levels of this compound in healthy people, who presents different pathologies. In this Project it has been analyzed this biomarker for the early detection of invasive cervical cancer. The concentration of SA present in saliva is measured through the Raman Spectroscopy using the SERS technique, based in the adsorption of this compound in silver metallic nanoparticles (AgNPs). We show that SERS achieves a successful amplification of the signal. The technique seems to be sensible for a future identification of SA in the saliva.

INTRODUCCIÓN

El efecto SERS, por sus siglas en inglés (Surface –enhanced Raman Scattering), consiste en un aumento de la dispersión inelástica (señal Raman), la cual procede de ciertas moléculas que se encuentran en presencia de nanoestructuras metálicas. La técnica SERS implica un aumento en la sensibilidad y selectividad, esto hace del Raman una técnica prometedora con aplicaciones analíticas. La aplicación del SERS está ligeramente ligada a las propiedades morfológicas y superficiales de las superficies metálicas empleadas. Las nanoestructuras metálicas deben cumplir ciertas condiciones morfológicas concretas para dar una mayor señal espectroscópica (José Vicente García-Ramos, 2006). El cáncer cervicouterino es uno de los principales tumores que afectan al sexo femenino convirtiéndose en una de las causas más frecuentes de muerte en las mujeres de todo el mundo. Sin embargo se trata de un proceso que puede prevenirse. Esta enfermedad es curable si se realiza un diagnóstico precoz, con lo que se logra disminuir la mortalidad por esta causa (Amaro, Polo, Mendoza, Pi, & Cardoso, 2003). Se ha reportado la sensibilidad y especificidad de algunas de las tecnologías existentes para la detección del cáncer cervicouterino entre las que se encuentran el Papnet, TrueScreen y ThinPrep, que muestran los más altos valores para dichos parámetros (99.3% y 97.10%, 92.4% y 85.1%, 97.8% y 82% respectivamente). Sin embargo el frotis de Papanicolau que es el método más común de detección presenta un bajo grado de sensibilidad, 84.1% (Amaro et al., 2003). Los ácidos siálicos son cetoácidos con esqueleto glucídico de nueve carbonos, que están implicados en interacciones célula-célula e intervienen en la regulación de procesos de reconocimiento celular (Serrano-Berrones, López Velázquez, & Serrano Berrones, 2012). N- acetilneuramínico presenta peculiaridades por su participación en ciertas actividades biológicas, tales como en procesos inmunitarios e infecciosos. En algunos de estos procesos, específicamente la oncogénesis y metástasis, ocurren alteraciones en la glucosilación que se asocian con el incremento o disminución de la actividad de diferentes sialiltransferasas. Diferentes estudios demuestran que el cambio en la sialilación se produce antes de la aparición del cáncer y puede desempeñar un papel relevante en la transformación celular.

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO, jennifer_espinozavazquez@outlook.com.

² Laboratorio Nacional CIACYT, Av. Sierra Leona 550, Col. Lomas 2ª. Sección, C.P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO, hnavarro@uaslp.mx.

METODOLOGÍA

Materiales

Nitrato de plata (AgNO_3 , 99.99%), ácido tetracloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99.99%) y citrato trisódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NA}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) de la marca Sigma Aldrich. Se utilizó agua desionizada. Las soluciones de citrato trisódico utilizadas en todos los experimentos fueron recién preparadas justo antes de utilizarse.

Síntesis de AgNPs (nanopartículas de plata)

Empleando el método de Turkevich (Turkevich, John; Cooper, 1951) se prepararon 7.5 mL de nitrato de plata (AgNO_3) en solución acuosa a 2.5 mM en un vial de vidrio. La reacción se llevó a cabo inicialmente a temperatura ambiente y una constante agitación utilizando una barra magnética. Posteriormente fue calentada a 95°C y se agregaron 7.5 mL de citrato trisódico ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NA}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en solución a 2.5 mM. Se tuvo un control de la temperatura utilizando un termopar. El color de la solución de reacción cambió de incoloro pasando por amarillo y terminando en un color grisáceo que indica la presencia de nanopartículas de plata. La solución de partículas obtenida fue filtrada empleando papel whatman no. 1 de 42.5 mm y bomba de vacío. Finalmente las partículas filtradas se lavaron utilizando un volumen de 10 mL y se centrifugaron por 3 minutos a 4500 rpm en centrifuga DMA0412 marca DIAB. Después se retiró el sobrenadante y se agregó agua desionizada para centrifugar nuevamente bajo las mismas condiciones. Por último se llenaron los tubos a 5 mL con agua desionizada.

Síntesis de AuNPs (nanopartículas de oro)

Se emplean 10 mL de 2.5 mM de ácido tetracloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) en solución acuosa en un vial de vidrio. La reacción se lleva a cabo en agitación constante, empleando barra magnética, y en un gradiente de temperatura, comenzando por la temperatura ambiente hasta alcanzar 95°C , temperatura a la cual comienza a ebullición la solución. Inmediatamente al comienzo de la ebullición se agrega la solución de citrato trisódico ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NA}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). El color de la solución cambió al reaccionar con el citrato trisódico, de amarillo claro (color de la solución de ácido tetracloroáurico) a morado oscuro para finalmente obtener un color intenso de rojo ladrillo al término de la reacción. Las partículas se lavaron en 3 ciclos, cada uno a 4500 rpm por 3 minutos en centrifuga DM0412 marca DIAB, entre cada ciclo se sonicaron 10 minutos en baño ultrasónico marca BRANSON modelo 1800.

El tamaño de las partículas y potencial zeta fue medido en un equipo Zetasizer Nano ZS marca MALVERN modelo MRK656-01 empleando una celda S90/ZS90 y DTS1070 respectivamente. Las partículas exhiben un movimiento browniano, el cual causa que la intensidad de la luz se disperse desde las partículas y es detectado como un cambio en la intensidad con una óptica adecuada y un fotomultiplicador (Motion, n.d.). Todas las mediciones fueron realizadas en modo automático por triplicado. Para ambas mediciones se utilizó agua desionizada como dispersante y se realizó a temperatura ambiente.

Para la obtención del espectro de absorbancia óptica se utilizó el espectrómetro USB-650 Red Tide modelo USB-650-UV-VIS en el rango 200-800 nm además del software Ocean Optics SpectraSuite y OriginPro. Se empleó un tiempo de integración de 26 ms, un promedio de 10 exploraciones y la celda Ultra micro-cell.

Las imágenes de microscopía electrónica de transmisión de barrido Scanning Transmission Electron Microscope (STEM) de AgNPs y AuNPs se obtuvieron con un microscopio Helios G4 CX DualBeam operando a 30 kV. Las muestras fueron preparadas depositando una gota de la solución coloidal sobre una fina película de soporte poroso de carbono Foamvar de 200 mallas.

RAMAN Y SERS

Las mediciones de RAMAN se llevaron a cabo en un espectrómetro Raman Horiba Jobin Yvon XploRA ONE acoplado a un microscopio óptico Olympus BX4, utilizando un rango de 800-1800 nm, 20 s de tiempo de adquisición 2 acumulaciones, rejilla 1800 gr/mm, abertura de $100\ \mu\text{m}$, una fuente de láser verde a 532 nm. El haz del láser fue enfocado sobre la muestra con objetivo 10x. Las muestras fueron depositadas sobre una placa de aluminio con pozos de $100\ \mu\text{l}$. Para SERS se empleó una relación 2:1 (AS: AgNPs), esto es, $50\ \mu\text{L}$ AS y $25\ \mu\text{L}$ de AgNPs, en el caso de la curva de calibración; para las muestras de saliva se utilizaron $50\ \mu\text{L}$ de saliva y $25\ \mu\text{l}$ de AgNPs. La fluorescencia fue removida con el software Vancouver Raman Algorithm. Se

prepararon soluciones de AS a distintas concentraciones: 1, 5, 10, 20, 50, 100 y 200 mg/dl para la curva de calibración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tamaño de partículas y potencial zeta

A través de la síntesis química de AgNPs por el método de Turkevich se obtienen partículas de 71.05 ± 0.5 nm (Konnova, Danilushkina, Fakhrullina, Akhatova, & Badrutdinov, 2015) y en el caso de AuNPs 50 ± 5.65 nm (Sonavane, Tomoda, & Makino, 2008). En general las partículas metálicas presentan una mayor estabilidad en un potencial menor a -30 mV o mayor a $+30$ mV, valores de potencial entre estos dos resulta en partículas poco estables (Bumiller, 2012). Se han obtenido valores entre -53.18 y 33.78 mV de potencial Z para AgNPs (Haider & Mehdi, 2014) y para AuNPs -40.9 mV. Se obtuvo una distribución bimodal al medir el tamaño de AgNPs y AuNPs como se muestra en la Fig. 2 (a) y (b). Los tamaños de las AgNPs oscilan entre 76.18 nm y 5.71 nm mostrando una intensidad de 83.3% y 16.7% respectivamente; las AuNPs presentan tamaños entre 77.3 nm y 7.18 nm y una intensidad de 72.0% y 28.0% respectivamente. Por lo tanto las AuNPs son de menor tamaño que las AgNPs obtenidas. En cuanto a potencial Z para las AgNPs se obtuvo -38 mV y para las AuNPs -23.5 mV [Fig.2 (c) y (d)].

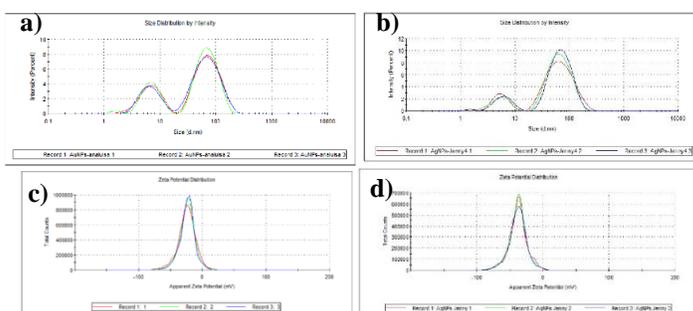


Figura 2. Tamaño de partículas a) AgNPs, b) AuNPs. Potencial Zeta c) AgNPs, d) AuNPs.

El tamaño de AgNPs es el esperado y al tener un potencial zeta de -38 mV nos indica que son estables sin embargo las AuNPs entran en el rango de inestabilidad. La carga de la superficie es el parámetro crítico en la estabilidad de la suspensión la cual es negativa en las partículas debido a la presencia del nitrato de plata, la cual también es negativa para AuNPs debido al ácido tetracloruroaurico.

Espectroscopía UV-VIS y Microscopía STEM

El espectro UV-VIS de AgNPs y AuNPs [Fig.3 (A) y (B)] muestra una banda de absorción con un máximo localizado a 435 nm y 527 nm respectivamente, los cuales surgen de la resonancia de plasmón superficial característico tanto de AgNPs como de AuNPs a nivel nanoescala, que son a 420 nm para las AgNPs y a 510 nm para las AuNPs (Sonavane et al., 2008). Las imágenes STEM de las mismas están representadas en la Fig. 3(C) y (D) respectivamente. Se observa que en la Fig.3(C) la mayor parte de las partículas se encuentran aisladas, aunque algunas están aglomeradas, en su mayoría en dos partículas. Las AuNPs igualmente se encuentran aisladas y bien definidas mostrando una forma semejante a semillas.

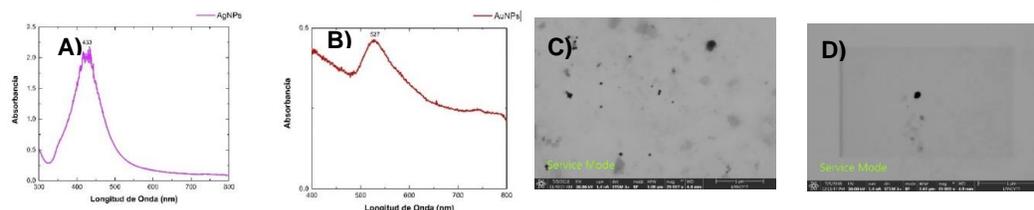


Figura 3. Espectro de absorción UV-Vis (A) AgNPs, (B) AuNPs. Imágenes de Microscopía electrónica de transmisión de barrido (C) AgNPs y (D) AuNPs.

RAMAN Y SERS

Fueron realizadas distintas mediciones obteniendo la curva de calibración para un análisis cuantitativo de AS adsorbido en AgNPs y AuNPs. Se observó que se obtuvieron los picos característicos del AS que van desde 540 nm hasta 1723 nm (Vinogradova, Tlahuice-Flores, Velazquez-Salazar, Larios-Rodriguez, & Jose-

Yacaman, 2014), especialmente en AS-sólido Fig.4 (B) y Fig. 5 (B), los cuales fueron intensificados en SERS Fig. 4 (D) y Fig. 5 (D).

Los números de onda vibracionales observados en todo el espectro del AS y los enlaces de la misma molécula a los cuales se les atribuye dichos modos vibracionales se muestran en la Tabla 1 (Vinogradova et al., 2014). Se realizó SERS de las soluciones de AS preparadas a distintas concentraciones mencionadas anteriormente Fig. 6. La intensidad Raman aumenta al aumentar la concentración de AS de dichas soluciones, apareciendo los picos característicos en cada una de dichas mediciones. SERS se midió en cada una de las muestras de salivas y se determinó la concentración de AS con base a la calibración de AS y AgNPs a diferentes concentraciones a través del software OriginPro que utiliza la función $y=a \cdot b \cdot \ln(x+c)$ para hacer el ajuste a la recta. Para ello se seleccionaron cuatro bandas en las cuales se registró una mayor intensidad en el espectro de AS200mg/dl-AgNPs las cuales son 907, 1172, 1291 y 1360 cm^{-1} , y con estas se realizaron las curvas de calibración (Fig. 7) para conocer las concentraciones de AS en cada paciente.

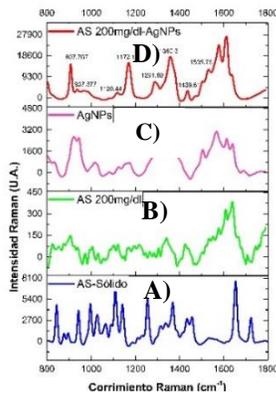


Figura 4. Curva de calibración.
A) Ácido Siálico Sólido. B) Disolución de Ácido Siálico a 200mg/dl. C) Solución AgNPs. D) Solución de Ácido Siálico y AgNPs en solución.

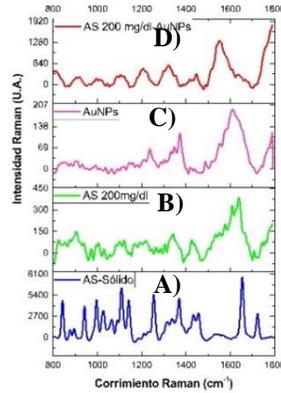


Figura 5. Curva de calibración.
A) Ácido Siálico Sólido. B) Disolución de Ácido Siálico a 200mg/dl. C) Solución AuNPs. D) Solución de Ácido Siálico y AuNPs en solución.

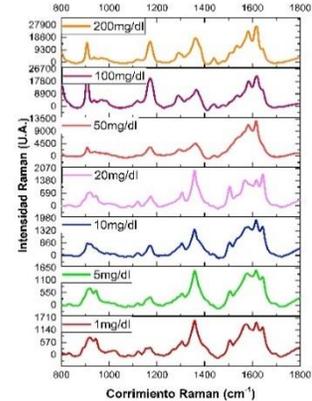


Figura 6. Calibración de Ácido Siálico y AgNPs a diferentes concentraciones.

Bandas obtenidas en SERS exp./ cm^{-1}	SERS teóricas/ cm^{-1}	RAMAN para AS en polvo / cm^{-1}	Enlace responsable de la vibración	Grupo funcional
907	-	898	Deformación axial (C-H) + giro (C-H ₂) en el anillo.	Anillo de piranosa
1172	-	1161.7	Estiramiento (C-C), estiramiento (C-O) asimétrico.	Glicerol Anillo de Piranosa
1360.6	1369	-	-	-
1291.59	-	1296	-	-

Tabla 1. Bandas principales asignadas a RAMAN y SERS del AS.

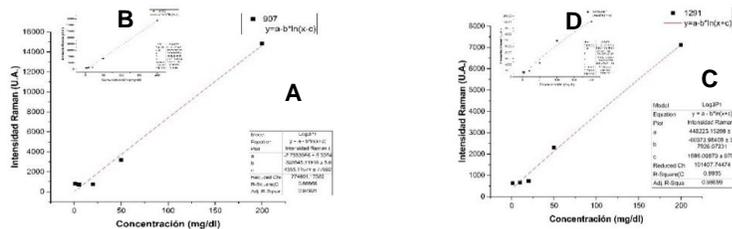


Figura 7. Intensidad Raman en el pico A) 907 cm^{-1} , B) 1172 cm^{-1} , C) 1291 cm^{-1} , D) 1360 cm^{-1} con respecto a las concentraciones de AS.

Se analizaron un total de 4 muestras de saliva pertenecientes a pacientes con cáncer cervicouterino ya detectado y una paciente sana mostrándose las intensidades en la saliva de cada paciente en la Fig.8 y las concentraciones fueron presentadas en la Tabla 2.

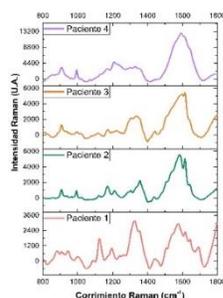


Figura 8. Intensidad Raman de la saliva de cada paciente. Paciente 1 es sana, paciente 2, 3, y 4 tienen cáncer cervicouterino ya diagnosticado

Paciente	Etapas clínicas de cáncer cervicouterino	Concentración AS (mg/dl)
1	Paciente sana	11.57
2	II A	15.19
3	III A	19.67
4	III B	43.18

Tabla 2. Concentración de AS en cada paciente. Paciente 1 es sana y pacientes 2, 3, 4 son pacientes que padecen la enfermedad.

CONCLUSIONES

El Ácido Siálico utilizado como biomarcador clínico muestra una gran capacidad de detección en ciertos fluidos biológicos, tal es el caso presentado de la saliva, ya que se logró identificar eficientemente por medio de espectroscopia Raman utilizando AgNPs (técnica SERS) ya que mostraron una mejor amplificación de la señal que las de AuNPs. En trabajos anteriores se ha reportado que las mujeres que padecen cáncer cervicouterino muestran una concentración de AS mayor a 12.6 mg/dl. Debido a que las pacientes con una concentración mayor a esta ya habían sido diagnosticadas y se encuentran en una etapa clínica de este cáncer, la cual se relaciona con la severidad del tumor, se puede asociar dicha etapa clínica con la concentración de AS. De manera que al avanzar en las etapas del cáncer existe una mayor concentración de AS.

BIBLIOGRAFÍA

- Amaro, F., Polo, K., Mendoza, M., Pi, L., & Cardoso, O. (2003). Comportamiento de algunos factores de riesgos asociados a la aparición del cáncer cervicouterino en un área de salud. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 7(6), 690–697.
- Bumiller, M. (2012). Size and Zeta Potential of Colloidal Gold Particles.
- Haider, M. J., & Mehdi, M. S. (2014). Study of morphology and Zeta Potential analyzer for the Silver Nanoparticles. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(7), 381–387. Retrieved from <http://www.ijser.org>
- Konnova, S. A., Danilushkina, A. A., Fakhullina, G. I., Akhatova, F. S., & Badrutdinov, A. R. (2015). RSC Advances stabilised nanoparticles on microbial cells †. *RSC Advances*, 5, 13530–13537. <https://doi.org/10.1039/C4RA15857A>
- Serrano-Berrones, M. A., López Velázquez, J. L., & Serrano Berrones, J. R. (2012). Expresión de ácidos siálicos en el cáncer cervicouterino. Estudio de una población del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos. *Rev Esp Méd Quir*, 17(2), 115–118.
- Turkevich, John; Cooper, P. H. J. (1951). A study of the nucleation and growth process in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 55(c), 55–75. <https://doi.org/10.1039/df9511100055>
- Vinogradova, E., Tlahuice-Flores, A., Velazquez-Salazar, J. J., Larios-Rodriguez, E., & Jose-Yacaman, M. (2014). Surface-enhanced Raman scattering of N-acetylneuraminic acid on silver nanoparticle surface. *Journal of Raman Spectroscopy*, 45(9), 730–735. <https://doi.org/10.1002/jrs.4544>

LOCALIZACIÓN DEL HONGO *Beauveria bassiana* EN SU ASOCIACIÓN CON LA PLANTA *Medicago sativa*.

Jessica Guadalupe Landeros López¹, Areli Durón Castellanos², Iván Horacio Piña Torres², Gloria Angélica González Hernández², Israel Enrique Padilla Guerrero².

RESUMEN

Beauveria bassiana es un hongo deuteromiceto que crece de forma natural en los suelos de todo el mundo. Su poder entomopatógeno lo hace capaz de parasitar a insectos de diferentes especies y actualmente es una de las especies de entomopatógenos comercialmente más utilizadas para el control de plagas. Además, recientemente se ha demostrado su capacidad para colonizar endófitamente un amplio rango de plantas, ofreciéndoles múltiples beneficios como protección contra plagas y enfermedades, y promoción del crecimiento. El objetivo principal de este proyecto fue determinar la asociación de distintas cepas del hongo *Beauveria bassiana* con la planta de alfalfa (*Medicago sativa*) realizando experimentos *in vitro* y en invernadero para evaluar el efecto en el crecimiento de la planta. Se demostró que existe colonización del hongo sobre la superficie de las raíces de planta, sin embargo no existieron datos estadísticos significativos que demostraran un efecto sobre la promoción del crecimiento de la planta de alfalfa (*M. sativa*).

ABSTRACT

Beauveria bassiana is a deuteromycete fungus that grows naturally in soils throughout the world. Its entomopathogenic power makes it capable of parasitizing insects of different species and is currently one of the most commonly used species of entomopathogens for pest control. In addition, its ability to endogenously colonize a wide range of plants has recently been demonstrated, offering multiple benefits such as protection against pests and diseases, and promotion of growth. The main objective of this project was to determine the association of different strains of the fungus *Beauveria bassiana* with the alfalfa plant (*Medicago sativa*) performing *in vitro* and greenhouse experiments to evaluate the effect on plant growth. It was demonstrated that there is colonization of the fungus on the surface of the plant roots, however there were no significant statistical data that demonstrated an effect on the growth promotion of the alfalfa plant (*M. sativa*).

Palabras Clave: *Beauveria bassiana*, entomopatógeno, colonización, micorriza, alfalfa.

INTRODUCCIÓN

Las plantas frecuentemente albergan hongos de forma asintomática dentro de sus tejidos. Estos hongos, llamados endófitos, invaden los tejidos vegetales vivos durante una parte de su ciclo de vida, ya sea breve o en múltiples generaciones de hospederos. La interacción planta-endófito se identifica por su carácter asintomático, en donde la planta provee al hongo alimento, hospedaje y protección [1]. La mayoría de las especies de las plantas son capaces de superar la insuficiencia de nutrientes al formar asociaciones simbióticas con bacterias del suelo, hongos micorrízicos y hongos endófitos. Típicamente, en la simbiosis planta-hongo, los hongos asociados transfieren nutrientes del suelo limitantes, como fósforo y nitrógeno, a cambio de carbohidratos derivados de la planta [6]. Los hongos endófitos cumplen una variedad de funciones que comprenden funciones simbióticas y ecológicas que pueden beneficiar a las plantas, incluido el crecimiento mejorado de las plantas y la protección contra patógenos [3]. Recientemente se ha demostrado que los hongos endófitos funcionan también como promotores del crecimiento, cuando plantas colonizadas mostraron un mayor número de raíces laterales y formación de pelos radiculares, y un aumento general de biomasa, en comparación con las no colonizadas [6]. La utilización de microorganismos benéficos para las plantas ha tenido una amplia expansión en los últimos años, debido a su efecto positivo sobre el rendimiento de muchos cultivos en distintas situaciones y a la posibilidad de permitir desarrollar una agricultura orgánica. [5]

¹ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas: Noria Alta, S/N. CP: 36050, Guanajuato, Gto. jessgll@hotmail.com

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Biología, Laboratorio de Genética Molecular de Hongos: Noria Alta, S/N. CP: 36050, Guanajuato, Gto. ie.padillaguerrero@ugto.mx

El ascomiceto entomopatógeno *Beauveria bassiana* se ha encontrado, y aislado, de una amplia variedad de órdenes de insectos, pero también de suelos y varias especies de plantas. Aunque este hongo ha recibido mucha atención en virtud de su alto potencial de control microbiano, estudios recientes han demostrado que también tiene un estilo de vida endofítico [2]. Se ha encontrado en *B. bassiana* un ortólogo del gen *Mad2* del organismo *Metharizium*, que codifica una proteína de adhesina que es crucial para la adhesión a las raíces de planta. Así, se ha encontrado que el hongo *B. bassiana* es capaz de colonizar endófitamente raíces, tallos y hojas de la planta de tomate, algodón y frijol [6]. *B. bassiana* tiene, además, el potencial de proteger las plantas contra diversas plagas [2], mediante una combinación de penetración mecánica y degradación de componentes cuticulares del insecto, al emplear enzimas como proteasas, quitinasas, estererasas y lipasas, lo que lo ha convertido en un bioinsecticida potencial para el control de plagas en los agroecosistemas desde el siglo XX [6].

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una planta perenne, de crecimiento erecto, tallo poco ramificado, de 60 a 100 cm de altura; tiene hojas trifoliadas, folíolos ovalados, con márgenes lisos y bordes superiores ligeramente dentados [7]. Los tallos son delgados, sólidos o huecos y la raíz es pivotante y alcanza varios metros de longitud, con una corona, de la cual emergen los rebrotes, que dan origen a los nuevos tallos; las flores son de color azul o púrpura, dependiendo de la variedad [8]. Globalmente, la alfalfa (*M. sativa*) es la leguminosa forrajera más utilizada en la alimentación del ganado, sobresale por su elevada capacidad productiva y alto valor nutritivo. Se requiere como mejoradora de fertilidad y de la estructura del suelo, y también es sembrada en alternativa con otros cultivos exigentes en nitrógeno [9]. En México, la alfalfa (*M. sativa*) es la leguminosa forrajera más utilizada para la alimentación del ganado lechero, en las regiones árida, semiárida y templada. En los últimos 12 años, se cultivaron un promedio de más de 220,000 hectáreas anuales bajo condiciones de riego. Los principales estados productores de alfalfa en México son Guanajuato, Hidalgo, Baja California, Coahuila, Durango, San Luis Potosí, Puebla y Querétaro [10].

La finalidad de este proyecto es localizar la asociación de distintas cepas del hongo *Beauveria bassiana* en las raíces de la planta de alfalfa (*Medicago sativa*), evaluando al mismo tiempo el efecto sobre el crecimiento de ésta, realizando experimentos *in vitro*, en invernadero y con microscopía de fluorescencia.

MÉTODOS Y MATERIALES

Cepas utilizadas y Recolección de conidias

Las cepas utilizadas del organismo *Beauveria bassiana* fueron obtenidas de la Colección de Hongos Entomopatógenos del Laboratorio de Genética Molecular de Hongos de la Universidad de Guanajuato, México. Se utilizaron las cepas: UG1-2, UG4, LCP12, AT5, RPV2 y STC3.

Los aislados de *Beauveria bassiana* se crecieron en medio MS-100 a 28°C en un periodo de 10-14 días. Se realizó la recolección de conidias de todas las cepas con una solución de Tritón X-100 al 0.1%, realizando un raspado con un asa de Drigalski triangular en las cajas de Petri y filtrando la solución con una malla de fibra sintética para eliminar los restos de micelio. Seguidamente, se realizaron 3 lavados con Tritón X-100 al 0.01%, centrifugando a 3,000 rpm durante 5 minutos entre cada lavado. La pastilla se resuspendió en 10 ml de Tritón 0.01%, y finalmente se determinó la cantidad de conidias/ml mediante la cuenta con un hemocitómetro.

Esterilización de semillas

Se empleó la variedad de semillas San Miguelito (Semillas Berentsen®). San Miguelito es la alfalfa criolla más popular en centro de México. Las semillas de alfalfa (*Medicago sativa*) fueron esterilizadas cubriéndolas en su totalidad con ácido fosfórico concentrado, agitando en el vórtex durante 5 minutos, y posteriormente realizando cinco lavados con agua destilada estéril.

Experimento *in vitro* de asociación hongo-planta

Para el experimento *in vitro*, las semillas de alfalfa esterilizadas se sincronizaron cubriéndolas con agua destilada estéril y colocándolas a 4°C durante 12h. Una vez sincronizadas, se colocaron 10 semillas en línea en cajas Petri con agar-agua, utilizando 5 placas por cepa. Seguidamente, las placas fueron inoculadas con una suspensión de 1×10^8 conidias/ml, de su correspondiente cepa, que se colocó a lo largo y 2 cm debajo de la línea de las semillas de alfalfa.

Para el control, se utilizó solución de Tritón 0.1%. Las placas se incubaron a 26 °C durante 10 días. Pasado este tiempo, las placas fueron observadas con un transiluminador de luz blanca, comparando las cepas con el control, y seleccionando aquella que mostrara una mayor asociación con la raíz de la plántula. Éstas fueron después analizadas con el estereoscopio Zeiss AX10 zoom V16, con el cual se tomaron fotografías de las placas, y se utilizó el programa Zen Pro para la observación de la colonización de la cepa del hongo *B. bassiana* con la raíz de la plántula de alfalfa (*M. sativa*).

Experimento de microscopía de fluorescencia

Se utilizaron semillas de alfalfa (*M. sativa*) previamente esterilizadas. Las semillas se colocaron a germinar en cajas de Petri con agar-agua, incubándolas a 26°C durante 3 días con la finalidad de obtener plántulas. Posteriormente, las raíces de las plántulas se sumergieron durante 10 segundos en una solución de 1×10^7 conidias/ml de la cepa transformada UG1-2-mCherry de *B. bassiana*, y nuevamente se dejaron incubar en las cajas de Petri con agar-agua. Se observó la colonización de las raíces de las plantas a las 72 y 96 h con un microscopio de fluorescencia marca Nikon.

Experimento en invernadero de asociación hongo-planta

Para el experimento en invernadero, se utilizó el sustrato Kekkilä, mezclado 3 partes a 1 con vermiculita. La mezcla se colocó en charolas de aluminio selladas con bolsas de plástico y se esterilizó 3 veces en el autoclave. Una vez estéril, la mezcla se humedeció con 800 ml de agua destilada. La mezcla se colocó en una bandeja de germinación de plástico, en donde se sembró una semilla esterilizada por cavidad a 0.5 cm de profundidad. La bandeja se dividió en 7 hileras, de las cuales 6 correspondían a las cepas y 1 al control, con 14 cavidades cada una. Posteriormente, cada semilla se inoculó con 100 µl de una solución de 1×10^8 conidias/ml, de su correspondiente cepa. Para el control se utilizó solución de Tritón 0.1%. La bandeja se colocó en el invernadero con una temperatura de 37°C y 25% de humedad. Las semillas se dejaron germinar durante 3 semanas, y fueron regadas diariamente con 5 ml de agua destilada.

Pasadas las 3 semanas, las plántulas fueron retiradas de la bandeja y se lavó cada una con agua destilada para remover el exceso de sustrato. Cada plántula se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se envolvieron en papel aluminio. Los envoltorios se colocaron en frascos de vidrio y se dejaron en un horno a 50°C durante 24h para permitir el secado total de la planta. Seguidamente, se procedió a pesar cada una de las plántulas en una balanza analítica para obtener el peso seco en gramos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento *in vitro* de la interacción de las 6 cepas de *B. bassiana* con *M. sativa*, una vez realizada la comparación entre las cepas y el control, no se encontró diferencia significativa en cuanto al tamaño de la raíz o promoción de raíces secundarias. Sin embargo, en general se observó la promoción de pelos radicales en presencia de todas las cepas. Además, al realizar en análisis con el estereoscopio Zeiss AX10 zoom V16, fue posible observar que la cepa UG1-2 presentó una mayor colonización, a comparación de las otras cepas, en las raíces de las plántulas de alfalfa, como se muestra en la Figura 1.

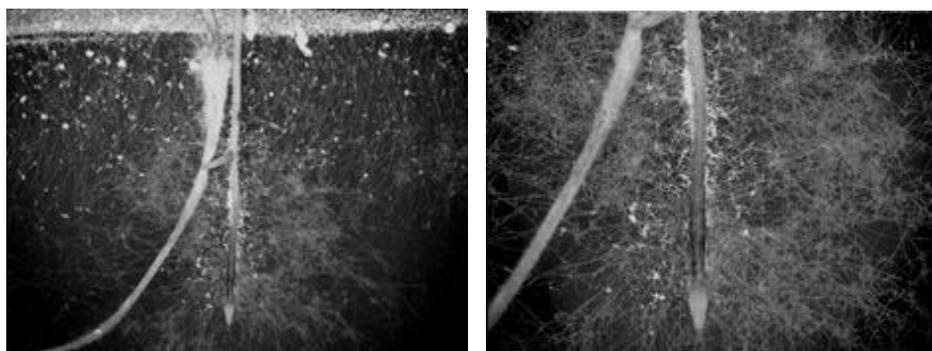
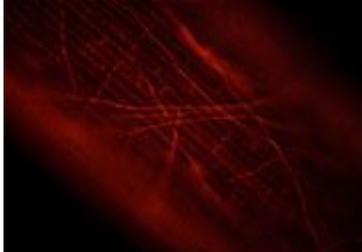
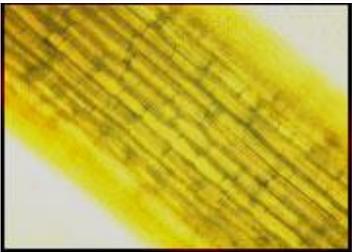
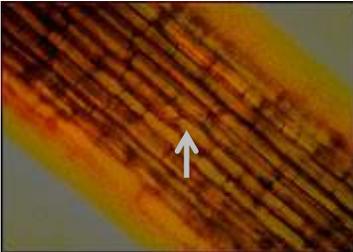
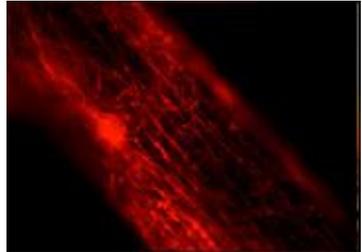
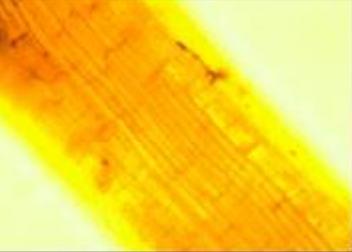
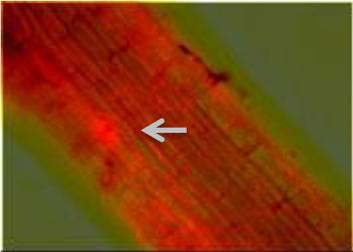


Figura 1. Asociación de la cepa UG1-2 del hongo *B. bassiana* con la raíz de la planta de alfalfa (*M. sativa*). Primera imagen con un aumento de 20x; segunda imagen con un aumento de 40x.

La cepa UG1-2 fue elegida para realizar el experimento *in vitro* con microscopía de fluorescencia, utilizando la cepa transformada UG1-2-mCherry. Se observó la asociación de la cepa transformada con éxito a las 72 y 96 h, utilizando microscopía de fluorescencia con un aumento de 200x (Tabla 1), en donde se logró apreciar la colonización del hongo a lo largo de la raíz. A las 72 h se observó la presencia de hifas sobre la superficie de la raíz, y a las 96 h puede apreciarse el micelio creciendo sobre ésta. A pesar de que la raíz presentaba autofluorescencia, el hongo pudo apreciarse sin problema, como lo indican las flechas.

Tabla 1. Asociación de la cepa UG1-2-mCherry del hongo *B. bassiana* en la raíz de la planta de alfalfa (*M. sativa*) observada con microscopía de fluorescencia

Tiempo	Fluorescencia	Campo claro	Localización
72 h			
96 h			

En el experimento en invernadero, para el análisis de los datos obtenidos del peso seco de las plantas, se utilizó el programa estadístico Prism 6, con el cual se realizaron las pruebas de normalidad D'Agostino & Pearson omnibus normality test y Shapiro-Wilk normality test, los cuales indicaron que los datos presentaban una distribución normal. Posteriormente se realizó un análisis ANOVA de una vía, obteniendo un valor $p = 0.9952$, el cual es mayor a $p > 0.05$, lo que muestra que no existió diferencia significativa entre los tratamientos de las distintas cepas y el control. De igual manera se puede observar la representación de estos análisis mediante el uso de un gráfico de barras (Fig. 2). Estos resultados indican que a pesar de la asociación del hongo *B. bassiana* con la raíz de la planta de alfalfa (*M. sativa*), éste no tiene un efecto sobre el crecimiento o promoción de las raíces. Será necesario realizar posteriormente experimentos de interacción con sustratos distintos y con una mayor duración de interacción.

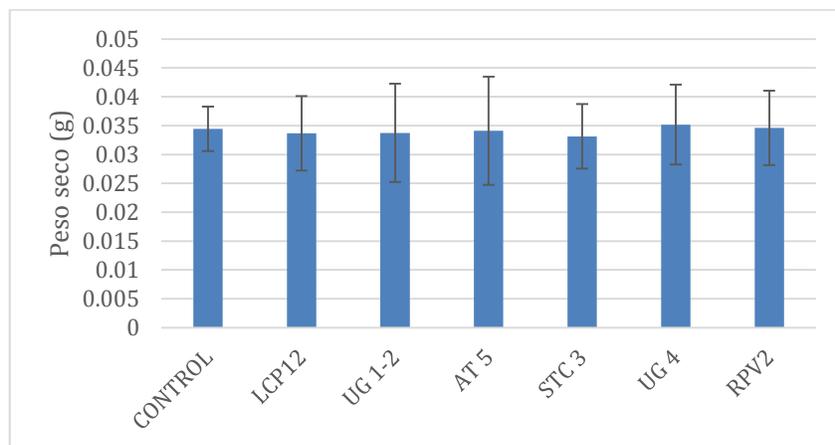


Figura 2. Peso seco de las plántulas de *M. sativa* de la interacción en invernadero con el hongo *B. bassiana*. Gráfica de barras con error estándar.

CONCLUSIONES

Las cepas utilizadas del hongo *Beauveria bassiana* tienen la capacidad de asociarse con las raíces de la planta de alfalfa (*Medicago sativa*), colonizando la superficie de la misma a partir de las 72 h, como se observó en los experimentos *in vitro*.

A pesar de que existió interacción entre el hongo y la raíz en el experimento en invernadero, estadísticamente no existió diferencia significativa entre los 6 tratamientos de las cepas del hongo de *B. bassiana* y el control, al analizar el peso seco sobre un efecto en el crecimiento de las raíces o promoción de raíces secundarias de la planta de alfalfa (*M. sativa*).

REFERENCIAS

- [1] McKinnon, A.; Saari, S.; Moran-Diez, M.; Meyling, N.; Raad, M. & Glare, T. (2016). “*Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential” en *BioControl*, Número 1, Vol. 62, Febrero 2017, [pp 1–17]
- [2] Sánchez-Rodríguez, A.; Raya-Díaz, S.; Zamarreño, A.; García-Mina, J.; Del Campillo, M.; Quesada-Moraga, E. (2017). “An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae” en *BioControl*, Vol. 116, Enero 2018, [pp 90-102]
- [3] Melinda Greenfield ;María I. Gómez-Jiménez ;Viviana Ortiz ;Fernando E. Vega ; Mateo Kramer ;Soroush Parsa. (2016). “*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation” en *Biological Control*, Vol. 95, Abril 2016, [pp 40-48]
- [4] Gamboa-Gaitán, M. (2006) “Hongos endófitos tropicales: Conocimiento actual y perspectivas.” Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. 18 p.
- [5] Carroll, G. (1988) “Fungal endophytes in stems and leaves: From latent pathogen to mutualistic symbiont” en *Ecology*, Vol. 69, [pp 2-9].
- [6] Barelli, L.; Moonjely, S.; Behie, S.; Bidochka, M. (2015) “Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi”, en *Plant Molecular Biology*, Diciembre.
- [7] SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SNICS. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. (2008). “Regla para la calificación de semilla de alfalfa (*Medicago sativa* L.)” México. [pp. 1-22]
- [8] Del Pozo, M. (1983) “La Alfalfa. Su Cultivo y Aprovechamiento.” en Editorial Mundi- Prensa, Madrid, España. 380 p.
- [9] Villamizar, E.; Cadena Castro, P. (2011) “Producción y Calidad Nutricional de la Alfalfa (*Medicago Sativa*) Sembrada en dos ambientes diferentes y cosechada en distintos estadios fenológicos.” Universidad De La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Zootecnia, Bogotá, Colombia.
- [10] Salinas, C. S. (2005). “Pasado, presente y futuro de la alfalfa en México.” Ficha técnica de Semillas Berenten, S. A. de C. V. Departamento de investigación y desarrollo. Consultada en www.sebesa.com.mx (05-08-2018)

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad de Guanajuato y al comité organizador del Verano de la Ciencia de la Región Centro por el apoyo institucional en este verano de investigación. De igual manera agradezco a mis asesores por su tiempo, dedicación y enseñanza durante este proyecto.

OBTENCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES DERIVADOS DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS SUBUTILIZADOS EN EL ESTADO DE GUANAJUATO DEL 20° VCRC

Jesús Alberto Gaytán Peña¹ y Dr. Raúl Reyes Bautista²

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la biotransformación química y biológica de la biomasa lignocelulósica a partir de los desechos agroindustriales generados en la industria tequilera en el estado de Guanajuato, con la finalidad de producir de bioetanol de segunda generación, como una manera de mitigar los efectos nocivos de la utilización de combustibles fósiles. Se utilizaron diferentes tipos de tratamientos como la hidrólisis térmica-ácida la cual se utilizó con la finalidad de degradar la lignina, posteriormente se realizó un tratamiento biológico utilizando un sistema enzimático para producir propiciar la liberación de azúcares reductores contenido en la celulosa y hemicelulosa, posteriormente se realizó la fermentación del material pretratado y sacrificado utilizando como microorganismo utilizado por excelencia *S. cerevisiae*, para la producción de bioetanol.

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the biological and chemical biotransformation of the lignocellulosic biomass from the agroindustrial waste generated in the tequila industry in the state of Guanajuato, with the purpose of producing second generation bioethanol, as a way to mitigate the effects harmful to the use of fossil fuels. Different types of treatments are used, such as thermal hydrolysis, then a biological treatment is used that uses an enzymatic system to produce the release of reducing sugars in cellulose and hemicellulose, afterwards the fermentation of the pretreated and sacrificed material was carried out using as microorganism used par excellence *S. cerevisiae*, for the production of bioethanol..

Palabras clave: hidrólisis, material lignocelulósico, sacarificación, bioetanol.

INTRODUCCION

La creciente concentración acerca de los problemas medio ambientales de nuestro planeta, con el consiguiente desarrollo y endurecimiento de la legislación a este respecto, ha impulsado el aprovechamiento de la biomasa como fuente de energía en general, y de biocombustibles líquidos en particular. La producción actual de biodiesel y bioetanol se basa en materias primas oleaginosas y almidonadas/azúcares, respectivamente, lo que ha generado un gran debate acerca de su sostenibilidad (Gorter *et al.*, 2013)

Estos biocombustibles de primera generación trajeron consigo grandes problemas sociales y ambientales. Por un lado, el precio de los productos agrarios se incremento de forma importante debido al aumento de la demanda de estos cultivos para producir biocombustibles, creando situaciones especialmente difíciles para la población de países como Brasil y México (Gorter *et al.*, 2013). Por otro lado, se encuentran los graves problemas medioambientales debido a la deforestación. Un ejemplo de esta situación se encuentra en Indonesia, donde se destinaron 20 000 ha al cultivo de palma para la producción de biodiesel, utilizando el terreno que previamente era selva tropical (Obidzinski *et al.*, 2012)

Con estos antecedentes, los biocombustibles de segunda generación obtenidos a parte de la biomasa lignocelulósica son una alternativa interesante, ya que las materias primas lignocelulósicas no compiten con los cultivos alimentarios y también tienen un precio mas competitivo que las materias primas agrícolas convencionales (Gómez *et al.*, 2013).

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Ciencias del Suelo, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315 Saltillo, Coahuila, jesus_3854@hotmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón, División de Ingeniería Bioquímica, Blvd. Del Valle 2301, Guardarrayas, 36413 Purísima del Rincón, Guanajuato, raul.reyes@tecपुरísima.edu.mx

Existe dos opciones para abastecer la demanda de la materia prima para la producción de los biocombustibles de segunda generación. Una primera opción consistiría en aprovechar los residuos agrícolas o procedentes de la madera, aunque estos residuos parecen insuficientes (FAO, 2008), por lo que los procesos de segunda generación podrían ser más rentables si se integrasen en las instalaciones manufactureras existentes, por ejemplo, de fabricación del papel, que producen biomasa barata o subproductos de biomasa. La segunda opción es crear una reserva forestal mediante planeaciones para abastecer las necesidades de materia prima (Gómez *et al.*, 2008). La biomasa lignocelulósica es la materia prima renovable más abundante, su producción anual se ha estimado 1 x 10¹⁰ millones de toneladas alrededor del mundo (Sánchez y Cardona, 2008).

Los efectos nocivos de la utilización de combustibles fósiles: como el calentamiento global y la creciente escasez y precios del petróleo, serán la prioridad de las políticas energéticas, por lo que se ha propuesto el uso de etanol de segunda generación. Sin embargo, los microorganismos responsables de su producción no llegan a ser capaces de degradar polisacáridos estructurales, de modo que es necesario requerir a una hidrólisis.

Con el objetivo de biotransformar química y biológicamente la biomasa lignocelulósica obtenida a partir de los desechos agroindustriales generados por la industria tequilera en el estado de Guanajuato para la producción de bioetanol, se utilizarán diferentes tipos de tratamientos como la hidrólisis, que ayudarán a degradar el material lignocelulósico convirtiéndolo en azúcares fermentables, utilizados en la obtención de etanol de segunda generación.

Finalmente, para evitar los problemas de seguridad de los alimentos que se utilizan en la generación de biocombustibles, se presenta como alternativa para la generación de bioetanol de segunda generación, el bagazo de agave en el estado de Guanajuato, el cual ayudaría a mitigar la quema del material que es nocivo para el ambiente.

MÉTODOS Y MATERIALES

Muestra biológica

Se utilizó bagazo de agave de la variedad *Agave tequilana* Weber var. Azul, proveniente de la industria tequilera en el estado de Guanajuato, el cual se secó en un horno de convección forzada a 60°C, posteriormente fueron procesados mediante un molino de bolas hasta un tamaño de partícula de 1 mm. La biomasa de bagazo de agave molida se mezcló para garantizar muestras representativas y se almacenó en un recipiente sellado a temperatura ambiente hasta su uso posterior.

Pretratamiento de la biomasa

Se realizó una hidrólisis en medio ácido del material lignocelulósico, mediante ácido sulfúrico, utilizando una concentración de 1.5 % (w/v), durante 90 min a 121 °C. Las muestras de biomasa se prepararon de la siguiente manera 15 g de biomasa seca se transfirieron a frascos para esterilizar los cuales contenían 200 mL de agua destilada con las diferentes concentraciones de ácido, las suspensiones se dejaron reposar durante toda la noche (Kuloyo *et al.*, 2014), posteriormente llevaron a cabo el tratamiento térmico-ácido. La biomasa hidrolizada resultante se filtró al vacío y se utilizó la fracción líquida para evaluar el contenido de azúcares totales (por el método de ácido sulfúrico-fenol) liberados al medio por efecto del tratamiento térmico-ácido.

Enzimas y ensayos enzimáticos

Se utilizó la enzima celulasa comercializada por Sigma-Aldrich. Las actividades celulasa y β-glucanasa de las preparaciones enzimáticas anteriores se determinaron usando ensayos convencionales (Ghose, 1987); actividad de la celulasa se expresó como unidades de papel de filtro, FPU·mL⁻¹, mientras que la actividad β-glucanasa se expresa como unidades internacionales (UI), en donde 1 UI es igual a 1 μmol·min⁻¹ de sustrato convertido.

Sacarificación de la biomasa hidrolizada

Posterior al tratamiento térmico-ácido, el pH se ajustó a 5 mediante un buffer de acetatos, para la sacarificación se utilizó una [E]/S la cual contenía: 15 FPU de celulasa, 15 UI de β -glucanasa por g de biomasa seca de la suspensión pretratada, la cual se agitó a 300 rpm a 50 °C durante 48 horas para permitir la máxima liberación de azúcares monoméricos (cuantificados como azúcares reductores).

Cepa de levadura y la preparación del inóculo

Las células de levadura de *Saccharomyces cerevisiae* fueron proporcionadas por la Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma (CCM) cepa industrial J-2036, la cual fue pre-cultivada en 100 ml de caldo dextrosa sabouraud (CDS) a 30°C durante 48 h. El pre-inóculo se transfirió a matraces que contenían 400 ml de medio (CDS) y se incubaron de la forma mencionada anteriormente. Este procedimiento se repitió durante cuatro veces con el fin de obtener suficiente biomasa celular. Las células de levadura se separaron mediante centrifugación a 1200 g durante 5 min y se utilizaron para inocular los hidrolizados de nopal.

Condiciones de la fermentación

Las fermentaciones se llevaron a cabo de manera discontinua durante 12 h a 30°C con una agitación constante de 150 rpm, que contenía 800 mL del hidrolizado de bagazo de agave, inoculado con células J-2036 equivalentes a 10% w/v en peso seco celular ($\sim 10^8$ células·mL⁻¹). Se monitoreo cada 4 h retirando muestras para su posterior análisis. Los productos de fermentación que se analizaron fueron el consumo de azúcares reductores los cuales se determinaron cuantificando mediante el método descrito por Miller (1959) y por último se evaluó la concentración de la biomasa mediante el peso seco de la misma (por peso seco), además del monitoreo de la densidad óptica a 650 nm.

RESULTADOS

En la Figura 1-A se muestra el efecto aplicado en tres distintos tratamientos térmicos ácidos para la degradación de la lignina contenida en el bagazo de agave, donde se puede observar que en promedio la liberación de azúcares totales (8.75 ± 0.69 g/L) al medio por la acción de termo-ácida no fue drástica observándose que en los tres tratamientos aplicados no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$). El contenido de azúcares liberados al medio es de vital importancia ya que no es conveniente que se liberen cantidades muy grandes ya que se podrían utilizar para poder fermentar.

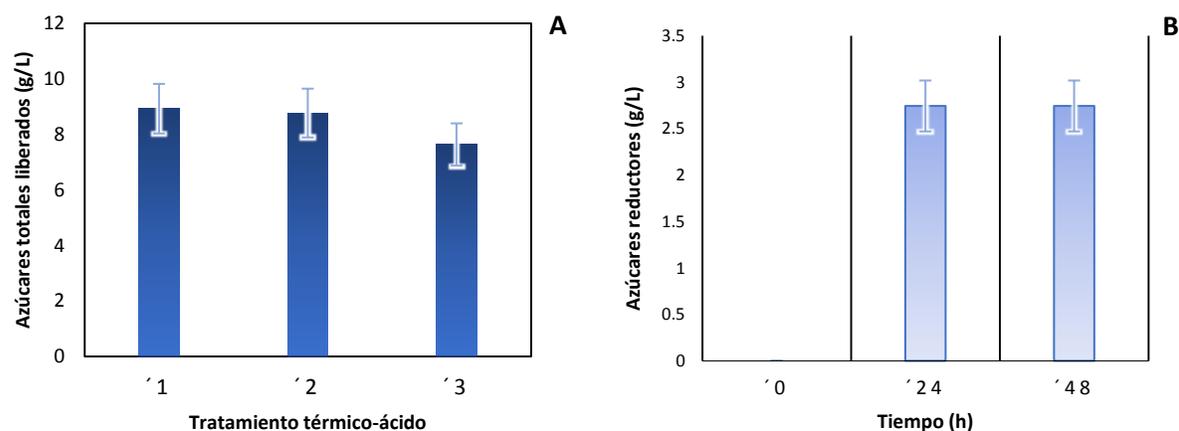


Figura 1. (A) Efecto del tratamiento térmico ácido sobre la liberación de azúcares torales al medio y (B) Sacarificación de la muestra pretratada de bagazo de agave sobre la generación de azúcares fermentables.

En la Figura 1-B se aprecia el efecto de la sacarificación evaluado a las 0, 24 y 48 h, donde se puede apreciar que en el tiempo 0 no existían azúcares reductores en el medio y a medida que ocurrió la sacarificación la enzima comenzó a liberar unidades de glucosa al medio mismos que se evaluaron mediante el método DNS, sin embargo se aprecia que después de las 24 h de tratamiento no existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) con las 48 horas a las cuales se analizó el contenido de azúcares reductores, siendo esta cantidad 2.75 ± 0.13 g/L.

En la Figura 2 se aprecia la cinética de fermentación sobre el consumo de azúcares reductores, donde se puede apreciar que en 32 h de fermentación la reducción de azúcares reductores 83.33 %, lo que indica que la fermentación, la biomasa mostró que la cantidad de azúcares reductores destinados al crecimiento microbiano fue de 18.3%, lo cual indica que el 81.7 %, la densidad óptica reveló que efectivamente el crecimiento celular a un nivel bajo se realizaba, esto con la finalidad de el microorganismo pudiera compensar el crecimiento para su fermentación.

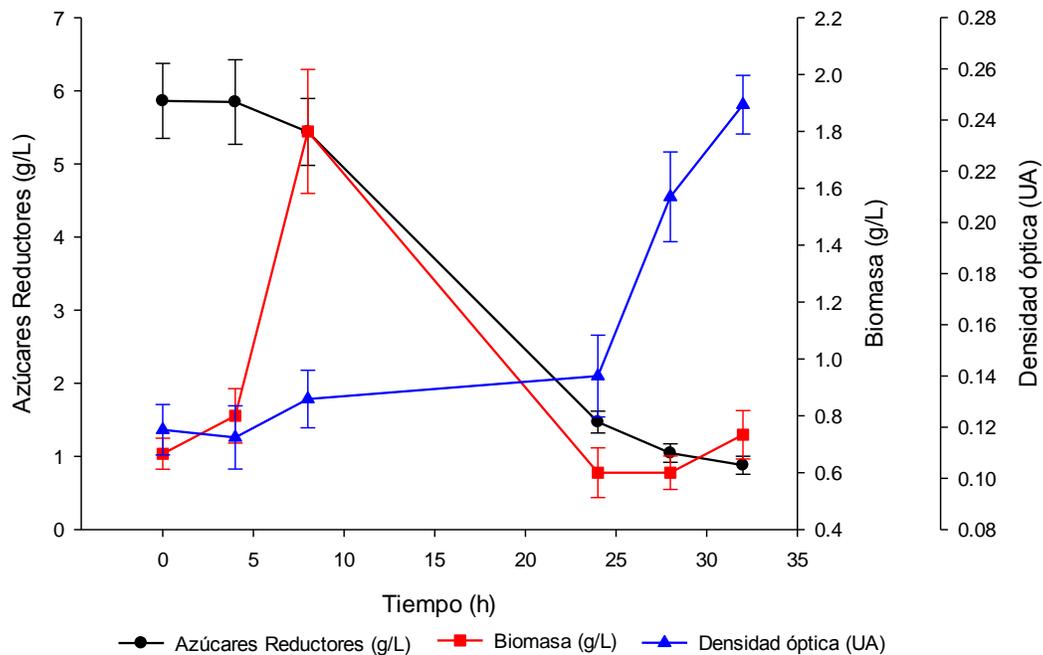


Figura 1. Cinética de la fermentación del material sacarificado proveniente del bagazo de agave pre-tratado.

CONCLUSIONES

- El tratamiento térmico-acido (1.5% ácido H_2SO_4 por 90 min a $121^\circ C$) mostró una degradación de la lignina, con una baja liberación de azúcares al medio (8.75 g/L).
- El proceso de sacarificación (1.4 FPU/g, 28 h, $50^\circ C$) presentó la mayor cantidad de azúcares reductores (2.75 g/L) en el medio.
- La fermentación del caldo sacarificado es una fuente de azúcares que pueden ser utilizados por *S. cerevisiae*, para producción de bioetanol.

Con todo lo presentado en el reporte y a la experiencia generada el bagazo de agave podría ser una gran alternativa para la generación de bioetanol, en nuestro país existe una gran cantidad de emperezas tequileras que al año terminan desechando miles de toneladas de este material, quizás se podría empezar a utilizar este bioetanol en la autonomía de una empresa que esté dispuesta a apostar por esta opción nueva de combustible, lo cual además de darle un nuevo estatus de sustentabilidad a la empresa, apoyaría a que se generara más información para estarla analizando y monitoreando para poder hacer mejoras.

BIBLIOGRAFIA

Faba Laura (2014), “transformación de biomasa en biocombustibles de segunda generación” en Maderas y Bosques, numero 3, volumen 20, (pp. 11-24)

Ghose, T.K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, **59**, 257–268.

Guerrero Olga (2014), “la revolución de las energías limpias” en Revista Universidad EAFIT, NUMERO 163, volumen 49, (pp.32-37).

Kuloyo, O. O., du Preez, J. C., García-Aparicio, M., Kilian, S., Steyn, L y Görgens, J. (2014). Opuntia ficus-indica cladodes as feedstock for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **30**, 3173-3183.

Leopoldo Rios, Thelma Morales, María Rodríguez, José Rodríguez, David Castillo, Agustín Castro, y Alfredo Martínez (2017). Autohydrolysis pretreatment assessment in ethanol production from agave bagasse. *Bioresource Technology*.

Velázquez, U., Farías, J.F., Vargas, A. y Castro A.J. (2016). Tequilana weber Agave Bagasse Enzymatic Hydrolysis for the Production of Fermentable Sugars: Oxidative-Alkaline Pretreatment and Kinetic Modeling. Springer Science+Business Media New York.

PRODUCCIÓN DE CELULASAS A PARTIR DE HONGOS AISLADOS DE LOS AZUFRES DE MICHOACÁN.

Patiño González Jesús Daniel ^[1] y Rodríguez Gómez Divanery ^[2]

RESUMEN

La celulosa es un biopolímero lineal compuesto por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos tipo β 1-4. Este biopolímero es el más abundante en la naturaleza, es producido por las plantas y forma parte de la pared celular en las células vegetales. Los hongos filamentosos producen ciertas enzimas las cuales han sido estudiadas para su aplicación en diversas áreas industriales. Las celulasas son enzimas producidas por hongos, pueden llegar a ser termoestables debido a las condiciones en las que crecen los diferentes tipos de hongos. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la velocidad de crecimiento radial y la producción de celulasas a diferentes temperaturas (28, 37 y 45°C), así como la morfología de las diferentes cepas de hongos las cuales fueron aisladas de la región norte del estado de Michoacán. Se evaluaron las cepas a diferentes temperaturas para las dos pruebas, la de evaluación de la velocidad de crecimiento radial en cajas Petri con medio de agar papa dextrosa y para la producción de celulasas, en caja Petri con agar carboximetilcelulosa. Se observó como la variación en la temperatura influyó en la producción de celulasas, ya que a 45°C fue donde se obtuvieron los mayores índices enzimáticos que varían de 2.97-2.59, por lo que al presentar índices mayores a 1.5 son considerados buenos productores de celulasas. La tendencia en todos los aislados fue de un aumento en la velocidad de crecimiento a 37°C respecto a 28°C y una disminución o inhibición total al incubarlos a 45°C.

ABSTRACT

Cellulose is a linear biopolymer composed of glucose molecules linked together by β 1-4 type glycosidic bonds. This biopolymer is the most abundant in nature, it is produced by plants and it is part of its cell wall. Filamentous fungi produce certain enzymes which have been studied for application in various industrial areas, besides such enzymes can become thermostable due to their growth conditions. The objective of this investigation was to characterize the radial growth rate and the production of cellulases at different temperatures (28, 37 and 45 ° C) for different strains of fungi which were isolated from the northern region of the state of Michoacán. The strains were evaluated at different temperatures for both tests: evaluation of the radial growth rate in Petri dishes containing potato dextrose agar and production of cellulases in a Petri dish with carboxymethylcellulose agar. It was observed that the temperature influenced in the production of cellulases, since at 45 ° C the highest enzymatic indices were observed, it varied from 2.97-2.59; a value higher than 1.5 is considered as good producers. In addition, the most of the isolates showed increase in growth at 37°C and decrease or inhibition when incubated at 45 ° C.

Palabras Clave: Celulasas, hongos filamentosos, velocidad de crecimiento, índice enzimático.

INTRODUCCIÓN

La celulosa es un biopolímero lineal compuesto por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos tipo β 1-4. La celulosa es el componente más abundante que existe sobre la tierra, es producida por las plantas formando parte de su pared. Se estima que alrededor de 180 billones de toneladas de celulosa son producidas por las plantas anualmente, por lo que constituye una de las fuentes de carbono renovables más importantes que hay sobre la tierra. ^[1]

¹Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de ingeniería bioquímica; Antonio García Cubas 600, Colonia Fovissste, C.P: 38010, Celaya, Guanajuato., 15031012@itcelaya.edu.mx ² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación Lic. en ingeniería bioquímica; Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5 Col. El Copal. C.P: 36821. Irapuato, Guanajuato., divanery.rodriguez@itesi.edu.mx

El material celulósico es buena fuente de carbono, pero solamente ciertos tipos de organismos como bacterias y hongos, producen las enzimas necesarias para utilizarlo. Se han identificado dos importantes grupos con capacidades celulolíticas. El primero de ellos es el grupo aeróbico, que comprende especies bacterianas y fúngicas habitantes de aguas residuales, y el rumen y tracto intestinal de los animales herbívoros y algunos insectos como escarabajos y termitas.^[1]

MARCO TEÓRICO

En la hidrólisis enzimática de la celulosa, recientemente se ha venido hablando de los celulosomas. Estos son complejos enzimáticos que actúan sinérgicamente para catalizar la hidrólisis de este polisacárido, estos complejos están formados esencialmente por tres tipos de enzimas: la endo- β -1,4-glucanasa (1,4- β -D-glucan glucanohidrolasa E.C.3.2.1.4), la exo- β -1,4-glucanasa (1,4- β -D-glucan celobiohidrolasa E.C.3.2.1.91) y la β -1,4-glucosidasa (celobiasa) (β -D-glucósido glucosidasa E.C.3.2.1.21)^[2]

Las enzimas celulasas son producidas por una gran variedad de bacterias y hongos aeróbicos o anaeróbicos, mesófilos o termófilos. Sin embargo, sólo algunos de ellos producen la enzima celulasas extracelular capaz de hidrolizar la celulosa. A partir de hongos aeróbicos, tales como: *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*, *Sporotrichum pulverulentum*, *Fusarium solani*, *Talaromyces emersonii* y *Trichoderma koningii*, se han obtenido los complejos celulolíticos utilizados en la mayoría de los estudios realizados de estas enzimas, esto es debido a que presentan un sistema enzimático completo de celulasas capaces de degradar parcial o totalmente la celulosa en celobiosa y glucosa. Entre estos microorganismos, el hongo filamentoso *Trichoderma reesei* se caracteriza por la alta efectividad que tiene en la degradación de la celulosa con el complejo celulolítico que produce y secreta, el cual presenta las tres actividades necesarias para la hidrólisis de la celulosa.^[2]

El interés sobre el estudio de la aplicación de enzimas en la industria de la extracción de productos vegetales se ha incrementado de manera importante en las últimas dos décadas, debido a que ha mostrado ser una herramienta factible facilitando la liberación de los componentes de las células vegetales. Algunas empresas como ENMEX, S.A. DE C.V., Enzyme Development Co., Valley Research Inc., manejan complejos enzimáticos de celulasas, los cuales son utilizados en los procesos de extracción de jugo, extracción de aceite o extracción de leche de coco.^[2]

Los hongos aislados de los azufres de Michoacán, crecen bajo condiciones extremas de temperatura y pH, son de gran interés ya que producen enzimas termoestables las cuales son utilizadas en procesos biológicos en los cuales se manejan altas temperaturas y cambios de pH. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue encontrar la mejor temperatura de crecimiento y producción de celulasas de hongos probablemente termófilos aislados de los Azufres de Michoacán.^[3]

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Se trabajó con 32 aislados de hongos que fueron anteriormente aislados a partir de la región de los Azufres en el estado de Michoacán, los cuales se encuentran en el cepario de Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato.

Morfología presuntiva

Los aislados se sembraron en agar PDA y mantenidas por 72 h a 28°C. Una vez crecidos, se realizaron montajes con azul de lactofenol para su observación microscópica con objetivo de 40X.

Producción de celulasas

Se prepararon cajas de Petri conteniendo el medio con carboximetilcelulosa y se siguió la metodología reportada por Florencio^[4] para la prueba con Rojo Congo. La inoculación fue realizada con el uso de sacabocado de 5 mm de diámetro usado para transferir una muestra de micelio del medio de agar PDA al centro de las cajas que contienen el medio CMC. Las cajas inoculadas se incubaron durante 96 h a 28, 37, 45 °C. Pasado este tiempo se midió el

diámetro de crecimiento de la colonia. Posteriormente se reveló el halo de hidrólisis (Figura 3) con el reactivo de Rojo Congo.

Para el cálculo subsecuente del índice enzimático (IE) se usó la expresión:

$$IE = \frac{\text{Diámetro de la zona de hidrólisis}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

Tres experimentos independientes se realizaron para obtener estos resultados por cada cepa, obteniendo así el promedio de los índices enzimáticos. [2]

Velocidad de crecimiento radial

A partir de colonias en crecimiento activo fueron extraídos discos de agar con micelio de 5 mm de diámetro, los que se transfirieron a placas de Petri con agar PDA de 10 cm de diámetro. Las placas de Petri se incubaron a 28, 37 y 45 °C durante 96 h. Se midió el diámetro de la colonia cada 24 h (Figura 4). Finalizado el período de evaluación se graficaron los datos de radio contra tiempo y se ajustaron para obtener la pendiente como velocidad del crecimiento (mm día⁻¹). [5]

RESULTADOS Y DISCUSION

Morfología

Al microscopio se observaron las 32 cepas, de las cuales solo 5 hongos no se pudieron identificar su morfología para determinar su género. Se identificaron 10 hongos de género *Penicillium*, 16 de género *Aspergillus*, 1 de género *Fusarium* y una levadura (Figura 1 y 2).

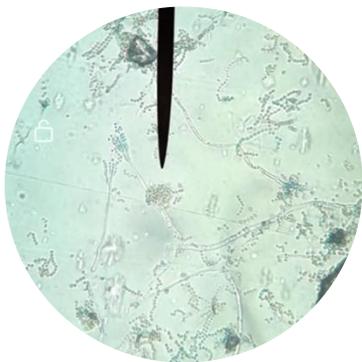


Figura 1. Morfología de género *Penicillium* observada en microscopio óptico a 40X.

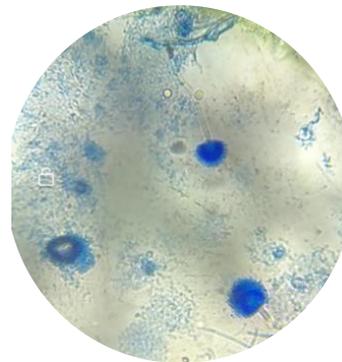


Figura 2. Morfología de género *Aspergillus* observada en microscopio óptico a 40X.

Velocidad de crecimiento radial

Los resultados de velocidad de crecimiento radial para los aislados estudiados se expresaron en mm/h (Tabla 1), en donde los aislados caracterizados como #2, I9, 12 Ari, 7.4 y 264, presentaron las mayores velocidades de crecimiento que van de 0.187 - 0.145 mm/h, a 28°C. Además, el aislado #2 presentó una velocidad de crecimiento de 0.383 mm/h que es la mayor reportada. Los aislados 264, 12 Ari, 5.1 B, 3.2 Ari y 7.4, presentaron las mayores velocidades de crecimiento que van de 0.186 a 0.206 mm/hora, a 37°C. Los aislados 6.1, 5.1 B, 12 Ari, 255 y 3.2 Ari presentaron las mayores velocidades de crecimiento que van de 0.102 - 0.095 mm/hora, a 45°C. Muchos de los aislados trabajados presentaron un incremento en su velocidad de crecimiento al aumentar su temperatura de incubación de 28 a 37°C, pero en general al aumentarla a 45°C presentaron una disminución en su velocidad de crecimiento o incluso la inhibición de su crecimiento.

Producción de celulasas

Se obtuvieron los promedios de IE de los 32 aislados estudiados, en la Tabla 1 se presentan aquellos con IE superiores a 2. Los aislados 7.2, 255, 265, 262 y 134, presentaron los mayores índices enzimáticos que van de 2 a 2.68 a 28°C. A 37°C los mayores IE los presentaron los aislados 271, 255, 136, 267 y 137 que van de 2.3-1.84, a 37°C y los aislados 339, 7.4, 253, 3.2Ari, 255, presentaron los mayores índices enzimáticos que van de 2.97-2.59 a 45 °C, en donde el aislado caracterizado como 339, obtuvo el mayor índice enzimático promedio de 4.62. Es de apreciar que un valor de IE mayor a 1.5 se reportó en la técnica como un alto IE.

Tabla 1. Resumen de resultados de VCR e IE de celulasas en caja Petri

Hongos	VCR mm/h			CELULASAS IE		
	28°C	37°C	45°C	28°C	37°C	45°C
134	0.03	0.04 ± 0.01	0	2.01 ± 0.1	1.78 ± 0.3	2.44 ± 0.28
253	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.13 ± 0.02	1.67 ± 0.15	1.30 ± 0.02	2.92 ± 0.2
255	0.12 ± 0.013	0.169 ± 0.018	0.096 ± 0.063	2.23 ± 0.1	2.07 ± 0.14	2.59 ± 0.8
262	0.133 ± 0.001	0.161 ± 0.037	0	2.19 ± 0.2	1.33 ± 0.01	0
271	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0	1.32 ± 0.1	2.29 ± 1	0
339	0.138 ± 0.010	0	0	1.89 ± 0.1	1.39 ± 0.1	4.62 ± 1.3
3.2 Ari	0.141 ± 0.010	0.187 ± 0.009	0.095 ± 0.007	1.32 ± 0.11	1.17 ± 0.03	2.73 ± 0.15
5.1 B	0.140 ± 0.014	0.198 ± 0.007	0.101 ± 0.016	1.43 ± 0.13	1.203 ± 0.07	2.01 ± 0.3
7.4	0.147 ± 0.003	0.186 ± 0.001	0.0989	1.7 ± 0.35	1.28 ± 0.11	2.975 ± 0.48
12 Ari	0.146 ± 0.010	0.205 ± 0.006	0.097 ± 0.012	1.5 ± 0.07	1.22 ± 0.13	2.01 ± 0.02
I7	0.11 ± 0.027	0.178 ± 0.010	0	1.48 ± 0.27	1.216 ± 0.02	2.67 ± 0.57

CONCLUSIONES

Se identificaron 3 géneros diferentes de hongos los cuales son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, en los aislados trabajados. El presente trabajo sirve de manera exploratoria para elegir los aislados a realizarse evaluación cuantitativa de la producción de las celulasas, además que para estudios posteriores a 45°C se recomienda utilizar los aislados 339, 7.4 y 253 correspondientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Además, se observa cómo influye el cambio de temperatura en la velocidad de estos aislados y en la producción de celulasas, ya que al aumentar la temperatura algunos aislados aumentaron su producción de celulasas, pero en consecuencia disminuyó su velocidad de crecimiento. En la prueba de celulasas a las diferentes temperaturas manejadas de 28, 37 y 45°C, se obtuvieron índices enzimáticos mayores 1.5 lo cual los caracteriza como buenos productores de celulasas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Martínez, C., Balcázar, E. (2008) Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. Revista Latino Americana de Microbiología. Julio-Septiembre, 2008. Vol. 50, pp. 119-131.
- [2] Ovando, S., Waliszewki, K. (2005) Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Veracruz, unidad de Investigación y desarrollo en alimentos. Universidad y ciencia, Volumen 21, Número 42, pp: 111-120.
- [3] Quiñones, I., Morales, A. (2014) Aislamiento y caracterización de hongos y levaduras provenientes de la región geotérmica de “Los azufres”, Michoacán. Vol. 1 no. 1, Jóvenes Investigadores, pp: 180-187.

[4] Florencio C., Couri S. & Farinas C.S. (2012) Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulase production by *Trichoderma* strains. *Enzyme Res.* DOI: 10.1155/2012/793708.

[5] Rodríguez-Gómez, D., Loera, O., Saucedo-Castañeda, G., & Viniegra-González, G. (2009). Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(3), 513-518.



IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMA DE CONTROL DE TEMPERATURA EN APARATO DE ELECTROHILADO

Jesús Eduardo Guzmán Molina¹ y José Francisco Louvier Hernández²

RESUMEN

En este trabajo, se presentan las modificaciones aplicadas en el prototipo de un sistema de electrospinning para la fabricación de nanofibras híbridas biopolímero-biocerámica. Entre las modificaciones se encuentra hermetizar la zona de producción de la nanofibra y la adición de un control de temperatura, el cual cuenta con el objetivo de obtener un mayor control sobre el proceso de electrohilado.

ABSTRACT

In this paper, modifications applied in the prototype of an electrospinning system for the manufacture of hybrid biopolymer-bioceramic nanofibers are presented. Among the modifications are the sealing of the electrospinning area and the addition of a temperature control, which has the objective of obtaining a better control over the electrospinning process.

Palabras clave: Electrospinning, hermético, humedad, temperatura.

INTRODUCCIÓN

El montaje para la máquina encargada de realizar la técnica de electrospinning (ver Figura 1) consta de un capilar a través del cual debe ser expulsada la solución; una fuente de alto voltaje con dos electrodos los cuales deben conectarse en la punta de la salida de solución y otro directamente al plato colector (lámina de metal conductor, mandril rotativo, etc.) donde se depositarán las fibras posteriores a la evaporación del disolvente.

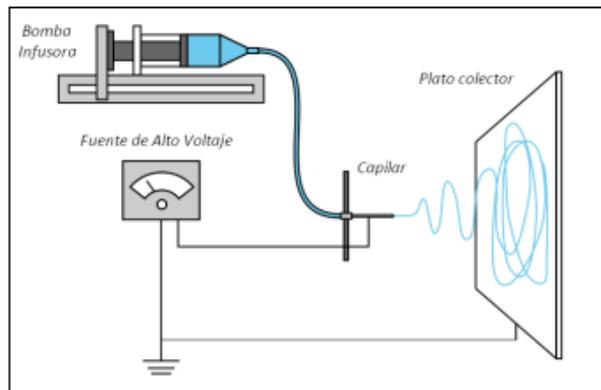


Figura 1. Sistema de electrospinning

¹ Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Mecatrónica, Antonio García Cubas, No. 600 pte, Alfredo V. Bonfil, C.P: 38010, Celaya, Gto., 15030840@itcelaya.edu.mx

² Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Química, Antonio García Cubas, No. 600 pte, Alfredo V. Bonfil, C.P: 38010, Celaya, Gto., francisco.louvier@itcelaya.edu.mx

En base a lo anterior, en el laboratorio de Biopolímeros y Biomateriales del ITC, se desarrolló previamente un prototipo del sistema, como se puede apreciar en la Figura 2, sobre el cual se aplicarán las modificaciones para controlar los parámetros ambientales dado que las propiedades de las fibras pueden variar de acuerdo con dichos factores.

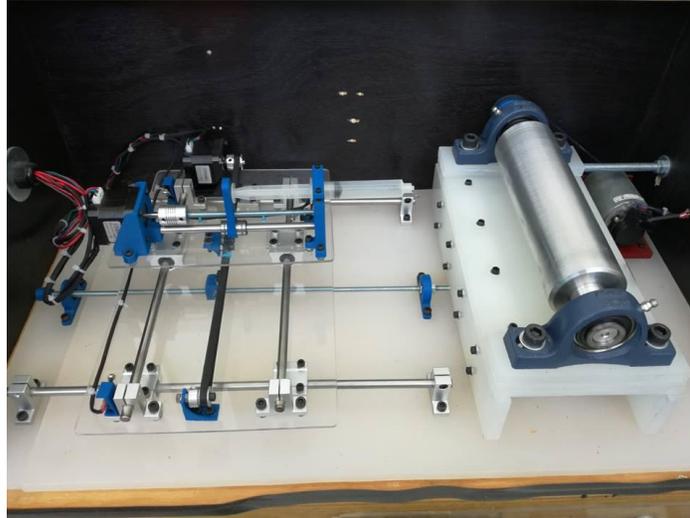


Figura 2. Prototipo del sistema de electrospinning

MARCO TEÓRICO

Casper et al. evaluaron la influencia de la humedad en las fibras obtenidas por medio de la técnica de electrospinning y demostraron la aparición de pequeños poros circulares en la superficie de las fibras debido al aumento en la humedad. El agua condensada en la superficie de las fibras, al trabajar con alta humedad, puede tener influencia en la morfología de las fibras especialmente cuando se trabaja con disolventes volátiles. Los poros pueden promover una transferencia de proteínas y una migración celular mucho más ágil y fácil en ingeniería de tejidos. La humedad en el ambiente podría determinar la velocidad de evaporación del disolvente en la solución, a humedad relativa baja un disolvente volátil podría evaporarse muy rápido. Por su parte la temperatura puede incrementar la tasa de evaporación y puede ocasionar una reducción en la viscosidad de la solución.

MÉTODO Y MATERIALES

Para el sellado hermético se optó por usar cinta pens, gracias a las propiedades que presenta como evitar el paso del agua, aire y polvo, además de ser muy flexible. El aparato de electrospinning tiene una carcasa de madera donde se ubica el sistema para electrohilar (lo que se observa en la Figura 1) y cuenta con una cubierta de acrílico con bisagras que permite cerrar el espacio. La cinta pens se colocará entre las orillas de la cubierta y las paredes de madera según las instrucciones de uso para sellar el área de trabajo.

Para controlar la temperatura, los materiales a usar son una espiral de estufa eléctrica de 650 watts y un ventilador de 12 V. El control básicamente es montado en la parte externa del sistema de electrospinning en una base de madera, la cual alberga la espiral y el ventilador. El aire entrará por un conjunto de orificios ubicados en el costado derecho superior del propio sistema. De esta manera al energizar ambos materiales, el ventilador se encargará de esparcir el aire caliente generado por la resistencia, que, al entrar por los orificios al sistema, se espera que logre su objetivo. Un termopar ubicado dentro del área de electrohilado, mide la temperatura del ambiente.

El circuito del control de temperatura fue elaborado por los desarrolladores del sistema de electrospinning. En la Figura 3, se presenta el diagrama del control de temperatura en donde el PIC16F887, con sus arreglos necesarios

para su correcto funcionamiento, es el encargado de regularla una vez sea programado. Recibiendo lecturas de voltaje en las entradas de los puertos, después de procesar la información, manda señales para regular la intensidad del calor de la espiral y también envía datos de la temperatura a una pantalla LCD para ser observada por el operador y tener un mejor manejo sobre este control.

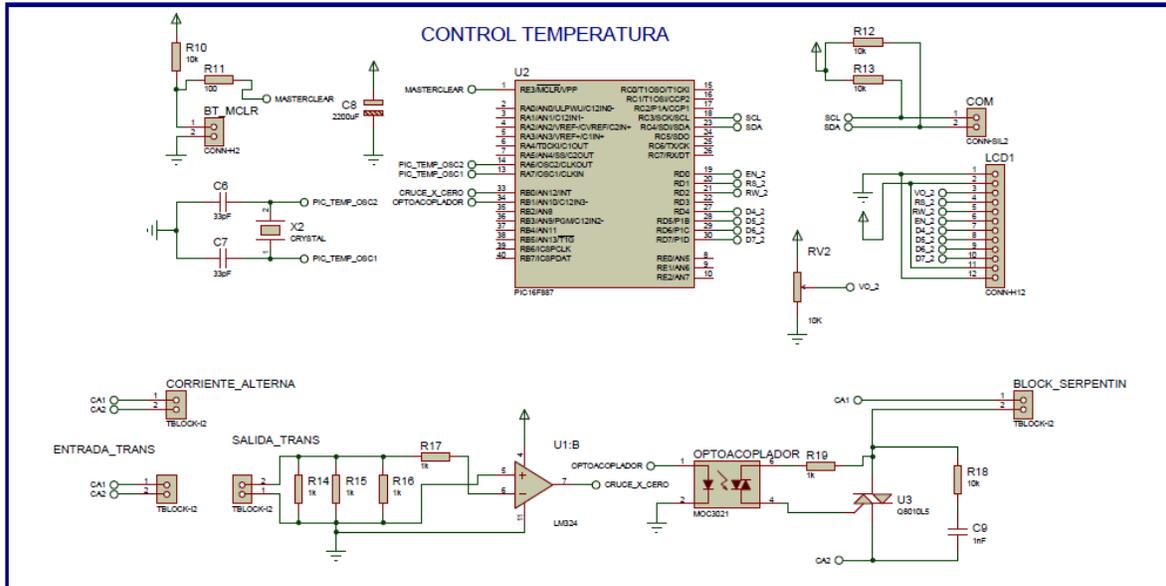


Figura 3. Diagrama de control de temperatura

Para verificar el funcionamiento del control, se realizará una prueba en donde se registrará la temperatura cada 3 minutos. Con esto se espera obtener una gráfica la cual nos indicará la velocidad con la que se propaga el calor en el espacio del sistema y, en caso de alguna anomalía, realizar cambios para mejorar el control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de la cinta pens para sellar la compuerta de la maquina cumple bien el trabajo de evitar que el aire entre o salga, lo que ayuda a mantener la temperatura más cerca del punto de control y reducir variaciones.

En cuanto a la prueba del control de temperatura, resultó en un fracaso al no estar diseñado apropiadamente el sistema de calentamiento para tener una buena circulación de aire. Otro error fue que la espiral no era apropiada debido a que, al calentarse de manera excesiva durante las pruebas, terminó por quemar la base de madera (ver Figura 4) y derretir el material del ventilador, haciendo que este último se estropeará.



Figura 4. Base de madera quemada

CONCLUSIÓN

Después de revisar los malos resultados, se empezó a trabajar en la implementación de un mejor sistema de calentamiento, esta vez basándose en el funcionamiento de una secadora para el cabello. En cuanto al distribución del calor, se decidió montar ductos de ventilación por el sistema de electrospinning para poder aumentar la temperatura de manera uniforme.

Y para el control de la temperatura, se cambió el circuito anterior por un sistema ON-OFF con un margen de $\pm 3^{\circ}\text{C}$. Actualmente se sigue trabajando en mejorar este sistema con el cual se espera cumpla bien su función.

BIBLIOGRAFÍA

Duque Sánchez, L. M., & Rodriguez, L. (Enero de 2013). *ELECTROSPINNING: LA ERA DE LAS NANOFIBRAS*.
Obtenido de <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/ENE13/duque.pdf>

*No 30
Aunbarr*

Firma del asesor

COMPORTAMIENTO ELECTROQUIMICO DE LOS BRONCES TIPO NAB

Jesús Francisco Sifuentes¹ Tavares y Josefina García Guerra²

RESUMEN

Los bronce al aluminio con níquel, son comúnmente conocidos como tipo NAB, éste tipo de materiales son ampliamente utilizados en aplicaciones de la industria petrolera en el medio marino, debido principalmente a sus propiedades químicas-mecánicas y su elevada resistencia a la corrosión por erosión y cavitación. En el presente proyecto, se llevó a cabo el estudio de una aleación de bronce tipo NAB (CuAl4Fe5Ni), la cual se sometió a diversos tratamientos térmicos, cuidadosamente seleccionados, atendiendo al diagrama de equilibrio correspondiente, Cu-Al-Fe-Ni, pretendiendo simular los procesos térmicos a los que se ven sometidos los NAB en la industria. La caracterización se llevó a cabo empleando diversas técnicas de caracterización tales como: DRX, FRX, SEM, Microscopia óptica de barrido y corrosión.

ABSTRACT

The aluminum and nickel bronzes are commonly known as NAB type, this type of materials are widely used in applications of the oil industry in the marine environment, mainly due to its chemical-mechanical properties and its high resistance to corrosion by erosion and cavitation. In the present project, was carried out the study of a bronze alloy type NAB (CuAl4Fe5Ni), which was subjected to various thermal treatments, carefully selected, according to the corresponding balance diagram, pretending simulate the thermal processes to which the NABs are submitted in the industry. The characterization was carried out using various characterization techniques such as: DRX, FRX, SEM, optical scanning microscopy and corrosion.

INTRODUCCIÓN

Los Bronces tipo NAB son aleaciones que están conformadas principalmente de Cu en alrededor del 81%, también contiene Al en un 9%, Fe y Ni en un 4%, elementos como Silicio, Estaño, Fosforo, Manganeso, entre otros. Las aleaciones NAB tienen propiedades físico-químicas excelentes, entre las que destaca una elevada resistencia a la corrosión en numerosos ambientes, que las hace óptimas para aplicaciones tan exigentes como aquellas relacionadas con el medio marino, especialmente agresivo por su contenido en sales y actividad microbológica. El cobre tiene muy buenas propiedades tales como: resistencia a corrosión, conductividad eléctrica, conductividad térmica (398 W/m·K), gran maleabilidad, etc., no obstante, se pueden potenciar además otras propiedades desarrollando aleaciones de cobre, lo que permite ampliar su campo de aplicación. Como lo muestra la tabla 1 en donde se indica el efecto de cada elemento de aleación en este material.

Tabla 1. Influencia de los elementos de aleación en las aleaciones de base Cu

Elemento	Aportación
Al	Aumenta la resistencia a corrosión, a tracción y el límite elástico
Fe	Afina el tamaño de grano y mejora las propiedades mecánicas
Mn	Mejora la colabilidad de la aleación
Ni	Aumenta la solubilidad del hierro y la resistencia a corrosión

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 km 5, C.P: 25710, Monclova, Coahuila, jesus_jsifuentes@hotmail.com

² Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 km 5, C.P: 25710, Monclova, Coahuila, josefinagarcia@uadec.edu.mx

Ti	Aumenta la resistencia mecánica

Así mismo Los tratamientos térmicos aplicados a los bronce NAB, incluyendo la temperatura del proceso y la velocidad de enfriamiento, afectan notablemente a su microestructura, lo que da lugar a diversas investigaciones para mejorar su desempeño en servicio. Como lo muestra la figura se tiene una amplia gama de tratamientos térmicos y lograr cambios microestructurales que favorezcan las propiedades del material.

METODOS Y MATERIALES

En este proyecto se emplearon sustratos de una aleación de bronce tipo NAB de dimensiones 2 x 2 x 0.5 cm³. Su composición se muestra en la tabla 2. El desbaste y pulido de las probetas empleadas fueron preparadas metalográficamente con papel abrasivo de carburo de silicio grado que va desde malla 180 hasta 1200. Tras el desbaste, se procedió con el púlido con soluciones de alúmina de diferentes tamaños de grano, siempre en orden decreciente, al igual que en el proceso de desbaste, desde 3 μm hasta 1 μm. El ataque químico se llevó a cabo con una solución de óxido de cromo, sulfato de amonio y ácido sulfúrico.

Tabla 2. Composición química de la aleación NAB empleada.

Elemento	Cu	Al	Fe	Mn	Si	Ni	Otros
	81.16	9.016	4.371	0.345	0.239	4.811	bal

Con el objetivo de valorar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos sobre la microestructura del bronce, las probetas se dividieron en dos grupos: 1) Probetas sin tratamiento térmico, 2) probetas tratadas térmicamente (temple) a 650, 800 y 900°C, enfriados en aceite. Los tratamientos térmicos fueron llevados a cabo en un horno eléctrico Carbolite Furnace 1100. Seguido de la caracterización mediante técnicas de microscopía óptica, SEM, DRX y finalmente su resistencia a la corrosión en medio salino 3.5% NaCl, empleando técnicas de polarización.

RESULTADOS

La figura 1a muestra la morfología superficial de las probetas en donde se muestran los detalles más relevantes obtenidos con el microscopio óptico y el microscopio electrónico de barrido (SEM) (fig 1b), en donde de acuerdo a su morfología de los precipitados microestructurales, se estima o se delimita su identidad. En la micrografías de la figura 1a se observa la presencia de granos de la fase α , con alto contenido en cobre, engrosados mientras que los granos de la fase β siguen siendo ligeramente alargados. Así mismo no se observa en buena precisión la presencia de la fase κ_{IV} seguramente por la concentración de Fe, pues la solubilidad del hierro en la fase α satura aún más, lo cual incrementará el número de granos de ésta fase. Debido a ello las fases que predominan en un bronce tipo NAB son: α , β . Sin embargo de acuerdo al diagrama de equilibrio de los NAB, esta fase por encima de los 800 °C, se transforma mediante un enfriamiento brusco en una fase β' metaestable. La cantidad de hierro que excede el límite de solubilidad en el cobre precipita, formando una fase κ_I rica en hierro, que adopta una forma de roseta, y precipitados menores con una morfología globular, que constituyen la fase κ_{II} . La presencia de la fase κ_{IV} , constituida por pequeños precipitados dentro de la solución sólida α , no se aprecia muy bien en las imágenes obtenidas con el microscopio óptico; sin embargo, con el SEM se consiguen vislumbrar estos precipitados en los granos α , como se mostrará más adelante. Por último, mencionar la existencia de la fase κ_{III} , presente en los límites de grano α y β , con una forma fibrilar. Como se puede observar en la figura 1b en donde la morfología de los precipitados observados en la fig 1^a se modifican completamente después de ser expuesta la probeta a un tratamiento térmico por arriba de los 800°C. Este cambio microestructural da como resultado el incremento de la dureza de los sustratos a 80 HRB.

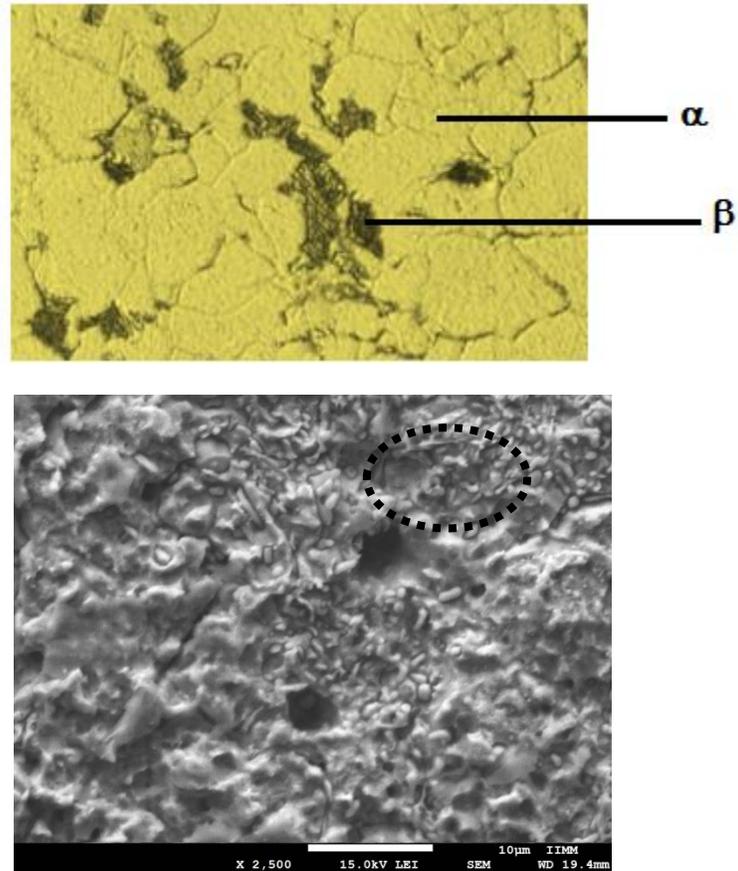


Figura 1 Micrografía óptica de sustratos de bronce tipo NAB (a) y micrografía SEM con tratamiento térmico de 900°C(b)

Conducta electroquímica en medio salino

El análisis de resistencia a la corrosión está relacionado con la microestructura resultante del proceso de tratamiento térmico de temple a diferentes temperaturas 900, 800 y 600°C. Las propiedades de resistencia a la corrosión de la aleación tipo NAB en medio salino se evaluó por polarización Tafel, en donde como se puede apreciar en la Figura 3, se muestran las curvas características de esta aleación. Se puede observar, que este proceso consta de dos etapas, la fase anódica y la fase catódica, así como se presenta un proceso totalmente activacional, lo que conlleva a una gran cantidad de corrosión libre y por consiguiente una pasivación provocada por los desechos de corrosión (AlO_3 , CuO , etc), cuando el potencial anódico alcanza un valor cercano a -620 mV.

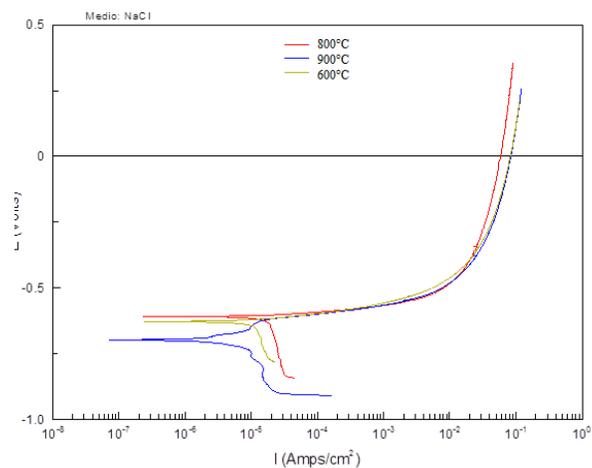


Figura 2 Conducta electroquímica de la aleación tipo NAB a diferentes tratamientos térmicos

En las curvas de polarización no se alcanza a apreciar de manera significativa el efecto de los cambios microestructurales debido al tratamiento por temple, en los valores de E_{corr} , sin embargo, se logra observar el desplazamiento en los valores de I_{corr} entre las diferentes curvas Tafel de las diferentes muestras. Otro aspecto que se evidencia en los diagramas Tafel, en la región catódica es la presencia de una densidad de corriente límite i_L , en las curvas de los tres sustratos evaluados que corresponden a los sustratos de la aleación con y sin tratamiento térmico respectivamente. Este comportamiento es característico de procesos controlados o dominados por transferencia de masa.

La Tabla 3 muestra los valores de parámetros electroquímicos que se obtuvieron con la gráfica de polarización de la curva Tafel. Se puede apreciar que la muestra tratada 800°C obtuvo los menores valores E_{corr} (potencial de corrosión) mientras que a 900°C obtuvo los mayores. Sin embargo, también mostró los menores valores de I_{corr} (intensidad de corriente) la cual está directamente relacionada a la velocidad de corrosión. Por lo tanto, la muestra tratada a 800°C fue la que mostró una degradación a menor velocidad.

Tabla 3 Datos obtenidos de la curva de polarización Tafel en NaCl.

Muestra	Ba (mV)	Bc (mV)	Io (Amp/cm²)	Eo (Volts)	MPY
900°C	23.212	1095.6	1.95E-05	-0.609	8.82E-02
800°C	228.05	1090.4	1.56E-05	-0.698	7.07E-02
600°C	27.251	375.26	9.17E-06	-0.628	4.16E-02

CONCLUSIONES

Las aleaciones NAB, la cantidad y tamaño de los precipitados κ aumentan con la temperatura de revenido, así como disminuye la presencia de fase β' en equilibrio, al disponer de la suficiente temperatura para descomponerse en reacción eutectoide. Se aprecia que la fase α está presente en todo momento, sea cual sea el tratamiento térmico empleado. Así mismo es evidente que la presencia de mayor cantidad de precipitados distribuidos en la matriz de la aleación disminuye la resistencia a la corrosión de la aleación, debido a que incrementa la relación de micro celdas galvánicas en la matriz.

BIBLIOGRAFIA

- I. Cobo, M. V. Biezma y L. Sánchez. “Estudio microestructural de bronce de aluminio y níquel (NAB) y bronce de aluminio y manganeso (MAB): Efecto de dos reactivos químicos”. XIV Congreso Nacional de Materiales (2016).
- Y. Lv, L. Wang, Y. Han, X. Xu y W. Lu. “Investigation of microstructure and mechanical properties of hot worked NiAl bronze alloy with different deformation degree”. *Materials Science & Engineering*, 643(A), 17–24 (2015).
- J. Anantapong, V. Uthaisangsuk, S. Suranunthai y A. Manonukul. “Effect of hot working on microstructure evolution of as-cast Nickel Aluminum Bronze alloy”. *Materials and Design* 60, 233–243 (2014).

CONDICIONAMIENTO OPERANTE A TRAVÉS DE UN PROGRAMA DE RAZÓN VARIABLE EN RATONES HEMBRA DE LA CEPA C57BL/6

Jimena Torres Cadena¹, Verónica López Virgen² y Gerardo Rojas Piloni²

RESUMEN.

A diferencia de las interpretaciones de conducta en ambientes naturales, la investigación en laboratorio crea la posibilidad de manipular y controlar las variables de interés. El presente artículo tiene como objetivo caracterizar la conducta del palanqueo en ratones de la cepa C57BL/6 en una caja de condicionamiento con un programa de razón variable. El análisis de este programa servirá entonces de guía para el estudio de los mecanismos cerebrales involucrados en la corteza sensoriomotora con ayuda de la actividad de Ca^{+2} en neuronas piramidales, involucrados en la preparación y ejecución de movimientos voluntarios.

ABSTRACT.

The differences in the study of the behavior in natural environments, in contrast to laboratory research, is that creates the possibility of manipulating and controlling the variables of interest. The objective of the present article is to characterize the behavior of the levering in mice of the C57BL / 6 strain in a conditioning box with the variable reason program. The analysis of this program will then serve as a guide for the study of the cerebral mechanisms involved in the sensorimotor cortex with the help of Ca^{+2} activity in pyramidal neurons, implicated in the preparation and execution of voluntary movements.

Palabras clave: Condicionamiento operante, conducta, aprendizaje.

INTRODUCCIÓN.

Las características de la conducta y su probabilidad de ocurrencia están determinadas por las condiciones ambientales que preceden o acompañan a la conducta, condiciones que cambian como consecuencia de la conducta y por la experiencia previa del organismo con el medio ambiente (Reynolds, G. 1968).

Existen dos tipos de condicionamiento: el clásico y el operante. Ambos utilizan estímulos, los cuales pueden ser condicionados o incondicionados. El aprendizaje por condicionamiento clásico implica un estímulo incondicionado, una respuesta incondicionada, un estímulo condicionado y una respuesta condicionada. Se considera que el condicionamiento clásico es una forma de aprendizaje porque una conducta ya existente puede ser provocada por un nuevo estímulo. Por otra parte, el condicionamiento operante consiste en aprender de las consecuencias de la conducta, nuestra conducta opera en el ambiente para producir consecuencias, que pueden ser recompensas o castigos. (Rice, F. 1997).

Tanto el condicionamiento clásico como el condicionamiento operante son formas del aprendizaje asociativo, y ambos incluyen la adquisición, la extinción, la recuperación espontánea, la generalización y la discriminación de la conducta. Mediante el condicionamiento clásico (pavloviano), un organismo asocia diferentes estímulos que no controlan y responden automáticamente. Con el condicionamiento operante, un organismo asocia sus

¹ Universidad Autónoma de Aguascalientes, departamento de Ingeniería bioquímica, avenida Universidad 940, 20130 Aguascalientes, Ags. jimetorres07@gmail.com

² Instituto de Neurobiología UNAM, campus UNAM-Juriquilla, Boulevard Juriquilla #3001, Querétaro, Qro. vero.lovirgen@gmail.com, piloni@unam.mx.

comportamientos operantes, o sea aquellos que actúan en relación con el entorno para producir estímulos de recompensa o castigos, con sus consecuencias. Los procesos cognitivos y la predisposición biológica influyen en ambos condicionamientos. (David, G. 2006).

Debido a que los organismos que se estudian difieren en sus manifestaciones sensoriales y por ende conductuales, los aparatos y el equipo de registro suele adaptarse. Durante cada sesión, el organismo a estudiar es colocado dentro de un cubículo aislado denominado cámara experimental. El aislamiento es básico para poder reducir las variables extrañas del exterior sobre los resultados del experimento. Dentro de la cámara hay dispositivos para la entrega del reforzador, ya sea alimento o agua. El equipo automático realiza decisiones complejas en forma fácil, confiable y objetiva durante toda la sesión experimental. El equipo programador consta de interruptores operados eléctricamente, de relevadores, de contadores y de otros accesorios. Estos están conectados a circuitos para poder determinar la secuencia de eventos ambientales dentro de la cámara y para integrar la ocurrencia de eventos en relaciones específicas con la ocurrencia de respuestas (Reynolds, G. 1968).

A cada programa de reforzamiento le corresponde una ejecución característica. Dependiendo del programa particular de que se trate, la ejecución podrá consistir en una tasa estable de respuestas, o bien de cambios regulares en la tasa, oscilantes y de fácil predicción. Uno de estos programas es el de razón variable que ofrece reforzadores después de un número imprevisible de respuestas, produce niveles altos de respuestas, puesto que los reforzadores aumentan si el número de respuestas aumentan (Pérez, V. 2018). Cuando está operando un programa de razón variable, el número de respuestas requerido para el reforzamiento varía de un reforzamiento a otro de una manera irregular pero siempre manteniendo una característica repetitiva.

La mayoría de los animales situados en una caja de Skinner no presionan la palanca. Hay que realizar unos pasos preliminares para enseñar al animal la conducta operante que queremos medir. Para establecer la conducta de presión de palanca, los animales tienen que aprender: (1) cuándo está disponible el agua en el bebedero, y (2) la respuesta operante requerida (Overmier, J. 2007). Para aprender cuando está disponible el agua se aplica un procedimiento de condicionamiento clásico que consiste en obtener el agua al presionar la palanca, después de esto el sujeto está preparado para aprender la respuesta operante requerida (Pérez, V. 2018). Con los datos de la conducta del animal, podremos medir además características motoras en los ratones, conociendo su estructura basal entonces podremos guiar diferentes estudios enfocados en estas características.

El objetivo de este proyecto fue caracterizar la conducta del palanqueo en ratones hembra C57BL dentro de una caja de condicionamiento con un programa de razón variable.

MÉTODOS Y MATERIALES.

En el presente estudio se utilizaron 5 ratones hembra de la cepa C57BL/6. Los animales fueron alojados individualmente a temperatura controlada (24°C), en un ciclo de luz/oscuridad 12-h/12-h con alimentos *ad libitum*. Se realizaron 2 diferentes ensayos de condicionamiento con restricciones de agua, en el primero se privaron de agua durante 22 horas, ingerían durante el periodo de la prueba y 1 hora posterior a esta en su jaula, las cuales estaban ubicadas en el vivario del laboratorio. Posteriormente se medía la cantidad de agua que el ratón tomaba durante la hora. El segundo experimento consistió en 23 horas de restricción, solo consumían en el tiempo del ensayo. Todo lo anterior durante 5 semanas, en 5 días consecutivos y dos días de acceso libre al agua. Al finalizar cada prueba con cada ratón se procedía a realizar una limpieza de la caja con alcohol al 70%. Los animales tuvieron seguimiento de peso durante todo el periodo de prueba para corroborar el peso adecuado a la edad sin bajar más del 80% de su peso inicial.

Para lo anterior se utilizó una caja de acrílico con dimensiones de 40 x 48 cm, en la cual los animales deambulan libremente durante la prueba. Contaba con una luz artificial en una de las paredes y un sistema de palanca. La anterior se operó a través del programa ABET II (Animal Behavior Environment Test), el cual estaba programado

para realizar pruebas con encendidos de luz en diferentes intervalos de tiempo y con una recompensa de 0.7 microlitros de agua por palanqueo correcto, los datos fueron grabados en automático en el equipo de cómputo con los cuales posteriormente se analizaron los datos de manera estadística el programa GraphPad.

RESULTADOS.

En la figura 1 se corrobora que los animales estuvieran en peso adecuado, por lo que se les pesó diariamente. Se puede observar un decremento inicial con una recuperación positiva en el transcurso de las sesiones.

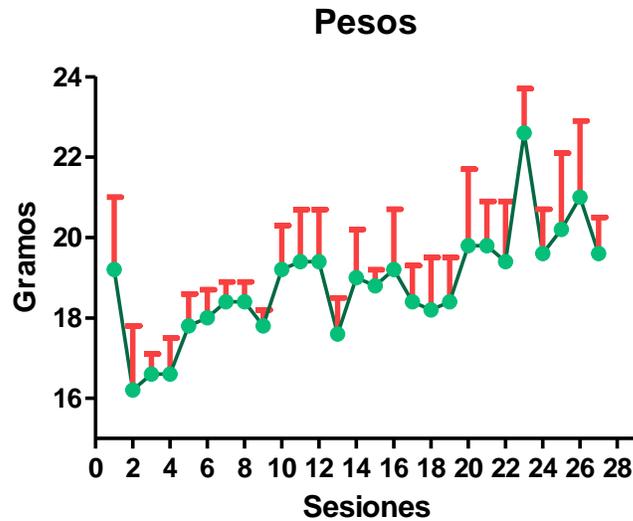


Figura 1. Gráfica del peso promedio en cada sesión.

En la figura 2 observamos un incremento del número de palanqueos correctos conforme transcurren las sesiones, es decir el número de veces que se lograba presionar la palanca cuando la luz estaba encendida, y por lo tanto se recibía recompensa.

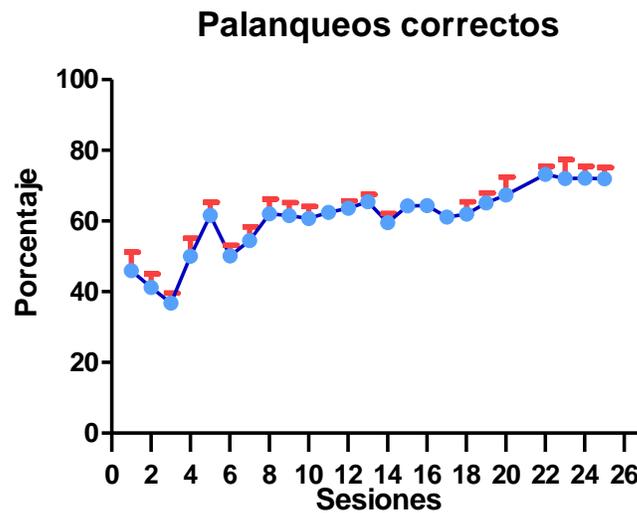


Figura 2. Gráfica del porcentaje de palanqueos correctos por sesión.

En la figura 3 se muestra el porcentaje obtenido de aciertos durante el transcurso de las sesiones, con lo cual sugerimos el número de veces que se recibió recompensa con respecto al total de veces que la luz se encendió.

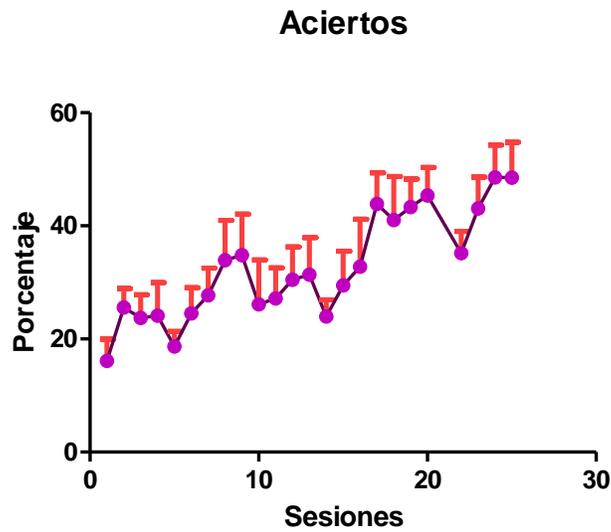


Figura 3. Gráfica del porcentaje de número de aciertos por sesión.

Como se observa en la figura 4 los tiempos de reacción (latencia desde encendido de la luz y el palanqueo) fueron disminuyendo conforme las sesiones transcurren, lo que quiere decir que el tiempo en presionar la palanca cada vez era más inmediato.

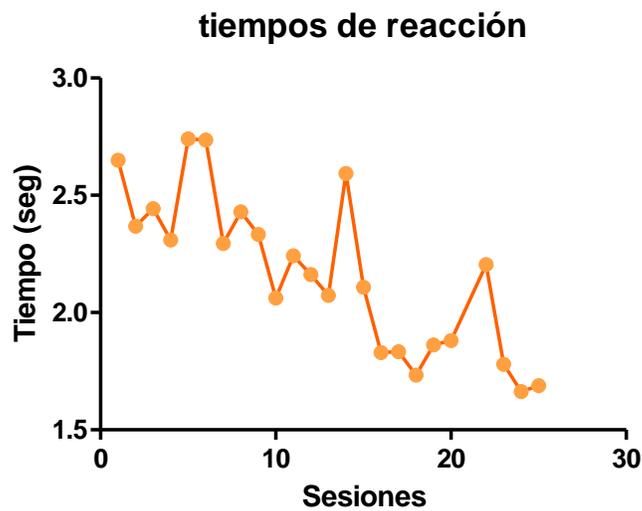


Figura 4. Gráficas del tiempo de reacción en cada sesión.

CONCLUSIONES.

En el presente estudio evaluamos la conducta de palanqueo a través del condicionamiento operante en una caja habilitada para estudiar esta actividad en los ratones. Con este programa de condicionamiento se logró mantener el peso de todos los animales, por lo que consideramos que este factor no influyó en el rendimiento de las pruebas. Sin embargo, como se puede observar en las figuras 2 y 3 hay un crecimiento en el número de palanqueos correctos, pero este no supera el 80% de eficacia, por lo que no se considera un aprendizaje efectivo en este intervalo de tiempo. Para reforzar lo anterior, medimos los tiempos de reacción (figura 4), en los cuales observamos que disminuyen con el tiempo, lo que nos dice que el animal estaba más atento a presionar la palanca, pero no lo suficiente, quizás debido a distracciones en el ambiente, como ruidos del exterior o estar explorando la caja.

En este primer acercamiento al estudio de la conducta de palanqueo evaluamos los elementos fisiológicos que intervienen en el comportamiento, y la forma de controlarlo mediante el refuerzo dado en el momento oportuno. La conducta se estudió de forma continua, estando el sujeto en un ambiente sin ruidos, luces extrañas u otros estímulos. Usando el reforzamiento natural positivo por medio de un estímulo condicionado se creó una respuesta condicionada que fue el palanqueo de los ratones. La idea central fue usar el reforzamiento positivo considerando que no solo las recompensas primarias resultarán eficaces, sino que cualquier estímulo asociado con la recompensa primaria mediante condicionamiento clásico (Pavlov) podría servirnos también, y que a futuro pudiéramos eliminar algunas variables para mejorar la eficacia, como reducir el tamaño de la caja de conducta, e iniciar retirando el agua durante 23 horas, para finalmente poder centrarnos en la conducta motora de palanqueo.

AGRADECIMIENTOS.

A Gabriela Santana, Rafael Moreno y Cutberto Dorado Mendieta por su apoyo técnico y asesorías brindadas para la realización del presente proyecto.

BIBLIOGRAFÍA.

David, G. (2006). Psicología. Médica, Buenos Aires: Panamericana editorial.

Overmier, J. Bruce, La investigación básica con animales fortalece la ciencia y la práctica de la psicología. Interdisciplinaria [en línea] 2007, 24 (agosto-diciembre). [Fecha de consulta: 7 de agosto de 2018] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=18024204>> ISSN 0325-8203

Pérez, V. (2018). Procesos psicológicos básicos. Un análisis funcional, Madrid: UNED editorial.

Reynolds, G. (1968). Compendio de condicionamiento operante. San Diego: Universidad de California.

Rice, F. (1997). Desarrollo humano: estudio del ciclo vital. Pearson educación.

MUERTE CELULAR EN LA INTERACCIÓN NEUTRÓFILO-*Sporothrix schenckii*

Joanna Gutiérrez-Muñoz¹ y Yolanda Romo-Lozano²

RESUMEN

Sporothrix schenckii hongo dimórfico causante de la micosis cutánea y subcutánea más frecuente en México, la esporotricosis; se caracteriza por desarrollar nódulos y úlceras que pueden diseminarse siguiendo el trayecto linfático. En el sitio de inoculación traumática de conidios y/o hifas del hongo, tras darse su reconocimiento por las células inmunes, se desencadenan diversos mecanismos de defensa del sistema inmune innato para eliminarlo o causar muerte o apoptosis celular. Estas señales moleculares de daño pueden inducir la respuesta inflamatoria mediada por caspasas, entre otras. La caspasa-1 es una proteína que modula la maduración de citocinas, como la IL-1 β , al formar parte del complejo multiproteico denominado inflamosoma que actúa en la reparación tisular y control de patógenos. Se ha demostrado que esta enzima media la muerte de macrófagos mediante piroptosis en la esporotricosis. Sin embargo, en los neutrófilos polimorfonucleares (PMN), primeras células que llegan del sitio de la lesión, la activación de la caspasa contra *S. schenckii* aún no se ha estudiado, pero en este trabajo la detectamos, tanto 1 como 2 h por inmunofluorescencia indirecta (IFI). La enzima se observó, principalmente, dentro del citoplasma (1h) o dispersa (2h) alrededor de los PMNs. Asimismo, a las 2 h, se observó un aparente aumento de tamaño y fusión de lóbulos nucleares de los PMNs, similar a lo observado en células estimuladas con forbol miristato acetato (PMA) durante 1h, pero siempre diferente a aquellas células sin estimular. Por lo tanto, se puede concluir que los PMNs retados con conidios de *S. schenckii* también pueden inducir la vía de caspasa-1 y posiblemente también causar su muerte por piroptosis.

ABSTRACT

Sporothrix schenckii is a dimorphic fungus that causes the most frequent cutaneous and subcutaneous mycosis in Mexico, called sporotrichosis; this one develops nodules and ulcers that can spread following lymphatic way. In the traumatic inoculation site, with conidia and hyphae of fungus, they are recognized and are activated immune cells and several mechanisms of defense of innate immune system to eliminate them or promote cell death or apoptosis. These signals of damage molecular may induce inflammatory response mediated by caspases, among others mechanisms. Caspase-1 is a protein that modulates the maturation of cytokines, such as IL-1 β , and it is part of the multiprotein complex called inflammasome that acts in tissue repair and pathogen control. It has shown that Caspase-1 controls macrophage death through pyroptosis on sporotrichosis. However, in polymorphonuclear neutrophils (PMNs), first cells that arrive of injury site, the activation of caspase against *S. schenckii* has not been studied yet, but in this work we detect it, both 1 and 2h by indirect immunofluorescence (IFI). The enzyme was observed, mainly, within the cytoplasm (1h) or dispersed (2h) around the PMNs. Likewise, at 2 h, an apparent increase in the size and fusion of nuclear lobes of the PMNs was observed, similar to that observed in cells stimulated with phorbol myristate acetate (PMA) for 1 h, but always different from those cells without stimulation. Therefore, it can be concluded that PMNs challenged with conidia of *S. schenckii* can also induce the caspase-1 pathway and possibly also cause their death by pyroptosis.

PALABRAS CLAVE

caspasa-1, polimorfonucleares, conidios, *Sporothrix schenckii*

INTRODUCCIÓN

La inoculación traumática, en la piel, con suelo, plantas o material contaminado con hifas o conidios del hongo *S. schenckii* puede dar origen a la esporotricosis; la cual es la micosis subcutánea de amplia distribución pero endémica de Latinoamérica. México, con casos reportados desde 1913, actualmente es uno de los países con mayor incidencia

¹Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Biología; Avenida Universidad 940, Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Ags., Jogumu_13di@hotmail.com

²Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología. Laboratorio de microbiología sanitaria y ambiental; Avenida Universidad 940, Ciudad Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Ags., yromo@correo.uaa.mx

de esta infección (Bonifaz and Tirado, 2017). Esta infección puede presentarse cutánea y extracutáneamente, siendo más frecuente la afectación cutánea.

Tras la inoculación del hongo en la piel se desarrollan las formas fija y de diseminación linfática; esta última es la más frecuente (80%) en México. La lesión que se desarrolla es nodular, generalmente indolora, con infiltrado, a veces ulcerada o verrugosa; en los casos linfáticos los nódulos se ulceran y aparecen según el trayecto linfático (Arenas, Sánchez-Cardenas, Ramirez-Hobak, Ruíz, Vega, 2018); y en ciertos casos puede diseminarse en la piel o a órganos (Bastos, de Almeida y Oliveira, 2011).

La evolución clínica de la enfermedad depende tanto de factores asociados al hongo como al hospedero. Se ha demostrado que los antígenos de la pared celular de *S. schenckii* pueden favorecer el escape del hongo de células del hospedero y estos componentes pueden funcionar como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), incluso pueden modular la respuesta inmune como es el caso de glicoproteínas de pared (Alba-Fierro et al, 2016); así mismo en el reconocimiento del hongo por el sistema inmune innato del hospedero participan receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs) tales como receptores tipo Toll, dectina, receptores semejantes a nod (NLR) (Ferreira et al., 2015), entre otros.

Una vez que ocurre la interacción de las células del hospedero con el patógeno, en la lesión se desencadenan diversos mecanismos que en principio se enfocan a eliminarlo pero en cierto tiempo o intensidad pueden causar daño al hospedero, por lo que se necesita un control. La apoptosis o muerte celular programada puede ser un proceso de control, durante este se producen cambios morfológicos y bioquímicos (Tait, Ichim and Green, 2014).

La inflamación constituye uno de los procesos de defensa del sistema inmune innato que se desarrollan de manera rápida frente a patógenos y señales moleculares de daño. Una vez que se da el reconocimiento del patógeno o daño mediante receptores, se activan vías transcripcionales y, en varios casos, postranscripcionales que regulan la producción de mediadores inflamatorios, como citocinas, quimiocinas, entre otras moléculas, que tendrán una actividad biológica en contra del inductor de la respuesta. Entre los reguladores esenciales de la inflamación están las enzimas denominadas "las caspasas inflamatorias" que incluyen las caspasas humanas-1,-4,-5 y -12 y las caspasas murinas-1, -11 y -12 (Yazdi, Guarda, D'Ombraín and Drexler, 2010), las cuales forman parte del complejo multiprotéico denominado inflamósoma que entre sus funciones están el control de patógenos y la reparación tisular (Hernández y Urcuquí, 2012).

Se ha asociado un papel protector de la caspasa-1 durante la esporotricosis ya que puede participar en la regulación de la muerte celular de las células hospederas a través de piroptosis de macrófagos (Gonçalves et al., 2017), y con ello controlar el proceso inflamatorio. Sin embargo, en PMNs, células que son atraídas al sitio de infección, no se ha demostrado la activación de caspasa-1 durante su interacción con *S. schenckii*. Estas células tienen actividad fagocítica, pueden producir moléculas citóticas que causan gran daño tisular y celular, con lo que promueven la respuesta inflamatoria (Kennedy and DeLeo, 2009), también pueden liberar su material nuclear al espacio extracelular como trampas y matar a los microbios (formación de trampas extracelulares del neutrófilo, NET's) (Chen et al., 2018). Si bien su papel defensivo es vital, es necesaria la regulación de su actividad, por que varios de sus mecanismos de defensa pueden llegar a causar daños al hospedero (Gonçalves et al., 2015).

Por lo anterior, la finalidad de este trabajo fue verificar mediante IFI la presencia de caspasa-1 en PMNs retados con conidios de *S. schenckii* y con ello sentar una base para comparar, en un momento posterior, con lo ya demostrado en macrófagos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y purificación de neutrófilos humanos

Los PMNs fueron obtenidos a partir de muestras de sangre venosa de donantes voluntarios sanos con consentimiento informado. La sangre fue colectada en tubos con heparina, y la purificación de las células se realizó mediante gradientes de densidad (English y Andersen, 1974) con medios Lymphoprep (Fresenius Kabi Norge AS, Noruega), e Histopaque (SIGMA, EE.UU), centrifugando a 2800 rpm, 45 min. Los PMNs se lavaron con buffer fosfatos pH 7.2, y cuando fue necesario, los eritrocitos contaminantes se lisaron al incubarse con NH_4Cl 0.15 M, por 10 min. Los PMNs obtenidos fueron resuspendidos en medio RPMI 1640 sin rojo fenol y suplementado con suero fetal bovino (RPMI) y se cuantificaron en cámara de Neubauer verificando la viabilidad mediante la tinción por exclusión con azul Tripán. En todos los casos se utilizó una concentración celular de 4×10^5 PMNs para las interacciones.

Material fúngico y obtención de conidios

Se utilizó la cepa UAA-307 de *S. schenckii* crecida en agar dextrosa Sabouraud con antibióticos por tres días, antes de inocular caldo dextrosa Sabouraud e incubar por 72 h, a 28°C con agitación orbital a 150 rpm. Los conidios se obtuvieron por filtración y lavado por centrifugación a 3500 rpm, por 20 min a 4°C. Se ajustó a una concentración de

2x10⁶ conidios/50 µl de RPMI sin rojo fenol, por conteo en cámara de Neubauer. Se utilizó la prueba de exclusión de azul tripán para determinar viabilidad celular.

Co-cultivo de PMNs con *S. schenckii*

En placas estériles de 24 pocillos de fondo plano se colocaron cubreobjetos redondos estériles antes de depositar 4 X 10⁵ PMNs en 200 µl de RPMI, incubaron para su adhesión al cubreobjetos, durante 60 min a 37 °C. Posteriormente se añadieron 2x10⁶ conidios/50 µl de RPMI, mezclando suavemente para distribuir las células fúngicas. Como control negativo de respuesta se utilizaron PMNs sin estímulo y solamente se les añadieron 50 µl de RPMI, mientras que para tener un control positivo los PMNs se estimularon con PMA a una concentración final de 1 µg/ml en los 250 µl de volumen final. Los co-cultivos se mantuvieron a 37°C durante 1 y 2 h. Al término de la incubación se retiró el RPMI y se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4%, por 30 min, a temperatura ambiente, luego se hicieron tres lavados con PBS 1X, antes de proceder a las inmunodetecciones. Todos los ensayos se realizaron por duplicado en al menos dos repeticiones independientes.

Inmunofluorescencia

Con la finalidad de detectar la presencia de caspasa-1 en los neutrófilos y la glicoproteína gp60 del hongo, en relación a los neutrófilos, se realizó una inmunofluorescencia indirecta (IFI) sencilla. Antes de llevar a cabo las IFIs de los ensayos de estimulación con hongo, se determinó la concentración óptima del anticuerpo Anti-caspasa-1 utilizando PMNs con y sin estímulo con PMA y se probaron las concentraciones 1:50, 1:100 y 1:200 de dicho anticuerpo.

El protocolo de IFI utilizado fue el establecido en el laboratorio, y cuyo primer paso fue la permeabilización de la membrana celular de los PMNs, adheridos a los cubreobjetos y sometidos a los diferentes estímulos, con PBS-Tritón X-100 0.2% durante 30 min, luego se bloquearon uniones inespecíficas con suero fetal bovino al 2 % en PBS-Tritón X-100 0.2% por una hora, en cámara húmeda y a temperatura ambiente. Enseguida se colocaron los anticuerpos primarios % (Tabla 1) preparados a su dilución correspondiente en SFB 2% en PBS 1X Tritón X-100 0.2, y se dejaron en incubación a 4°C en cámara húmeda durante toda la noche. Para retirar el exceso de anticuerpo (no unido al epítipo de interés) se realizaron 3 lavados con PBS-Tritón X-100 0.2%, 5 min cada uno. Entonces se realizó la incubación con el anticuerpo secundario unido al cromógeno (Tabla 1) durante 1 h a temperatura ambiente y, el exceso se eliminó lavando 3 veces con PBS-1X, 5 min cada vez. Finalmente se llevó a cabo la tinción de núcleos al incubarse con una solución de Hoechst 1X en PBS, durante 10 min, procediendo a realizar lavados con PBS-1X (3 veces/5 min) para eliminar el exceso. Los cubreobjetos fueron montados con Mowiol en portaobjetos, se guardaron 24 horas en refrigeración antes de proceder a la observación.

Tabla 1. Anticuerpos utilizados en la inmunofluorescencia indirecta.

Proteína detectada	Anticuerpo	Dilución
Caspasa-1	Primario: Anti-Caspasa-1 (policlonal, anti-humano, hecho en conejo, Sigma)	1:200
	Secundario: Alexa Fluor 488 (anti Ig G-conejo, hecho en cabra, life technologies)	1:1000
Glicoproteína gp60	Primario: Anti-Gp60 de <i>S. schenckii</i> , (policlonal, hecho en conejo, proporcionado por la Dra. Estela Ruiz-Baca, Univ. Juárez de Durango)	1:200
	Secundario: Alexa Fluor 488 (anti Ig G-conejo, hecho en cabra, life technologies)	1:1000

Se tomaron fotografías con la cámara CoolSNAP-Procf Color integrada al microscopio de epifluorescencia Axiokop 40, con un aumento de 40x. Se utilizó el canal verde para detectar caspasa-1 y la glicoproteína gp60 y el azul para detectar núcleos de los PMNs. Las fotografías tomadas se empalmaron con el programa Adobe Photoshop CS4 versión 11.0.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Con la finalidad de determinar una concentración óptima del anticuerpo anti-caspasa-1 se probaron las concentraciones 1:50, 1:100 y 1:200, encontrándose que con la de 1:200 se eliminó la fluorescencia inespecífica y por ello se utilizó esta dilución para los ensayos PMNs-hongo.

Se detectó caspasa-1 en PMNs en interacción con *S. schenckii* en los dos tiempos analizados (Fig 1 y 2). A 1 y 2 h de incubación en el núcleo de los PMNs sin estimulación (Fig 1A y Fig 2A-C, respectivamente) se observan sus lóbulos compactos, mientras que en aquellos estimulados con PMA (Fig 1B y Fig 2D-F) los lóbulos nucleares se aprecian

engrosados, dando la apariencia de fragmentación y la caspasa-1 dentro del citoplasma celular, de manera que se aprecia un aumento de tamaño celular. En aquellas células retadas con conidios fúngicos (Fig 1C y Fig 2G-I) el material nuclear se observa engrosado y una aparente mayor intensidad fluorescente que en aquella observada en PMNs estimulados con PMA, incluso aparentemente se aprecia proteína libre. Esto último podría tener relación con el papel inductor de piroptosis de los macrófagos promovida por los neutrófilos (Chen et al, 2018), sin embargo se hace necesario verificar si estas células sufren piroptosis.

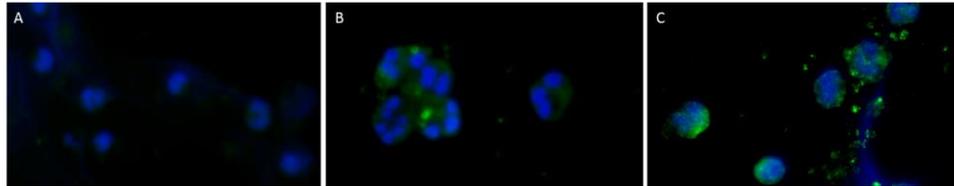


Figura 1. Empalmes de fotografías para inmunolocalización de caspasa-1 a 1 h de interacción in vitro de PMN y *S. schenckii*. A) PMN sin estímulo; B) PMN estimulados con 1 µg/ml de PMA; C) PMN estimulados con 2×10^6 conidios de *S. schenckii*. En verde se observa caspasa-1 en células estimuladas con PMA y con conidios.

A las 2 h de incubación los núcleos de las células estimuladas con PMA se observan redondeados, y positivos para caspasa (Fig 2F), lo que podría indicar un proceso apoptótico, mientras que en las células retadas con *S. schenckii* probablemente se libera DNA en las NETs y esto puede favorecer la piroptosis y al mismo tiempo la eliminación del hongo (Gonçalves et al, 2016).

Si bien no se realizaron IFs dobles para colocalizar caspasa-1 en relación con el hongo, este último se detectó en interacción con los neutrófilos a 1h (no mostrado) y 2 h (Fig 3C). Es clara la diferencia que hay entre los núcleos de las células sin estimular (Fig 3A) contra aquellas estimuladas (Fig 3B y 3C).

Estos resultados muestran que durante el reto, con conidios de *S. schenckii*, en los PMNs se activa caspasa-1, lo que complementa la información ya publicada (Ferreira et al, 2015; Gonçalves et al, 2017), quedando por investigar como este fenómeno se relaciona con otras células en un modelo in vivo en tiempos cortos de infección, incluso si es necrosis lo que se promueve una vez que la caspasa-1 cumple con su papel postranscripcional de proteínas al favorecer la maduración de citosinas como IL-1β e IL-18 (Cullen, Kearney, Clancy and Martin, 2015).

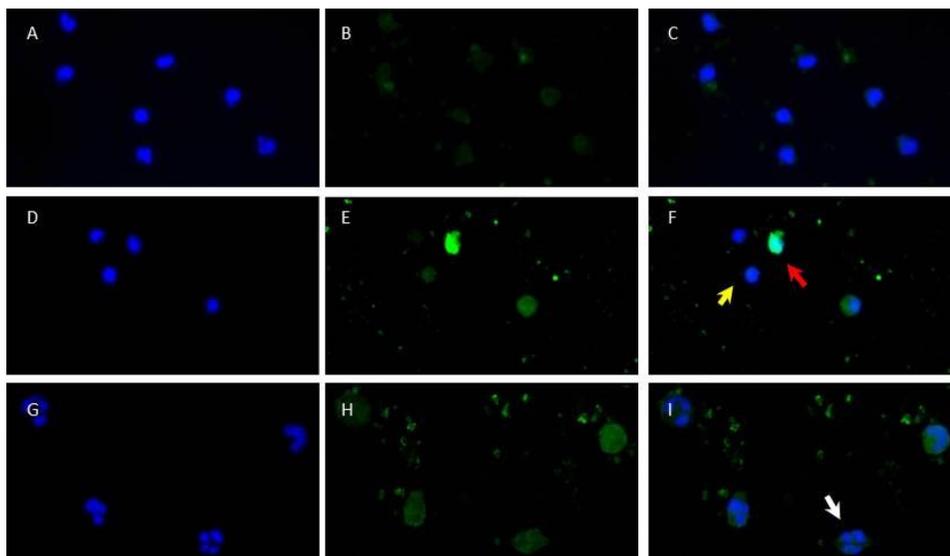


Figura 2. Inmunolocalización de caspasa-1 a las 2 h de interacción in vitro de PMN y *S. schenckii*. A-C) PMN sin estímulo; D a F), PMN estimulados con 1 µg/ml de PMA y G a I) PMN en interacción con 2×10^6 conidios de *S. schenckii*. A, D y G, marcaje de núcleos (Hoestsh) en azul. B, E y H, marcaje en verde de caspasa-1; C, F e I empalmes de fotos de sus respectivos ensayos. Núcleo redondeado (flecha amarilla), célula con caspasa-1 en todo el citoplasma (flecha roja), núcleo con lóbulos agrandados (flecha blanca).

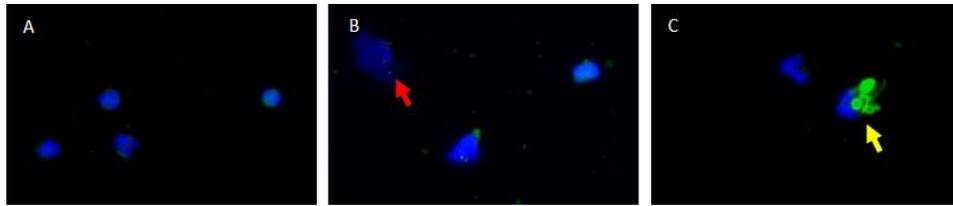


Figura 3. Empalmes de fotografías para inmunolocalización de Gp60 a las 2 h de interacción in vitro de PMN y *S. schenckii*. Se muestran empalmes de fotos con filtros azul (núcleos) y verde (Gp60) de A) PMNs sin estímulo; B), PMNs estimulados con 1 µg/ml de PMA y C) PMNs en interacción con 2×10^6 conidios de *S. schenckii*. Se observan PMN con material nuclear disperso (flecha roja) y hongo en interacción con PMN (flecha amarilla)

CONCLUSIONES

Durante la interacción de neutrófilos con conidios de *S. schenckii* se activa caspasa-1 y se asocia a cambios morfológicos nucleares, al menos a los tiempos analizados, por tanto los PMNs entran en piroptosis.

BIBLIOGRAFÍA

- Alba-Fierro C.A., Pérez-Torres A., Toriello C., Pulido-Camarillo E., López-Romero E., Romo-Lozano Y., Gutiérrez-Sánchez G. & Ruiz-Baca E. (2016). Immune Response Induced by an Immunodominant 60 kDa Glycoprotein of the Cell Wall of *Sporothrix schenckii* in Two Mice Strains with Experimental Sporotrichosis. *J Immunol Res.* 2016.
- Arenas R., Sánchez-Cardenas C.D., Ramirez-Hobak L., Ruíz L.F., Vega M.E. (2018). Sporotrichosis: From KOH to Molecular Biology. *J Fungi (Basel)*; 4(2).
- Barros M.B., de Almeida Paes R., & Schubach A.O. (2011). *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev*, 24(4):633-54.
- Bonifaz A. & Tirado-Sánchez A. (2017). Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. *J Fungi (Basel)*. 3(1).
- Chen L., Zhao Y., Lai D., Zhang P., Yang Y., Li Y., Fei K., Jiang G, Fan J. (2018). Neutrophil extracellular traps promote macrophage pyroptosis in sepsis. *Cell Death Dis*; 9(6):597.
- Cullen S.P., Kearney C.J., Clancy D.M. & Martin S.J. (2015). Diverse Activators of the NLRP3 Inflammasome Promote IL-1 β Secretion by Triggering Necrosis. *Cell Rep*; 11(10):1535-48.
- Ferreira L.S, Gonçalves A.C., Portuondo D.L., Maia D.C., Placeres M.C., Batista-Duarte A. & Carlos I.Z. (2015). Optimal clearance of *Sporothrix schenckii* requires an intact Th17 response in a mouse model of systemic infection. *Immunobiology*. 220 (8):985-92.
- Gonçalves A.C., Ferreira L.S., Manente F.A., de Faria C.M.Q.G., Polesi M.C., de Andrade C.R., Zamboni D.S. & Carlos I.Z. (2017). The NLRP3 inflammasome contributes to host protection during *Sporothrix schenckii* infection. *Immunology*. 151(2):154-166.
- Hernández López, J., & Urcuqui Inchima, S. (2012). Activación y regulación del inflammasoma NLRP3 en las enfermedades infecciosas. *Iatreia*, 25(4):380-390.
- Kennedy A.D. & DeLeo F.R. (2009). Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. *Immunol Res*, 43(1-3):25-61.
- Tait S.W., Ichim G. & Green D.R. (2014). Die another way--non-apoptotic mechanisms of cell death. *J Cell Sci*. 127(Pt 10):2135-44.
- Yazdi A.S., Guarda G., D'Ombra M.C., & Drexler S.K. (2010). Inflammatory caspases in innate immunity and inflammation. *J Innate Immun*. 2(3):228-37.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) y al personal del laboratorio de Microbiología sanitaria y ambiental de la UAA: mi tutora de investigación la Dra. Yolanda Romo Lozano y al Lic. Biot. Darío de Jesús Dávila Pasillas.

PRODUCCION DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACION

Jose Abraham Sosa Carrillo ¹y Aldo Amaro Reyes ²

RESUMEN

A través de la programación ladder para PLC (Zelio modelo SR3B261BD) logró automatizarse el flujo de alimentación de medio a una fermentación por lote alimentado. Una vez transferido el programa al PLC, éste controló el encendido y apagado de una bomba peristáltica que alimentaba durante 14 segundos cada hora durante 48 horas (tiempo que duró cada experimento). La bomba peristáltica equipada con una manguera marca master flex L/S 14 fue activada durante el tiempo mencionado con la finalidad de obtener un crecimiento durante la fase exponencial de la levadura *Saccharomyces Cervisiae* p530 (marca de la levadura) con la finalidad de obtener una mayor productividad bioetanol. Estos primeros ensayos servirán para su posterior utilización en un sistema de electrofermentación y fermentación electrostática.

ABSTRACT

Through the programming of ladder for PLC (Zelio model SR3B261BD) the flow of medium feed to a batch fed fermentation was automated, this was by connecting an FTDI device for communication between the computer and the PLC. The elaboration of the program was carried out using the software Zelio 2 version 4.5. Once transferred the program to the PLC, the control and the equipment of a peristaltic pump that fed during 14 hours by 48 hours (the time that lasted). The peristaltic pump equipped with a hose master brand flex L / S 14 was activated during the time indicated in order to obtain a growth during the exponential phase of the yeast *Saccharomyces Cervisiae* p530 (yeast brand) in order to obtain a higher bioethanol productivity. These first tests serve for their later use in an electrostatic fermentation and electro-frequency system.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila Facultad de Ciencias Biológicas carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5 Ejido 'El Águila' Ciudad Universitaria C.P. 27276 Torreón joabsoca@gmail.com

² Universidad Autónoma de Querétaro Departamento de investigación y posgrado en alimentos Cerro de las campanas, centro universitario 76010, Santiago de Querétaro, Qro. aldo.amaro@uaq.edu.mx

Palabras clave: peristaltic pump, electrostatic fermentation, electro-frequency system.

INTRODUCCION

Henry Ford en el año 1925 dijo el etanol es el combustible del futuro, vendrá de las manzanas, malezas, del aserrín, casi de cualquier cosa. Hay combustible en cada porción de materia vegetal que puede ser fermentada (Chandel y col., 2007). El término biocombustible es atribuido a cualquier alternativa de combustible que sea derivado de material orgánico, residuos agrícolas o biomasa de aguas residuales. Actualmente la humanidad se enfrenta a escasas de petróleo. La quema de combustibles fósiles ha provocado una acumulación masiva de gases de efecto invernadero en la atmósfera. Por lo que es imprescindible producir fuentes de energía renovables. *Saccharomyces cerevisiae* ha sido empleada en la industria para la producción de biocombustibles en base a maíz y azúcar como la cepa primaria fermentativa. Los azúcares son mezclados con agua para la formación de un medio fermentativo. Durante la fermentación por lote, *S. cerevisiae* fermenta azúcares de seis carbonos en etanol, bajo condiciones anaerobias y temperaturas controladas de 30 °C (Murado y col., 2008). A pesar de la tolerancia a las condiciones estresantes del proceso de producción de bioetanol, *S. cerevisiae* no es capaz de metabolizar otros carbohidratos aparte de hexosas.

Se seleccionó el tipo de fermentación Fed-Batch porque a diferencia de la fermentación por lote, en la producción de bioetanol, en este método el microorganismo podría trabajar con baja concentración de sustrato. Lo anterior podría ayudar a que la concentración de etanol se incremente de manera controlada. Lo cual conlleva a un mayor rendimiento y productividad de metabolitos microbianos en caso de lograrse tener éxito con este método. La productividad de etanol se encuentra limitada por dos razones: uno, el adecuado control de tasa de alimentación; y dos, la concentración de biomasa que es la que produce etanol, obteniéndose menor rendimiento al incrementarse esta última (Haankuku y col., 2015). El etanol producido puede ser empleado como combustible en motores de combustión interna.

La electro-fermentaciónes un proceso novedoso que consiste en controlar electroquímicamente el metabolismo de la fermentación microbiana con electrodos (Schröder et al. 2012). Los electrodos pueden actuar como sumideros de electrones o fuentes que permiten la fermentación desequilibrada. También pueden modificar el medio al cambiar el equilibrio redox. Tal control electroquímico ejerce efectos significativos no solo sobre el metabolismo microbiano y la regulación celular, sino también sobre las interacciones entre especies y la selección de poblaciones bacterianas en cultivos microbianos mixtos (Lovley et al., 2006)

MATERIALES Y METODOS

Para la elaboración del programa para la fermentación tipo lote alimentado había dos opciones de programación en el software (programación por bloques y programación por diagrama de escalera), se seleccionó el método de programación diagrama de escalera y fue mediante la conexión de un dispositivo FTDI para la comunicación entre la computadora (Lenovo G40-45) y el PLC. La ejecución del programa del programa se llevó a cabo mediante el software Zelio 2 versión 4.5. Tal programa fue transferido de manera efectiva al PLC como puede verse en la figura 1.

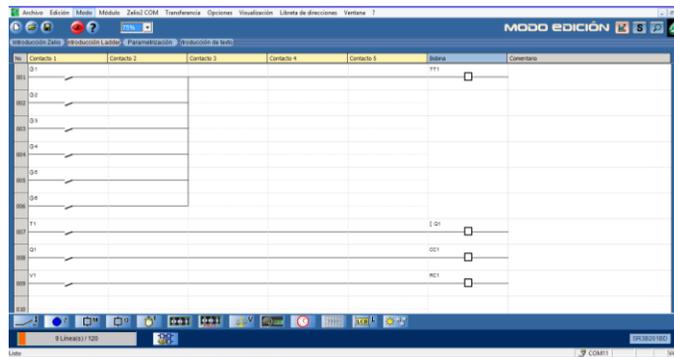


Figura 1. Programación Ladder.

Posterior a esto se hicieron pruebas con agua utilizando en sistema creado con el PLC (Zelio modelo SR3B261BD), la bomba peristáltica (easy-load masterflex l/s modelo 7518-00) en el cual el volumen inicial fue de 50 ml y el volumen final del lote alimentado fue de 100 ml. La bomba peristáltica equipada con una manguera marca master flex L/S 14 fue activada durante 14 segundos (figura 2) con la finalidad de obtener datos para la futura fermentación para el crecimiento durante la fase exponencial de la levadura *Saccharomyces Cervisiae* p530 (marca de la levadura) con la finalidad de obtener una mayor productividad bioetanol. Aunque las pruebas realizadas fueron con agua, servirán de referencia para una posterior fermentación.

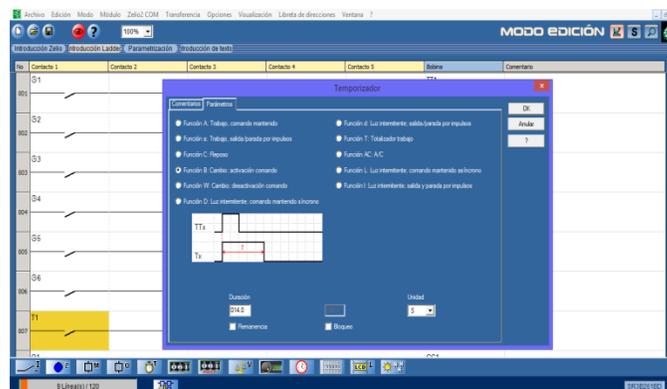


Figura 2.- Se puede observar el tipo de señal, así como la duración de la activación de la bomba peristáltica.

RESULTADOS

Para saber cuánto tiempo debía activarse la bomba peristáltica se realizaron diferentes pruebas que se muestran a continuación; donde se seleccionó la prueba 13 como candidata para una posterior alimentación al fermentador alimentado (tabla 1).

	tiempo	potencia	ml transferidos	estimacion_ml a 48 hrs	48hrs
1	17.35	4	14	672	48
2	17.06	4	11.5	552	48
3	17.31	3	8.5	408	48
4	17.45	3	10	480	48
5	17.4	2	7	336	48
6	17.14	2	8	384	48
7	17.13	1	3	144	48
8	17.4	1	2.5	120	48
9	15.54	1	2	96	48
10	10.7	1	1.3	62.4	48
12	14.23	1	1.8	86.4	48
13	14	1	1	48	48
14	13	1	0.93	44.64	48
15	12	1	0.6	28.8	48

CONCLUSIONES

A partir de estos resultados podemos concluir que la programación del software para la alimentación de nuestro sistema fed-bach fue correcta, se eligió el método de programación adecuado para las tareas que el PLC iba a desempeñar. Por otra parte, en las pruebas hechas con agua, se pudo visualizar, que poniendo la bomba en la velocidad 1 y con una duración de 14 segundos podríamos tener una transferencia de líquido adecuada para nuestra fermentación de 48 horas.

REFERENCIAS

- Chandel AK, Chan ES, Rudravaram R, Narasu ML, Rao V, Ravindra P. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal. *Biotechnol Mol Biol Rev.* 2007;2:014-032.
- Murado MA, Pastrana L, Vázquez JA, Mirón J, González MP. Alcoholic chestnut fermentation in mixed culture. Compatibility criteria between *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Bioresour Technol.* 2008;99:7255-7263
- Haankuku C, Epplin FM, Kakani VG. Industrial sugar beets to biofuel: Field to fuel production system and cost estimates. *Biomass Bioenergy.* 2015;80:267-277
- Schröder, U. (2012) Microbial fuel cells and microbial electrochemistry into the next century! *ChemSusChem* 5, 959-959
- Lovley, D.R. (2006) Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17, 327–332

LA COMPLEJIDAD APLICADA A SISTEMAS SOCIALES: ANÁLISIS COEVOLUTIVO DEL MERCADO DE VALORES USA – MÉXICO

José Abraham Hernández Sánchez^[1] y Alejandro Puga Candelas^[2]

RESUMEN

El análisis de los sistemas complejos brindan una amplia oportunidad para el desarrollo interdisciplinario, es por ello que no resulta descabellado el pensar en emplear aquello que nos enseña la ciencia de la complejidad y aplicarlo a medios y entornos relevantes, como lo es en este trabajo, la economía; más en concreto, lidiamos con el análisis de componentes (empresas) que resultan representantes de la economía privada en dos países, EEUU y México. La motivación detrás de este trabajo radica en las características mismas que guarda el mercado de valores en ambos países; a través de los años las alzas y las bajas en el precio de las acciones estudiadas no muestran un patrón claro como es de esperarse, sin embargo al “analizar las partes y entender el todo” podemos discernir propiedades acerca de la evolución de dichas acciones.

ABSTRACT

Complex systems analysis enable us to develop several multidisciplinary research projects this is why it should come as no surprise that techniques learned in complex systems theory could be applied to a varied range of subjects, such is the case of this work with the analysis of the economy; particularly we analyzed the behavior of the most relevant components (companies) of the stock market in both the US and México. The motivation behind this work resides in the characteristics the stock market displays in both countries at the time of analysis; throughout the years the peaks and valleys of the stocks follow no discernible pattern as it comes to be expected, however if we “analyze the parts to understand the whole” we can distinguish the evolving properties of our system and therefore make predictions.

Key Words: coevolution, stock market, complex science, econophysics

INTRODUCCIÓN

La noción de evolución Darwiniana ha sido estudiada con detenimiento mediante la implementación de métodos computacionales de índole numérica, métodos analíticos y del tipo cualitativos; sin embargo una importante consideración que realiza la evolución Darwiniana es la introducción del concepto de “fitness”. Esta cantidad resulta de sumo interés para nosotros al tratar de realizar un análisis análogo de un ecosistema formado por compañías proliferantes dentro del mercado de valores de distintos países. Se ha teorizado con una cierta medida de certidumbre la existencia de propiedades emergentes en la topología de una red económica cuya construcción depende de un parámetro que funge como un símil entre la teoría Darwiniana y el análisis matemático del mercado; claramente, hablamos de una medida de “fitness”. La definición de esta medida varía de trabajo en trabajo de forma válida debido a que es una idea útil para desarrollar análisis topológicos, dinámicos y, en nuestro caso, análisis evolutivos.

En el contexto económico y como se ha mencionado con anterioridad, hemos estudiado los máximos representantes del sector económico privado de ambos países (top 30 empresas de EEUU y el top 30 empresas en México). Para dictaminar la calidad de las empresas analizadas observamos el valor de sus acciones en el “stock market” y seleccionamos a los 30 mejores candidatos dejándonos con un total de 60 entes a analizar.

Previamente y como nos percatamos, en la literatura se analizan propiedades similares a las que nosotros analizamos en este proyecto, sin embargo, una diferencia mayúscula que existe es que la mayoría de los

[1] Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Física. Calle España #2, Guadalupe Moderno 98600, Guadalupe, Zacatecas. abraham.hersan@fisica.uaz.edu.mx

[2] Universidad Autónoma de Zacatecas, Unidad Académica de Física. Calzada Solidaridad, Campus Universitario #2, 98060, Zacatecas, Zacatecas. apuga@fisica.uaz.edu.mx

ponentes al respecto analizan el caso de la economía a nivel global; mientras que nuestro grupo de estudio se centra en un periodo espacio-temporal muy específico.

Concretamente analizamos el periodo (2015-2018) para analizar si el llamado “Efecto Trump” puede observarse al momento de realizar nuestro análisis. En paralelo se ha estado hablando de un “Efecto AMLO” el cual, en caso de existir y reflejarse de una manera significativa, habrá de aparecer reflejado en el valor de las acciones de las empresas mexicanas seleccionadas. Lo previo puede tomarse como una hipótesis al respecto.

MARCO TEÓRICO

Para el análisis de la cantidad que nosotros llamamos fitness; nos fiamos de tres instrumentos en particular:

- Datos del valor de la acción con frecuencia SEMANAL en el periodo establecido (2015-2018) para todas las empresas obtenidas con una membresía especial para la visualización de los datos auspiciada por www.tradingeconomics.com
- Un modelo coevolutivo previamente desarrollado para el lenguaje de programación científico Mathematica enunciado en el libro “Computer Simulations with Mathematica: Explorations in Complex Physical and Biological Systems” por Richard J. Gaylord
- Wolfram Mathematica 11 con bibliotecas añadidas para el procesamiento de los gráficos, el análisis en masa de las acciones y el cálculo de algunas propiedades.

Aunado a lo previo, cabe constatar que al nosotros mencionar un “fitness” y al ser la definición de este término algo ambigua en la literatura, optamos por considerar para los intereses de nuestro modelo la siguiente definición de “fitness”:

$$fitness_i(t) = x_i(t) = \frac{\omega_i(t)}{\text{Máx } \Omega(t)} \quad (1)$$

Donde:

$$\Omega(t) = \{\omega_n\}_{n=1}^{N=60} \quad (2)$$

En la ecuación (1) podemos notar con facilidad que el fitness de la acción ω_i varía conforme existe un paso temporal ya que está dada en función del valor de esa acción al tiempo “t” y el máximo valor de todas las acciones analizadas, como se observa por la definición en ecuación (2).

Es obvio que el fitness de una acción para cualquier tiempo “t” está acotada, ya que:

$$0 < x_i \leq 1 \quad (3)$$

Donde la igualdad a 1 se cumple cuando la acción analizada resulta ser la que obtuvo el máximo valor para un determinado y particular tiempo “t”.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se trabajó de forma relativamente axiomática el problema; como materia prima principal y como se ha mencionado, contamos con los datos proporcionados por Trading Economics, estos, al estar dados en una frecuencia semanal y desde la semana inicial del 2015, son un total de 190 entradas al valor de la acción para cada empresa, dando como total 11,400 datos en bruto en un formato listo para ser procesado.

Consecuentemente se determinó el fitness de todas las acciones mediante la aplicación de las ecuaciones (1) y (2) para cada paso temporal. Con el valor “ x_i ” determinado para cada uno de los pasos temporales de las 60 empresas, pasamos a introducirlos al modelo coevolutivo considerando los parámetros de interés

para nuestro problema de estudio (tales como: la cantidad de pasos temporales, el universo muestral, las condiciones iniciales, etc...)

El modelo coevolutivo lo enunciamos a continuación:

```
DarwinianEvolution[n_, ε_] := Module[{prebiotic, fitness, leastFitSites}, leastFitSites = {};
prebiotic = Table[RandomReal[], n];
fitness = Function[y, ReleaseHold[ReplacePart[y, Hold[RandomReal[]], Join[# - 1 /. 0 → n, AppendTo[leastFitSites, #];
#, # + 1 /. (n + 1) → 1] & [Position[y, Min[y]]]]];
Nest[fitness, prebiotic, ε];
Flatten[leastFitSites]] (3)
```

Este modelo, en esencia; analiza los valores de input que contienen el fitness inicial de las empresas para después realizar un algoritmo de selección natural en el cual, aquella empresa que haya obtenido el menor valor fitness de todo el universo muestral recibirá un cambio de naturaleza “aleatoria” y será reemplazado por un valor entre 0 y 1, por ende cada vez que se reasignen valores de fitness habrá empresas que cambien su valor conforme el algoritmo progresa en la escala temporal.

Posteriormente integramos el modelo evolutivo en tándem con el modelo de fitness real y los comparamos mediante la siguiente expresión:

```
frequency[Lis_] := Map[{#, Count[Lis, #]} &, Union[Lis]] (4)
```

Al hacer esto, podemos obtener una comparativa de cambio real vs. cambio simulado mediante el algoritmo evolutivo. Como tratamiento final, graficamos el número de la acción vs. un fitness ponderado e histórico donde se consideraron tanto los valores reales como los obtenidos algorítmicamente.

RESULTADOS

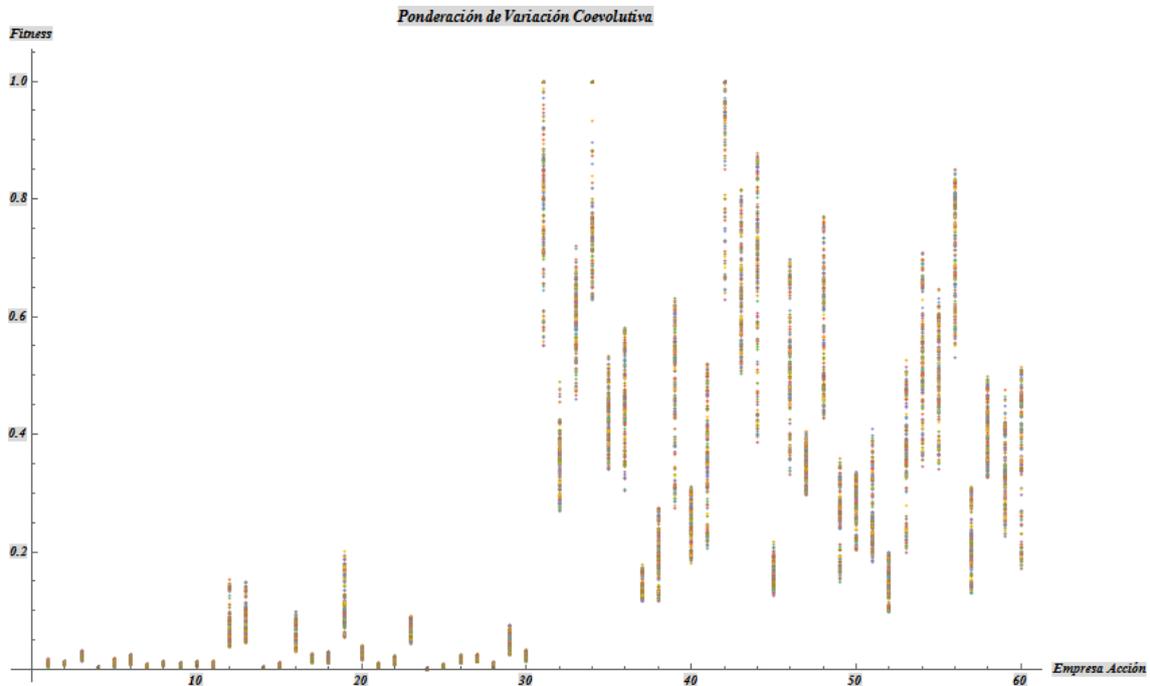
Enuncio el universo muestral de 60 empresas y el fitness promedio “real” vs el fitness promedio “aleatorio” obtenido para la empresa en base a lo previamente descrito.

Tabla 1. Valores fitness para empresas de universo muestral.

Empresa MEX	F. Real	F. Aleatorio	Empresa EUA	F. Real	F. Aleatorio
Chedraui	0.01066	0.03696	3M	0.81833	0.74511
Grupo México	0.01174	0.04587	American Express	0.35661	0.54651
Banorte	0.02330	0.03211	Apple	0.59624	0.41321
CEMEX	0.00334	0.01123	Boeing	0.81263	0.78977
Bimbo	0.01149	0.03121	Caterpillar	0.42671	0.63018
Grupo Carso	0.01792	0.08465	Chevron	0.45802	0.68077
Grupo BMV	0.00673	0.01248	Cisco	0.13963	0.09821
Mexichem	0.01099	0.07425	Coca-Cola	0.19396	0.23160
Inbursa	0.00798	0.00151	Disney	0.48082	0.60693
Grupo Herdez	0.00985	0.04125	DowDuPont	0.25339	0.15587
Grupo LaLa	0.00839	0.01971	Exxon Mobil	0.36885	0.36670
Fresnillo PLC	0.09460	0.15495	Goldman Sachs	0.93185	0.89716
PEÑOLES	0.08254	0.07001	Home Depot	0.63721	0.62301
Grupo Famsa	0.00267	0.00914	IBM	0.67244	0.78710
Alfa	0.00727	0.01960	Intel	0.16257	0.23309
GRUMA	0.05828	0.00511	J&J	0.52396	0.70515
IENova	0.02054	0.07143	JPMorgan	0.34837	0.33188
Industrias CH	0.01962	0.09188	McDonald's	0.57332	0.91202
Elektra	0.10845	0.01565	Merck	0.26386	0.51741
Arca	0.02736	0.16548	Microsoft	0.28088	0.66128
Alpek	0.00611	0.02155	Nike	0.26799	0.40365
Alsea	0.01480	0.21358	Pfizer	0.15000	0.30412
Grupo Aeroportuario	0.06877	0.03168	Procter & Gamble	0.37351	0.61404
Axtel	0.00134	0.01265	TRV	0.53281	0.79005
OHL México	0.00597	0.07975	United Techs	0.50027	0.54490

Megacable	0.01695	0.00112	United Health	0.71246	0.89123
Bachoco	0.01942	0.01746	Verizon	0.21439	0.33201
Volaris	0.00640	0.04787	VISA	0.40563	0.46230
PINFRA	0.04766	0.08658	Wal-Mart	0.33972	0.22002
iShares S&P	0.02401	0.01774	Walgreen	0.37073	0.10589

Acto seguido muestro el gráfico correspondiente a la variación entre los parámetros del fitness asociado a las empresas para todos los pasos temporales (190) contra la escala de posibles valores de fitness. i.e. de 0 a 1.



Estos resultados y comparaciones nos resultan interesantes debido a que la ponderación del modelo aleatorio se comporta de modo muy característico. Para compañías con un fitness inicial real bajo, la variación coevolutiva no resultó ser de mucho beneficio para ellos; como se observa en la gráfica con las acciones del 1-30 (acciones mexicanas). Por el contrario, al analizar las acciones del 31-60, podemos observar una variación bastante sustancial debido a valores iniciales reales de fitness alto; en general podemos enunciar lo siguiente; “mientras más elevado sea el fitness inicial de una acción dentro de un universo muestral, es más probable que su valor de fitness modelado coevolutivamente sea bastante volátil; la acción puede subir de valor muy radicalmente o puede bajar de precio sin previo aviso”

Esta falta de estabilidad no está presente en las primeras acciones de fitness bajo, por ende, una inversión en estas empresas puede no implicar un retorno jugoso pero al menos se asegura con cierta medida de certidumbre que la acción no se desplomará (ni se propulsará).

CONCLUSIONES

Los resultados destacables de esta corta investigación se enuncian a continuación:

- Las empresas con un alto valor inicial de fitness mostraron un gran contraste al compararse con una iteración algorítmica a su estructura, siendo entonces comparativamente más volátiles que sus contrapartes con un valor de fitness reducido.
- Existen varias definiciones para el fitness de una acción en un universo muestral, sin embargo empleando la definición del máximo valor garantizamos la existencia de un valor acotado, simplificando los cálculos al lidiar con un sistema en esencia normalizado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) GARLASCHELLI, D., LOFFREDO, M (2005). “Structure and evolution of the world trade network” en Elsevier Science, Physica A 355/1, 138-144 (2005).v Consultada en <https://arxiv.org/abs/physics/0502066> (fecha de consulta 12-07-2018).
- 2) GARLASCHELLI, D., LOFFREDO, M, DI MATTEO T., ASTE T. (2007). “Interplay between the topology and dynamics in the World Trade Web” en Elsevier Science, Eur. Phys. J. B 57,159-164 (2007) Consultada en <https://arxiv.org/abs/physics/0701030> (fecha de consulta 13-07-2018).
- 3) GARLASCHELLI, D., LOFFREDO, M (2004). “Fitness-Dependent topological properties of the World Trade Web” en Elsevier Science, Phys. Rev. Lett. 93, 188701 (2004). Consultada en <https://arxiv.org/abs/cond-mat/0403051> (fecha de consulta 12-07-2018)
- 4) GAYLORD, R. (1995). Computer simulations with Mathematica: Explorations in complex physical and biological systems, EEUU, Springer

ACTIVIDAD DE LA ENZIMA PrimPol DE ARABIDOPSIS THALIANA ES POTENCIADA POR SSB1

José Alberto Chávez Reyes¹, Antolín Peralta Castro² y Luis Gabriel Briebra de Castro²

RESUMEN

En este trabajo se estudió la actividad de la Primasa-polimerasa (PrimPol) de *Arabidopsis thaliana*, enzima perteneciente a la super familia AEP (primasas arqueobacterias), con la habilidad única de sintetizar primers de *novo*, siendo una DNA polimerasa con una procesividad moderada y con la capacidad de tolerar el paso de ciertas lesiones en el ADN. PrimPol contribuye en la replicación nuclear y mitocondrial, además ha sido descubierta en organismos eucariotas facilitando la progresión de la horquilla de replicación, participando en la continuación de la hebra por su actividad TLS (síntesis de translesion) o reprimiendo el bloqueo de las lesiones río abajo debido a su dominio dedo de zinc, otorgándole así su actividad ADN-ARN primasa. En concordancia con investigaciones previas, en las que se verifico que las RPAs (proteínas de replicación A) en humanos estimulan la actividad polimerasa en templados largos de ADN monocatenario, se demostró que las proteínas análogas en plantas tales como las SSB (proteínas ligantes de ADN de cadena sencilla) potencian la replicación en conjunto con la Pol A3-. Al utilizar el vector M13 ssDNA como templado en conjunto con SSB1, Pol A3- y Prim Pol, se elevó la actividad polimerasa de la Pol A3-, favoreciendo la replicación, además, esta última fue capaz de elongar los primers producidos por la PrimPol. Por otra parte, se ensayó un gradiente en concentraciones crecientes de SSB1, manteniendo PrimPol constante, produciendo así más ADN elongado a concentraciones mayores de SSB1. SSB1 interactúa químicamente con PrimPol de tal forma su capacidad de enlazamiento es mutuamente potenciada, estimulando la actividad primasa ARN-ADN y polimerasa de PrimPol junto a A3-, la cual se encuentra en la mitocondria de plantas.

ABSTRACT

In this work we studied the activity of the primase-polymerase (PrimPol) of *A. thaliana*, an enzyme belonging to the super family AEP (primases archaeobacteria), with the unique ability to synthesize *de novo* primers, being a DNA polymerase with a moderate processivity and with the ability to tolerate the passage of certain lesions in the DNA. PrimPol contributes to nuclear and mitochondrial replication, has also been discovered in eukaryotic organisms facilitating the progression of the replication fork, participating in the continuation of the strand by its TLS activity (synthesis of translesion) or repressing the blockage of the lesions downstream due to its zinc finger domain, thus giving it its DNA-RNA primase activity. In agreement with previous investigations, in which it was verified that the RPAs (replication proteins A) in humans stimulate the polymerase activity in long single-stranded DNA templates, it was demonstrated that the analogous proteins in plants such as SSB (Single-stranded binding protein) enhance replication in conjunction with the Pol A3-. By using the vector M13 ssDNA as annealed in conjunction with SSB1, Pol A3- and Prim Pol, the polymerase activity of Pol A3- was increased, favoring replication, and the latter was also able to elongate primers produced by PrimPol. On the other hand, a gradient was tested in increasing concentrations of SSB1, keeping PrimPol constant, thus producing more elongated DNA at higher concentrations of SSB1. SSB1 chemically interacts with PrimPol in such a way that its binding capacity is mutually enhanced, stimulating the primase activity RNA-DNA and polymerase of PrimPol together with A3-, which is found in the mitochondria of plants.

Palabras clave: TLS, RPA, PrimPol, Zinc Finger Domain, M13 ssDNA, replication, SSB, mitochondrial.

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas; Carretera Torreón - Matamoros Km. 7.5, colonia centro, C.P: 27000, Torreón, Coahuila, ronaldox_leyend7@hotmail.com

²Unidad de genómica avanzada, CINEVESTAV-IPN, Unidad Irapuato. Libramiento norte carretera Irapuato-León Km 9.6, C.P: 36821 Irapuato, Gto; México. Luis.briebra@cinvestav.mx

INTRODUCCION

Las ADN polimerasas son enzimas que intervienen en el proceso de replicación del ADN. Llevan a cabo la síntesis de la nueva cadena de ADN emparejando los desoxirribonucleótidos trifosfatos (dNTP's) con los desoxirribonucleótidos complementarios correspondientes del ADN molde. Los dNTP's que se usan en la replicación del ADN contienen tres fosfatos unidos al grupo hidroxilo 5' de la desoxirribosa y dependiendo de la base nitrogenada serán dATP, dTTP, dCTP o dGTP. La reacción fundamental es una transferencia de un grupo fosfato en la que el grupo 3'-OH actúa como nucleófilo en el extremo 3' de la cadena que está en crecimiento. (6)

Para iniciar la síntesis de ADN, estas enzimas requieren un 3'OH libre proporcionado por un primer preexistente que será elongado por una serie de nucleótidos entrantes. Esta actividad de cebado es llevada a cabo por ARN polimerasas o primasas las cuales sintetizan primers de ARN para continuar por una DNA polimerasa. PrimPol es una enzima perteneciente a la superfamilia de primasas arqueo-eucarióticas, únicas, no solo a su actividad primasa ARN si no también a su actividad ADN primasa. Así PrimPol proporciona un proceso replicativo con una nueva alternativa para iniciar la síntesis de DNA; un DNA primer. Estas propiedades bioquímicas han sido descritas en PrimPol de plásmidos, bacteria, arqueas y humanos. (2)

PrimPol ha sido encontrada tanto en el núcleo como en la mitocondria, con algunas excepciones, PrimPol homologas han sido descubiertas en muchos eucariotas unicelulares y multicelulares, incluyendo plantas, animales, fungí y protistas. (3-4) In vitro, PrimPol posee propiedades de polimerasa de translesión, carece de actividad 3'-5' exonucleasa y exhibe baja fidelidad en la síntesis de ADN, PrimPol hace un error por cada 10^2-10^5 nucleótidos en templados de DNA sin daños. (5). Ambas actividades tanto primasa y polimerasa fueron propuestas para contribuir a la tolerancia en el daño al DNA durante la replicación del mismo.(6) Evidencia irrefutable demostró que la actividad primasa de PrimPol facilita la replicación por cebado más allá de las lesiones en la síntesis de DNA o alguna circunstancia que bloquee la elongación, dejando atrás un hueco no replicativo para ser reparado post-replicativamente.(1,2,7) En concordancia, esos pequeños primers sintetizados por la PrimPol pueden ser elongados por polimerasas replicativas de alta procesividad como pol A3-. (6)

Ensayos in vivo mostraron que la PrimPol es rápidamente enganchada a sitios del DNA dañados inducidos por radiación ultravioleta independiente de la respuesta a checkpoint. (7) Aunque PrimPol humana se engancha a la horquilla estancada esta parece ser mediada por RPA, proponiendo de esta forma que RPA ejerce un efecto inhibitorio de PrimPol para limitar ciertos errores en el ADN (6). Tal paradoja es deducida en este trabajo, estudiando la relación entre estas dos proteínas pertenecientes a *Arabidopsis thaliana*, observando su interacción y ya sea si la actividad de PrimPol es potenciada o disminuida en presencia de SSB1.

MATERIALES Y METODOS

Oligonucleótidos y Nucleótidos. M13 ssDNA fue suplementado por Thermofisher Biolabs. DNA oligonucleótidos fueron sintetizados por Sigma Aldrich. Los dNTP's fueron suplementados por GE. Nucleótidos radio etiquetados [$\gamma^{32}P$] ATP y ATP [$\alpha^{32}P$] 3000Ci/mmol 10mCi/ml, fueron proporcionados por Perkin Elmer. T4 polinucleótido quinasa usada para el etiquetado radioactivo de 5' fosfato fue suplementado por New England Biolabs.

Purificación de PrimPol, SSB1 y A3-. PrimPol, SSB1 y Pol A3- de *A.thaliana* fueron obtenidas por clonación utilizando cDNA e introduciéndolo en el vector pET 19b para sobreexpresarse en la cepa de *E. coli* BL21, purificando con uso de columnas de níquel por afinidad con imidazol y heparina según el Histrap Hp 1 mL-5mL de Amersham Bioscience.

Ensayo polimerasa con M13 ssDNA. Se realizaron 7 reacciones a 15 μ l en las cuales se conto con 2 controles positivos con la adición de las polimerasas Φ y Q5, 3 reacciones negativas e independientes con PrimPol, Pol A3- y SSB1, además de dos reacciones de interés crucial, PrimPol + Pol A3- y PrimPol +Pol A3- + SSB1. PrimPol se

concentró a 500 nM, Pol A3- en 250 nM y SSB1 3 μ M. Las 7 rx se llevaron a cabo con 1-5 μ l de Buffer de reacción 10X conteniendo: 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM NaCl, 100 μ M MnCl, 5 mM MgCl₂, 2.5 % glicerol, 1mM DTT, 0.5-1.67 μ l de M13 DNA 113nM, 0.75 – 2.5 μ l de BSA 10 mg/mL, 1.5- 5 μ l de mix NT. Reacciones PrimPol + Pol A3 y PrimPol +Pol A3- + SSB1 reaccionaron a intervalos de 20, 60 y 80 minutos a 37 °C, el paro de reacción se efectuó con la adición de un buffer de paro conteniendo 95% formamida, 40 mM EDTA, 0.1 % xylen cyanol, 0.1 % bromofenol azul.

Muestras fueron cargadas y analizadas en gel de poliacrilamida al 6% con urea 5 M y 0.6 % agarosa y reveladas en pantalla fosforo imán en personal molecular imager (PMI). **Ensayo polimerasa con M13 ssDNA: NT mix.** Reacción a 20 μ l en concentraciones de ATP 4mM, dNTP's 2 mM, dATP [α -³²P] 83 nM.

Ensayo hibridación para primasa/ polimerasa con primers 180 pb y 20 pb. Reacción en 25 μ l. Oligo 20 pb 4.3 μ M, γ 32P y Polinucleótido quinasa, esto para etiquetado de primer radioactivo. Subsecuentemente se procedió a utilizar el kit de elución nucleotide removal kit de Qiagen para esta muestra. Una segunda reacción fue llevada a cabo en el mismo tubo con 40 μ l de la elución previa del primer de 20 pb [γ 32P], con el objetivo hibridar este segmento a un oligo de 180 pb 18 μ M utilizado como molde por la PrimPol, propiciando la reacción con un buffer de hibridación conteniendo 25 mM Tris pH 7.5, 50 mM de NaCl 1X.

Ensayo polimerasa y primasa: escalera [γ 32P]. Construcción de escalera a 25 μ l a partir de una mezcla de oligos de 20, 60, 80 y 180 pb en una concentración de 172 nM por cada primer, 0.6 μ l de [γ 32P], 0,6 μ l de polinucleótido quinasa y 2.5 μ l de buffer de reacción PNK.

Escalera λ HindIII ensayo polimerasa M13 ssDNA. Se utilizo DNA de lambda 450 ng/ μ l con enzima Hind III, buffer de reacción HindIII, λ se digirió a 37°C por 2 h. Posteriormente se tomo un tiempo de 15 min a 65 °C para detener la reacción de digestión por Hind III y se guardó a -20 °C. **Mix NT.** Reacción para 9 μ l en una concentración de 2 mM dNTPs no marcados radioactivamente, 4mM de ATP, 83 nM P³². Para actividad polimerasa se utilizaron dNTP's en mezcla con ATP sin marcar en una reacción (primer set), para actividad primasa y polimerasa se utilizo lo anteriormente dicho más [α -³²P] ATP para una segunda reacción (segundo set). Una tercera y última reacción se estandarizo utilizando [γ 32P] ATP en adición de ATP Y dNTP's sin marcar, esto para actividad primasa (tercer set).

Ensayos combinados primasa-polimerasa. Un total de 6 reacciones a 15 μ l fueron llevadas a cabo para este apartado asignadas para cada uno de los 3 sets del Mix NT con concentraciones crecientes en cada tubo de SSB1 en 0, 0.5, 1, 2, 8 y 32 μ M en buffer de reacción 1X conteniendo: 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM NaCl, 100 μ M MnCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM, 2.5 % glicerol, 1mM DTT, 10 nM de oligos hibridados de 20 y 180 pb marcados, 0.5 mg/mL de BSA, 1.5 μ l de Mix NT y 500 nM de PrimPol.

Se hizo uso de un buffer de paro para la reacción de polimerización conteniendo; 95% formamida, 40 mM EDTA, 0.1 %, xylen cyanol, 0.1 % bromofenol azul. Muestras fueron cargadas y analizadas en gel de poliacrilamida al 10 % con urea 5 M y reveladas en pantalla fosforo imán.

RESULTADOS Y DISCUSION

SSB1 potencia la actividad polimerasa en fragmentos largos de ADN monocatenario, este efecto se evaluó en el ensayo con M13 ssDNA por el uso de PrimPol en conjunto con la Pol A3- sugiriendo que ambas proteínas participan conjuntamente en la replicación del ADN. En dicho ensayo se analizo y interpreto que cuando PrimPol y SSB1 interactúan mutuamente la cantidad de producto elongado es menor al que se obtiene con el agregado de Pol A3-, mostrando que la mayor cantidad de producto se da al aumentar el tiempo de reacción en 80 minutos, tal como se ilustra en la figura 1 a y 1 b.

El esquema de la figura 1 c muestra el enlazamiento de SSB1 al ssDNA de M13 y la participación de PrimPol como primasa aumenta la replicación cuando Pol A3- participa en la reacción.

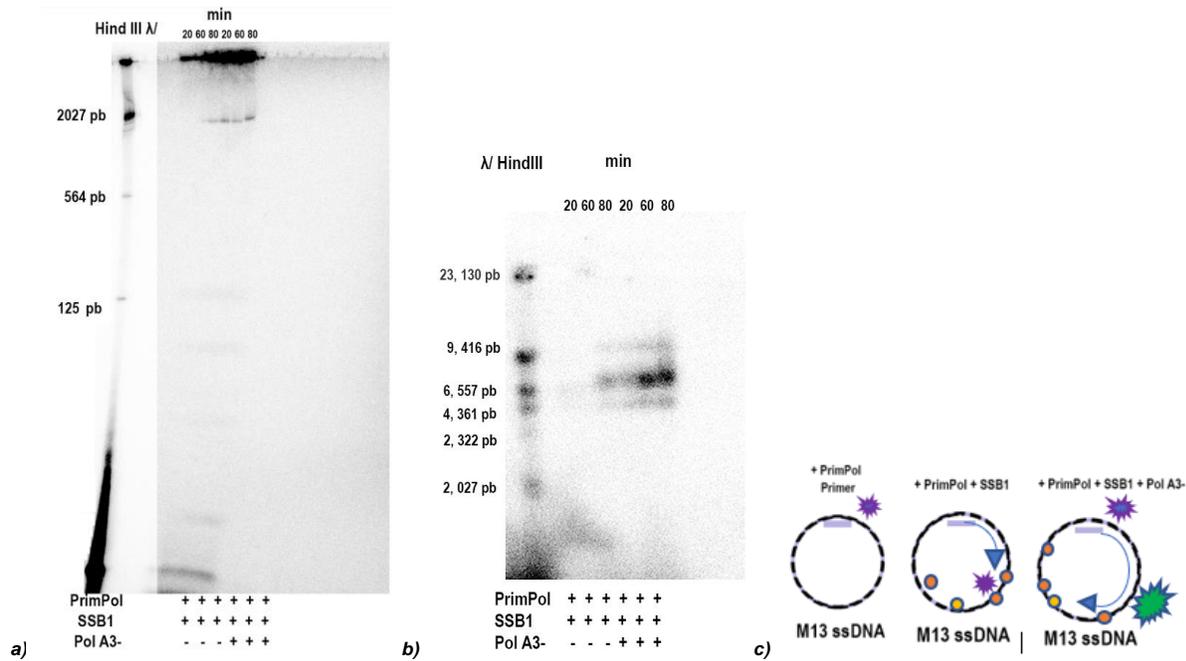


Figura 1. Modulación de la actividad polimerasa de PrimPol por *ssb1*. a) Efecto de *ssb1* sobre PrimPol y Pol A3- en el circular ssDNA de M13, PrimPol (500nM), *ssb1* (3 μ M) y Pol A3-, adicionado en últimas 3 reacciones (250 nM) fueron incubados a 20, 60 y 80 minutos con 100 μ M MnCl₂, 5 mM MgCl₂, como metales cofactores junto al M13 ssDNA (113nM) como templado, ATP 4mM y dNTP's 2 mM. Se muestran los fragmentos de menor peso molecular para gel de poliacrilamida 6 % . b) Ensayo utilizando mismas concentraciones y metodología que en el inciso a) a excepción de la corrida en gel de agarosa a 0.6 % para fragmentos de mayor tamaño. c) Esquemización de la actividad polimerasa de PrimPol, la cual coloca un primer acorde a su actividad primasa cuyo propósito es ser elongado por la misma. Nótese que en presencia de PrimPol y ausencia de *ssb1* no existe replicación o es notoriamente improductiva. Cuando Pol A3- es agregada junto a PrimPol y el ssDNA es cubierto por *ssb1* la replicación se ve claramente potenciada.

PrimPol es una enzima cuya actividad ADN-ARN primasa es una de sus características más interesantes. El efecto de SSB1 en la actividad primasa de PrimPol en *A. thaliana* fue evaluada por el uso de la hibridación de oligos de 20 y 180 pb (véase figura 2 b), siendo el ultimo un templado cuya secuencia contenía el triplete GTC requerido por PrimPol para su actividad primasa. Este trinucleótido es reconocido en la posición individual de citosina actuando como una base críptica para la posterior adición del etiquetado [γ^{32} P] ATP en el nucleótido intermediario; timina, continuando la replicación en dirección 5'-3'.

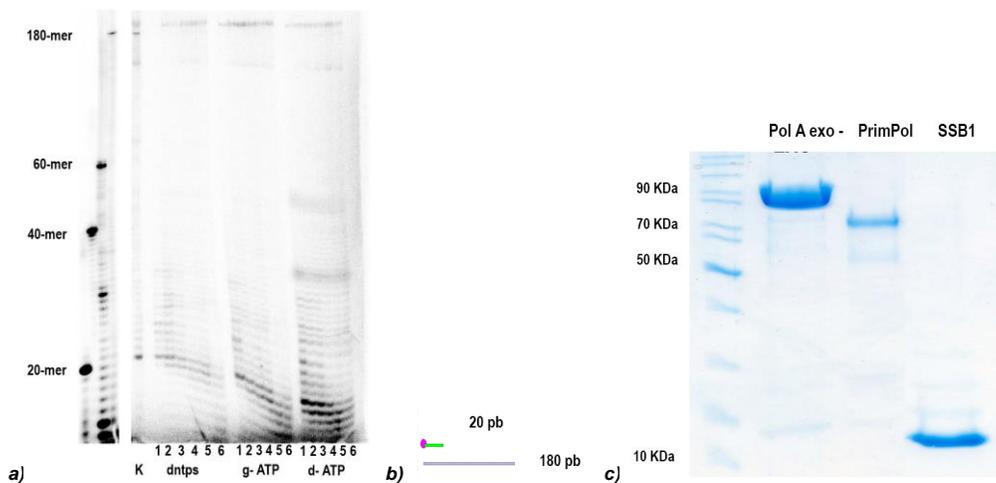


Figura 2. Modulación de la actividad primasa y polimerasa por PrimPol. a) La reacciones primasa-polimerasa fue llevada a cabo en un buffer de reacción conteniendo: 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 50 mM NaCl, 100 μ M MnCl₂, 5 mM MgCl₂, como metales cofactores, 10 nM de oligos hibridados de 20 y 180 pb marcados radioactivamente, 500 nM de PrimPol, SSB1 en concentraciones de 0.5, 1, 2, 8 y 32 μ M contando con un control de PrimPol sin agregado de *ssb1*. Para construcción de escalera se utilizaron oligos de 20, 40, 60 y 80 etiquetados con [γ^{32} P] ATP. De

izquierda a derecha, klenow de *e. coli* fue usada como control, enseguida se ensayaron actividad polimerasa, primasa y primasa-polimerasa mediante el uso de un mix conteniendo dntps no marcados, [γ - 32 P] ATP y [α - 32 P] dATP respectivamente para cada set de reacciones. Muestras se corrieron en gel de poliacrilamida al 10 % con 5 M de urea. b) Oligos hibridados de 20 y 180 pb marcados con [γ - 32 P] utilizados como templado para cada set de reacciones. c) Gel de poliacrilamida al 12 % en el que se visualizan los 3 complejos proteínicos utilizados en el ensayo.

Haciendo hincapié en la figura 2 a, cuando se aumenta la concentración de SSB1 hasta 32 μ M la replicación con PrimPol se ve potenciada, disminuyendo productos de oligos pequeños encontrados en los sets que no contaban con la incorporación de SSB1, los cuales incrementan en tamaño debido a la actividad polimerasa de PrimPol conforme SSB1 aumenta. En contraste con los resultados obtenidos en el gel de poliacrilamida al 10 %, se aprecia el efecto de PrimPol hacia su actividad primasa sobre g-ATP Y a-dATP, existiendo predisposición de esta por ATP o ribonucleótidos trifosfato para la síntesis del primer.

En comparativa al trabajo realizado por Maria I. Martinez y colaboradores en 2017 (6), en el que se estudio la actividad de PrimPol en humanos, RPA manifesto accion inhibitoria sobre templados con longitud de 65-mer cuya concentracion inhibitoria en la replicacion fue de 200 nM (0.2 μ M) utilizandose 200 nM de primPol, este efecto adverso fue unicamente observado en concentraciones equimolares de las mismas, sugiriendo que en fragmentos de ssDNA de tal longitud PrimPol y RPA posen capacidades de enlazamiento parecidas.

En nuestro ensayo se probaron variadas concentraciones de SSB1 junto a 500 nM de PrimPol, coincidiendo las concentraciones tanto de SSB1 y PrimPol en 500nM (0.5 μ M), en estas reacciones equimolares de cualquier set se logro elongar mas cantidad de DNA de mayor longitud a comparacion del ensayo de PrimPol con RPA en humanos. Observandose que dichas concentraciones equimolares son mas susceptibles en humanos que en plantas. Colectivamente, estos y nuevos ensayos podrian proporcionar la existencia de un complejo funcional entre PrimPol y SSB1 que permita el cebado de regiones de ssDNA formadas en la hebra adelantada sobre el estancamiento de la replicacion en plantas.

CONCLUSION

PrimPol es una polimerasa que encuentra la oportunidad a enlazarse en sitios proximos al estancamiento en la replicación, probablemente por una interacción con SSB1 que refuerza su afinidad al ssDNA, sintetizando un nuevo primer para reiniciar la síntesis de la hebra adelantada. La estimulación de las actividades de PrimPol mediadas por SSB1 mostradas en este trabajo exhiben que largos templados de ssDNA sugieren este modelo y resuelven la aparente paradoja de si SSB1 es inductor de la actividad primasa y polimerasa de PrimPol en *A. thaliana*. En relevancia, este trabajo demuestra que el cebado de PrimPol regulado por SSB1 despeja y facilita la replicación en sinergia a Pol A3.

BIBLIOGRAFIA

1. Elizaveta O. Boldinova, Paulina H. Wanrooij, Evgeniy S. Shilkin, Sjoerd Wanrooij, and Alena V. Makarova: DNA Damage Tolerance by Eukaryotic DNA Polymerase and Primase PrimPol. *Int J Mol Sci.* 2017 Jul; 18(7): 1584.
2. García-Gómez S., Reyes A., Martínez-Jiménez M.I., Chocrón E.S., Mourón S., Terrados G., Powell C., Salido E., Méndez J., Holt I.J., et al. PrimPol, an archaic primase/polymerase operating in human cells. *Mol. Cell.* 2013;52: 541–553.
3. Wan L., Lou J., Xia Y., Su B., Liu T., Cui J., Sun Y., Lou H., Huang J. hPrimpol1/CCDC111 is a human DNA primase-polymerase required for the maintenance of genome integrity. *EMBO Rep.* 2013;14: 1104–1112.
4. Rudd S.G., Glover L., Jozwiakowski S.K., Horn D., Doherty A.J. PPL2 translesion polymerase is essential for the completion of chromosomal DNA replication in the African trypanosome. *Mol. Cell.* 2013;52: 554–565.
5. Zafar M.K., Ketkar A., Lodeiro M.F., Cameron C.E., Eoff R.L. Kinetic analysis of human PrimPol DNA polymerase activity reveals a generally error-prone enzyme capable of accurately bypassing 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine. *Biochemistry.* 2014; 53: 6584–6594.
6. Maria I. Martinez- Jimenez, Antonio Lahera y Luis Blanco. Human PrimPol activity is enhanced by RPA. *Scientific Reports.* 2017: 1-2.

7. Laura J. Bailey and Aidan J. Doherty. Mitochondrial DNA replication: A Prim Pol perspective. *Biochemical Society Transactions* (2017) 45: 513–529.

REGULADOR DE TEMPERATURA PARA MANTO CALEFACTOR CON USO DEL TRIAC

José Alonso Bravo Hernández¹ y José Francisco Louvier Hernández²

RESUMEN

En este trabajo se presentará el método de la elaboración de un control para regular la temperatura de un manto calefactor para matraces de vidrio que es utilizado para realizar los materiales bio-cerámicos, mediante la utilización de un circuito electrónico siendo nuestro componente principal el TRIAC. Este circuito se diseñará en el software PROTEUS para poder hacerlo en una placa PCB donde se podrá manejar la temperatura con un potenciómetro, esto finalmente se colocará en una caja de madera con base de acrílico para que no haya ningún tipo de conducción eléctrica.

ABSTRACT

This paper presents the method for develop a control system to regulate the temperature of a heating mantle using an electronic circuit, being our principal component a TRIAC. This circuit is going to be designed in the software PROTEUS to be able to make a PCB, which is able to handle the temperature with a potentiometer. This will be finally housed in a wooden box with an acrylic base to avoid electrical conduction.

Palabras clave: TRIAC, potenciómetro, PCB y PROTEUS.

INTRODUCCIÓN

El TRIAC es un componente electrónico que recorta la señal de voltaje en corriente alterna dependiendo al circuito que es sometido. Aquí se elaborará un regulador de corriente alterna que varíe dependiendo de una resistencia variable y se puede regular la tensión de 110V, la toma doméstica, desde un valor prácticamente de cero hasta el máximo y así, la carga que le conectemos funcionará a más o menos potencia.

MARCO TEÓRICO

Para entender de una mejor manera nuestro circuito definiremos nuestros componentes más complejos siendo estos el DIAC y el TRIAC.

DIAC

El diac es básicamente una combinación inversa en paralelo de dos terminales de capas semiconductoras que permite la activación o disparo en cualquier dirección. Las características del dispositivo demuestran con claridad que hay un voltaje de conducción en cualquiera de las dos direcciones como se muestra en la Figura 1. Se puede aprovechar al máximo la condición de encendido en cualquiera de las dos direcciones en aplicaciones de CA.

¹ Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Mecatrónica, Antonio García Cubas No. 600 pte, Alfredo V. Bonfil, C.P: 38010, Celaya, Gto., 15030804@itcelaya.edu.mx

² Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Química, Antonio García Cubas No. 600 pte, Alfredo V. Bonfil, C.P: 38010, Celaya, Gto., francisco.louvier@itcelaya.edu.mx

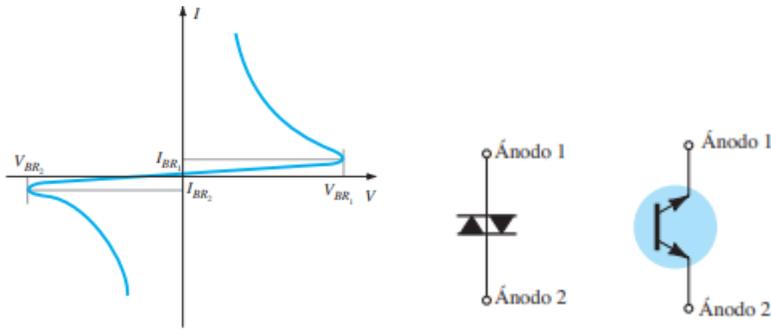


Figura 1. Curva característica y simbología del DIAC

TRIAC

El TRIAC es fundamentalmente un DIAC con una terminal de compuerta para controlar las condiciones de encendido del dispositivo bilateral en cualquiera de las dos direcciones. En otras palabras, para cualquier dirección la corriente de compuerta puede controlar la acción del dispositivo. Sin embargo, las características del TRIAC en el primero y tercer cuadrantes son algo diferentes de las del diac, como se muestra en la Figura 2. Observe que la corriente de mantenimiento en cada dirección no aparece en las características del DIAC.

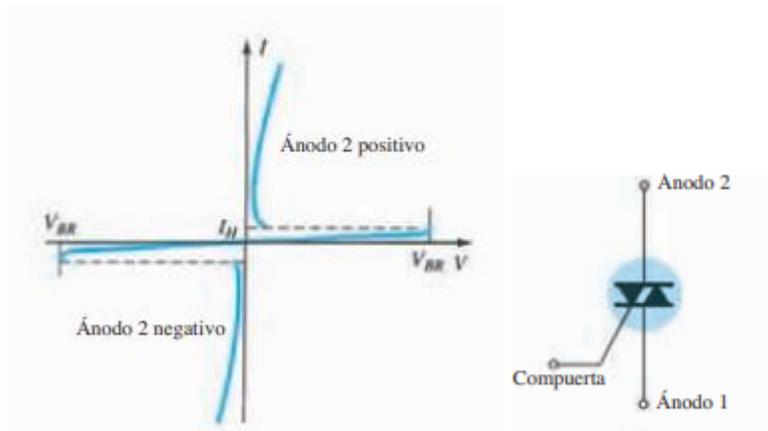


Figura 2. Curva característica y símbolo del TRIAC

METODOLOGÍA

Para la elaboración de este dispositivo se requirieron los siguientes componentes:

Una clavija, un conector, un interruptor de corriente alterna, una placa fenólica de 10 X 5 cm, cloruro férrico, resistencias de 3.3 k, 8.2 k y 47 ohms, un DIAC, un TRIAC a 10 amperes, 3 capacitores de 100 nF, un potenciómetro de 220 k, ventilador de 5 volts, tornillos y cable para corriente alterna.

Para la elaboración del circuito primero se hizo un diseño en el software de Proteus como se muestra en la Figura 3.

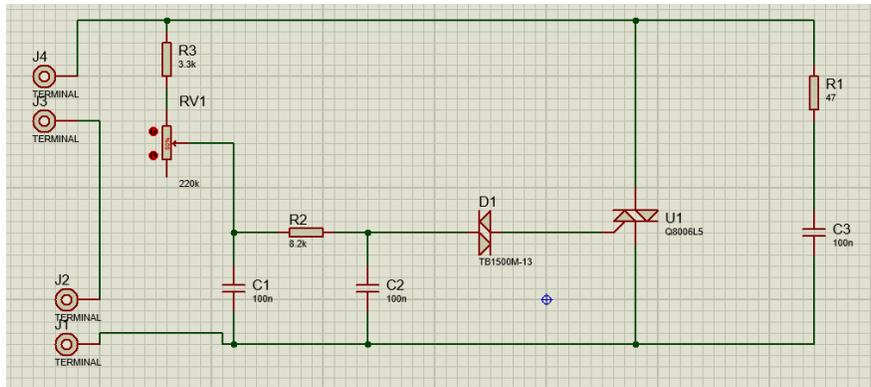


Figura 3. Circuito para regulador

En este circuito podemos apreciar que hay cuatro terminales donde la J1 y J2 representan las terminales de la corriente alterna y las entradas de J3 y J4 son la salida regulada que va dependiendo del valor del potenciómetro y vemos que hay un arreglo RC con R1 y C3 que es una protección para nuestro circuito cuando haya algún tipo de corriente que regrese ahí.

Pasando este circuito se diseña en la extensión PCB Layout de PROTEUS el circuito impreso para nuestra tabla fenólica que se hará de la siguiente manera como se muestra en la Figura 4.

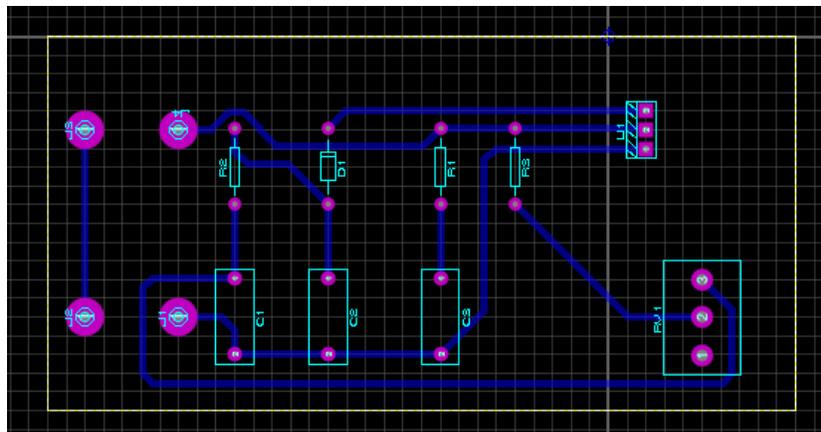


Figura 4. Circuito para placa fenólica

Lo que se realiza aquí es tomar los componentes anteriores y acomodarlos de la mejor manera para que se pueda manejar y utilizar nuestro circuito con las medidas de nuestra placa de 10 X 5 cm.

Lo que se imprime de este circuito es un documento PDF como el siguiente de la Figura 5.

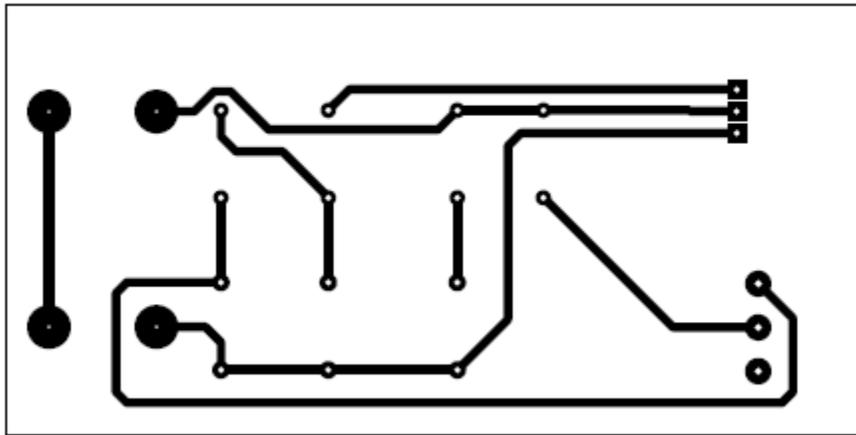


Figura 5. Circuito impreso para control de voltaje.

Este a continuación se plancha sobre nuestra placa fenólica en la parte recubierta de cobre, se pone en cloruro férrico para que elimine el cobre que no se usa y sólo queden las pistas que quedaron marcadas al planchar nuestra PCB y finalmente se limpian las pistas con alcohol.

Después de esto se hacen las perforaciones de la placa soldando cada uno de los componentes en sus respectivos lugares. Para la entrada de la corriente doméstica y la salida regulada se usaron los tornillos donde se fijaba el cable con su tuerca y en el TRIAC se utilizó un disipador de calor ya que este al estar sometido a toda la corriente se calienta considerablemente.

Este circuito ya soldado se coló en una placa de acrílico para evitar que se tocara la parte de las conexiones ya que la corriente doméstica es peligrosa, también se recubrió todo este con una caja de madera añadiéndole un ventilador al TRIAC para su enfriamiento y un switch para que pudiera apagarse y encenderse el dispositivo.

Finalmente, a los cables de entrada y salida se le añadieron un conector y una clavija para poder utilizarlo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al tener ya nuestro circuito acondicionado este se probó en un foco de 60 watts. Al variar la resistencia mediante el control, el foco aumentaba o disminuía su intensidad de luz, con lo cual quedó probado que funciona correctamente. Al conectarlo al manto calefactor este igual funcionaba sin embargo nuestro TRIAC se calentaba un poco más, pero funcionaba bien con la ayuda del ventilador y el disipador. Un inconveniente que tiene nuestro arreglo es que este tarda más en subir o bajar la temperatura y que a más demanda de potencia es requerida nuestros elementos se calientan más, pero es funcional, el resultado físico se puede apreciar en las Figuras 6 y 7.

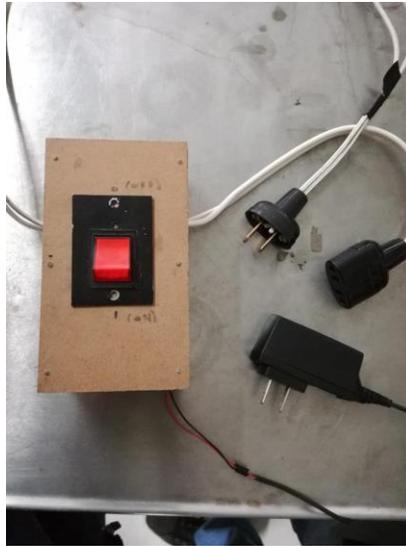


Figura 6. Control físico (a).

CONCLUSIONES

Este circuito se elaboró debido a que se requería una temperatura fija en nuestro manto, pero no se podía regular, está siempre estaba subiendo. Con la implementación de nuestro circuito, la temperatura puede ser controlada ya que la potencia que da nuestro manto está en función de una resistencia variable junto con un potenciómetro. El usuario puede ir variando la resistencia de acuerdo a la temperatura que se requiera.

BIBLIOGRAFÍA

Libros

Boylestad, R. L., & Nashelsky, L. (2010). *Electrónica: Teoría de Circuitos y Dispositivos Electrónicos*. Ciudad de México: Prentice Hall.

Mohan, N., Undeland, T. M., & Robbins, W. P. (2009). *Electrónica de Potencia: Convertidores, aplicaciones y diseño*. Ciudad de México: Mc Graw Hill.

*Vs30
Asesor*

Firma del asesor

DESALINIZACIÓN DE AGUA MEDIANTE ELECTRODEIONIZACIÓN

José Guadalupe Castañeda Castillo ¹ y Lucía Guadalupe Alvarado Montalvo ²

RESUMEN

La electrodeionización es un proceso de separación híbrido que combina la tecnología de electrodiálisis (ED) y el intercambio iónico (IX) para lograr la separación de especies iónicas acuosas. En el presente trabajo se implementó esta tecnología con el objetivo de evaluar su efectividad en la remoción de NaCl de soluciones sintéticas; donde en una solución con una alta concentración (35 g L^{-1} de NaCl), correspondiente a salinidad del agua de mar, se logró una remoción del 39.14 % en un tiempo de 4 horas, mientras que a baja concentración (100 mg L^{-1} de NaCl), se logró remover hasta un 99.48 % de la sal durante el mismo periodo de tiempo.

ABSTRACT

Electrodeionization is a hybrid separation process that combines electro dialysis (ED) and ion exchange (IX) technologies to achieve the separation of aqueous ionic species. In this study, EDI technology was implemented to evaluate its effectiveness during NaCl removal; where a high concentration solution (35 g L^{-1} of NaCl), which is corresponding to seawater salinity, reach a removal of 39.14% in a time of 4 hours, meanwhile a low concentration solution use (100 mg L^{-1} of NaCl) promotes a achieve of 99.48% of saline removal during the same time interval.

Palabras Clave: Desalinización, Electrodiálisis, Electrodeionización, Intercambio iónico, Conductividad.

INTRODUCCIÓN

La escasez de agua es uno de los desafíos globales más serios de nuestro tiempo. En la actualidad, más de un tercio de la población mundial vive en países con escasez de agua y se prevé que para 2025 esta cifra aumente a casi dos tercios, prediciendo que se necesitará una mayor cantidad de agua dulce en el futuro. Aproximadamente el 97.4 % del agua disponible en la tierra es agua de mar, la cual contiene una salinidad promedio de 35 g L^{-1} , otro 2% se encuentra en casquetes polares y el agua dulce disponible representa menos del 0.5 % de la provisión total de agua en el planeta¹⁻³.

En este sentido, los únicos métodos para incrementar el suministro de agua más allá de lo que está disponible en el ciclo hidrológico son la reutilización del agua y la desalinización, siendo esta última, una opción que ha llamado mucho la atención, al plantear la eliminación de la sal de un abastecimiento casi ilimitado, como es el agua de mar; método que hoy en día es utilizado en diversos países para satisfacer sus necesidades de agua dulce, así como también la desalinización de aguas subterráneas salobres (salinidad de $1-10 \text{ g L}^{-1}$), la cual ha sido una opción para aumentar el suministro de agua en ciertas regiones^{1, 3}. Estas demandas de agua tanto en la industria como en los mercados de consumo han llevado al desarrollo de plantas desalinizadoras de agua en todo el mundo. Las primeras plantas a gran escala se basaban en la desalinización térmica, donde el agua de mar es calentada y posteriormente evaporada y condensaba para obtener agua dulce. Estas plantas siguen funcionando en algunos países, pero consumen grandes cantidades de energía térmica y eléctrica, lo que resulta en una considerable emisión de gases de efecto invernadero e implicación de costos elevados^{1,4}, mientras que, por otro lado, tecnologías existentes, como la ósmosis inversa (OI) y la electrodiálisis (ED) han sido también utilizadas para la desalinización de agua de mar, con las ventajas de un menor costo de operación y diseño modular.

De esta manera, partiendo de tecnologías como la de electrodiálisis, nace la electrodeionización, un proceso de separación híbrido que consiste en un módulo de electrodiálisis (ED) y utilización de resinas de intercambio iónico

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas; Blvd. Venustiano Carranza e Ing. José Cárdenas Valdés, Colonia Republica, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, josecastaneda@uadec.edu.mx

²Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato. Departamento de Ingeniería en Minas, Metalurgia y Geología, División de Ingenierías, Sede San Matías, Ex. Hacienda San Matías s/n Frac. San Javier C.P. 36020, Guanajuato, Guanajuato lucia.alvarado@ugtomx.onmicrosoft.com

(IX), obteniendo un sistema capaz de separar especies ionizables de líquidos utilizando medios eléctricamente activos y una diferencia de potencial eléctrico, facilitando así la velocidad de transporte de iones y el alcance de mayores porcentajes de remoción iónica^{5,6}.

La configuración de una celda de electrodeionización consta de membranas de intercambio aniónico y catiónico colocadas de manera alternada entre ánodo y cátodo, dando lugar a compartimientos de concentrado y diluido, al igual que en el sistema de electrodiálisis (ED). Posiblemente la principal razón del éxito comercial de EDI se deba a que es un proceso verde, ya que emplea una pequeña cantidad de electricidad en lugar de los productos químicos peligrosos usados comúnmente para regenerar las resinas de intercambio iónico y además elimina las corrientes de residuos asociados a la regeneración de las resinas. Los ejemplos presentados de aplicaciones han demostrado que el proceso EDI es muy eficiente en protección ambiental, producción de agua ultra pura y para la recuperación de algunas especies valiosas; cabe resaltar que las especies débilmente ionizadas, como el dióxido de carbono y el boro son difíciles de eliminar a través de procesos de membrana tales como la ósmosis inversa y la inversión en electrodiálisis (EDR) en cambio EDI ofrece el beneficio de la eliminación continua de estas especies en muy alto grado^{4,7}.

Lopez et al., 2017 describió que el proceso EDI convencional es eficiente para la eliminación de contaminantes iónicos del agua, con consumos de energía de 0.9 a 1.5 kWh m⁻³ de agua recuperada. Procesos de ED y EDI han demostrado ser opciones viables para la desalinización de agua salobre, siempre y cuando las salinidades de alimentación sean menores a 9000 ppm, llegando a obtener valores de conductividad iónica <300 µS/cm lo que se traduce en un contenido de TDS <500 ppm, valor recomendado para agua potable⁴. Zheng et al., 2018 evaluaron el rendimiento de la Electrodeionización de obleas de resina bajo diferentes voltajes y velocidades de flujo de alimentación, partiendo de una concentración de sal de 3 g L⁻¹ y reportaron una eficiencia de eliminación de sal del 94% con esta tecnología⁶. Comparado con la electrodiálisis y el intercambio iónico, respectivamente, EDI ha tenido resultados superiores en la desalinización del agua⁸.

En base a lo anterior el objetivo del presente trabajo es evaluar la eficiencia de los métodos ED y EDI para la desalinización de agua a distintas concentraciones de NaCl (35 g L⁻¹ y 100 mg L⁻¹) comparando el rendimiento de ambas técnicas mediante una cinética de remoción de sal basada en medidas de conductividad.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se utilizó una celda de electrodiálisis para la desalinización de las soluciones, fue construida con placas de acrílico a escala laboratorio, Figura 1, contando con un área efectiva de 40 cm², dos compartimentos electródicos, un canal de diluido y uno de concentrado, con un espaciado entre sí de 6 mm, las membranas utilizados fueron CM-1 y AFN del proveedor Membranes International Inc. El cátodo utilizado fue acero inoxidable y el ánodo DSA (Ti con una cubierta de IrO₂/Ta₂O₅). La configuración de la celda se representa en la Figura 2.



Figura 1. Celda de electrodiálisis escala laboratorio

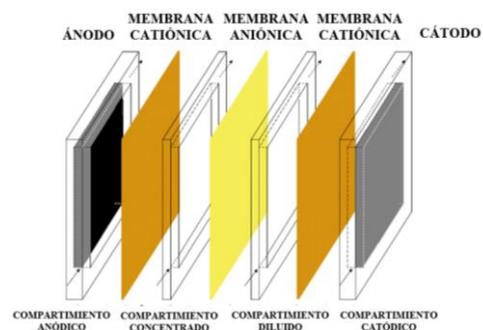


Figura 2. Arreglo de celda de electrodiálisis⁹

Las membranas se pretrataron sumergiéndolas en una solución de NaCl al 1% m/v una hora antes de la prueba. Las soluciones empleadas fueron: NaCl 35 g L⁻¹ y 100 mg L⁻¹ como soluciones de trabajo, así como 0.1 M Na₂SO₄ para el compartimento electródico, todos los reactivos fueron grado analítico. Las resinas utilizadas en electrodeionización fueron: resina catiónica Dowex Mac-3 y resina aniónica IRA-900 las cuales fueron tratadas en

soluciones de HCl 0.1 N y KOH 0.1 N, respectivamente, lavadas con agua destilada y posteriormente filtradas y secadas a 60 °C. Se utilizaron vasos de precipitados de 500 ml como reservorios en el sistema, una bomba peristáltica Cole-Palmer 6-600 rpm, modelo 7553-20 manguera L/S 14 Máster Flex, un fuente de poder GW Instek, un multímetro digital GW modelo GPD-33038 y 1 conductímetro digital marca OAKTON modelo PCTS 50.

Cálculo de I_{lim} : Utilizando la celda de electrodiálisis se corrió la prueba para dos concentraciones: 35 g L⁻¹ y 100 mg L⁻¹ de NaCl. El volumen de concentrado y diluido fue de 250 mL, como solución electrolítica se usaron 250 mL 0.1 M de Na₂SO₄. Las soluciones se recircularon a un caudal de 20 mL min⁻¹ por cada uno de los compartimentos y fue aplicada una voltametría lineal con una velocidad de barrido de (200 mV min⁻¹) de 1 a 9 Volts, durante un tiempo de 40 minutos.

Electrodiálisis: Se estudio la separación de las especies Na⁺ y Cl⁻ en las soluciones de trabajo con una velocidad de flujo de 20 mL min⁻¹, a un valor constante del 70% de I_{lim} calculada para cada caso. Se registraron lecturas de potencial (V), pH de diluido y concentrado, así como la conductividad (mS o μ S) en cada prueba, estas mediciones se registraron en un intervalo de tiempo de 0 a 240 minutos.

Electrodeionización: Esta prueba se realizó exactamente igual que en electrodiálisis con la excepción de que se relleno el compartimiento diluido de la celda con 6 g de resina aniónica y 6 g de resina catiónica mezcladas.

RESULTADOS

Corriente límite. Para la solución tratada de 35 g L⁻¹ de NaCl se puede apreciar, Figura 3, que, al aumentar el potencial, la corriente incrementa, siendo constante su comportamiento entre un intervalo de 2.5 a 6 V, para luego, más allá de los 6 V notar un cambio en la pendiente de la curva, lo que significa un cambio en la velocidad en la que los iones son transportados. Este cambio de velocidad se traduce en dos fenómenos: el primero es que la velocidad con la cual los iones llegan a la superficie de las membranas es más baja en comparación con la que experimentan al cruzarla y el segundo es el agotamiento de los iones en la solución; esto provoca una descompensación en las velocidades del sistema, lo que produce que una parte de la energía circulante sea utilizada de manera ineficiente, ya que comienza a utilizarse en la descomposición del agua, generando iones H⁺ y OH⁻. Encontrándose que el punto de inflexión, es decir, I_{lim} es 0.347 A con una U_{lim} de 6 volts. Para el caso de la solución de 100 mg L⁻¹, Figura 4, el punto de inflexión se encontró en 6 mA.

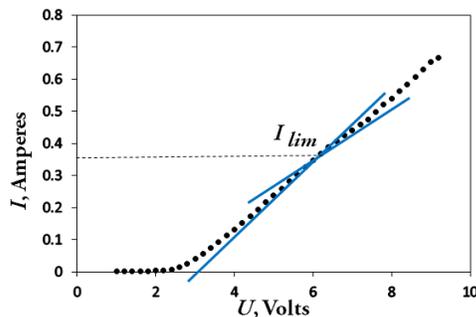


Figura 3. I_{lim} , 35 g L⁻¹ NaCl

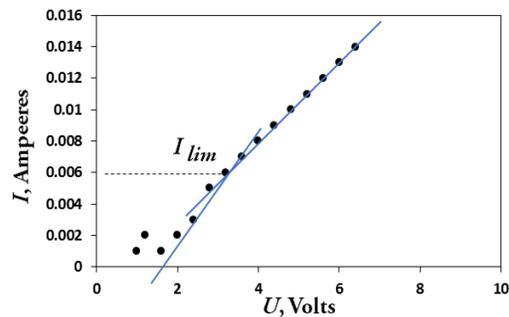


Figura 4.- I_{lim} , 100 mg L⁻¹ NaCl

Electrodiálisis y Electrodeionización en solución NaCl 35 g L⁻¹. El proceso de electrodiálisis necesita de un campo eléctrico que permita el movimiento de los iones de un compartimento a otro, para ello, la determinación de la corriente límite permite conocer el punto máximo para operar el sistema de manera eficiente, y es recomendable trabajar a una fracción de ésta, en este caso se empleó un 70 % respecto a dicho valor, es decir 243 mA de manera constante. Los cambios en las concentraciones de diluido y concentrado del proceso de muestran en la Figura 5, donde puede ser observado un comportamiento lineal, en el cual se alcanza una concentración de 28.16 g L⁻¹ de NaCl en el compartimento diluido transcurridas 4 horas, representando una remoción de alrededor de un 22% de concentración en el efluente diluido, mientras que el concentrado alcanzó un valor de 45.5 g L⁻¹.

Para evaluar el efecto de la resina de intercambio iónico en el proceso, se implementó EDI, corriendo las pruebas a las mismas condiciones de corriente que el proceso de ED; de esta forma se pudo comparar la eficiencia de ambos

métodos para la desalinización de agua. La inclusión de resina dentro del compartimiento diluido permitió evitar el fenómeno de polarización por concentración e hizo más eficiente el proceso. Los resultados de la prueba se presentan en la Figura 6, donde se observa un comportamiento lineal y que a partir de una solución de NaCl de 35 g L^{-1} se llega a una concentración de 21.69 g L^{-1} de NaCl en el compartimiento diluido después de 4 horas de haber iniciado la prueba, esto se refleja en un 39.14 % de remoción de NaCl, es decir un 11% más respecto al proceso ED. En cuanto al gasto de energía, éstos se encontraron altos, para ED de 24.3 kWhm^{-3} , mientras que para EDI de 25.0 kWhm^{-3} .

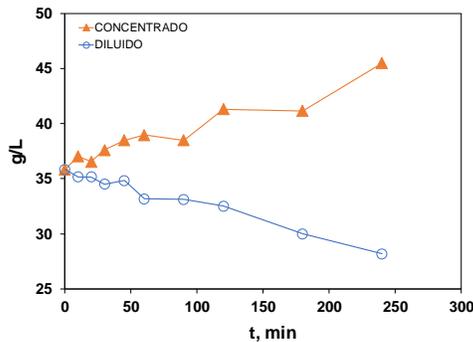


Figura 5. Cinética ED, 35 g L^{-1} NaCl

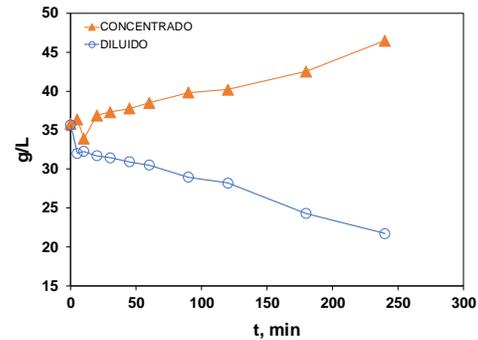


Figura 6. Cinética EDI, 35 g L^{-1} NaCl

Electrodiálisis y Electrodeionización en solución de NaCl 100 mg L^{-1} . Los procesos de ED y EDI, fueron llevados a cabo a 4.2 mA (70% de I_{lim}). En la Figura 7 se describe el proceso de electrodiálisis donde se observan los cambios concentración de NaCl, partiendo de 100 mg L^{-1} en el tiempo cero y llegando hasta 72.4 , 43.5 , 21.7 y 15.95 mg L^{-1} correspondientes a las lecturas llevadas a cabo cada hora. Al término de 240 minutos se alcanzó un valor final de conductividad de $47.1 \mu\text{S}$ en el compartimiento diluido y $612 \mu\text{S}$ en el concentrado, y la concentración del diluido de 15.95 mg L^{-1} correspondiente a 84.0% de remoción de la sal con un consumo de energía de 0.36 kWhm^{-3} .

Por otro lado, para el proceso de EDI la concentración disminuyó de 100 mg L^{-1} a 0.513 mg L^{-1} correspondiente a un 99.48 % de desalinización en el mismo tiempo; disminuyendo en la primera hora, de 100 mg L^{-1} a 73.3 mg L^{-1} , 41.5 mg L^{-1} en la segunda, 10.86 mg L^{-1} en la tercera y finalmente llegando hasta 0.513 mg L^{-1} trascurridas 4 horas, con un valor final de conductividad de $11 \mu\text{S}$ en el compartimiento diluido y un consumo de energía de 0.25 kWhm^{-3} . Por otro lado, en el compartimiento concentrado se alcanzó una concentración de 249.45 mg L^{-1} con una conductividad de $593 \mu\text{S}$. Con lo anterior, se muestra una excelente eficiencia del proceso de electrodeionización frente a la electrodiálisis en la desalinización a bajas concentraciones, es decir, del orden de ppm, pues para concentraciones altas, como el caso anterior no hay una evidencia clara de una ventaja del proceso EDI por sobre ED a nivel de remoción ni consumo de energía.

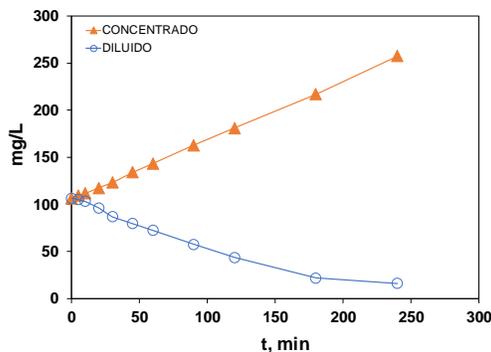


Figura 7. Cinética ED, 100 mg L^{-1} NaCl

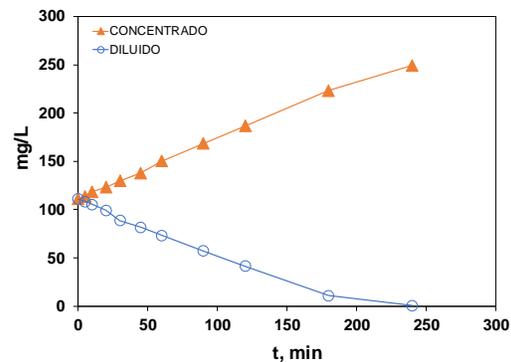


Figura 8. Cinética EDI, 100 mg L^{-1} NaCl

Con lo anterior, electrodiálisis y electrodeionización demuestran su viabilidad como alternativas a los sistemas de membrana accionados con presión para la desalinización de agua para concentraciones bajas. Es importante tomar en

cuenta que tanto ED como EDI permiten una producción de agua con una tecnología en la cual no hay productos de desecho, lo que las convierte en opciones atractivas para su aplicación en el campo de la separación iónica.

CONCLUSIONES

En base a los resultados se puede concluir que el proceso de electrodeionización resulto más eficiente frente al método de electrodiálisis, ya que se obtuvieron valores de remoción de sal superiores (39.14 % y 99.48 %) correspondientes a las dos concentraciones evaluadas (35g L⁻¹ y 100 mg L⁻¹ de NaCl). Sin embargo, para la desalinización de agua de mar se recomendaría realizar un estudio con tiempos más largos de operación para observar la remoción de sal hasta concentraciones mínimas como para considerarse agua dulce, tomando en cuenta que el gasto energético sería superior, además del tiempo que conllevaría la remoción total. Otra posibilidad es acoplar esta tecnología a otro método que permita disminuir las altas concentraciones de manera más rápida y trabajar EDI como tecnología fina al final del proceso. En el caso de concentraciones salinas bajas (alrededor de 100 mg L⁻¹) EDI permitió la eliminación de especies iónicas en gran porcentaje, lo cual se ve reflejado en una disminución de la conductividad final de la solución llegando a valores de 11 µS y concentración de 0.51 mg L⁻¹, valores aceptables para agua dulce con un ahorro de energía del 10% frente a ED.

Tomando en cuenta todo esto, EDI representa una opción viable para la remoción de especies iónicas de distintas soluciones y una posibilidad de desarrollo para el futuro sería trabajar en diseños modulares que permitan una eficiencia más alta, así como mejorar las condiciones de trabajo para optimizar aún más el proceso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al técnico académico Juan Carlos Martínez Barrón por el apoyo brindado en actividades relacionadas al proyecto y al Departamento de Ingeniería en Minas, Metalurgia y Geología de la Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, por el uso de sus laboratorios para la ejecución del mismo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] ELIMELECH, M.; PHILLIP, W. (2011) "The Future of Seawater Desalination: Energy, Technology, and the Environment" in *Science*, Vol. 333 August 2011, [pp. 712-717]
- [2] HILAL, N.; AL-ZOUBI, H.; MOHAMMAD, W.; DARWISH, N.A. (2005) "Nanofiltration of highly concentrated salt solutions up to seawater salinity" in *Desalination*, Núm. 184, [pp. 315-326]
- [3] KHAWAJI, A.; KUTUBKHANAH, K.; WIE, J. (2008) "Advances in seawater desalination technologies" in *Desalination*, Núm. 221, [pp. 47-69]
- [4] LOPEZ, A.; WILLIAMS, M.; PAIVA, M.; DEMYDOV, D.; DUCDO, T.; FAIREY, J.; LIN, Y.; HESTEKIN, J. (2017) "Potential of electrodialytic techniques in brackish desalination and recovery of industrial process water for reuse" in *Desalination*, Núm. 409, [pp. 108-114].
- [5] STRATHMANN, H. (2010) "Electrodialysis, a mature technology with a multitude of new applications" in *Desalination*, Núm. 264, [pp. 268-288]
- [6] ZHENG, X.; PAN, S.; TSENG, P.; ZHENG, H.; CHIANG, P. (2018) "Optimization of resin wafer electrodeionization for brackish water desalination" in *Separation and Purification Technology*, Núm. 194 [pp. 346-354].
- [7] WOOD, J.; GIFFORD, J.; ARBA, J.; SAW, M. (2010) "Production of ultrapure water by continuous electrodeionization" in *Desalination*, Núm. 250, [pp. 973-976]

[8] WANG, J.; WANG, S.; JIN, M.; (2000) "A study of the electrodeionization process high-purity water production with a RO/EDI system" in Desalination, Núm. 132, [pp. 349-352]

[9] Alvarado, L. "Estudio del mecanismo de Electrodeionización aplicado a la remoción de cromo hexavalente" Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2009.

PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE PLANTAS NATIVAS DE LAS ZONAS ÁRIDAS DE MÉXICO.

Medina Frausto José Pablo¹ y Dr. Eugenio Pérez Molphe Balch²

RESUMEN

Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales son una alternativa que favorece la propagación de plantas con fines de reforestación, conservación de germoplasma y el rescate de genotipos que se encuentran amenazados. Consiste en cultivar plantas en un ambiente artificial, donde las características fundamentales es la asepsia (ausencia de gérmenes), y el control de los factores que afectan el crecimiento, *lo cual se logra al formular el medio de cultivo. En este trabajo se llevaron a cabo las diferentes etapas de la propagación in vitro de varias especies nativas de las zonas áridas y semiáridas de México. Las etapas realizadas fueron el establecimiento de cultivos axénicos, la multiplicación in vitro, el enraizamiento de brotes y la transferencia a suelo.* Las especies seleccionadas pertenecen a las familias *Agavaceae*, *Cactaceae* y *Nolinaceae* y se caracterizan por la disminución que han sufrido las poblaciones naturales en los últimos años, lo que justifica el uso de este tipo de técnicas, ya que son rápidas y eficaces.

ABSTRACT

Plant tissue culture techniques are an alternative that favors the propagation of plants for the purpose of reforestation, conservation of germplasm and the rescue of genotypes that are threatened. They consist of growing plants in an artificial environment, where the fundamental characteristics are asepsis (absence of germs), and the control of the factors that affect growth, which is achieved when formulating the culture medium. In this work the different stages of the *in vitro* propagation of several native species of the arid and semiarid zones of Mexico were carried out. The steps performed were establishing axenic cultures, *in vitro* multiplication, the shoot rooting and transfer to soil. The selected species belong to the families *Agavaceae*, *Cactaceae* and *Nolinaceae* and are characterized by the decrease that natural populations have suffered in recent years, which justifies the use of this type of techniques, since they are fast and efficient.

Palabras Clave: Nolináceas, Agaváceas, Cactáceas, meristemo.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos vegetales es un conjunto de técnicas que permiten mantener, desarrollar y manipular células, tejidos, órganos o individuos completos bajo condiciones de asepsia, artificiales y controladas. Este procedimiento se basa en la incubación de tejidos vegetales que han sido desinfectados en medios de cultivo artificiales, los cuales cuentan con todos los nutrientes requeridos. Estos medios se caracterizan por que incluyen macro y micronutrientes minerales, fuente de carbono que puede ser sacarosa algunos nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de tejidos vegetales *in vitro*. Existen diferentes tipos de medios que pueden tener una consistencia semisólida con la adición de un gelificante (agar). Este tipo de medios permiten que las células se mantengan y continúen su crecimiento en un ambiente artificial. Se les puede agregar reguladores de crecimiento vegetal o fitohormonas, que se usan para inducir procesos de diferenciación o desdiferenciación celular y dirigir así a los tejidos vegetales hacia la respuesta deseada.

1.-Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón, Departamento de Ingeniería Bioquímica; Blvd. Del Valle 3102, C.P: 36413, Purísima del Rincón, Guanajuato, pablo010395@hotmail.com

2.-Universidad Autónoma de Aguascalientes, Dpto. de Química, Unidad de Biotecnología; Av. Universidad 940, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Dr. Eugenio Pérez Molphe Balch, C.P:20131, Aguascalientes, Aguascalientes, eperezmb@correo.uaa.mx

MÉTODOS Y MATERIALES

Establecimiento de cultivos *In Vitro* mediante la desinfección y germinación en condiciones axénicas de semillas de agave.

Durante este proceso se utilizaron semillas de *Agave Potatorum*, se seleccionaron 500 semillas las cuales estaban limpias y sin daño. Estas se desinfectaron lavándolas tres veces por 5 minutos en una solución con detergente líquido (Dermoclean) al 1% y agua corriente. Después se lavaron con etanol al 70% durante 45 segundos y se enjuagaron con agua corriente, para ser desinfectadas con Cloralex al 15% durante 20 minutos. En condiciones de asepsia se decanto el blanqueador (Cloralex) y se enjuago las semillas tres veces con agua destilada estéril. Se colocaron 5 semillas por recipiente de cultivo, para su germinación.

El medio basal utilizado fue el MS (Murashige y Skoog, 1962) con pH de 5.7 con 3% de sacarosa por litro, 1.9 gr/L de Nitrato de Potasio, 1.5 gramos/L de Nitrato de Amonio y .8% por litro de agar como gelificante. Los cultivos se mantuvieron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ bajo fotoperíodo Luz 16-8 Oscuridad.

Generación de brotes en Cactáceas por medio de la activación de meristemos (areolas).

Se trabajo con cinco especies de cactáceas: *Mammillaria Pettersonii*, *M. Candida*, *M. Bombycina*, *M. Rettigiana* (*M. gilensis*), y *M. Sheldonii* (*M. alamensis*), *Turbincarpus pseudomacrochele* var *pseudomacrochele*, *Turbincarpus pseudomacrochele* var *lausseri*, *T. Swoboda*, *Melocactus Macrodiscus*, *Echinocereus Subinermis*. Se sacaron las plantas completas de los recipientes y en condiciones asépticas se eliminó la parte basal de la planta, después se elimino el ápice de la planta o brote. Se corto el tejido restante en rebanadas de 5 a 8mm de grueso (explantos transversales). Se inocularon los explantes en los frascos con medio MS adicionado con 0.5mg/L de la citocina beciladenina (BA). El explante se colocó manteniendo su polaridad, se sello y se incubaron bajo fotoperíodo Luz 16-8 Oscuridad.

Generación de brotes en agaves y nolináceas por medio de activación de meristemos basales.

Las especies de agaves utilizadas fueron: *A. Potatorum* y *A. Lechuguilla*. Las especies de nolináceas son: *N. Longifolia*, *Dasyllirion Serratifolium*, *Beaucarnea Stricta*, y *N. Parryi*. Las especies son plantas de agave y nolináceas establecidas *in vitro*.

Se inocularon los frascos con medio de cultivo MS con 1.0mg/L de BA. Para que se llevara

acabo la multiplicación se tomó cada una de las plántulas y se eliminó la parte apical de todas las hojas. Se corto la raíz, obteniéndose un explante basal por cada planta. Se inocularon dos explantes basales por cada recipiente de cultivo, manteniéndose la polaridad de explante y asegurándose de que penetre el medio. Se incubaron los frascos a 25°C bajo un fotoperíodo Luz 16-8 Oscuridad. Los brotes que se generaron se pueden enraizar para obtener plantas completas o bien usar como una fuente de explantes para un nuevo ciclo de multiplicación.

Enraizamiento *in vitro* de brotes de agaves, cactáceas y nolináceas.

Se utilizaron para enraizamiento de cactáceas 4 especies: *Astrophytum Myriostigma*, *Escobaria Lloydii*, *Melocactus Macrodiscus*, *Morawetzia Sericata* (*Orocereus Doelzianus*). + *Agave Guiengola*, *A. Horrida* Var *Perotensis* y *A. Lechuguilla*. Y para Nolináceas fue:

Se separaron los brotes del explante original. Se le corto lo más cerca posible de su base. Se inocularon en posición vertical en el medio de enraizamiento (Medio MS), Se presiono la parte basal del brote para que penetrara el medio. Se incubaron a 25°C bajo fotoperíodo Luz 16.8 Oscuridad.

Adaptación y transferencia a suelo de Cactáceas y Agaves generadas *In vitro*.

Se retiro el sello de los recipientes de cultivo, se quito la tapa, pero inmediatamente se volvió a tapar, pero ahora solo se coloco sobrepuesta, se dejo en estas condiciones durante una semana. Se sacaron las plantas de los recipientes de cultivo y se colocaron en una charola de plástico, siempre cuidando las raíces. Se lavaron las plantas bajo un chorro de agua corriente con el propósito de eliminar los restos del medio de cultivo. Se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 horas, cuidando que no les diera el sol directo. Después se prepararon las macetas con el substrato y se humedeció. Se introdujo la raíz y la parte basal de cada planta el un orificio que se hizo en el substrato, se compacto el substrato, y fueron colocadas las macetas dentro de bolsas de plástico para que se equilibrara la humedad dentro y fuera de las mismas.

RESULTADOS

Establecimiento de cultivos *In Vitro* mediante la desinfección y germinación en condiciones axénicas de semillas de agave.

En esta técnica de 470 semillas de *A. Potatorum* lograron germinar 330 semillas en 25 días teniendo un porcentaje de 70.212% de germinación. Donde se pudo observar la

generación de raíces y el desarrollo de parte aérea (Figura 1A). El método de desinfección al que fueron sometidas fue satisfactorio ya que solo se presentó el 2.12% de contaminación.

Generación de brotes en Cactáceas por medio de la activación de meristemos (areolas).

Se utilizaron plántulas axénicas obtenidas in vitro se utilizaron como fuente de explantes para los experimentos de propagación a través de la activación de areolas (Figura 1B). Teniendo como resultado de *Mammillaria Pettersonii* 0.912 brotes por explante, 1.6 brotes por explante de *M. Candida*, 1.93 brotes por explante de *M. Bombycina*, 3.45 brotes por explante de *M. Rettigiana*, no se presentaron brotes por explante de *M. Sheldonii* ya que se contaminó toda la especie.

Generación de brotes en agaves y nolináceas por medio de activación de meristemos basales.

Las especies de agaves y nolináceas fueron utilizadas como fuente de explantes para la producción de brotes, donde los resultados se muestran en la tabla 1

Especie	Numero de brotes por explante.
<i>Turbincarpus pseudomacroechele</i> var <i>pseudomacroechele</i>	1.025 Presento contaminación en 22 explantes.
<i>Turbincarpus pseudomacroechele</i> var <i>lausseri</i>	5.211
<i>Turbincarpus Swoboda</i>	2.781
<i>Melocactus Macrodiscus</i>	2.156
<i>Echinocereus Subinermis</i>	5.45
<i>Nolina Longifolia</i>	6.105
<i>Dasyllirion Serratifolium</i>	4.243
<i>Nolina Parryi</i>	2.103
<i>Beaucarnea Stricta</i>	8

Enraizamiento in vitro de brotes de agaves, cactáceas y nolináceas.

En este experimento se utilizaron especies que se cultivaron de forma in vitro (Figura 1C), los

resultados fueron los siguientes: para *Morawetzia Sericata* el 82.148% de las plántulas presento raíz, 95.45% de *Astrophytum Myriostigma*, 64.042 de *Escobaria Lloydii*, 80.487 de *Melocactus Macrocanthus*, estos resultados fueron en cactáceas.

Mientras que en agaváceas los resultados fueron: para *Agave Lechuguilla* el 88.467 de plantas que presentaron raíz, 88.88% de *A. Guierigola*, de 68.956% *A. Horrida var Perotensis*.

Para *Nolina Longifolia* el 87.99% y el 93,34 de *Dasyllirion Lucidum* presentaron raíz.

Adaptación y transferencia a suelo de Cactáceas y Agaves generadas In vitro.

Se utilizaron 135 especies de *A. Potatorum* de las cuales solo sobrevivió el 17%, el 83% resultaron cocidas por la falta de cuidados.

Se transfirieron 20 especies de *Frailea Asteroides* de las cuales solo el 89% de la cactácea logro adaptarse a las condiciones. EL 98% de las especies de *Melocactus Macrodiscus* se adaptaron al suelo y se observo un crecimiento longitudinal. Mientras en *Mammillaria Sheldonii* sobrevivió el 100% de las especies colocadas en semilleros (Figura 1D).

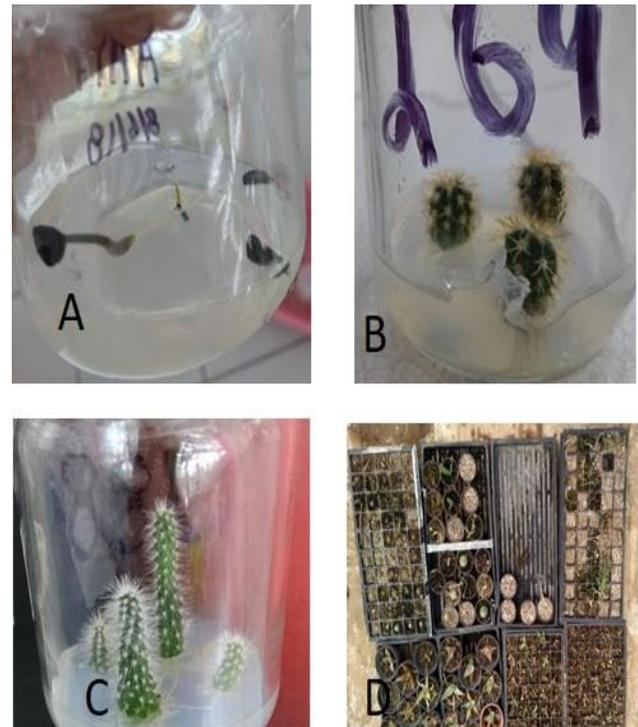


Figura 1. Propagación in vitro de especies de zonas aridas y semiáridas de México. A) Germinación en condiciones axénicas de semillas de *A. Potatorum*. B) Generación de brotes en *Melocactus Macrocanthus* por medio de la activación de meristemos. C) Enraizamiento in vitro. D) Adaptación y transferencia a suelo.

vitro de brotes de *Morawetzia Sericata*. D)
Especies adaptadas y transferidas a suelo.

CONCLUSIONES

Los métodos de propagación utilizados en este trabajo demuestran que son más eficientes que otros métodos convencionales disponibles para estas especies. Este tipo de métodos tienen la capacidad de generar una gran cantidad de plantas partiendo de un fragmento de tejido vegetal. Para el caso de especies en peligro de extinción o amenazadas, las especies generadas de forma *in vitro* pueden ser utilizadas o comercializadas para disminuir la presión que se ejerce sobre las especies silvestres. El disponer de este tipo de metodologías o protocolos permite mantener y mejorar este tipo de metodologías. Por otro lado, el disponer de metodologías que permiten mantener y propagar *in vitro* tejidos de estas especies puede facilitar la realización de estudios en áreas como la fitoquímica, la biología celular y la molecular, utilizando las especies producidas.

BIBLIOGRAFIA

Libros

Loyola Vargas, Víctor M., Ochoa Alejo Neftalí M. (2007). *Plant Cell Culture Protocols*, México: Humana Press

Perry, J. P. 1991. The pines of México and Central America. Timber Press, INC. Portland, Oregon. 231 pp.

Pérez-Molphe-Balch, E., Ramírez-Malagón, R., Nuñez-Palenius, H.G., Ochoa-Alejo, N. 1999. Introducción al Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Gamborg, O.L., Phillips, G.C. (Eds). 1995. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer. 353.

Artículos de revista

Pérez-Molphe-Balch, E., Pérez-Reyes, M.E., Dávila-Figueroa, C.A. and E. Villalobos-Amador. 2002. Micropropagation of three species of columnar cacti from the Sonoran Desert. *HortScience* 37:693-696.

Pérez-Molphe-Balch, E. and C.A. Dávila-Figueroa. 2002. *In vitro* propagation of *Pelecypora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 38:73-79.

Perry, J. P. 1991. The pines of México and Central America. Timber Press, INC. Portland, Oregon. 231 pp.

RELACIONES ECOLÓGICAS ENTRE AVES Y PARÁSITOS HAEMOSPORIDIOS EN UN GRADIENTE AMBIENTAL EN EL CENTRO DE MÉXICO DEL 20° VCRC.

Chiapa Gayosso José Roberto¹ y Chapa Vargas Leonardo²

RESÚMEN

Los parásitos son una de las formas de vida más estudiadas debido a sus implicaciones en la salud del hospedero, sin embargo, se cree que solo una pequeña parte de todos los parásitos ha sido descrita. El parasitismo es una forma de vida muy exitosa en nuestro planeta, por lo que no es de sorprender que gran parte de las aves en el mundo se encuentren parasitadas. México es uno de los países con mayor diversidad de aves, contando con aproximadamente 1100 especies. Debido a esto es importante realizar estudios que permitan conocer la salud de las aves en estado salvaje. En este trabajo se describen algunas técnicas que en conjunto permiten analizar la salud de un ave, mediciones en campo, frotis sanguíneos, hematocrito e identificación de parásitos de forma molecular. Todas estas herramientas en conjunto nos dan información útil que permiten conocer las afectaciones que puede tener un ave al encontrarse parasitada o no. Además, con la información obtenida del hematocrito, se pueden crear bases de datos que describan los niveles basales de eritrocitos de cierta especie en estado salvaje.

ABSTRACT

Parasites are among the most studied life forms due to their implications on host health. However, it is believed that only a small proportion of all parasites has been described. Parasitism is a very successful life strategy. Therefore, it is not surprising that a large part of the birds in the world are parasitized. Mexico is one of the countries harboring the greatest avian diversity values, with approximately 1100 species. Due to this it is important to carry out studies assessing bird health in the wild. This paper describes some techniques that together allow analyzing the health status of birds, including field measurements, blood smears, hematocrit and identification of parasites using molecular procedures. Together these tools provide useful information about bird responses to infective processes. In addition, with the information obtained from the hematocrit, databases can be created that describe the basal levels of erythrocytes of a certain species in the wild.

Palabras Clave: Aves, Haemosporidios, diagnóstico, salud aviar

INTRODUCCIÓN

El parasitismo se ha definido de distintas maneras dependiendo del autor, sin embargo, el parasitismo como enfermedad de la vida salvaje, es estrictamente definido como la asociación entre dos especies, donde un individuo (el parásito) obtiene su alimento del otro (hospedero). El parasitismo representa el tipo de vida más exitoso en la Tierra, ya que se estima que más del 50% de los organismos son parásitos (Poulin, 2007) debido a esto no es extraño pensar que una gran parte de los animales en estado salvaje se encuentren infectados por estos organismos. Por ejemplo, en las aves salvajes el parasitismo está presente de forma usual. (Wobeser, 2009).

Se estima que alrededor del mundo hay entre 9000 y 9720 especies de aves (Dickinson, 2003), estas se clasifican en 29 órdenes, de los cuáles 22 están presentes en México. Nuestro país es el octavo lugar a nivel mundial en cuanto a número de especies, llegando a tener 1100 aproximadamente (CONABIO, s.f.). En el estado de San Luis Potosí, sitio donde se realiza el estudio, se estiman alrededor de 525 especies diferentes (CONABIO, 2015).

Ahora bien, en México existen estudios que describen las enfermedades presentes en aves del sector agropecuario. En Michoacán, por ejemplo, se han encontrado 1136 casos clínicos de aves de corral en 4 años, de acuerdo a la etiología predominaron las enfermedades de origen bacteriano, seguidas de las parasitarias, virales y nutricionales (Soto, Arce, & Ávila, 1991). Sin embargo, pocos son los estudios referentes a la salud de aves en estado salvaje. Se ha llegado a la conclusión de que la mayoría de los parásitos presentes en aves salvajes, aún no han sido descritos taxonómicamente (Clayton & Moore, 1997). Los parásitos más estudiados y conocidos son aquellos presentes en la sangre, sin embargo, se considera que la diversidad de estas especies ha sido subestimada (Bensch, y otros, 2007).

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro, chiaparoberto5@gmail.com

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica Camino a la Presa San José 2055. Col. Lomas 4 sección CP. 78216 San Luis Potosí, San Luis Potosí, lchapa@ipicyt.edu.mx

Es importante que se realicen estudios que permitan conocer el estado de salud de las aves en estado salvaje en México, pues al ser un país con gran diversidad de especies, es probable que nueva información pueda ser encontrada respecto al estado de salud de las aves, ya sea una nueva especie de parásitos en sangre o datos que permitan conocer la salud del ave a través del hematocrito.

El objetivo de este trabajo es presentar y dar a conocer la importancia de algunas técnicas que permiten conocer el estado de salud del ave, desde su estado físico a través de mediciones que se hacen en campo, hasta la identificación molecular de los parásitos que presentan a través de técnicas como extracciones de DNA y PCR. También se describe el hematocrito, que, aunque existe mucha discusión respecto a esta técnica como método para determinar la salud de un ave, nos arroja cierta información respecto a sus niveles de hidratación o estrés. Durante este verano se trabajó en campo y en laboratorio recabando información de las aves capturadas, información que será útil para determinar el estado de salud del ave y también servirá para definir cómo el parasitismo puede influir en el estado de salud.

METODOLOGÍA

Muestreo

El muestreo se realizó en la localidad de San Francisco situada en el municipio de Rio Verde San Luis Potosí, para ello se usaron 12 redes ornitológicas de niebla las cuales se ubicaron aleatoriamente a través del sitio de estudio. A todas las aves capturadas se les colocó un anillo metálico en la pata para identificarlas en caso de que volvieran a caer en las redes.

Tras recoger al ave de la red en la que caía, se tomaba una muestra de sangre la cual se recolectaba con ayuda de dos capilares, el capilar con mayor volumen de sangre se usaba para realizar el estudio de hematocrito, mientras que con el otro capilar se realizaban frotis sanguíneos, la sangre restante de este segundo capilar se depositaba en un tubo Eppendorf que contenía amortiguador Longmire (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 100 mM EDTA, 10 mM NaCl, 0.5 % SDS) el cual ayuda a mantener la integridad del ADN. Este tubo se mantenía en refrigeración pues la muestra de sangre se trabaja posteriormente en el laboratorio. Además, a cada ave se le tomaron medidas de culmen, tarso, cola, ala y longitud total, también se les pesó y se observó el tipo de osificación, parche y si tenían muda o no, esto es para un análisis del estado de salud físico del ave.

Hematocrito

El capilar destinado al hematocrito se sellaba por un lado procurando no calentar o quemar la sangre. Posteriormente, se centrifugaban a 13,000 rpm durante cinco minutos. Tras centrifugar la sangre, se calculaba el porcentaje de glóbulos rojos presentes en la muestra. Finalmente se tomaba una alícuota del plasma sanguíneo y se medía la cantidad de proteínas presentes con ayuda de un refractómetro.

Extracción de ADN

Debido a la falta de tiempo, las muestras recolectadas en la localidad de San Francisco no fueron procesadas molecularmente, sin embargo, se ayudó al equipo de trabajo a extraer DNA de las muestras sanguíneas recolectadas en los tubos eppendorf de los sitios Tmasopo I y Tamasopo II. Para ello se tomaban entre 20 y 30µL de sangre las cuales se trataban con el kit DNAeasy Blood & Tissue (Quiagen, Venlo Holanda) siguiendo el protocolo del fabricante. Una vez terminada la extracción se verificaba la integridad del ADN mediante geles de agarosa 1% y se cuantificaba con un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Inc.)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se capturaron 30 aves en total, sin embargo, por problemas durante la toma de muestra, o al sellar los tubos para el hematocrito solo se obtuvieron datos de 21 aves, los cuales se encuentran en la Tabla 1. Los valores de hematocrito y proteínas totales varían de una especie a otra, por ejemplo, para *Falco sparverius* se registran valores de hematocrito de 40.2 ± 0.46 % en hembras y de 40 ± 0.5 % en machos, mientras que los valores de proteínas totales son 4.03 ± 0.059 g/dL para las hembras y de 3.81 ± 0.054 g/dL para los machos (Dawson & Bortolotta, 1997). Por otro lado en *Geronticus eremita* se presentan valores de hematocrito de 46.3 ± 3.6 % y un valor de 32 ± 5 mg/L de proteínas totales, esto para aves que no presentan parásitos en sangre (Sánchez-Guzmán, y otros, 2004). Debido a todas estas variaciones nos es muy difícil indicar si los valores de hematocrito para cada una de las aves capturadas están dentro de los niveles usuales o no. Además, no contamos con datos para *Campylorhynchus brunneicapillus*. *Melanerpes*

aurifrons, *Columbina passerina* o *Mimus polyglottos*, que fueron las aves capturadas más frecuentemente durante de los tres días.

La técnica del hematocrito para definir el estado de salud de un ave sigue siendo un debate, algunos autores defienden el hecho de que los niveles de hematocrito pueden estar relacionados con la abundancia de alimento y con la capacidad metabólica de los polluelos (Simon, Thomas, Blondel, Perret, & Lambrechts, 2004; Cuervo, Moller, & De Lope, 2007), sin embargo, otros autores han encontrado que el hematocrito es una técnica que no estima correctamente la salud o el estado nutricional de las aves, (Dawson & Bortolotta, 1997). Sin embargo, algo en lo que coinciden ciertos autores es que el hematocrito puede estar relacionado con el nivel de estrés del ave, así como también puede indicar el estado de hidratación, pues niveles altos de agua pueden diluir la sangre, dando como resultado bajos porcentajes de hematocrito. (Dickens, Earle, & Romero, 2009)

Tabla 1. Resultados de hematocrito

Anillo*	HTC %**	PT***	Anillo	HTC %	PT
F2206	46	3.5	F1D414	46	2.4
F262	55	3.9	F0309	41.6	4.8
F2100	42	4.8	F2111	45	4.1
F2118	51.5	3.1	F2112	50	2.8
F2119	48	4	F2113	32.2	6.2
F2120	45	3.2	F2200	40	4
F2121	39.8	4.2	F2114	42	5
F2122	42	3	F2115	55.55	3.1
F3209	42.8	3.3	F2198	40	4.9
F1D416	46.6	4.1	F2117	51.85	3.4
F2202	46	4.5			

*Número de anillo que nos permite identificar al ave en caso de recaptura
 ** Resultados del hematocrito, el porcentaje se refiere a la cantidad de eritrocitos presentes en la sangre
 *** Proteínas totales presente en el plasma sanguíneo

Tras el estudio en campo se procede al trabajo en laboratorio, donde lo primero que se hace es trabajar con los frotis, estos se observan al microscopio y se hace un conteo de células blancas y eritrocitos, además se observa la presencia de Haemosporidios en cada una de las aves capturadas. Esta información es útil durante el análisis molecular, pues sirve como control para saber que muestran deben presentar una amplificación tras la PCR y cuáles no. En mi caso no se realizó ninguna observación al microscopio, el trabajo realizado fueron las extracciones de DNA para posteriormente realizar la reacción de PCR.

Se extrajeron un total de 69 muestras las cuales corresponden a los sitios conocidos como Tamasopo 1 y Tamasopo 2, debido a que el DNA extraído se usa para realizar reacciones de PCR, las muestras se cuantifican para que se añada la misma concentración en todas las reacciones. La tabla 2 muestra las concentraciones obtenidas para cada una de las muestras de Tamasopo 1, mientras que la figura 1 muestra el gel donde se observa la integridad del DNA, los carriles 1, 21 y 27 corresponden al marcador de peso molecular.

Tabla 2. Cuantificación DNA genómico muestras Tamasopo 1

Número de pocillo	Anillo	Concentración (ng/μL)	Número de pocillo	Anillo	Concentración (ng/μL)
2	F1317	80.032	14	F1D174	43.16
3	F1P92	20.196	15	F1P49	49.822
4	F1P47	33.054	16	F1380	85.362
5	F1D156	60.745	17	F039	153.677
6	F047	40.943	18	F0179	174.504
7	F1318	34.721	19	F1385	131.806
8	F1P48	34.725	20	F1350	114.989
9	F1P63	20.965	22	F1A63	58.272
10	F1P90	35.224	23	F1P51	59.4
11	F1P74	50.921	24	F1326	127.508

12	F1P60	16.059	25	F1361	68.27
13	F1P77	70.87	26	F1P78	178.733

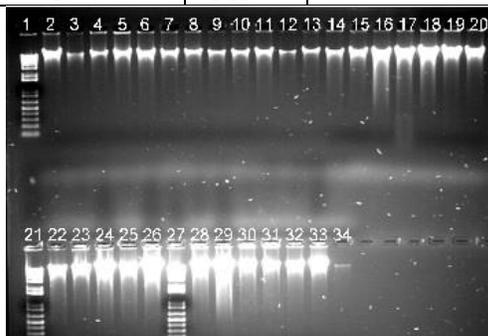


Figura 1. Gel de electroforesis que muestra la integridad del DNA de las muestras Tamasopo 1

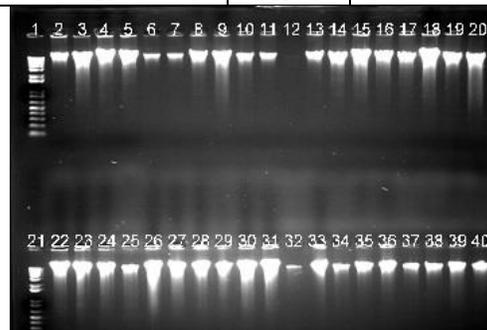


Figura 2. Gel de electroforesis que muestra la integridad del DNA de las muestras Tamasopo 2

La tabla 3 muestra las concentraciones obtenidas para cada una de las muestras de Tamasopo 2, mientras que la figura 2 muestra el gel donde se observa la integridad del DNA, los carriles 1 y 21 corresponden al marcador de peso molecular. Las muestras F1P79, F355, F352, DIDI, F350, F0325 y *L. verreaxi* se encuentran en el gel de la figura 1, esto debido a la falta de pocillos disponibles. La muestra F0221 correspondiente al pocillo 12 de la figura 2, no se observa en el gel y es la más baja en cuanto a concentración de DNA con apenas 12.005 ng/μL, esto era de esperarse, ya que, durante la extracción, al incubar y agitar la muestra, esta se derramó, dejando una menor cantidad de volumen que en el resto. Lo mismo sucedió con la muestra *L. verreaxi* que se muestra en el pocillo 34 de la figura 1.

Tabla 3. Cuantificación de DNA genómico muestras Tamasopo 2

Número de pocillo	Anillo	Concentración (ng/μL)	Número de pocillo	Anillo	Concentración (ng/μL)
2	F1P82	87.067	26	F1A109	151.744
3	F034	250.686	27	F359	199.62
4	F0396	155.56	28	F344	174.482
5	F0395	195.06	29	F345	119.103
6	F1156	30.403	30	F272	261.368
7	F1A194	36.038	31	F358	255.27
8	F1P54	90.909	32	F1A89	17.775
9	F1P81	173.392	33	F357	165.813
10	F0324	65.061	34	F356	39.253
11	F1159	44.693	35	F1P80	111.913
12	F0221	12.005	36	F348	93.968
13	F1D161	69.67	37	F3B169	33.956
14	F0158	108.664	38	F1P56	50.771
15	F260	98.39	39	LEVE2	60.169
16	F1D160	99.082	40	GLBR	43.941
17	F362	92.616	*28	F1P79	81.607
18	F342	351.03	*29	F355	133.985
19	F022	126.239	*30	F352	50.275
20	F3B159	128.82	*31	DIDI	42.391
22	F3B170	333.122	*32	F350	42.228
23	F361	225.636	*33	F0325	75.928
24	F360	107.271	*34	<i>L. verreaxi</i>	12.437
25	F0276	44.715			

* Las muestras se cargaron en el gel correspondiente al sitio Tamasopo 1 (Figura 1)

Para determinar la integridad del DNA genómico en un gel se deben observar bandas únicas y bien definidas en la parte superior (Pinto, 2015). Por lo tanto, podemos concluir que las extracciones se realizaron correctamente pues el DNA extraído se encuentra íntegro. Es cierto que algunas bandas muestran barridos y no se encuentran

perfectamente definidas, pero esto lo podemos atribuir a la concentración de DNA. Pues una alta concentración puede provocar que las bandas no se vean de la mejor forma.

CONCLUSIONES

Evaluar el estado de salud de un ave para determinar si se encuentra parasitada por Haemosporidios es una labor que requiere de muchas disciplinas en conjunto. Se deben manejar técnicas de microscopía para encontrar si el ave presenta o no parásitos, para ello las tinciones se deben hacer correctamente. Además, la microscopía permite identificar especies utilizando criterios morfológicos y determinar intensidades de parasitismo. También se deben manejar técnicas de laboratorio como extracciones y reacciones de PCR, las cuales permiten identificar de manera molecular al parásito e identificarlo de manera más específica hasta el nivel de su linaje. Sumado a todo esto, el trabajo de campo es igual de importante, ya que las medidas, el peso, y toda la información física que se recaba del ave son importantes para obtener un panorama general del estado de salud del ave. Como se puede observar, falta mucha información respecto al estado de salud de las aves en su hábitat natural no solo en el centro del país sino en todo México. Sin embargo, poco a poco y con mucho trabajo, se va logrando ampliar la información que se tiene respecto a las aves en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

- Bensch, S., Waldenström, J., Jonzén, N., Westerdahl, H., Hansson, B., Sejberg, D., & Hasselquist, D. (2007). Temporal dynamics and diversity of avian malaria parasites in a single host species. *The Journal of Animal Ecology*, 76, 112-122. doi:10.1111/j.1365-2656.2006.01176.x
- Clayton, D., & Moore, J. (1997). *Host-parasite evolution: General principles and avian models*. Inglaterra: Oxford Univ.
- CONABIO. (2015). *AvesMx*. Retrieved from <http://avesmx.conabio.gob.mx>
- CONABIO. (n.d.). *Biodiversidad mexicana*. Retrieved from https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gran_familia/animales/aves/aves.html
- Cuervo, J., Moller, A., & De Lope, F. (2007). Haematocrit is weakly related to condition in nestling Barn Swallows *Hirundo rustica*. *British Ornithologists' Union*, 149, 128-134. doi:10.1111/j.1474-919X.2006.00610.x
- Dawson, R., & Bortolotta, G. (1997). Variation in Hematocrit and Total Plasma Proteins of Nestling American Kestrels (*Falco sparverius*) in the Wild. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 117, 383-390. doi:10.1016/S0300-9629(96)00364-7
- Dickens, M., Earle, K., & Romero, M. (2009). Initial transference of wild birds to captivity alters stress physiology. *General and Comparative Endocrinology*, 160, 76-83. doi:10.1016/j.ygcen.2008.10.023
- Dickinson, E. (2003). *The Howard & Moore Complete Checklist of the Birds of the World* (3 ed.). Londres: Christopher Helm.
- Pinto, R. (2015, Noviembre). *Banco Nacional ADN*. Retrieved from http://www.fundacio.udl.cat/biobancos/doc/talleres/Controles_de_calidad_de_acidos_nucleicos_congreso_Rosa_Pinto.pdf
- Poulin, R. (2007). *Evolutionary ecology of parasites*. Princeton, New Jersey: Princeton Univ.
- Sánchez-Guzmán, J., Villegas, A., Corbacho, C., Morán, R., Marzal, A., & Real, R. (2004). Response of the haematocrit to body condition changes in Northern Bald Ibis *Geronticus eremita*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 139, 41-47. doi:10.1016/j.cbpb.2004.06.018
- Simon, A. E., Thomas, D., Blondel, J., Perret, P., & Lambrechts, M. (2004). Physiological ecology of Mediterranean Blue Tits (*Parus caeruleus* L.): effects of ectoparasites (*Protocalliphora* spp.) and food abundance on metabolic capacity of nestlings. *Physiological and Biochemical Zoology*, 77, 492-501. doi:10.1086/383512

Soto, M., Arce, J., & Ávila, E. (1991). Enfermedades aviares diagnosticadas en el centro de salud animal de Morelia Michoacán durante los años 1981 a 1984. *Técnica Pecuaria en México*, 29, 35-39.

Wobeser, G. (2009). *Parasitic Diseases of Wild Birds*. Wiley-Blackwell.

DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE FLAVONOIDES TOTALES DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE LA HUASTECA POTOSINA

Juan Diego Gómez Gaytán¹ y Denisse Atenea De Loera Carrera²,

RESUMEN

Se llevó a cabo el análisis cualitativo y cuantitativo del contenido de flavonoides de cinco plantas de la Huasteca potosina, recolectadas mediante una investigación participativa con médicos tradicionales de la región. Estas plantas son utilizadas en la medicina tradicional mexicana especialmente en las zonas rurales, para la preparación de decocciones como un tratamiento alternativo para la diabetes. *Struthanthus quercicola* es la planta de mayor importancia en esta investigación debido que la fitoquímica y la actividad biológica de la especie aun es desconocida, pero se ha demostrado en estudios previos que especies del mismo género contienen un flavonoide con actividad antidiabética.

ABSTRACT

The qualitative and quantitative analysis of the flavonoid content of five Huasteca potosina plants, collected through participatory research with traditional doctors of the region, was carried out. These plants are used in traditional Mexican medicine, especially in rural areas, for the preparation of decoctions as an alternative treatment for diabetes. *Struthanthus quercicola* is the most important plant in this research because the phytochemistry and biological activity of the species is still unknown, but it has been shown in previous studies that species of the same genus contain a flavonoid with antidiabetic activity.

Palabras clave: Medicina tradicional, productos naturales, plantas medicinales, flavonoides, Diabetes.

INTRODUCCION

La medicina tradicional ha sido utilizada desde tiempos ancestrales para tratar enfermedades y procurar la salud. La eficacia de las plantas medicinales es dada por la cantidad y variedad de metabolitos secundarios que contienen, los flavonoides son compuestos que funcionan como pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como los rayos ultravioletas, entre otras actividades biológicas. México cuenta con una amplia gama de etnias, cada una con sus propias costumbres y medicina tradicional. En estudios previos en el estado de San Luis Potosí se reportaron varias plantas con diversos usos medicinales en la Zona Huasteca. Entre las plantas mencionadas se encuentran varias especies del género *Terminalia*, las cuales han demostrado propiedades farmacológicas como cardioprotectoras, hipolipemiantes, hipoglicemiantes y antioxidantes, entre otras. Estas propiedades han sido atribuidas en lo fundamental a los polifenoles encontrados en las hojas, la corteza y los frutos de esta planta. Se ha descrito que las hojas de *T. catappa* son ricas en compuestos polifenólicos. Otra especie mencionada es *Psittacanthus calyculatus* conocidas comúnmente como muérdagos y se alojan en diferentes especies de árboles, entre ellas los mezquites, guazuma y cítricos. Flavonoides con diversos tipos de actividad biológica han sido aislados de las especies de los géneros *Acacia* y *Bidens*, tales como actividad antimicrobiana, antioxidante y antidiabética. El género *Struthanthus* es de fitoquímica casi desconocida, pero en la especie *S. subtilis* se aisló el flavonoide conocido como rutina, el cual presenta actividad antidiabética. Estas plantas son utilizadas en la medicina tradicional mexicana para la preparación de infusiones, como un tratamiento alternativo para la diabetes (Andrade-Cetto, A. & Heinrich M., 2005)

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad Universitaria. Ejido El Águila, C.P. 27276, Torreón, Coahuila, México. gotan_21@outlook.es;

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No.6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., México. atenea.deloera@uaslp.mx.

MATERIALES Y METODOS

Los extractos utilizados fueron obtenidos de plantas recolectadas en la zona huasteca de SLP:

Plantas recolectadas	Clave	#
<i>Bidens odorata</i>	BO	1
<i>Acacia farnesiana</i>	AF	2
<i>Struthanthus quercicola</i> (naranja)	SQN	3
<i>Psittacanthus calyculatus</i>	PSC	4
<i>Struthanthus quercicola</i> (guazuma)	SQG	5
<i>Terminalia cattapa</i>	TC	6
<i>Struthanthus quercicola</i> (guazuma y naranja)	SQGN	7

Para el análisis por cromatografía de capa delgada (CCD) se emplearon placas cromatográficas con soporte de aluminios impregnados con gel de sílice 60 F254, de 0.20 mm de espesor (Merck) y cortados en el laboratorio a 5 cm de ancho y siendo marcados a 0.5 cm de abajo para arriba y en la parte superior de 0.3 cm. Los componentes separados por CCD se visualizaron bajo luz UV de onda corta (254 nm) y larga (365 nm).

Obtención de los extractos

Infusión: en papel filtro se pesó 1 g de planta, posteriormente se añadieron 40 ml de agua destilada hirviendo a un vaso de precipitado donde se colocó el papel con el material vegetal, se dejó reposar por 20 min, se filtró y se llevó a congelación (-4 °C).

Decocción: en un vaso de precipitado se pesó 1 g de planta, posteriormente se añadieron 40 ml de agua destilada hirviendo y se dejó al fuego manteniendo su temperatura por 20 minutos, luego se filtró y se llevó a congelación (-4 °C).

Extracto metanólico: en un vaso de precipitado se pesó 1 g de cada planta, después se les añadieron 40 ml de metanol, se dejó en maceración por una semana con homogenización diaria, luego se filtró y se llevó a refrigeración (4 °C).

Se realizaron las tres extracciones a cada planta recolectada.

Análisis cualitativo de flavonoides por cromatografía de capa delgada (CCD)

Procedimiento.

- Cortar cromatofolios con unas medidas de 8x5 cm.
- Marcar una línea en la parte superior a 3 mm del límite y en la parte inferior una línea a 5 mm del límite.
- Colocar una gota de cada extracto sobre la línea inferior.
- Realizar mezcla de eluyentes para correr cromatofolio.
- Verter mezcla en cámara cromatográfica e introducir cromatofolio y tapar.
- Sacar cromatofolio al llegar a la línea superior y dejar secar.
- Visualizar bajo luz UV de onda larga y onda corta.
- Preparar una solución de $AlCl_3$ al 2%
- Introducir cromatofolio en caja de Petri y cubrir completamente la placa con $AlCl_3$ al 2%

Para visualizar algunos metabolitos secundarios contenidos en las plantas por CCD se optimizaron y estandarizaron sistemas de disolventes, los más utilizados fueron: hexano-diclorometano (0.5:2), diclorometano-acetona (1:1), hexano-diclorometano(1:1), hexano-acetato de etilo (2:5), hexano-acetona (4:0.5), acetonitrilo-agua (2:0.5), diclorometano-acetona (2:0.3), acetonitrilo-agua (2:0.3).

La determinación cualitativa de flavonoides se llevó a cabo utilizando una solución de AlCl_3 al 2 % como agente revelador, el sistema utilizado fue ACN:H₂O (2:0.5). El resultado de la separación de cada extracto en el sistema fue observado en luz UV a banda ancha y a banda corta, para posteriormente revelarse. En la figura 1 se muestra la reacción del AlCl_3 con la quercetina.

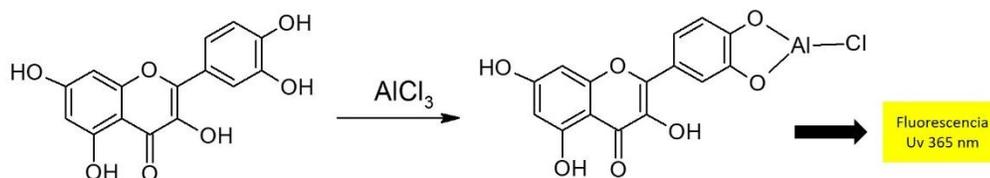


Figura 1: El tricloruro de aluminio (AlCl_3) al entrar en contacto con los flavonoides aumenta la fluorescencia por la formación de un complejo visualizado a 365 nm

Determinación cuantitativa de flavonoides totales

La medición del contenido de flavonoides totales de las decocciones e infusiones se llevó a cabo en una placa de 96 pozos de fondo plano (Costar[®]), se utilizó una curva estándar de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 $\mu\text{g/mL}$ de quercetina. El procedimiento fue el siguiente, por triplicado se colocaron 100 μL de cada estándar y se les añadieron 100 μL de AlCl_3 al 2%, después se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad por 10 minutos, posteriormente se leyeron las absorbancias a 365 nm utilizando un espectrofotómetro para microplacas UV-Vis (Epoch[™] marca Bio Tek). Los extractos se procesaron de la misma manera que los estándares, pero se les añadió el control normal (Ctrl N), que consistió en 100 μL de cada extracto por triplicado sin AlCl_3 . La cantidad de flavonoides en los extractos se reportó como milimoles equivalentes de quercetina (mMEq de quercetina) calculados a partir de la ecuación de la recta de la curva estándar de quercetina ($y = 0,0108x + 0,0959$, $R^2 = 0,9955$).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis cualitativo de flavonoides totales en cromatografía de capa delgada

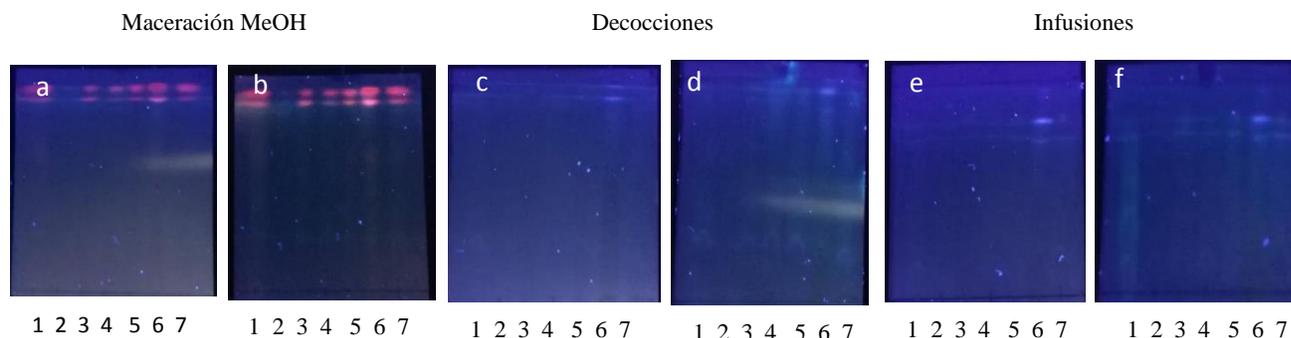


Figura 2. En las imágenes 2a, 2 c y 2e cromatofolios sin revelar, 2b, 2d y 2f son cromatofolios revelados con AlCl_3 vistos a 365 nm.

Se puede observar el aumento de fluorescencia y visibilidad de las placas antes y después de haber sido aplicadas con AlCl_3 lo cual indica existencia de flavonoides, en la figura 2a y 2b, extractos metanólicos, aumenta su fluorescencia en los extractos 1,3,4,5,6,7 exceptuando el 2 (AF) que no hubo cambios. En las figuras 2c y 2d, decocciones también

se observó el aumento de la fluorescencia de los extractos 1, 3, 4, 5,7, de igual manera que en los metanolicos la AF no se observa. En las infusiones (figuras 2e y 2f) se observó que algunos extractos como el BO aumentan su visibilidad al añadirle el $AlCl_3$, siendo AF ausente también.

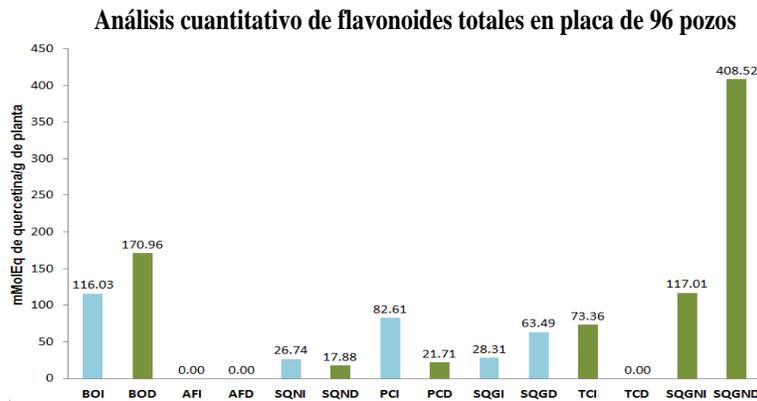


Figura 3. flavonoides totales en mMolEq de quercetina sobre gramos de planta.
I: infusión, D: decocción

En estudio previos con la planta de *Biden odorata* (BO) se demostró que hay concordancia en los resultados con estas técnicas se muestra un mayor número de MoEq en la decocción que en la infusión de BO.

En el caso de la especie *Acacia farnesiana* (AF) No se logró determinar su cantidad de flavonoides debido a que su color era demasiado fuerte y al intentar hacer diluciones su concentración de flavonoides también se iba perdiendo.

Psittacanthus calyculatus (PC) presentó mayor cantidad de flavonoides en la infusión que la decocción por lo que es probable que los flavonoides contenidos en esta especie sean termolábiles y pierdan sus propiedades mediante el calor prolongado.

Las decocciones de *Terminalia catappa* (TC) no pudieron ser determinadas debido a la interferencia del color del extracto, por lo que al diluir el color, la concentración de flavonoides totales se volvió indeterminable por el método del $AlCl_3$.

Struthanthus quercicola (SQN) recolectada de naranjo mostró que la infusión tiene mayor cantidad de flavonoides, pero la la misma especie recolectada sobre *Guazuma ulmifolia* (SQG) al igual que en el caso de BO mostró tener una mayor cantidad de flavonoides en sus decocciones que en sus infusiones. Al combinar las SQN Y SQG se observó que aumenta el contenido de flavonoides en las decocciones que en las infusiones. Es probable que el hospedero intervenga en la cantidad de flavonoides generados en esta especie de planta, también está el hecho que las decocciones al someterse a calor por un tiempo más prolongado permitan que las glicosilaciones se rompan dejando más libres a los flavonoides para reaccionar. El estudio de SQ confirmo la existencia de flavonoides es su extractos acuosos, dado que esta planta tiene fitoquímica desconocida, conocer la cantidad de flavonoides totales de la decocción orienta a la posibilidad de que estos metabolitos secundarios sean los responsables de la actividad antidiabética que los médicos tradicionales le atribuyen a la planta, por lo que se llevarán a cabo estudios para conocer la actividad biológica y estudios fitoquímicos de la especie SQ.

Este trabajo fue de carácter preliminar, por lo que los resultados sentarán las bases de próximos estudios fitoquímicos de las plantas estudiadas.

CONCLUSIONES

Se pudo cuantificar la cantidad de flavonoides existentes en la mayoría de plantas recolectadas en la huasteca potosina, comprobando su eficiencia para tratar diferentes padecimientos para los cuales las plantas eran utilizadas.

REFERENCIAS:

- Lic. Lourdes García Bacallao, Dra. Delia Mercedes Rojo Domínguez. (2001). Plantas con propiedades antiinflamatorias. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 4. SEPT-2002, De Scielo Base de datos
- Castañeda, C., & Ramos, L., & Ibáñez, V. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico, 8 (1), 56-72.
- S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Departamento de Fisiología, Universidad de León y *Hospital de León. España* 271-273
- Rodríguez Acosta. M.(2013) Comparación y análisis de extractos de *Psittacanthus calyculatus* y *Phoradendron tomentosum* para su uso en el desarrollo de alimentos funcionales para diabéticos tipo 2. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro División de Ciencia Animal Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.* Saltillo, Coahuila
- Tapan .B. & Kotwani .A.(2016). Proposed mechanisms of *Terminalia catappa* in hyperglycaemia and associated diabetic complications *Department of Pharmacology, Vallabhbai Patel Chest Institute, University of Delhi, New Delhi, India*

ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN DE LA MOLÉCULA DE NAPROXENO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE LUZ SOLAR A DIFERENTES CONDICIONES DE pH

Hernández Ramírez Juana Berenice¹ y Teresa Alejandra Razo Lazcano²

RESUMEN

El naproxeno (NPX), es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, usado comúnmente para el tratamiento de dolores leves, la fiebre y la inflamación. Este ha sido detectado dentro de sistemas naturales, debido a la inadecuada forma de desecharlo o a la poca eficiencia de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. De esta manera, el NPX representa un riesgo para el ambiente, por lo cual resulta importante estudiar el nivel de degradación que presenta el principio activo bajo condiciones naturales. Así, en la presente investigación se realizaron varios estudios experimentales para evaluar la degradación del NPX bajo diferentes condiciones, tales como: la ausencia y presencia de luz solar, presencia de luz UV a 395 nm, tiempo de exposición y forma del recipiente.

ABSTRACT

Naproxen (NPX) is a non-esteroidal anti-inflammatory drug, commonly used for the treatment of mild pain, fever and inflammation. This has been detected within natural systems, due to inadequate disposal or the low efficiency of wastewater treatment systems. In this way, the NPX poses a risk to the environment, so it is important to study the level of degradation that the active ingredient presents under natural conditions. In this research, experimental studies were carried out to evaluate the degradation of the NPX under different conditions, such as: the absence and presence of sunlight, presence of UV light at 395 nm, exposure time and container form.

Palabras claves: Naproxeno, degradación, luz solar.

INTRODUCCIÓN

La rápida urbanización y el aumento en las actividades industriales y agrícolas, ha dado como resultado una mayor demanda de agua y, por lo tanto, un incremento en la generación de aguas residuales. En consecuencia, diversos suministros de agua son expuestos a sufrir una contaminación generalizada por diferentes compuestos químicos^[1]. Dentro de estos contaminantes, se encuentran aquellos denominados como contaminantes orgánicos emergentes, término utilizado para hacer referencia a compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el medioambiente, ha pasado inadvertida, causando problemas ambientales y de riesgo para la salud. De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación son los medicamentos, ya que en la última década se ha observado una creciente presencia de los mismos en aguas residuales, aguas freáticas, suelo, abonos, biota e incluso en el agua potable. Por lo anterior, su estudio se ha considerado como prioritario en los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medioambiental, tales como la Organización Mundial de la Salud, la Agencia para la Protección del Medio Ambiente o la Comisión Europea.^[2]

El naproxeno, antiinflamatorio no esteroideo (ver Figura 1), es considerado un compuesto persistente en el ambiente, debido a su constante descarga. De hecho, la cantidad de este compuesto que ingresa diariamente a las plantas de tratamiento municipal puede llegar al orden de gramos^[3,4]. Así, este fármaco ha sido detectado en aguas residuales reutilizadas en la irrigación de tierras destinadas a la agricultura en el Valle de Tula en México, en el intervalo de concentraciones de 7267 – 13589 ng.L⁻¹^[5], así como en aguas residuales del área metropolitana de la ciudad de México en un intervalo de 6200 – 6740 ng.L⁻¹^[6].

¹ ITESI, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Carretera Irapuato - Silao km 12.5, Colonia El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Gto., beree19hdz@gmail.com

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química, Sede Pueblito de Rocha, Cerro de la Venada s/N, Colonia Pueblito de Rocha, Guanajuato, Gto., teresarazo@ugto.mx

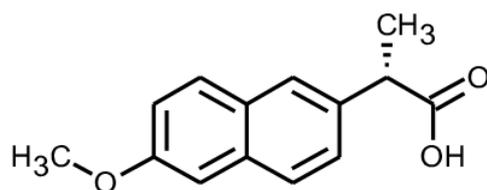


Figura 1. Estructura química del naproxeno.

Debido a lo anterior, resulta importante estudiar el nivel de degradación que presenta el principio activo bajo condiciones naturales. Así, en el presente trabajo se llevaron a cabo una serie de estudios evaluando diferentes parámetros, tales como: la ausencia y presencia de luz solar, presencia de luz UV a 395 nm, tiempo de exposición y forma del recipiente.

METODOLOGIA

Para la realización de los experimentos un volumen de 100 mL de una solución de naproxeno (NPX, a $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, disuelto en solución amortiguadora de fosfatos a pH 5.5) fue colocado en un vaso de precipitado, el cual posteriormente se puso en agitación moderada (200 rpm) bajo las diferentes condiciones estudiadas (en presencia y ausencia de luz solar y bajo luz UV a 395 nm), a diversos tiempos de exposición (0 – 341 hrs). Durante este periodo se monitorearon las soluciones, obteniéndose los espectros de absorción de cada muestra y determinándose el valor de pH de cada una de ellas.

El valor de pH de la solución de NPX se determinó tomando en cuenta las condiciones de pH encontradas en efluentes naturales (5 – 8).

Para la obtención de los espectros de absorción se utilizó la técnica de Espectroscopía UV/Vis, en un intervalo de longitudes de onda de 200 – 400 nm.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos del estudio realizado bajo la ausencia de luz solar se muestran en la Figura 2.

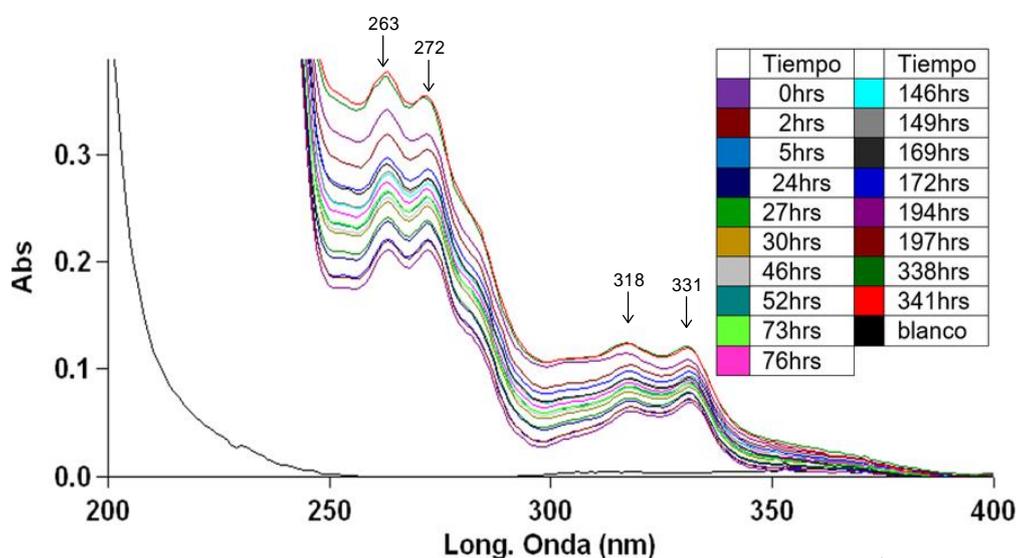


Figura 2. Espectro de absorción del NPX en ausencia de luz solar. $[\text{NPX}] = 10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $v_{\text{agitación}} = 200\text{ rpm}$, T_{amb} .

Analizando la figura, se puede observar que el espectro de absorción del NPX a tiempo cero presenta dos bandas bien definidas. La primera posee dos picos de absorción ubicados a 263 nm y 272 nm, los cuales corresponden a transiciones del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. La segunda banda de absorción, muy débil, se caracteriza por presentar dos picos a las longitudes de onda de 318 y 331 nm, generados por una transición electrónica del tipo $n \rightarrow \pi^*$.

A su vez, se puede observar la presencia de un fenómeno hipercrómico en el espectro de absorción del fármaco, conforme se va incrementando el tiempo que permanece la muestra bajo agitación y en ausencia de luz solar. Lo anterior puede deberse a la presencia de nuevos grupos auxóchromos en la molécula de naproxeno, generados

durante el proceso de degradación y que constituyen los metabolitos respectivos, y los cuales provocan un incremento en las intensidades de los picos de absorción. Además, se aprecia cómo los picos de absorción localizados a 263 nm, 272 nm y 318 nm comienzan a deformarse, mientras que el encontrado a 331 nm permanece constante.

En la siguiente figura se muestran los espectros de absorción obtenidos en presencia de luz solar a dos diferentes horarios, de 10 – 13 hrs (Fig. 3a) y de 13 – 16 hrs (Fig. 3b).

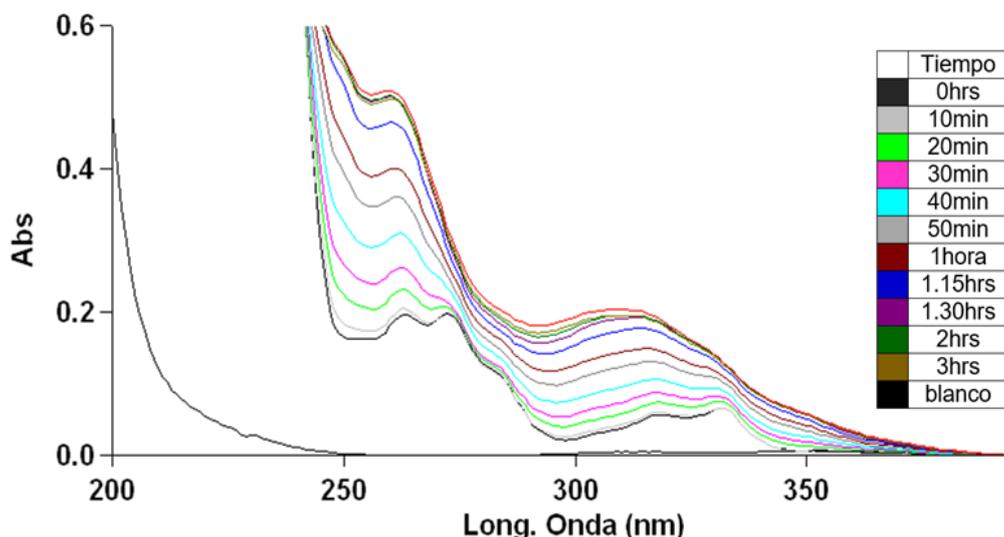


Figura 3a. Espectro de absorción en presencia de luz solar. [NPX] = 10 mg.L⁻¹, Vagitación = 200 rpm, T_{amb}.

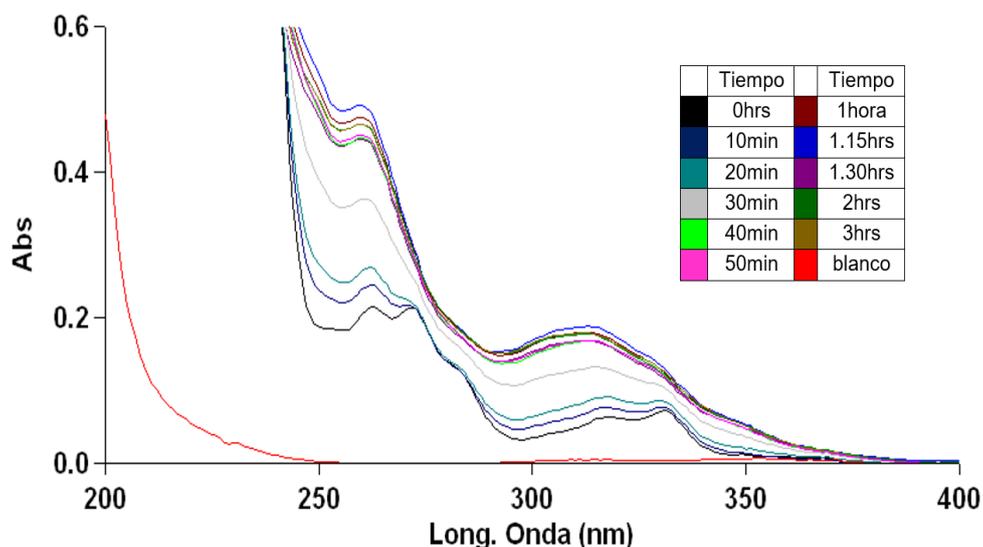


Figura 3b. Espectro de absorción en presencia de luz solar. [NPX] = 10 mg.L⁻¹, Vagitación = 200 rpm, T_{amb}.

Para ambos casos, un efecto hipsocrómico e hiperocrómico se observa en el pico de absorción localizado a 263nm, mientras que, a las longitudes de onda de 272, 318 y 331 nm los picos de absorción desaparecen, esto conforme transcurre el tiempo de exposición. Lo anterior, al igual que en el caso antes mencionado, muy probablemente se deba a la presencia de los metabolitos del naproxeno producidos durante el proceso de degradación.

Por otro lado, es importante notar que el proceso de degradación es más rápido en la muestra expuesta a los rayos solares en el horario de 13 a 16 hrs, ya que, la deformación de los picos de absorción y la ausencia de los mismos a 272, 318 y 331 nm se observa a los 10 y 30 minutos de exposición, respectivamente, mientras que para el horario de 10 a 13 hrs, estos cambios en el espectro se presentan a los 20 y 60 minutos de exposición.

Una vez estudiados los cambios producidos en el espectro de absorción de la molécula de naproxeno en ausencia y en presencia de luz solar, se procedió a realizar el estudio utilizando una lámpara de UV operando a una longitud de onda de 395 nm. Lo anterior, con la finalidad de simular una parte de los rayos ultravioleta que caen a la superficie terrestre junto con los rayos solares. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.

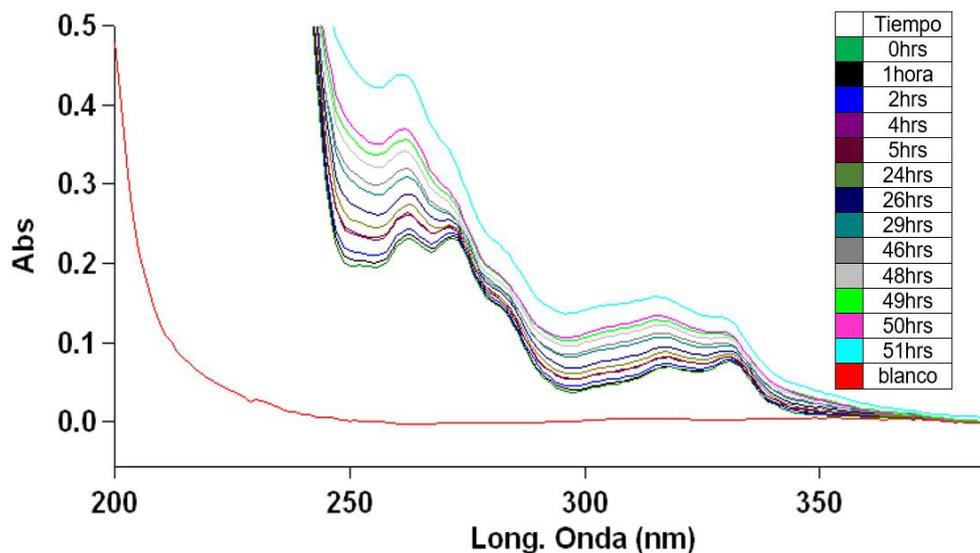


Figura 4. Espectro de absorción del NPX en presencia de luz UV a 395 nm. $[NPX] = 10 \text{ mg.L}^{-1}$, $v_{\text{agitación}} = 200 \text{ rpm}$, T_{amb} .

Como se puede apreciar, el espectro de absorción sufre las mismas modificaciones observadas en el caso de la muestra expuesta a los rayos solares (ver Figura 3). Sin embargo, comparando ambas condiciones, se observa que el proceso de degradación es más lento cuando la solución de NPX se expone a la lámpara de UV, debido a que los cambios en el espectro se comienzan a observar a partir de las 4 hrs de exposición.

Por lo anterior, se procedió a llevar a cabo el mismo estudio, pero ahora utilizando un recipiente rectangular en vez de uno cilíndrico, con el fin de observar si es posible acelerar el proceso de degradación. La Figura 5 muestra el gráfico con los espectros de absorción registrados.

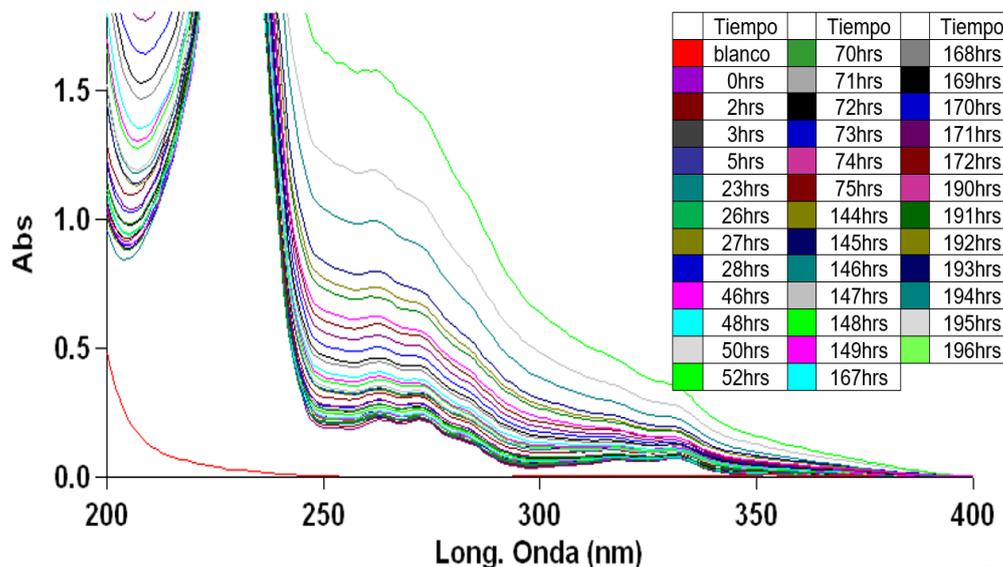


Figura 5. Espectro de absorción del NPX en presencia de luz UV a 395 nm. $[NPX] = 10 \text{ mg.L}^{-1}$, $v_{\text{agitación}} = 200 \text{ rpm}$, T_{amb} .

A partir de la figura, se puede observar que el espectro de absorción sufre cambios al igual que los casos anteriores, pero el proceso de degradación es aún mucho más lento que el observado en el caso donde se utilizó el recipiente cilíndrico (vaso de precipitado). A pesar de que el recipiente rectangular ofrezca una mayor área de exposición, posiblemente la proximidad entre la luz UV y la solución de NPX sea menor, ocasionando de esta manera el fenómeno reportado.

CONCLUSIONES

El nivel de degradación que presenta el principio activo es alto cuando la solución de naproxeno es expuesta a los rayos solares en el horario de 13 a 16 hrs, con lo cual se concluye que los rayos de luz en ese horario son más fuertes que los que caen en la superficie terrestre de 10 a 13 hrs.

A su vez, se puede concluir que utilizando la lámpara de UV a 395 nm no resulta tan eficiente como el conjunto de haces que conforman a la luz solar. Además, se observó que entre más cerca se encuentre el haz de luz UV a la superficie de la muestra, el proceso de degradación será más rápido.

Lo anterior, demuestra que la molécula de naproxeno puede sufrir un proceso de descomposición bajo condiciones naturales, sin embargo, resulta importante el monitorear los metabolitos generados para ver si es posible su completa degradación bajo las mismas condiciones estudiadas en el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Pal, A., Gin K.Y.-H., Lin A.Y.-C., and Reinhard M. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Sci Total Environ.* 408, 2010: p. 6062-6069.
- [2] Agirrezabala, J. y colaboradores (2016) "Farmacontaminación. Impacto ambiental de los medicamentos" en *Infac*, volumen 24, N° 10,. Consultada en: http://files.sld.cu/medicamentos/files/2017/01/INFAC_Vol_24_n_10_farmacontaminacion.pdf
- [3] Isidori, M., Lavorgna, M., Nardellia, A., Parrella, A., Previtiera, L. y Rubino, M. "Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products". En *Science of the Total Environment*, 2005; (348), 93-101.
- [4] Marotta, R., Spasiano, D., Di Somma, I. y Androozzi, R. "Photodegradation of naproxen and its photoproducts in aqueous solution at 254 nm: A kinetic investigation". En *Water Research*, 2013; (47), 373-383.
- [5] Siemens, J., Huschek G., Siebe C., and Kaupenjohann M. "Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico city-Mezquital Valley". *Water Research.* 42, p. 2124-2134, 2008.
- [6] Gibson R, Durán-Álvarez JC, Es KL, Cisneros BJ. "Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico". *Chemosphere.* 81, p. 1437-45, 2010.

CARBONATACIÓN DE SULFATO DE ESTRONCIO A PARTIR DE MINERAL CELESTITA A ESTRONCIANITA COMO PRECURSOR PARA LA FORMACIÓN DE FERRITAS USANDO CARBONATO DE SODIO Y CARBONATO DE POTASIO.

Moncada Guerrero Juanita Liliana¹, Treviño Vera Gloria Guadalupe y Rosales Sosa Ma. Gloria²

RESUMEN

En el presente trabajo se obtuvo carbonato de estroncio a partir del mineral celestita en un medio acuoso haciendo uso de carbonato de sodio y carbonato de potasio, ambos en relación estequiométrica y siguiendo el mismo procedimiento, para eso el mineral celestita tuvo que pasar por diferentes etapas tales como molienda, lixiviación, neutralización y carbonatación, el tiempo fue un punto clave para obtener el carbonato de estroncio para cada muestra, después de obtener el material pulverizado a 270 mallas, se lixivió durante 15 minutos 50 gramos de carbonato de sodio y de potasio, ambos se neutralizaron y posteriormente se inició la carbonatación, el resultado comprueba que el carbonato de sodio es más eficiente para la obtención de carbonato de estroncio.

ABSTRACT.

In the present work, strontium carbonate was obtained from the mineral celestite in an aqueous medium making use of sodium carbonate and potassium carbonate, both in the stoichiometric ratio and following the same procedure, for this the mineral celestite had to pass through the Different stages such as grinding, leaching, neutralization and carbonation, time was a key point to obtain the strontium carbonate for each sample, after obtaining the pulverized material at 270 meshes, 50 grams of sodium carbonate was leached for 15 minutes and of potassium, both were neutralized and later the carbonation was initiated, the result was that the sodium carbonate was more efficient to obtain the strontium carbonate.

Palabras claves: Celestita, acuoso, fenolftaleína, ácido.

INTRODUCCIÓN

El único estado productor de Celestita es Coahuila (40.1 ton), específicamente San Pedro y Cuatrociénegas. Ocupa el lugar número 3 en yacimientos en el planeta con ley 72.92%. Económicamente rentables la celestita y la estroncianita (SrSO_4 y SrCO_3) se forma naturalmente en depósitos sedimentarios, pero de acuerdo con estudios fisicoquímicos previos de la carbonatación pirohidrometalúrgica del Sulfato de Estroncio (SrSO_4), es factible la carbonatación del SrSO_4 presente en el mineral de celestita y convertirlo a estroncianita.

En este trabajo se utilizó el método cerámico o de conversión directa a partir del cual se llevó a cabo la carbonatación de la celestita en un medio acuoso utilizando una solución de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) y Carbonato de potasio (K_2SO_4) en relación estequiométrica. Se partió del mineral previamente lixiviado utilizando Ácido Clorhídrico (HCl) como agente lixivante, a 15 minutos y a una concentración de 2 M. La carbonatación se llevó a cabo a 100°C , y para asegurar la conversión completa se añadió un exceso de Carbonato de Sodio del 10%, así como con Carbonato de potasio, determinando la fracción reaccionada al precipitar el ión sulfato con Cloruro de Bario al 10%. Se obtuvo una eficiencia para Na_2CO_3 de 97.82% y para K_2CO_3 de 92.95% de Carbonato de Estroncio (SrCO_3).

METODOS Y MATERIALES

En esta sección se presentan los métodos empleados en la realización de este trabajo de investigación, desde el tratamiento del mineral de celestita con una pureza del 80% de SrSO_4 aproximadamente ya que contenía según el análisis inicial impurezas de Carbonato de Calcio, de Bario y Aluminatos, empleado como precursor del elemento estroncio hasta los tratamientos realizados para la obtención de la fase cristalina del Carbonato de Estroncio SrCO_3 .

Previamente para obtener el carbonato de Estroncio, fue necesario obtener el mineral de Celestita, para lo cual

¹Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila, Carretera 57 Kilómetro 5, Estancias de San Juan 25720 Monclova, Coahuila, estrella93_13@hotmail.com

²Facultad de Metalurgia, Universidad Autónoma de Coahuila Carretera 57 Kilómetro 5, Estancias de San Juan, Campus Universitario Autónoma de Coahuila, 25720 Monclova, Coahuila, mrosales@uadec.edu.mx

la celestita fue molida y tratada con ácido clorhídrico concentración 2M para la eliminación de impurezas y posteriormente neutralizada con Hidróxido de amonio para poder desechar los residuos y hacerlos amigables con el medio ambiente.

1.- Molienda. Para reducir el tamaño de la partícula hasta tener una granulometría final deseada a <270 mallas se utilizó equipo que trabaja por choques, aplastamiento o desgaste. En esta etapa se llevó a cabo la disminución del tamaño de la partícula del mineral de celestita en un molino de bolas y una trituradora ambos de la marca BICO INC con el objeto de obtener el tamaño requerido con el cual se logra un aumento en el área de contacto con el lixiviante. El tamaño de partícula inicial del mineral triturado fue de aproximadamente 125 mm de diámetro.

2.-Granulometría. Se realizó un muestreo por cuarteo de mineral molido de celestita. Se colocaron 100 g de muestra en un sistema ROTAP para su análisis granulométrico. El porcentaje de cada malla se realizó por análisis gravimétrico.

3.-Lixiviación. La lixiviación es un proceso en el cual se extrae uno o varios solutos de un sólido mediante la utilización de un disolvente líquido. Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos pueden difundirse desde el sólido a la fase líquida, lo que produce una separación de los componentes originales del sólido. La lixiviación es la eliminación de una fracción soluble, en forma de solución, a partir de una fase sólida permeable e insoluble a la cual está asociada.

4.-Lixiviación y Neutralización. Se realizó la lixiviación del mineral con malla <270; se tomaron muestras de 50 g. La muestra se colocó en vaso de precipitado de 100 mL se utilizó como agente lixiviante Ácido Clorhídrico en concentración 2 M en agua destilada. Las muestras se digirieron durante 15 min cada una de ellas en estufa de agitación magnética; Se añadió 3 gotas de fenolftaleína como indicador y se agregó Hidróxido de amonio concentrado para la neutralización, posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman No.40 y embudo buchner utilizando filtración rápida y bomba de vacío, FRANKLIN ELECTRIC Mod. 115 V, 1/8 HP, RPM; 1725, en seguida se lavaron con 10 mL de agua destilada caliente, el papel filtro se colocó en un vidrio de reloj y se dejó evaporar el agua en un desecador. Las muestras secas se pesaron y se calculó la cantidad de impurezas eliminadas en el proceso.

5.-Carbonatación. Se adicionó la muestra desecada en un matraz Erlenmeyer DE 500 mL con una solución de carbonato de Sodio calculada estequiométricamente y con un 10 % de exceso, se midió el pH debiendo estar mayor de 12, posteriormente se colocó en una parrilla de agitación magnética marca LABTECH DAIHAN LABTECH Co. LTD, Model LMS-1003 127V 60 Hz 500W/5ª Serie No. 2016062451 El mismo procedimiento se llevó a cabo para la carbonatación con Carbonato de potasio.

RESULTADOS

A continuación, se resumen los resultados obtenidos:

LIXIVIACIÓN.

Como fase inicial y etapa preliminar se realizó la lixiviación del mineral con malla <270, para eliminar impurezas propias del mineral, tales como: iones de calcio, bario, etc. Se llevó a cabo empleando HCl con concentraciones de 2M,; con tiempos de 15 min y con agitación magnética, se tomaron muestras de 50 g (Se utilizó el diseño de experimentos exponencial o tablas de verdad con las variables a utilizar en el procedimiento y resultó en 8). La muestra se colocó en un vaso de precipitado de 250 mL con 100 mL de HCl 2M según correspondiera a la muestra, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla. 1. Muestra los resultados obtenidos y porcentajes de eliminación de impurezas, con la temperatura, tiempo y concentración para cada una de las muestras tratadas.

No. muestra	Cantidad de SrSO ₄ obtenida de la lixiviación	Cantidad de impurezas= %	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Concentración [M]
1	48.8635 gr	1.1365 g =2.3258 %	100	15	2
2	47.6424 gr	2.3575 g = 4.9485 %	100	15	2

La muestra número 1 pertenece al Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) y la muestra número 2 al Carbonato de potasio (K₂SO₄), ambas se realizaron en concentraciones 2 M y a la misma temperatura y tiempo, podemos notar que la prueba con Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) se perdió menos materia que con el Carbonato de potasio (K₂SO₄).

CARBONATAACION. El estudio termodinámico para la formación del Carbonato de Estroncio que proporciona el HSC5.1 de Química, según el diagrama Eh-pH muestra los elementos y compuestos que se involucran en el sistema como el Sr, C, Na, y el S y el agua como medio de la disolución, buscando la factibilidad de la reacción entre el sulfato de estroncio y el carbonato de sodio en solución acuosa, ya que precisamente es la diferencia en solubilidades la que proporciona la fuerza impulsora para la reacción a una temperatura de 100°C y a una atmosfera de presión, dando lugar a la gráfica en la que se observa que el potencial del electrodo disminuye conforme aumenta el pH observándose que en el rango de pH que se trató al mineral celestita lixiviado y neutralizado fue entre 10 y 12 por lo que las especies que pueden existir en ese sistema están el Carbonato de Estroncio y el Hidróxido de Estroncio lo cual nos indica que la reacción está controlada por el pH y la concentración cuando usamos carbonato de sodio y tiene el mismo comportamiento cuando usamos Carbonato de Potasio. El diagrama proporciona los valores de $\Delta G = -268.842$ kcal/mol para el Carbonato de Estroncio a 100 °C y $\Delta G = -314.658$ kcal/mol para el Sulfato de Estroncio a la misma temperatura.

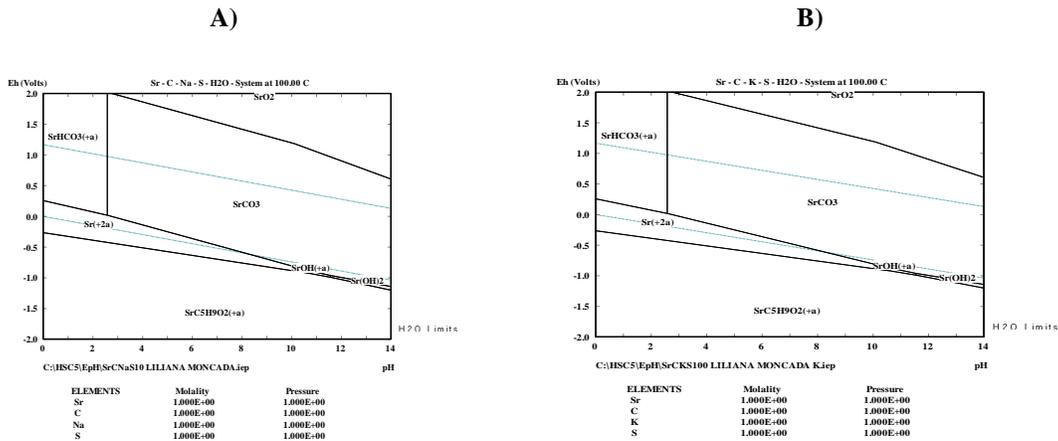


Figura 1. Diagrama Eh-pH que muestra la factibilidad de la formación de Carbonato de Estroncio. A) sistema Sr,C,Na y S y B) Sistema Sr, C, K y S.

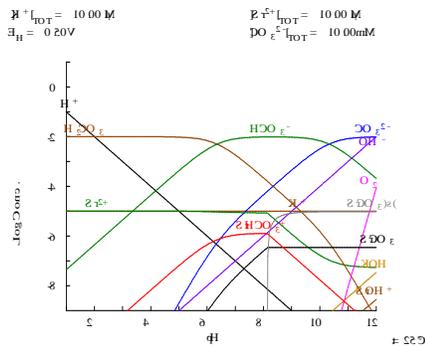


Figura 2. Diagrama que muestra las reacciones que intervienen en la formación del Carbonato de Estroncio a 25 °C en software MEDUSA a partir de Sulfato de Estroncio y Carbonato de Sodio.

El Diagrama en MEDUSA, proporciona información acerca del pH entre 6-8 la reacción es controlada por la concentración que es $1 \times 10^{-6.5}$ y el pH, mientras que de 8-12 la reacción es controlada por el pH.

Tabla. 2. Muestra la fracción reaccionada usando Carbonato de Sodio y Carbonato de Potasio.

MUESTRA	30 min	60 min	90 min	120 min	CARBONATO DE ESTRONCIO OBTENIDO	% DE RENDIMIENTO o eficiencia
1 Na_2CO_3	0.0107 g	0.1229 g	1.0412 g	0.3832 g	29.9738 g	97.82
2 K_2CO_3	0.4325 g	0.7283 g	1.3641 g	1.1132 g	28.7593 g	92.95

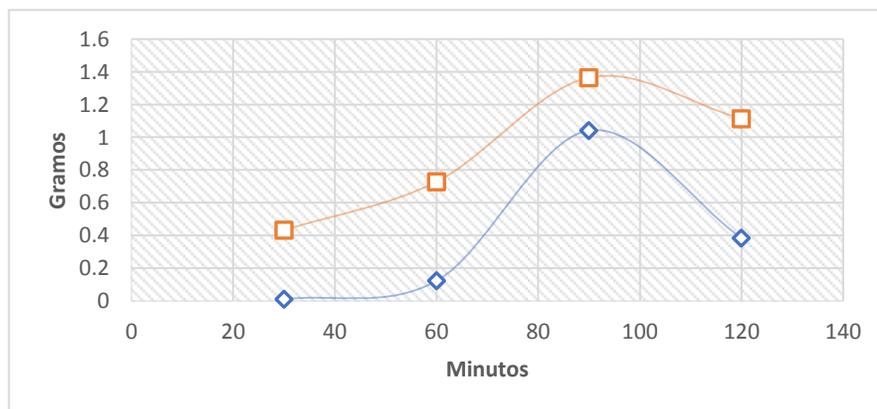


Figura 3. Grafica que muestra los resultados de la carbonatación en cuatro rangos de tiempo, la línea color azul pertenece al Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) y el color naranja al Carbonato de potasio (K_2CO_3).

Para determinar la cinética de la reacción de la obtención del carbonato de estroncio a partir del mineral de celestita lixiviada se determinó la fracción reaccionada tomando como base la pérdida en peso del mineral durante la reacción de carbonatación en un rango de tiempo de 30, 60, 90 y 120 min, haciendo precipitar con cloruro de bario al 10% el ion sulfato, sacando en cada intervalo una muestra de 3 mL agregando 25 mL de agua y añadiendo 1 mL de ácido clorhídrico concentrado para acidularla con 2 mL de cloruro de Bario al 10%.

CARACTERIZACIÓN

Análisis inicial. Difracción de Rayos X. Para la determinación de la composición de las muestras se utilizó un Difractómetro de Rayos X D8 Advance marca Bruker, el equipo se manejó en un rango de 2θ de 20-100, con un incremento (step) de 0.020° y con un incremento de tiempo (step time) de 1.2 segundo a una temperatura de 25°C

La caracterización de las muestras tratadas se realizó DRX en el en la Facultad de Metalurgia de la Uniersidad Autónoma de Coahuila

De cada una de las muestras originales que se trataron y donde se espera su puedan observar los picos de una nueva fase cristalina que en composición correspondan a la fase cristalina SrCO_3 (carta JCPDS 84-1778).

En la figura 4 podemos observar el difractograma de la celestita lixiviada y carbonatada con carbonato de sodio señalada con la línea roja, donde podemos observar, que la mayoría de los picos encontrados corresponde a la fase carbonato de estroncio, según carta (96-901-3803) de software match, sin embargo, el pico correspondiente al ángulo 2θ de 51.87 , es coincidente con la fase sulfato de estroncio. La línea negra corresponde a la celestita lixiviada y carbonatada con carbonato de potasio, en el mismo podemos apreciar que la totalidad de los picos corresponden a la fase carbonato de estroncio, según software match versión 1.11

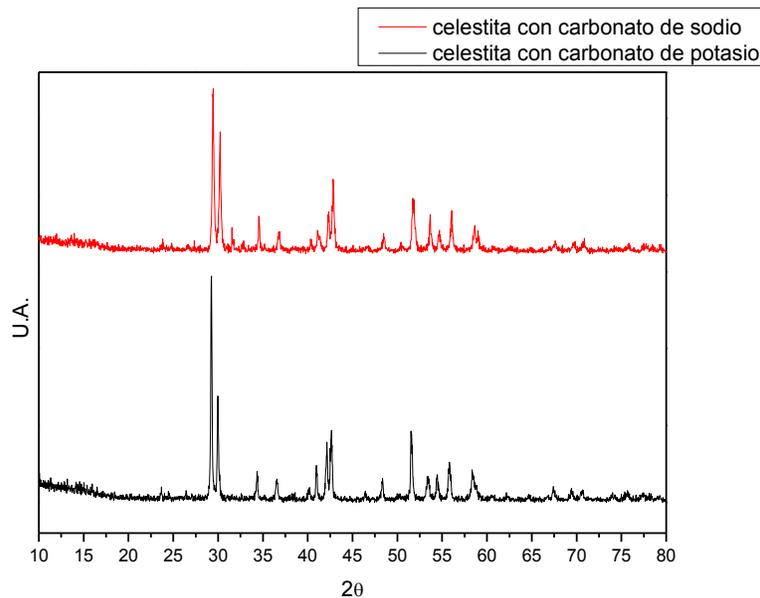


Figura 4. Difractograma de la celestita tratada con carbonato de sodio (línea roja) y con carbonato de potasio (línea negra).

CONCLUSIONES

El mineral celestita es una fuente extraordinaria de producción de Carbonato de Estroncio, ya que se obtuvieron eficiencias del 97.82% usando Carbonato de Sodio y de 92.95% usando carbonato de potasio en la síntesis y conversión hidrometalúrgica directa, observando que se obtiene mayor eficiencia con el carbonato de sodio, aunque precipita con mayor facilidad con el carbonato de potasio debido a la diferencia de solubilidades.

El lixivante ácido clorhídrico 2M es la concentración óptima ya que se obtiene más muestra lixiviada eliminado hasta un 3.5% en promedio de impurezas y más carbonato de estroncio a los 15 minutos

La lixiviación con agitación magnética es propicia ya que se atrapan partículas de hierro que no alcanzan a eliminarse con el agente digestor-

La formación de carbonato de estroncio es factible según el estudio termodinámico obtenido del software HSC5.1 de Química y corroborado con MEDUSA.

Los difractogramas obtenidos de la caracterización, muestran la cristalinidad de los carbonatos de estroncio según carta (96-901-3803) de software match.

Aunque se obtiene más eficiencia de conversión usando carbonato de sodio, que, con el carbonato de potasio, el difractograma nos muestra fases de celestita, pero predomina la fase de carbonato de estroncio.

BIBLIOGRAFIA

- [1] De la Cruz, B.F., (1992), "Estudio Cinético de la Conversión Hidrometalurgica Directa de Celestita a Carbonato de Estroncio", p.33
- [2] E.G. Viser, Developments in Soft Magnetic Ferrites for Power Applications. Philips Components, Corporate Innovation Materials.
- [3] Anuario Estadístico de la Minería Mexicana, COREMI y 2002 Dirección General de Minas, DGPM con base a las cifras del Sistema de Información Comercial de México (SICM.) Secretaria de Economía.
- [4] International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 2, No. 4, August 2011
- [5] Perry, R.H. "Manual del Ingeniero Químico", Vol. III Septima Edición, Editorial Mc Graw Hill pp. 28-68 (2003)
- [6] Carrillo, F.R."Estudio de Laboratorio de la lixiviación de la celestita en Tanque Pachuca" (1995)
- [7] M. Iwai y J.M. Toguri, "The Leaching of Celestite in Sodium Carbonate Solution", Hidrometallurgy, 22, pp 87-100 (1989).

CARBONIZACIÓN HIDROTHERMAL DE GLUCOSA Y CELULOSA

Herrera Medina, K.S.¹ y Alonso Dávila, P.A.²

RESUMEN

Se llevó a cabo una carbonización hidrotermal, técnica amigable con el medio ambiente, que prepara hidrocarburos a base de carbohidratos en medio acuoso. Se utilizó una temperatura de 200 °C, con periodos de tiempo de 2 a 24 h y una concentración de 0.89 g de glucosa/celulosa en 7.1 ml de agua desionizada, en un recipiente de teflón con una capacidad de 19.635 ml. La glucosa forma estructura superficial a las 4 horas, mientras que la celulosa la forma a las 6 h. En cuanto a la aromatización del producto carbonoso, la glucosa forma anillos desde las 4 h, y la celulosa la forma de manera eficiente a las 18 h. En forma general la celulosa tiene mejor rendimiento, alcanzado hasta el 41 % comparado con el 28 % de la glucosa. La caracterización se llevó a cabo por espectrofotometría infrarroja.

ABSTRACT

A hydrothermal carbonization was carried out, an environmentally friendly technique that prepares hydrochars from carbohydrates in aqueous medium. A temperature of 200 °C was applied, with periods of time from 2 to 24 h and a concentration of 0.89 g of glucose/cellulose in 7.1 ml of deionized water, in a teflon container with a capacity of 19,635 ml. Glucose forms surface structure at 4 hours, while cellulose forms it with 6 h. As for the aromatization of the carbonaceous product, glucose forms rings since 4 h of residence, and cellulose forms it efficiently within 6 h. In general, cellulose has better yield, reached up to 41% compared to 28% of glucose. The characterization was made with infrared spectrophotometry.

Palabras Clave: Carbonización, Hidrotermal, Hidrocarburo, Glucosa, Celulosa.

INTRODUCCIÓN

Recientemente se ha producido una gran demanda de materiales a base de carbono, y el aprovechamiento de biomasa; que se utilizan como auxiliares en catálisis, como adsorbedores de sustancias no deseadas, otra aplicación es como mejoradores de suelo. Aplicando técnicas que sean amigables con el medio ambiente, más económicas y con materias primas renovables para crear menor impacto en el planeta, eliminando la utilización de carbones fósiles. [1,2] Existen distintos métodos para convertir biomasa a productos carbonosos, la carbonización hidrotermal es un proceso que se lleva a cabo en condiciones ligeramente ácidas, la solución acuosa de carbohidratos, se calienta entre 180 y 250 °C en un recipiente cerrado, formando estructuras carbonosas que se condensan dentro del reactor. Se eliminan aproximadamente 4 a 5 unidades de agua por cada molécula de carbohidrato. [3] Para hacer el hidrocarburo (HC) no es necesario secar los materiales, se ahorra energía y los costos de producción son menores. Otra vía de carbonización es la pirolisis, siendo la más común, requiere temperaturas muy altas, para lograr la carbonización de la materia prima y produce 12% de *biochar*; la gasificación, produce entre 10 y 20% de *biochar* y la carbonización hidrotermal entre 37 y 70% de hidrocarburo (hydrochar) (HC); se entiende *biochar* e (hydrochar) hidrocarburo como un material carbonoso, diferenciado únicamente por la técnica utilizada. La carbonización hidrotermal no solo produce HC en condiciones sencillas y amigables, produce la mayor cantidad del mismo, a comparación de las otras técnicas comúnmente usadas.

En el mejoramiento de suelos se aplica el hidrocarburo al suelo, enterrándolo o aplicándolo junto a otro tipo de fertilizantes o sustratos, aumentando su capacidad de intercambio catiónico, provocando que el suelo inmovilice NH₄, K, Ca, Mg, esto se relaciona con su carga superficial negativa. A su vez, la aplicación del hidrocarburo al suelo modifica propiedades físicas, como son la textura, retención de humedad, que conlleva el crecimiento de

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila; Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila, C.P. 27275, Torreón, Coah., herrerassofia@gmail.com

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí; Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., palonsod@uaslp.mx

microorganismos y la facilidad de las plantas para crecer. [4] Los biocarbonos en el suelo tiene una forma de fertilización a largo plazo, interactuando con el suelo de manera constante por periodos prolongados. El hidrocarbano también se conoce por sustituir el carbón negro y el carbón activado. El material que resulta de la síntesis hidrotermal da como resultado: materiales con densidades altas, superficies más oxigenadas lo que resulta útil para usarlo también como absorbente en la remoción de sustancias que dañan el medioambiente. [5]

MÉTODOS Y MATERIALES

Se utilizó glucosa marca Golden Bell con un peso molecular de 180.16 g/mol, y celulosa marca Sigma Aldrich, con un peso molecular de 162.1 g/mol; en una relación de 0.8920 gramos en 7.1 ml de agua desionizada, corresponde a una relación molar de 0.6958 mmol/ml. La solución acuosa se colocó en un recipiente de teflón con una capacidad de 19.635 ml, colocado dentro de un recipiente de acero inoxidable. Tanto en la celulosa como en la glucosa se utilizaron temperaturas de 200 °C con un rango de +/- 4 °C en una mufla, no fue posible medir ni controlar la presión. La glucosa tuvo residencias de 2, 4, 6 y 24 h, mientras que la celulosa 4 y 18h. Se dejó enfriar el recipiente a temperatura ambiente, para posteriormente aplicar un lavado del HC con agua desionizada hasta obtener un filtrado cristalino. La filtración se realizó con un embudo de filtración, y papel filtro previamente pesado. Se secó el HC en el papel filtro en una estufa Binder a 80 °C por 4 h.

La caracterización se llevó a cabo con espectrofotometría infrarroja, para conocer la posible estructura del HC obtenido. Se utilizará además espectroscopia RAMAN para obtener información más precisa de la estructura superficial y complementar las conclusiones obtenidas, dichos resultados no serán parte del contenido de este reporte.

RESULTADOS

Tabla 1. Relaciones de los parámetros y porcentaje de rendimiento.

Código	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	HC (g)	Rendimiento (%)
G200-2h	200	2	0.0512	-
G200-4h	200	4	0.1795	21.88
G200-6h	200	6	0.2362	26.49
G200-24h	200	24	0.2557	28.65
C200-4h	200	4	0.3667	40.96
C200-18h	200	18	0.3005	33.70

Los codigos utilizados son G para la glucosa y C para la celulosa, seguido por la temperatura y el tiempo de calentamiento (Tabla 1). El porcentaje de rendimiento se obtiene mediante la división del peso del producto recuperado despues del lavado, filtrado y secado, entre la cantidad de biomasa utilizada. Se entiende como rendimiento a la cantidad de hidrocarbano obtenido a partir de la glucosa/celulosa.

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso del producto recuperado (g)}}{\text{Peso del carbohidrato utilizado (g)}} \times 100$$

El espectro infrarrojo nos muestra el cambio que sufrió la glucosa en el proceso de carbonizacion hidrotermal. Los IR (Fig. 1) indicaron que los hidrocarbonos preparados a 200 °C por 4, 6 y 24h, son similares, mostrando una deshidratación y aromatización de la glucosa. El pico mostrado entre 3000 y 3600 cm⁻¹ correspondre a las vibraciones de estiramiento del -OH alifatico, los picos entre 1000 y 1500 cm⁻¹ muestran vibraciones de estiramiento de -CO, que pueden ser de esteress, eteress, fenoles y alcoholes alifaticos. El pico entre 1650 y 1800 cm⁻¹ solo se

encuentra en el IR del (hydrochar) hidrocarburo, muestra las vibraciones causadas por C=O de esteres, quinonas, pironas, acidos carboxilicos o aldehidos, mientras que el pico entre 1500 y 1650 cm^{-1} indica un doble enlace carbono-carbono. El pico entre 2800 y 3000 cm^{-1} es por las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H alifaticos, indicando la presencia de estructuras alifaticas. [5] Se puede observar la disminuci3n del pico -OH y el incremento de los picos de C=O y C=C entre 1600 y 1700 cm^{-1} , entre el tiempo de 4h y 24h, indicando formaci3n de anillos aromaticos. Mientras que la disminuci3n del pico representativo de -OH indica una deshidrataci3n de la glucosa.

Las rutas reportadas sobre el proceso de la glucosa a HC, muestran una isomerizaci3n a fructosa. Se deshidrata y se descompone en compuestos furfurales como el 5-hidrometilfurfural. [6] El 5-hidrometilfurfural se conoce por su gran producci3n en la deshidrataci3n de hexosas y es el precursor de la formaci3n de compuestos carbonosos. [7] Los compuestos tipo furfural generan 3cidos, aldehidos y fenoles. [8] Seguio de polimerizaciones y reacciones de condensaci3n que provocan la formaci3n de polimeros solubles. Al mismo tiempo se aromatizan los polimeros. [9] Los grupos C=O son resultado de la deshidrataci3n del grupo -OH.

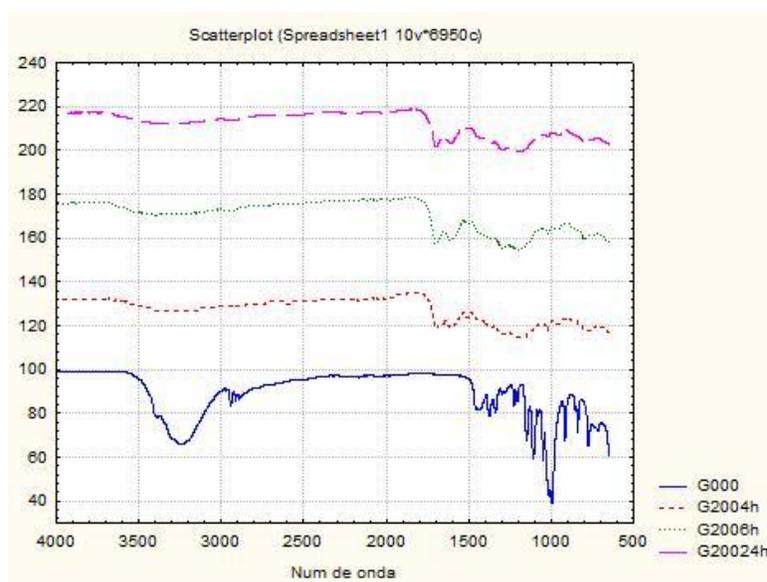


Fig. 1 Espectro Infrarrojo de Glucosa, G200-4h, G200-6h, G200-24h

La celulosa present3 en el tiempo de 18h los mismos picos que el hidrocarburo formado con la glucosa, lo que indica la formaci3n de hidrocarburo. Sin embargo, cuando la celulosa tuvo un tiempo de residencia de 4h, muestra 3nicamente alargamiento del pico ubicado entre 1000 y 1050 cm^{-1} y el pico representativo del -OH, sin ning3n otro tipo de cambio en su estructura, esto nos muestra que en un tiempo de 4h no formo la estructura esperada, esto es debido a que la celulosa es un pol3mero formado por glucosa y requiere m3s tiempo para descomponerse primero en mol3culas de glucosa hasta llegar a un producto carbonoso.

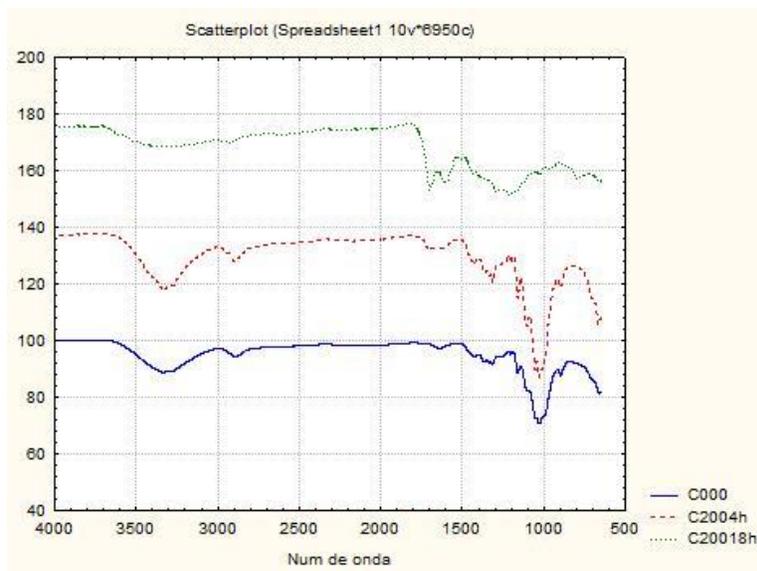


Fig. 2 Espectro infrarrojo de Celulosa, C200-4h, C200-18h

También se realizó carbonización hidrotérmica de residuo de café a 200 °C por 18 h, obteniendo un rendimiento del 17 %. La biomasa utilizada tenía un 54 % de humedad. La caracterización por IR y RAMAN se llevará a cabo posteriormente y no están incluidas en este reporte.

CONCLUSIONES

La carbonización hidrotérmica de biomasa (glucosa y celulosa) se llevó a cabo a la temperatura de 200 °C, obteniendo hidrocarburo (hydrocar) desde tiempos de 4h de residencia en la mufla. El rendimiento de conversión de glucosa a hidrocarburo no mostró un porcentaje mayor del 30%, no hubo gran diferencia en la estructura de 4, 6 y 24h; sin embargo, a mayor tiempo de residencia, mayor formación de anillos aromáticos en la estructura. Con glucosa la estructura superficial ya se forma a las 4 horas con poca aromatización. La celulosa presentó mejores rendimientos, obteniendo casi 41% con tan solo 18 h, no presenta aromatización a 4 horas, pero esta es muy importante a 18 horas. Es importante continuar el estudio con celulosa para elucidar el efecto de la temperatura.

BIBLIOGRAFIA

- Elaigwu, S.E. y Greenway, G.M., 2016, Chemical, structural and energy properties of hydrochars from microwave-assisted hydrothermal carbonization of glucose, *International Journal of Industrial Chemistry*, 7, 449–456.
- Titirici, M. *et al.*, 2007, Back in the black: hydrothermal carbonization of plant material as an efficient chemical process to treat the CO₂ problem?, *New J. Chem.*, 31, 787-789.
- Lilliestråle, A., 2007, *Hydrothermal carbonization of biowaste – a step towards efficient carbon sequestration and sustainable energy production*, Uppsala University School of Engineering, Uppsala, Sweden.
- Escalante Rebolledo, A., G. Pérez López, C. Hidalgo Moreno, J. López Collado, J. Campo Alves, E. Valtierra Pacheco y J. D. Etchevers Barra, 2016, Biocarbón (biochar) I: Naturaleza, historia, fabricación y uso en el suelo, *Terra Latinoamericana*, 34, 367-382.
- Nizamudin, S., Jayakumar, N. S., Sahu, J. N., *et al.*, 2015, Synthesis and characterization of hydrochars produced by hydrothermal carbonization of oil palm shell, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93 (11), 1916-1921.
- Simsir, H. *et al.*, 2017, Hydrothermal carbonization for the preparation of hydrochars from glucose, cellulose, chitin, chitosan and wood chips via low-temperature and their characterization, *Bioresource Technology*, 246, 82-87.
- Sevilla, M., Fuertes, A.B., 2009, The production of carbon materials by hydrothermal carbonization of cellulose, *Carbon an international journal*, 47, 2281-2289.

Falco, C., Perez Caballero, F., Babonneau, F., et al., 2011, Hydrothermal carbon from biomass: structural differences between hydrothermal and pyrolyzed carbons via ^{13}C solid state NMR, *Langmuir*, 27 (23), 14460–14471.

Ogihara Y, Smith Jr RL, Inomata H, Arai K., 2005, Direct observation of cellulose dissolution in subcritical and supercritical water over a wide range of water densities (550–1000 kg/m³), *Cellulose*, 12(6), 595–606.

Asghari F.S., Yoshida, H., 2006, Acid-catalyzed production of 5- hydroxymethyl furfural from D-fructose in subcritical water, *Ind Eng Chem Res*, 45(7), 2163–2173.

EVALUACIÓN DE ÁCIDO INDOL-3-BUTÍRICO PARA PROMOCIÓN DE LA GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE HORTALIZAS

Karyme Martínez Alvarado¹ y Yessica Torrero Garza²

RESUMEN

Una de las fitohormonas vegetales más utilizadas en formación de raíces es el ácido Indol-3-butírico, este ha sido probado en granos básicos y tomate por la empresa Intercontinental Import Export, 2010. Por lo tanto, surgió la cuestión acerca del efecto que causa el ácido Indol-3-butírico involucrándose principalmente en la germinación de semillas de hortalizas; el ácido Indol-3-butírico tendrá efecto en la germinación y vigor de crecimiento en plántulas de tomate y lechuga ya que las auxinas están involucradas en procesos de desarrollo vegetal como lo es en crecimiento, enraizamiento y dominancia apical. Debido a lo anterior surge la necesidad de evaluar el efecto del ácido Indol-3-butírico en semillas de hortalizas que tienen cierto grado de dificultad para germinar y evitando su pérdida, utilizando en diferentes concentraciones de ingrediente activo del producto: Radix® T 1500 (AIB 0.15%), Radix® T 2000 (AIB 0.2%), Radix® T 2500 (AIB 0.25%) y Radix® T 3000 (AIB 0.3%). El experimento se realizó en las instalaciones de ITESA bajo una estructura de malla sombra y una cubierta plástica; utilizando como unidades experimentales charolas de 50 cavidades, como sustrato una mezcla de Peat moss® y perlita, se utilizó una charola para cada tratamiento y un testigo, la cantidad requerida para el tratamiento en seco fue de 5g de AIB por kg de semilla. Tomando como variable de respuesta el porcentaje de semillas germinadas.

ABSTRACT

Indole-3-butyric acid is one of the most used plant hormones (phytohormones) in root formation. This acid has been tested in basic grains and tomato for the company Intercontinental Import Export, 2010. For that reason arose the question, what would be the affect of the indole-3-butyric acid in vegetables seeds germination. The indole-3-butyric acid will have effect on germination and vigor of growth of tomato and lettuce seedlings because the auxins are involved in the plant growth process like rooting and apical dominance. In order to evaluate this effect in vegetables seed in relation to its germination because of this short germination range due avoiding seed lost, it was used different concentration with active ingredient: (indole-3-butyric acid) that contains the product Radix®. The investigation has been made in the ITESA facilities under a structure made from shade cloth and a plastic cover, using as experimental measures trays with 50 cavities and mix of Peat moss® and perlite as substratum. It was used a tray for each treatment and one more as witness. The quantity required for the dry treatment was 5 g per kg of seed, taking as measure the percent of germinated seeds.

Palabras clave: fitohormonas vegetales, germinación, hortalizas, ácido indol butírico, sustrato.

INTRODUCCIÓN

La demanda de hortalizas en el mercado tiene una exigencia de producción muy grande, debido a que poseen mayor densidad de siembra y productividad económica, por otra parte, las condiciones climatológicas han tomado gran parte en la determinación de volúmenes anuales de producción (Cruz-Delgado, Leos-Rodríguez, & Altamirano-Cárdenas, 2013). México es el proveedor principal de hortalizas para Estados Unidos, el valor de producción ha crecido en tasas de suma importancia. En 2015, la producción agrícola de hortalizas fue de 11.6% cosechándose en hortalizas 269 mil toneladas (SAGARPA, 2016).

La producción de hortalizas requiere de la adquisición de plántulas de productores encargados de su propagación, con costos similares si el productor produjera sus propios semilleros. Debido a que han ocurrido cambios en los

¹ Instituto Tecnológico Superior de Abasolo (ITESA), Ingeniería de innovación agrícola sustentable, Blvd. Cuitzeo de los naranjos #401, Col. Cuitzeo de los naranjos, 36976, Abasolo, Guanajuato, karyme.mtza@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Abasolo (ITESA), Ingeniería de innovación agrícola sustentable, Blvd. Cuitzeo de los naranjos #401, Col. Cuitzeo de los naranjos, 36976, Abasolo, Guanajuato, yessica.torrero@tecabasolo.edu.mx

métodos y técnicas para producción de plántulas, estas suelen producirse en grandes escalas e invernaderos en los que es más factible controlar las condiciones apropiadas para una producción uniforme, de calidad y por todo el año (Ruelas, Ryszard, & Gracia, 2006). Es una práctica que evita pérdidas de semillas y garantiza una buena germinación, generalmente se realiza con semillas muy pequeñas y de alto costo (Huete, Rodríguez, & Andino, n.d.) realizándose en recipientes adecuados para depositar semillas y brindarles condiciones adecuadas como la luz, temperatura, humedad para obtener una buena germinación y emergencia en sus primeras etapas de desarrollo ya que son muy susceptibles a cualquier cambio, deben colocarse debajo de coberturas plásticas o invernaderos, riegos cortos pero frecuentes.

El desarrollo de las plantas está regulado por su nutrición vegetal que provee nutrientes esenciales en el sustrato y fisiológicamente por la producción natural de fitohormonas (Báez-pérez, González-molina, Moya, Bautista-cruz, & Ángeles, 2015) están involucradas en muchos de los procesos de desarrollo de las plantas que van desde la germinación de semillas hasta la formación de raíces, brotes y flores.

Las de mayor importancia son las auxinas, se ha explicado su rol involucrándose en procesos de crecimiento, floración, dominancia apical, crecimiento celular de meristemas y formación de raíces (Cruz-Delgado et al., 2013) la auxina más abundante en la naturaleza es el ácido Indol-3-acético (AIA), y en menores cantidades el ácido Indol-3-butírico (AIB), encontrándose en forma sintética como regulador de crecimiento o enraizador (Báez-pérez et al., 2015), es uno de los más utilizados en formación de raíces debido a que no causa efectos fitotóxicos (Condemarín-Montealegre, Chico-Ruíz, & Vargas-Arteaga, 2015), fue utilizado inicialmente como promotor de crecimiento de raíces en ornamentales y frutales (Báez-pérez et al., 2015) pero actualmente Intercontinental Import Export demostró que AIB proporciona beneficios directos en plantas de siembra por semilla, adquiriendo una mejor absorción de nutrientes, crecimiento acelerado y formación de raíces, obtuvo resultados positivos en mejor desarrollo en cultivos hortícolas como jitomate y en granos básicos (Intercontinental Import Export, 2010). A partir de estas investigaciones surgió la alternativa de utilizar el producto Radix de la empresa Intercontinental Import Export en diferentes concentraciones (1500, 2000, 2500 y 3000) como tratamiento en seco de semillas para evaluación del efecto en la germinación de semillas de hortalizas como lo son de tomate cherry (*Solanum Lycopersicum var. USAT*) y lechuga (*Latuca sativa*).

MÉTODOS Y MATERIALES

El lugar del experimento fue llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Abasolo (ITESA), en el municipio de Abasolo, Gto., bajo una estructura de invernadero con malla sombra y cubierta plástica, cuatro tratamientos y un testigo. Los materiales utilizados fueron charolas de plástico de 50 cavidades, sustrato Peat moss®, producto Radix® T 1500, Radix® T 2000, Radix® T 2500 y Radix® T 3000, semilla de tomate USAgriseeds especie F1-Tomato Indeterminate-Cocktail Grape variedad:USAT 425 tratamiento: THIRAM, semilla de lechuga (*Latuca sativa*) Rancho los Molinos, báscula analítica, autoclave, bolsas de poli papel, hipoclorito de sodio (Cloralex) al 5% para desinfección de agua, atomizador, Estreptomomicina 80% (equivalente a 150 g de I.A./kg) Oxitetraciclina 75% (equivalente a 15g de I.A./kg).

El método utilizado fue tratamiento de semilla en seco, para agregar cantidad adecuada del ácido Indol-3-butírico del producto Radix® se consideró la proporción recomendada por la ficha técnica comercial de 5 g de AIB por kg de semilla.



Figura 1. Producto Radix® utilizado para tratamiento de semillas.

Para el tratamiento de las semillas de tomate (*Solanum Lycopersicum var. USAT*) se utilizó una charola de 50 cavidades por tratamiento con dos semillas en cada una y un testigo, día de siembra: 19 de junio de 2018.

Para el tratamiento de las semillas de lechuga (*Latuca sativa*) se utilizó una charola de 50 cavidades por tratamiento con dos semillas en cada una y un testigo, día de siembra: 22 de junio de 2018.



Figura 2. Cantidad de ácido Indol butírico a utilizar.



Figura 3. Semillas de tomate USAgriseeds especie F1-Tomato con AIB.



Figura 4. Semillas de lechuga (Lactu sativa) con AIB.

El sustrato fue esterilizado en la autoclave y se saturó para colocarlo en las charolas y seguida la siembra de semillas con tratamiento se trasladaron a la estructura de malla sombra con cubierta de plástico para brindarle condiciones adecuadas para germinar.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en semilla de Tomate Cherry (*Solanum lycopersicum* var. *USAT*) en comparación con los cuatro tratamientos y el testigo no fueron significativos debido a que existe una germinación uniforme entre los cinco, lo cual indica que el tratamiento de semilla en seco no tiene efecto en la germinación de tomate cherry.

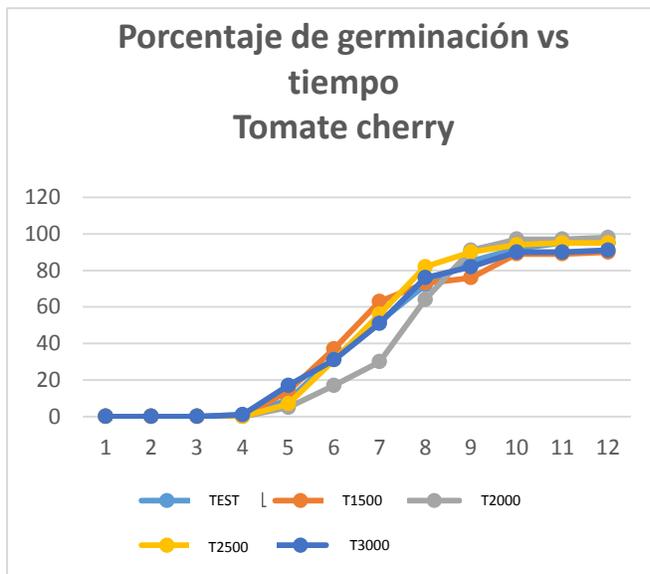


Figura 5. Gráfica donde se aprecia el porcentaje de germinación de semillas de tomate cherry (*Solanum lycopersicum* var. *USAT*)

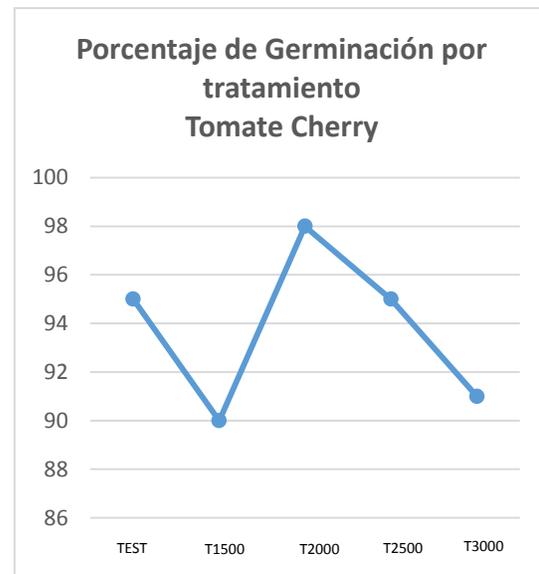


Figura 6. Gráfica donde se aprecia porcentaje de germinación por tratamiento AIB Radix®.

En las gráficas anteriores se evaluaron los cuatro tratamientos con AIB y un testigo durante 12 días y por tratamiento, cabe destacar que hubo un buen porcentaje de germinación, sin embargo, no se encuentra diferencia significativa que demuestre cual tratamiento funcionó o causó mayor efecto ya que fue una germinación muy uniforme.

Los resultados obtenidos en semilla de lechuga (*Latuca sativa*) en comparación con los cuatro tratamientos y el testigo no fueron significativos debido a que el testigo tuvo mayor germinación que cualquiera de los cuatro tratamientos con AIB.

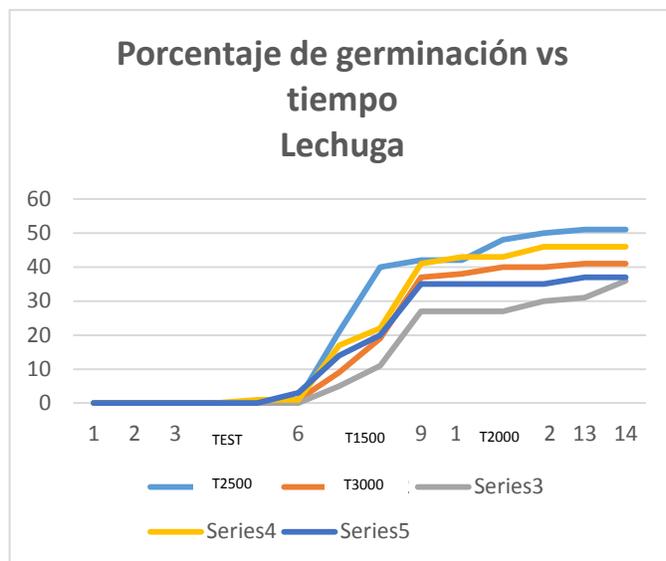


Figura 7. Gráfica donde se aprecia el porcentaje de germinación de semillas de lechuga (*Latuca sativa*).

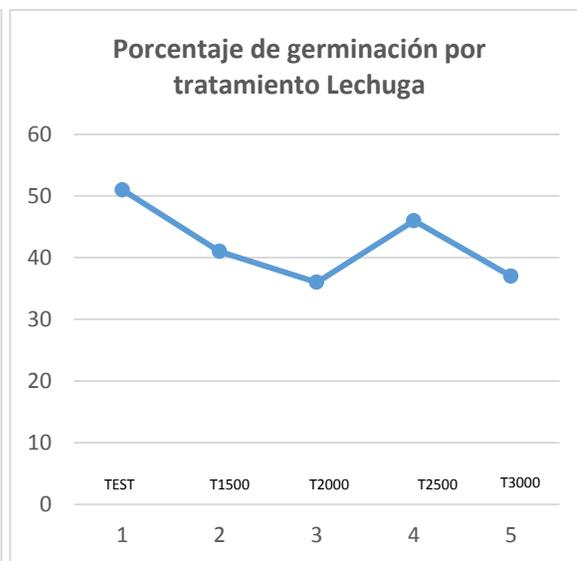


Figura 8. Gráfica donde se aprecia el porcentaje de germinación por tratamiento AIB Radix®.

Las gráficas anteriores muestran el porcentaje de germinación en las semillas de lechuga (*Latuca sativa*) en los cuatro tratamientos con AIB y un testigo durante 14 días y por tratamiento, cabe destacar que no hubo un porcentaje de germinación mayor al 60% en ninguno de los tratamientos, sin embargo, el testigo obtuvo mayor germinación que todos los tratamientos con ingrediente activo AIB. Si hubo diferencia significativa pero no en los tratamientos.

CONCLUSIONES

La utilización de fitohormonas vegetales como la auxina utilizada AIB en la investigación anterior en las semillas de tomate cherry no tuvo un efecto significativo involucrado en la germinación, obteniendo germinación uniforme en tomate, sin embargo en lechuga se observa un mayor efecto en el tratamiento AIB 2500. Cabe destacar que pueden existir algunos otros factores los cuales impidieron la germinación como puede ser la calidad de semilla, es necesario esperar a la evaluación de vigor, volumen radicular y otros parámetros que nos ayuden a evaluar efectos del ácido Indol-3-butírico.

BIBLIOGRAFÍA

- Báez-pérez, A., González-molina, L., Moya, E. S., Bautista-cruz, A., & Ángeles, M. D. L. (2015). Acido-Indolbutirico, 6, 523–537.
- Condemarín-Montealegre, C., Chico-Ruíz, J., & Vargas-Arteaga, C. (2015). Efecto del ácido indolbutírico (IBA) y 6-bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo in vitro de yemas axilares de *Encyclia microtos* (Rchb.f.) Hoehne (Orchidaceae). *Lankesteriana*, 7(1–2), 247–254. <https://doi.org/10.15517/lank.v7i1-2.19513>
- Cruz-Delgado, D., Leos-Rodríguez, J. A., & Altamirano-Cárdenas, J. R. (2013). Mexico: Factors Explaining Fruit and Vegetable Production Under Free Trade. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XIX(3), 267–278. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.05.029>
- Huete, J. R., Rodríguez, F., & Andino, K. (n.d.). Practicas Para La Producción De Huertos Familiares Urbanos. *Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura (FAO)*, 52. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-at762s.pdf>
- Intercontinental Import Export. 2010. Ficha técnica de Radix® 35+% TB. Ácido indol butirico 35% tabletas solubles en agua regulador de crecimiento vegetal. 3 pp. http://www.interie.net/f_tecnicas/radix35tb.pdf.
- Ruelas, J. G. G., Ryszard, S. y, & Gracia, L. C. (2006). Maquinaria para realizar la operación de siembra en charolas Machinery to sow in containers. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 15(3), 28–33.
- SAGARPA. (2016). 4to Informe de Labores, SAGARPA. *Gobierno Federal de Los Estados Unidos Mexicanos*, 154. Retrieved from http://www.sagarpa.gob.mx/Transparencia/POT_2016/Informe/CuartoInformeDeLabores_SAGARPA.pdf

DESARROLLO DE UN SISTEMA ELISA PARA DETECCIÓN DE AMOXICILINA EN AGUAS RESIDUALES Y ESTUDIO DE SU TOXICIDAD EN ORGANISMOS DULCIACUÍCOLAS

Olague Sotelo Katia Araceli¹ y Chávez Vela Norma Angélica²

RESUMEN

Hoy en día, los contaminantes emergentes como los antibióticos son ignorados además de no ser monitoreados. La principal fuente de este tipo de contaminantes, son las aguas residuales de origen hospitalario. Debido a la nula o escasa eliminación de estos contaminantes en plantas tratadoras de agua residual, existe un peligro latente en la generación de cepas bacterianas resistentes a antibióticos. Actualmente existen diversos métodos para la detección de antibióticos, tales como microbiológicos, cromatográficos e inmunoquímicos, sin embargo, éstos últimos son métodos sensibles, sencillos y rentables. El objetivo de este trabajo de investigación fue el de obtener y purificar anticuerpos policlonales contra la amoxicilina, mismos que pueden ser empleados para desarrollar técnicas inmunoquímicas como el sistema ELISA para detectar este contaminante.

ABSTRACT

Nowadays, emerging contaminants such as antibiotics are ignored in addition to not being monitored. The main source of this type of pollutants are wastewater of hospital origin. Due to the null or scarce elimination of these contaminants in sewage treatment plants, there is a latent danger in the generation of bacterial strains resistant to antibiotics. Currently there are various methods for the detection of antibiotics, such as microbiological, chromatographic and immunochemical, however, the latter are sensitive, simple and cost-effective methods. The objective of this research is to obtain and purify polyclonal antibodies against amoxicillin, which could be used for the development of immunochemical systems such as the ELISA system for detecting this contaminant.

Palabras clave: amoxicilina, contaminante emergente, anticuerpos policlonales.

INTRODUCCIÓN

El término “contaminantes emergentes” se ha descrito ampliamente en los últimos años, haciendo referencia a aquellas sustancias químicas presentes en el medio ambiente, que no son reguladas a causa de que no se tiene preciso conocimiento del impacto que puede causar en la contaminación del medio ambiente y en la salud humana. Dentro de los contaminantes emergentes, los antibióticos se consideran un tema significativo para la salud humana. La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un tema de investigación actual, por lo que existe un creciente interés en el estudio de los factores que la contribuyen y, así mismo, en la investigación de los genes de resistencia a antibióticos (ARGs), ya que se considera un problema médico en aumento que hace que los medicamentos pierdan su funcionalidad, principalmente por la sobreexposición de bacterias a los antibióticos, ya que, algunos genes de resistencia clínicamente relevantes se han originado en microbios ambientales (Sauvé and Desrosiers, 2014).

Los sistemas acuáticos representan un medio ideal para la propagación de ARGs, debido a la contaminación continua por distintos compuestos, entre ellos los compuestos antimicrobianos. Uno de los fármacos que más se utiliza debido a su amplio espectro de acción es la amoxicilina, que se utiliza tanto en medicina humana como también en veterinaria y pertenece a un grupo que se excreta sin cambio en heces y orina (R. Belmar-Liberato, et al., 2011).

La presencia en el ambiente con contaminantes emergentes como los antibióticos, incrementa la necesidad de contar con un método de detección sencillo, preciso y con alta sensibilidad para poder tener un control sobre el vertido y eliminación de este tipo de fármacos. Los métodos inmunoquímicos cumplen con este requisito y con ellos

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas. Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad Universitaria. Ejido El Águila, C.P. 27276, Torreón, Coahuila, katia_olague@hotmail.com

²Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Av. Universidad # 940, Cd. Universitaria, C.P. 20131, Aguascalientes, Ags., nachavez@correo.uaa.mx

se podría detectar este tipo de fármaco y pudiera servir para futuras regulaciones. Por esto, el objetivo de este trabajo de investigación fue el de obtener y purificar anticuerpos policlonales contra la amoxicilina, mismos que pueden ser empleados para el desarrollo de técnicas inmunoquímicas como es el sistema ELISA, para la detección de este antibiótico. (Cliquet et al., 2007).

METODOS Y MATERIALES

Muestras: Se trabajó con suero obtenido de conejos de la cepa *Nueva Zelanda*, los cuales fueron inmunizados con un compuesto de amoxicilina acoplada a la proteína hemocianina de lapa californiana (KLH) durante cuatro ocasiones con intervalo de un mes cada uno. A partir del antisuero obtenido de la inmunización de conejos con amoxicilina se procedió a la purificación de los anticuerpos policlonales.

a) Purificación de anticuerpos: El antisuero fue tratado con solución saturada de sulfato de amonio y posteriormente con ácido caprílico, tal como se detalla a continuación:

Purificación con sulfato de amonio: se realizó llevando a cabo una precipitación con una solución saturada al 50% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (4.1 M) a 4°C durante toda la noche. Posteriormente se recuperó el pellet (se centrifugó a 3000 x g durante 30 minutos) y se disolvió en solución salina de buffer fosfato pH 7.4 (PBS), la cual se transfirió la muestra al equipo de ultrafiltración (Amicon 8050, Millipore Corporation, Bedford, EUA, con una membrana celulosa regenerada de corte de 10 KDa), añadiendo posteriormente solución Salina de Buffer Fosfato (PBS) hasta un volumen de 300 ml.

Se realizaron cuatro lavados con solución PBS hasta descartar presencia de sulfato de amonio.

Purificación con ácido caprílico: la muestra de anticuerpos se ajustó con PBS al volumen inicial que se tenía de suero y se le adicionaron 0.75 ml de ácido caprílico por cada 10 ml de muestra en PBS. Se recuperó el sobrenadante y se ultrafiltró usando con una membrana celulosa regenerada de corte de 10 KDa. Se hicieron lavados con PBS hasta que se eliminó el ácido caprílico, lo cual se verificó cuando el pH de la muestra fue igual al pH del PBS (pH 7.4) (Morais et al., 2014).

b) Determinación de Pureza de los anticuerpos policlonales contra la amoxicilina: con los anticuerpos purificados, se realizó una electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) según la metodología descrita por Laemmli (1970) y posterior tinción de los geles con plata. Las condiciones de corrida fueron: gel de poliacrilamida 10% (p/v), la electroforesis fue continua se a 80 volts por 1.5 h.

NOTA: las muestras cargadas para analizar por electroforesis fueron de 10-20 µg de proteína, las cuales se analizaron por el método de Bradford. Se esperaba obtener fracciones proteicas de 25 y 50 kDa, que es el PM de los anticuerpos IgG.

Para verificar que las fracciones proteicas obtenidas por electroforesis fueran IgG se realizó inmunoblot, para esto se llevó a cabo una separación electroforética de proteínas. Las proteínas se transfirieron electroforéticamente del gel a membranas de Polivinil difluoruro (PVDF) toda la noche a 12 mAmp. La detección de IgG se realizó utilizando como segundo anticuerpo un anti-IgG de conejo Anti-Rabbit IgG (whole molecule)-alkaline phosphatase Sigma aldrich con dilución 1:1000. Para el revelado se fosfatasa alcalina ((Sigma-Aldrich), utilizando como sustrato para la misma el 5-bromo-4-cloro-3-indol fosfato/nitro azul tetrazolio (BCIP/NBT) que da coloración azul o violeta (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania).

c) Reactividad de anticuerpos policlonales anti-amoxicilina: para demostrar la reactividad de los anticuerpos frente a la STR se realizó prueba dot blot de la amoxicilina. Para desarrollar la técnica se emplearon membranas de nitrocelulosa a las que se les pusieron 2 µl de amoxicilina (600 µg/µl) en el centro de la membrana. Como primer anticuerpo se utilizaron los anticuerpos policlonales anti-amoxicilina de conejo obtenidos (dilución 1:1000). Como segundo anticuerpo se usó anti-IgG de conejo (dilución 1:5000) unido a fosfatasa alcalina.

d) Detección anti-amoxicilina en agua residual por dot blot: Con la finalidad de ver si las condiciones (contaminantes, temperatura, pH) del agua residual no afecta la reactividad de los anticuerpos se hizo dot blot de las siguientes muestras: se utilizaron muestras de agua de origen diverso: del influente y efluente de la planta tratadora de aguas residuales de diversas plantas de tratamiento de agua residuales (PTAR) del estado de Aguascalientes.

RESULTADOS

El objetivo principal de este trabajo fue purificar anticuerpos policlonales anti-amoxicilina para con ellos posteriormente, implementar un método inmunoquímico que detecte amoxicilina. La comprobación de la pureza de los anticuerpos se hizo mediante análisis electroforético. La justificación de haber hecho el análisis por electroforesis, es porque este es un método sencillo que permite además de separar bien las cadenas ligeras y pesadas de los anticuerpos, detectar la presencia de algunas otras fracciones proteicas. En la electroforesis de la muestra correspondiente al antisuero sin purificar, se observó la presencia de bandas proteicas en elevada concentración. Debido a la presencia de un gran número de proteínas en el suero, no fue posible determinar de manera exacta el número de estas en la muestra. Fracciones proteicas que se encontraban en gran concentración (figura 1), disminuyeron su concentración (intensidad de las bandas) tras la precipitación con sulfato de amonio (inciso b). Así mismo, después del tratamiento posterior de la muestra con ácido caprílico (inciso c) se observó la presencia de únicamente 2 bandas proteicas de interés, con pesos moleculares aproximados de 52 y 25 kDa. Estas bandas proteicas corresponderían a las cadenas ligeras de los anticuerpos cuyo peso molecular es entre 20 a 25 kDa y a las cadenas pesada de las IgG, cuyo PM es de 50-55 kDa. Estas dos bandas proteicas fueron únicas en la muestra sometida a tratamiento con sulfato de amonio y con ácido caprílico. El hecho de que no se observaran más bandas fue un buen indicio dado que eso confirmó el que los anticuerpos policlonales a emplear durante la investigación fueron sometidos a un buen protocolo de purificación.

Para corroborar que las fracciones proteicas obtenidas tras el proceso de purificación por inmunoafinidad se trataban de inmunoglobulinas de tipo G, se realizó prueba de Inmunoblot, utilizando como segundo anticuerpo un anti-IgG de conejo. Se observa en la figura 2, que las tres bandas proteicas que fueron observables en la tinción de los genes electroforéticos, figura 3, reaccionan de manera positiva al segundo anticuerpo utilizado, por lo cual, forman parte de la inmunoglobulina G.

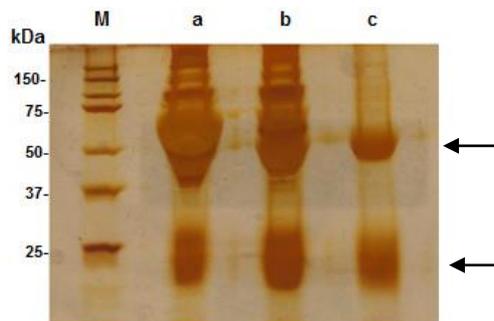


Figura 1. Análisis electroforético para ver pureza de anticuerpos policlonales anti-amoxicilina en diferentes etapas de purificación: (a) muestra antisuero sin purificar; (b) muestra tratada con sulfato de amonio; (c) muestra b tratada además con ácido caprílico, M: marcador de peso molecular. Las flechas señalan bandas proteicas mayoritarias de 25 y 52 kDa de PM.

Para corroborar que las fracciones proteicas obtenidas tras el proceso de purificación se trataban de inmunoglobulinas de tipo G, se realizó prueba de Inmunoblot, utilizando como segundo anticuerpo un anti-IgG de conejo. Se observa en la figura 2, que las dos bandas proteicas que se observaron en la tinción de los geles electroforéticos reaccionan de manera positiva al segundo anticuerpo utilizado, por lo cual, forman parte de la inmunoglobulina G.

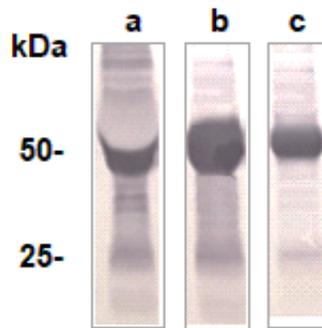


Figura 2. Immunoblot para probar que los anticuerpos anti-amoxicilina son IgGs. a) Se analizaron 10 μ l de muestras de antisuero anti- amoxicilina en cada etapa (a) muestra sin purificar; (b) muestra tratada con sulfato de amonio; (c) muestra tratada además con sulfato de amonio y ácido caprílico.

Respecto a la reactividad frente a la amoxicilina de los anticuerpos policlonales obtenidos quedó demostrado mediante dot blot (figura 3). Como se esperaba, muestras de suero de conejo sin inmunizar con amoxicilina, no reaccionaron ante este fármaco (inciso b), mientras que las muestras del antisuero sin purificar (inciso c) y los anticuerpos ya purificados si reaccionaron frente a la amoxicilina (inciso d).

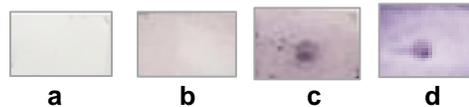


Figura 3. Dot blot para probar reactividad de los anticuerpos policlonales anti-amoxicilina. Se desarrolló dot blot de 600 μ g de amoxicilina con muestras de los antisuecos anti-amoxicilina (a) control negativo (agua); (b) suero preinmune; (c) sin purificar; (d) tratados con $(NH_4)_2SO_4$ y ácido caprílico.

Al analizar por dot blot, con el fin de detectar la presencia de amoxicilina en muestras de agua de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), se observó las condiciones de estas (pH, temperatura, contaminantes, etc.) no afecta la reactividad de los anticuerpos anti-amoxicilina, ya que los anticuerpos detectaron amoxicilina, tanto en la muestra sin tratar (influyente) como las tratadas (efluente) agua residual tanto tratada como sin tratar, siendo menor la detección de este antibiótico en aguas residuales tratadas (figura 4).

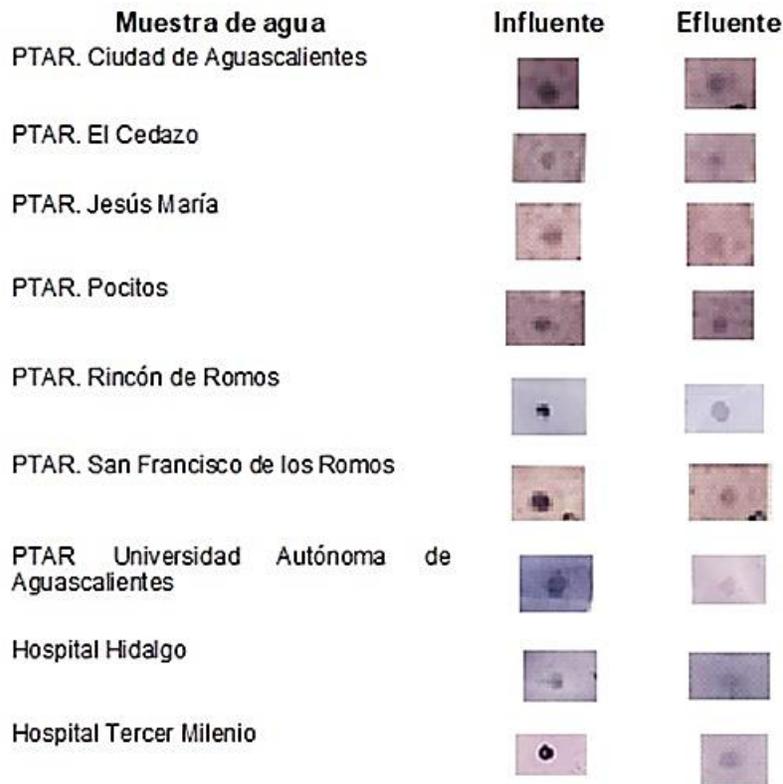


Figura. 4. Prueba dot blot para detección de amoxicilina en muestras de agua de origen diverso en la ciudad de Aguascalientes. Se empleó dilución 1:10,000 del anticuerpo IgG anti-Amoxicilina y dilución 1:5000 del anti-IgG de conejo (segundo anticuerpo).

En el dot blot de aguas residuales, se analizaron influentes y efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) que reciben las descargas de origen municipal de los principales centros de población del estado de Aguascalientes, es decir donde se concentra la mayor cantidad de habitantes del Estado, mismas que por consecuencia, captan y tratan los mayores volúmenes de este tipo de agua generado en la entidad. Se observó que la cantidad de antibiótico detectado fue menor en los efluentes que en los influentes, sin embargo es importante mencionar que no se puede afirmar que esto sea porque hubo una degradación o remoción del fármaco por el tratamiento de aguas, puesto que la toma de muestras de influente y efluente de cada PTAR se tomaron el mismo día, es decir fueron muestras puntuales, y en la PTAR para poder remover los contaminantes del agua hay un tiempo de residencia de varios días, que depende de cada PTAR, de manera que el efluente analizado no corresponde al mismo influente monitoreado. Sin embargo, el análisis permite comprobar que hay presencia de antibióticos en efluentes de PTAR lo que sugiere que probablemente no hay una degradación o remoción total de estos por sistemas biológicos y quizá sea conveniente algún otro tipo de tratamiento como es el caso de los tratamientos de oxidación avanzada, ya que de lo contrario, la presencia de antibióticos puede provocar que los microorganismos adquieran resistencia a estos, afectando con ello al sector salud en el tratamiento de enfermedades (Aba et al., 2017).

CONCLUSIONES

En este trabajo se logró purificar anticuerpos policlonales anti-amoxicilina, cuya reactividad quedó demostrada mediante dot blot. La detección de amoxicilina fue exitosa en muestras tanto de influentes como efluentes de plantas de tratamiento de agua residual. Esto es importante porque con estos anticuerpos se pueden desarrollar inmunoensayos más precisos como es el sistema ELISA, para detectar amoxicilina en aguas residuales como control del tratamiento de estas.

AGRADECIMIENTOS

Quiero extender mi agradecimiento a mis padres, por creer en mi y brindarme la oportunidad de experimentar una nueva experiencia de aprendizaje a lo largo de mi formación académica.

A la Dra. Norma Angélica Chávez Vela y Elizabeth Verónica Moreno Córdova por todos los conocimientos adquiridos, así mismo, por su gran apoyo, paciencia y por hacerme parte de su gran equipo de trabajo durante toda mi estancia.

BIBLIOGRAFÍA

ABA G. C., MEDINA R.I., JÁUREGUI R. J. (2017). Tesis doctoral: “Degradación de antibióticos en solución acuosa empleando catalizadores nano-estructurados de Fe+3-TiO2-x-Nx”. México

BELMAR-LIBERATO R., GONZÁLEZ-CANGA A., TAMAME-MARTIN P., ESCRIBANO-SALAZAR M. (2011). “Amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid resistance in veterinary medicine – the situation in Europe: a review” en *Veterinari Medicina*, Núm. 56, Vol. 10, [pp.473–485].

CLIQUET P., GODDEERIS B. M., OKERMAN L., COX E., (2007). “Production of penicillin-specific polyclonal antibodies for a group-specific screening ELISA” en *Food Agr Immunol*, Núm.18, Vol.3, [pp. 237-252].

LAEMMLI, UK. (1970). “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4” en *Nature*, Núm. 227, [pp. 680-685].

MORAIS V., BERASAIN P., MASSALDI H. (2014). “Immunoglobulin Purification by Caprylic Acid”. en: *Labrou N. (eds) Protein Downstream Processing. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, Totowa, NJ., Humana Press, [pp. 137-143].

SAUVÉ, S., DESROSIERS, M. (2014). “A review of what is an emerging contaminant” en *J Chem Biol*, 8(1), Núm. 8, Vol.1, [pp.8-15].

ELECTROFISIOLOGÍA DE LAS NEURONAS DE LA CAPA V EN CORTEZA MOTORA.

Katia Raquel Ávila Gutiérrez¹ Verónica Elizabeth López Virgen² y Gerardo Rojas Piloni³

RESUMEN

Para lograr un mejor entendimiento de cómo las redes neuronales del cerebro realizan sus complicadas y diversas tareas, es necesario determinar la función (o actividad eléctrica) de las células individuales en la red neuronal. Es también de vital importancia determinar la estructura anatómica de la red neuronal y la arquitectura morfológica de las neuronas, lo cual permite una reconstrucción detallada de las mismas. Para ello se utilizó la técnica de registro electrofisiológico in vivo con ratones C57BL/7 anestesiados con uretano, en combinación con electroporación con el marcador biocitina en la corteza motora cerebral. La técnica involucra el registro de potenciales de acción y marcaje de la neurona registrada. Esto permite eventualmente analizar aspectos morfológicos con los funcionales de neuronas determinadas y así entender la estructura anatomofuncional de los circuitos neuronales.

ABSTRACT

To achieve a better understanding of how neural networks perform such complicated and diverse tasks, it is necessary to determine the function (or electrical activity) of individual cells of the network. It is vital to determine the anatomical structure of the network and the morphological architecture of the individual neurons to allow a detail reconstruction of the neurons. To this end, the electrophysiology recording in vivo technique was used with urethane-anaesthetized C57BL mice in combination with electroporation with biocytin labeling in the cerebral motor cortex. This technique involves recording action potential spiking and labeling of the detected neuron which will allow us eventually to analyze morphological aspects with the determined neurons and thus understand the anatomicfunctional structure of the neuronal circuits.

Palabras clave: Células excitatorias, corteza motora, biocitina, marcadores intracelulares, electrofisiología.

INTRODUCCIÓN

La actividad eléctrica en el cuerpo humano es el fenómeno que permite la realización de cualquier tarea (por más insignificante que sea). Por ejemplo, la actividad eléctrica a través de las células nerviosas, las neuronas, permite conducir la información que llega de todo el cuerpo a través de los axones, los cuales son prolongaciones de las neuronas encargadas de conducir los impulsos nerviosos desde el cuerpo celular hacia otra célula. La información llega a manera de actividad eléctrica (llamada potencial de acción), resultado de la distribución y movimiento de iones eléctricamente cargados [1]. De manera general, estas células son llamadas células excitables ya que, como se ha mencionado anteriormente, son capaces de transmitir potenciales de acción.

La estructura de las células excitables puede ser estudiada y analizada a través de diversas técnicas, tales como microscopía electrónica, difracción de rayos X, experimentos que involucran radio-trazadores activos, métodos bioquímicos, etc. Por otro lado, las técnicas que permiten el estudio de la función de las células excitables son aquellas que involucran la medición de su actividad eléctrica [2]. La correlación entre las características morfológicas y fisiológicas de cualquier neurona son usualmente estudiadas mediante un registro electrofisiológico seguido de la inyección intracelular de un marcador [3]. Dicha técnica permite no solo una determinación precisa del sitio registrado, sino también el estudio morfológico del soma, dendritas, y

¹ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas DCNyE Noria Alta s/n, Noria Alta, C.P:36050, Guanajuato, Guanajuato, ravilak335@hotmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, Querétaro, vero.lovirgen@gmail.com

³ Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro, Querétaro, piloni@unam.mx

axón de la neurona. La organización neuronal y sináptica de la corteza cerebral es extremadamente compleja, y la definición de un circuito cortical básico en términos de tipos definidos de células y conexiones es necesaria para facilitar el progreso de su análisis [4]. Los marcadores intracelulares a utilizar deben de cumplir ciertas características requeridas, las cuales incluyen solubilidad en agua, estabilidad durante el procedimiento histológico, rápida difusión y retención en la célula, ya sea por el marcador mismo o después de una reacción química específica [5].

Uno de estos marcadores intracelulares es la biocitina, la cual fue introducida como marcador intracelular en 1988 [1]. Es un compuesto químico que consiste en un grupo carbamoil formada a partir de la vitamina biotina y el aminoácido L-lisina (figura 1.)

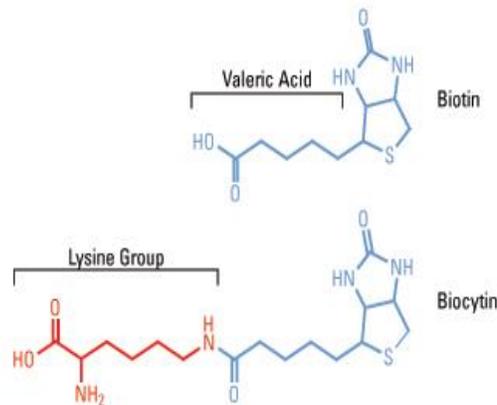


Figura 1. Estructura molecular de la vitamina biotina, el aminoácido L-lisina y la biocitina utilizada en la experimentación.

La combinación simultánea de registros electrofisiológicos y el marcaje de neuronas a través de la inyección intracelular con biocitina es actualmente un método extensamente utilizado que permite relacionar las propiedades estructurales y funcionales de células registradas [6], al igual que la clasificación morfológica de neuronas. Las neuronas excitatorias e inhibitoras en el neocortex, hipocampo y en otras regiones del cerebro son muy diversas, incluso aquellas que se encuentran en la misma zona y profundidad pueden diferir ampliamente en sus propiedades estructurales y en sus patrones de inervación [7], por lo tanto, conocer la morfología neuronal es importante para entender su función individual.

El presente trabajo pretende mostrar la variabilidad funcional particular de las neuronas de la corteza sensoriomotora ubicadas en la subcapa V. Para ello se realizó un análisis de la actividad espontánea electrofisiológica. Asimismo, en el presente proyecto se realizó el marcaje con biocitina de las neuronas registradas que, permitirá, posteriormente, tener datos suficientes para realizar una simulación en 3D de la morfología neuronal. Estos datos junto con la localización anatómica, la morfología dendrítica y la inervación sináptica pueden ser la clave para entender la conectividad a nivel subcelular de neuronas individuales.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se utilizaron ratones hembra/macho de la cepa C57BL/6 adultos, los cuales se encuentran bajo condiciones estándar de bioterio.

- Ventilación: Las salas donde se alojan los animales poseen un sistema de ventilación y acondicionamiento de aire (frío-calor) con 15/ 20 renovaciones por hora con 100% de aire exterior; con un nivel de filtración final del 95% para partículas superiores a 5 micrones.
- Luz: Luz blanca por tubos fluorescentes, tipo luz de día. Fotoperíodo de 12hs luz y 12hs oscuridad (6 am a 6 pm) regulada por reloj automático interruptor digital.

- Humedad. 40-70% HR
 - Temperatura: Entre 20 y 28°C según la época del año; con variabilidad de 2°C.
 - Alimento: balanceado en forma de pellets extrusado marca para rata-ratón.
 - Agua: De red, hipoclorada 3ppm y/o esterilizada por autoclave de vapor a presión.
1. Preparación de los ratones.
 - a) Se anestesiaron los ratones con una solución de xilacina – ketamina (3:7 anestésico ligero). Al estar los ratones completamente anestesiados se pesaron en una báscula analítica para determinar la cantidad de uretano (dosis de anestésico potente) que se le debe de aplicar, el cual variaba entre 7 y 12 μl . Ambos anestésicos fueron aplicados vía intraperitoneal.
 - b) Se esquiló la parte superior de la cabeza del animal hasta dejar la piel lo más visible posible.
 - c) Se colocó al ratón anestesiado en el marco estereotáxico, cuidando en no dañar los tímpanos, cráneo y vías respiratoria en el proceso. El estereotax está equipado con una almohadilla térmica con la cual se mantuvo la temperatura entre 37.5 ± 0.5 ° C.
 - d) Se desinfectó la zona de la cabeza esquilada con alcohol quirúrgico (al 70%) retirando los restos de pelo.
 - e) Utilizando un bisturí quirúrgico se realizó un corte en dirección caudal a rostral. Al terminar el corte, se limpió exhaustivamente con solución salina (NaCl 0.9%).
 - f) Se determinaron las coordenadas del área a analizar en el hemisferio derecho, ubicando la zona de la corteza motora con respecto a Bregma (punto anatómico del cráneo situado en donde la sutura coronal se intersecta perpendicularmente con la sutura sagital. Es el punto donde se encuentran el hueso frontal y el hueso parietal): $-3.4 \mu\text{m}$ en X y $-0.5 \mu\text{m}$ en Y aproximadamente. La localización en el cráneo fue marcada con un plumón para una mejor delimitación de la craneotomía.
 - g) Se raspó la zona de interés despacio y con suavidad haciendo uso de un taladro dental, evitando un corte disperejo, hasta que el hueso se volvió transparente y los vasos sanguíneos fueran claramente visibles.
 - h) Se terminó de cortar el cráneo delgado utilizando un bisturí (#11), evitando daños a la dura madre y a los vasos sanguíneos. En caso de ligera hemorragia, se lavó la zona afectada con solución salina (NaCl 0.9%) hasta que el sangrado se detuviera.
 - i) Al presentarse hinchazón ligera del cerebro, se dejó reposar manteniéndolo hidratado contantemente con solución salina.
 2. Registros yuxtacelulares y marcaje con biocitina.
 - a) Se realizaron pipetas patch con vidrio de borosilicato con un diámetro en la punta interna de 1 μm aproximadamente para obtener una resistencia de 9 – 13 M Ω , las cuales fueron rellenas con 10 μl de biocitina al 2%.
 - b) Se determinó la resistencia del electrodo, la cual debía de tener valores en el rango de 7 – 9 M Ω .
 - c) Se colocó la pipeta en un micromanipulador. Posteriormente se situó de tal manera que tuviera ligero contacto con la superficie pial de la zona a analizar. En ese punto se estableció la coordenada a cero para así tener un punto de referencia para las medidas de profundidad. El recorrido realizado fue de 300 μm a un máximo 1200 μm .
 - d) Se hizo avanzar al electrodo hacia el tejido con pasos de $\sim 1 \mu\text{m}$ penetrando la duramadre.
 - e) Después de atravesar la duramadre, comenzó la búsqueda de unidades individuales (neuronas) avanzando con una velocidad mínima. Se monitoreó continuamente la resistencia del electrodo aplicando pulsos de 200 mseg. Un aumento en la resistencia del electrodo usualmente indica la proximidad de una neurona. Se hizo avanzar el electrodo hasta registrar un potencial de acción positivo de $\sim 2\text{mV}$.
 - f) Al tener detectada la neurona, se comenzó el llenado juxtacelular aplicando pulsos de corriente positiva (1 nA, 200 mseg). Lenta y gradualmente se incrementó la corriente a valores de 0.1 nA monitoreando simultáneamente la frecuencia y la señal del potencial de acción en el monitor.
 - g) Durante todo el procedimiento se monitoreó la apertura de la membrana basados en el incremento de la frecuencia de los potenciales de acción durante los pulsos aplicados. El pico de la señal durante el llenado muestra un incremento en la amplitud y una reducción después de la hiperpolarización.

- h) Se controló la aplicación de corriente al estar marcando la neurona, para así mantener estable la infusión de biocitina. El llenado se mantuvo entre 15 y 20 minutos.
- i) Al terminar el llenado con biocitina, se esperó a que la neurona se recuperara, lo cual es representado cuando la señal regresa a su estado inicial.
- j) Se retiró la pipeta con pasos de $1 \mu m$ hasta que la amplitud del pico de la señal decreciera para así reducir el estrés al tejido. Se dio un lapso de una hora para permitir la correcta y completa difusión intracelular de la biocitina, monitoreando simultáneamente la temperatura y respiración del ratón.

RESULTADOS

A continuación, se muestran los registros electrofisiológicos de la actividad espontánea obtenidos en 4 neuronas de la capa 5 de corteza sensoriomotora. Como se puede observar (figura 2), la actividad de cada neurona es muy distinta entre sí, mostrando una frecuencia de descarga distinta.

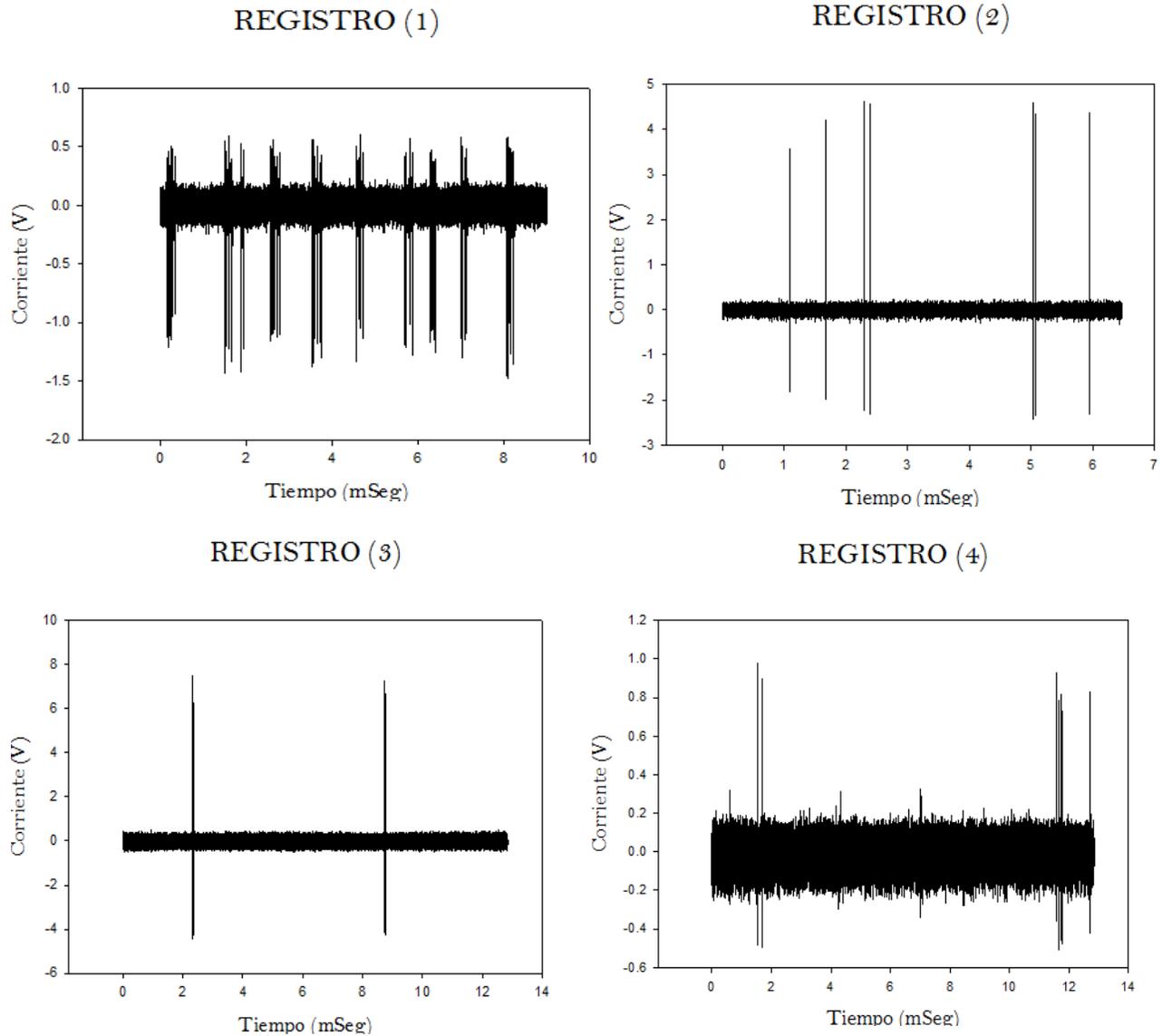


Figura 2. Representación de los registros electrofisiológicos yuxtacelulares realizados. Como se puede observar, existe una marcada variabilidad en la actividad espontánea cortical, en especial cuando no se identifican las neuronas que se están registrando. La variabilidad mencionada es debida a la conectividad del tipo de neurona que se esté registrando.

Con la finalidad de evaluar si las características particulares de la actividad eléctrica de cada tipo de neurona son debidas a su conectividad, es necesario evaluar su estructura morfológica. Para ello es necesario electroporar biocitina en el celular registradas para revelar su estructura posterior a un tratamiento histológico. La figura 3 muestra la técnica de inyección de corriente que permite electroporar biocitina sobre una célula registrada. De esta manera, después de la realización de cortes histológicos es posible recuperar el sitio donde se realizó el registro y adquirir imágenes de la célula marcada con biocitina.

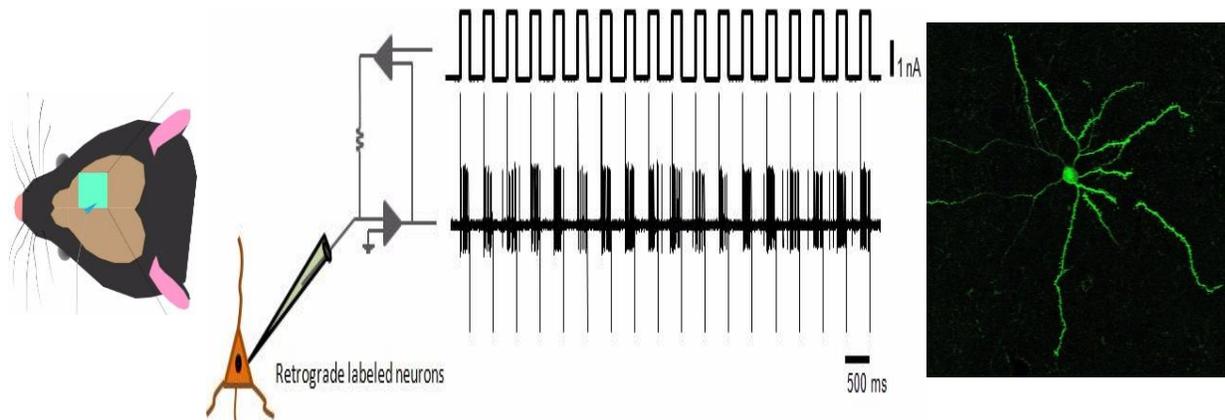


Figura 3. En la primera imagen a la izquierda, se muestra la zona en donde se realizó la craneotomía (previamente mencionada) en corteza sensoriomotora y posteriormente el registro neuronal. Las profundidades de los registros variaron entre $450 \mu\text{M}$ y $1200 \mu\text{M}$. A continuación, se ilustra el proceso de marcaje de la neurona. De esta forma, induciendo pulsos eléctricos en la membrana celular, se introduce la biocitina, la cual reacciona con la estreptavidina que está acoplada al fluoroforo Alexa 488. Lo último mencionado permite visualizar las características morfológicas de la neurona previamente marcada (como se observa en la imagen) a través de microscopía confocal y con ello conocer cuál neurona tiene las determinadas características electrofisiológicas.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados mostrados se puede concluir que los métodos de registro neuronal proporcionan información funcional de distintos tipos de neurona. Para que los resultados sean confiables es necesario que las señales y por lo tanto las características de los potenciales de acción de las neuronas sean constantes y estables antes de comenzar el registro. Como se pudo observar en los resultados, existe una variabilidad intrínseca en la actividad de las neuronas de la corteza y por ello la necesidad de identificar tanto sus características fisiológicas como morfológicas. La correlación entre las características morfológicas y fisiológicas de cualquier neurona se relacionan mediante el registro electrofisiológico realizado seguido de la inyección intracelular de un marcador, en este caso, la biocitina. Aunque en el presente trabajo no se analizó la morfología neuronal, conocer las características morfológicas de las neuronas nos permitirá correlacionar las propiedades estructurales y funcionales de las células registradas y así poder realizar una clasificación de las neuronas a pesar de su gran diversidad.

REFERENCIAS

- [1] MIURA, R. (2002). “*Analysis of excitable cell models*”, Journal of Computational and Applied Mathematics, 144, [pp. 29–47]
- [2] ADLEY, J. (1998), *The Physiology of Excitable cells*, Inglaterra, Cambridge University Press.
- [3] HORIKAWA, K; ARMSTRONG, W. (1988). *Versatile means of intracellular labeling: injection of biocytin and its detection with avidin conjugates*, Journal of Neuroscience Methods, 25, [pp. 1-11]
- [4] SOMOGYI, P; TAMÁS, G; LUJAN, R; BUHL EH. (1998). *Salient features of synaptic organization in the cerebral cortex*, Brain Research Reviews, 26, [pp. 113-135]
- [5] NICHOLSON, C; KATER, SB. (1973) “*The development of intracellular staining*”, Intracellular Staining in Neurobiology, Springer-Verlag, New York (1973), [pp. 1-19]
- [6] FELDMEYER, D; EGGER, V; SAKMANN, B. (1999). *Reliable synaptic connections between pairs of excitatory layer 4 neurones within a single “barrel” of developing rat somatosensory cortex*, J. Physiol. 521, [pp. 169 – 190]
- [7] MARX, M; GÜNTER, R; HUCKO, W; RADNIKO G; FELDMEYER, D. (2012). *Improved biocytin labeling and neuronal 3D reconstruction*, Nature Protocols, VOL.7, NO.2, [pp. 394 – 407]

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN POR HONGOS ENDOFITOS EN PLANTAS DE *PHASEOLUS VULGARIS*

Katia Valeria Cervantes Delgado¹ y Adan Topiltzin Morales Vargas²

RESUMEN

Desde la primera descripción de asociaciones simbióticas hecha por De Bary (1987) como “la estrecha relación de organismos de diferente tipo” se han descrito una gran cantidad de estilos de vida que se apegan a esta descripción, basados en el impacto del huésped a nivel macroscópico o microscópico. Más de 100 años de investigación continua muestran que algunas plantas, si no es que “todas”, son simbioses con hongos micorrízicos o endófitos fúngicos. A partir de la planta de lirio acuático se aislaron un total de 12 hongos endófitos, en este estudio se buscó colonizar con estos hongos plantas de *Phaseolus vulgaris*. Para esto se inocularon semillas de frijol, tras 21 días de crecimiento de las plantas se comprobó la presencia de los hongos, colocando fragmentos de hoja y raíz en placas de PDA, previo a esto se realizó la desinfección de las plantas para evitar contaminaciones. Se encontró que dos hongos de la colección se establecieron dentro de la planta de frijol. Obtenidos estos resultados se pueden estudiar en un futuro los efectos bióticos y abióticos causados por la presencia del hongo en dicha planta para así generar aplicaciones en la industria agrícola.

ABSTRACT

Since the first description of symbiotic associations made by De Bary (1987) as "the close relationship of organisms of different types" have described many lifestyles that adhere to this description, based on the impact of the guest at the macroscopic or microscopic. More than 100 years of continuous research show that some plants, if not "all", are symbionts with mycorrhizal fungi or fungal endophytes. A total of 12 endophytic fungi were isolated from the aquatic lily plant. In this study, it was sought to colonize *Phaseolus vulgaris* plants with these fungi. For this, bean seeds were inoculated, after 21 days of growth of the plants the presence of fungi was verified, placing leaf and root fragments in PDA plates, before this the disinfection of the plants was carried out to avoid contamination. It was found that two fungi from the collection were established within the bean plant. Obtained these results can study in the future the biotic and abiotic effects caused by the presence of the fungus in plant to generate applications in the agricultural industry.

Palabras Clave: Hongos endófitos, colonización, efectos bióticos y abióticos.

INTRODUCCIÓN

Existe una gran diversidad de hongos de los cuales se conoce que se encuentran asociados a plantas, estos hongos pueden llegar a establecer relaciones simbióticas o por otro lado causar efectos negativos es decir que sean hongos patógenos, causando enfermedades al huésped. Se denomina un hongo endófito a aquel microorganismo del reino fungí que se encuentra dentro de una planta sin causar afección alguna, se sabe que la simbiosis está presente y es fundamental para la planta en la naturaleza ^[2]. Se llama relación simbiótica, pues los hongos desarrollan parte de su ciclo vital en la planta sin causar un daño mientras la planta llega a adquirir beneficios con la presencia ya sea de uno, varios hongos o también bacterias ^[3]. Algunas de las características que presentan las plantas que son colonizadas por hongos son la resistencia a factores abióticos, tales como temperatura, pH o presión osmótica, así como también a factores bióticos es decir aquellos que impliquen bacterias, hongos o insectos que pudieran causarles algún daño ^[4].

¹ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Noria Alta S/N, C.P.36000, Guanajuato, Guanajuato, katiavale96@live.com.mx

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Av. Ing. Javier Barros Sierra #201 esq. Av. Baja California; Ejido Santa María del Refugio; Celaya, Gto.; C.P. 38110, adan.tops@gmail.com

Es posible llevar a cabo inoculaciones de hongos artificialmente en las plantas y así establecerlos como hongos endófitos ^[5]. Convirtiéndolos en una herramienta biológica útil y aplicable en la industria agrícola, ya que de diversas formas se ven implicados en la mejora del sistema de defensa, aumentando el crecimiento o rendimiento de las plantas ^[6].

En este proyecto se investigó la relación entre hongo- planta, estudiando la respuesta de colonización de hongos endófitos, a partir de una colección de hongos aislados de *Eichhornia crassipes*, lirio acuático, de la región de Irapuato Guanajuato. Usando como modelo de estudio *Phaseolus vulgaris*, dicha planta tiene una gran importancia en el sector alimenticio a nivel mundial, por lo que los presentes estudios son prometedores para identificar efectos favorables a la planta. Buscando como fase inicial si es posible colonizar las semillas de frijol común con hongos endófitos.

MÉTODOS Y MATERIALES

Para el estudio, la primera parte consistió en la inoculación de las semillas de frijol, para esto se eligieron semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de tamaño uniforme, en buen estado, sin que presentaran daño en la testa y que tuvieran una apariencia físicamente saludable. Estos frijoles fueron desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 6%, posteriormente se lavaron con agua estéril. Para la inoculación, los hongos se encontraban en agar PDA, a cada caja Petri se le agregó 30 ml de solución de glucosa al 70%, con la ayuda de un asa acodada se froto el hongo de la caja, las semillas fueron sumergieron en la solución de glucosa la cual contenía, realizando una agitación suave, finalmente se desechó el exceso de solución de esporas, y se dejaron secar por 24 horas antes de ser plantadas. Para sembrar las semillas se usó suelo estándar y macetas de 1 kg las semillas se sembraron a 3 cm de profundidad, y por cada hongo se realizaron 6replicas.

Para comprobar la colonización, tras 21 días 3 de las plantas de frijol se cortaron para obtener los trifolios y la raíz. Las raíces y hojas de las plantas inoculadas fueron desinfectadas usando cloro 2% por 2 minutos, seguido de desinfección en etanol al 70%por 1 minuto y se hicieron tres lavados por separado con agua estéril. Para cada trifolio se usaron tres cajas con medio PDA + antibiótico (cloranfenicol al 1%). En una de las cajas se realizó una impresión del trifolio por ambos lados, en la segunda caja de PDA se colocaron 100 ul de la tercera agua de lavado del trifolio/raíz y se esparció por toda la placa con ayuda de un asa acodada, finalmente en la tercera caja se colocaron pequeños trozos de los trifolios o raíz (**Figura 1**). Cada procedimiento se realizó bajo esterilidad en campana de flujo laminar. Se hizo esto con cada tratamiento. Las placas Petri se incubaron a 28°C por 3 días. Los hongos que crecieron en este periodo se aislaron, usando un bisturí estéril para cortar el área donde se encontraba, posteriormente se pasó a una nueva caja de PDA, de tal manera que el hongo estuviera en contacto con el medio.

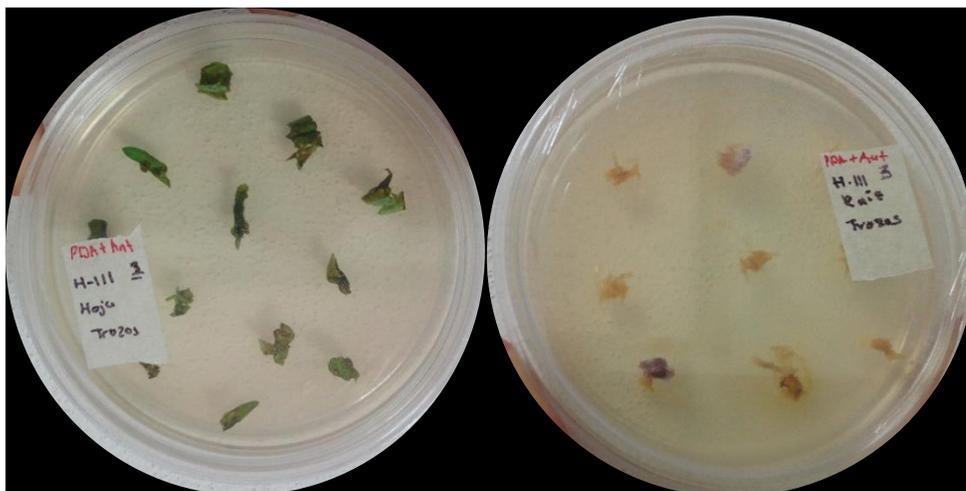


Figura 1. Siembra de fragmentos de trifolios y raíz de planta inoculada con el hongo endófito H-111 en PDA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Transcurridos 21 días de haberse sembrado las semillas de *Phaseolus vulgaris* inoculados con cada uno de los hongos, ninguna de las plantas mostraron síntomas de enfermedad que pudieron haber sido causados por la presencia de los hongos. Para cada tratamiento, se midió el diámetro del tallo, la altura de la planta y el número de trifolios presentes, la tabla 1 muestra estos datos.

Para la evaluación de colonización, se encontró crecimiento de hongos en las placas que contenían los fragmentos de raíz del hongo 111 y hongo 104 (**Figura 2**). Estos hongos se aislaron con la finalidad de corroborar si el hongo era el correspondiente al que se inoculó inicialmente.

Tras sembrar el hongo aislado, se obtuvo un crecimiento positivo correspondiente al hongo que se inoculó inicialmente, esto se determinó por su morfología (**Figura 3**).

Se encontró además la presencia de nódulos radicales en las plantas (**Figura 4**), por lo cual se puede intuir que durante el periodo de crecimiento se estableció la relación con una bacteria que se encontraba en el entorno. Los nódulos fueron iguales en todas las plantas. De acuerdo a datos bibliográficos se tiene evidencia de que se da la formación de un sistema en el que interactúan sin ningún inconveniente el hongo y bacterias con la planta hospedadora^[7]. Sin embargo, tendría que ser estudiado en particular como afecta la presencia de bacterias y comprobar si hay correlación alguna para la colonización por hongos o bien la interacción de esta bacteria con los diferentes hongos respecto a la planta hospedadora.

Tabla 1. Mediciones de diámetro, altura y número de trifolios correspondiente a cada tratamiento por hongo diferente.

Hongo	Diámetro	Altura	Número de trifolios	Hongo	Diámetro	Altura	Número de trifolios
Control	0.35 cm	18.5 cm	1	H12-1	0.3 cm	42.2 cm	2
Control	0.30 cm	18.6 cm	2	H12-1	0.45 cm	35.7 cm	3
Control	0.39 cm	32 cm	2	H12-1	0.4 cm	34.1 cm	4
Control	0.35 cm	20.5 cm	2	H-114	0.35 cm	35.2 cm	4
Control	0.30 cm	18.5 cm	2	H-114	0.4 cm	39.4 cm	3
Control	0.45 cm	20.5 cm	2	H-114	0.35 cm	19.8 cm	3
H-MOV2-1	0.3 cm	20 cm	3	H-114	0.3 cm	23.8 cm	3
H-MOV2-1	0.35 cm	22 cm	2	H-115	0 cm	0 cm	0
H-MOV2-1	0.4cm	24.5 cm	2	H-115	0.4 cm	25.5 cm	4
H-MOV2-1	0.4 cm	40 cm	2	H-115	0.3 cm	36.2 cm	2
H-MOV2-1	0.3 cm	7 cm	2	H-115	0.35 cm	28.1 cm	4
H-MOV2-1	0.2 cm	4.1 cm	1	H-115	0.35 cm	32.3 cm	4
H-32	0.4 cm	30 cm	2	H-115	0.35 cm	53.8 cm	3
H-32	0.39 cm	21 cm	3	H-15	0.35 cm	22.5 cm	3
H-32	0.42 cm	28.5 cm	2	H-15	0.4 cm	20.4 cm	4
H-32	0.3 cm	19.5 cm	1	H-15	0.45 cm	25.2 cm	2
H-32	0.3 cm	28.2 cm	1	H-15	0.4 cm	22.4 cm	2
H-32	0.4 cm	27.2 cm	2	H-15	0.4 cm	22.2 cm	2
H3-1	0.35 cm	27.5 cm	2	H-112	0.35 cm	25.4 cm	3
H3-1	0.41 cm	29.5 cm	2	H-112	0.35 cm	29.7 cm	2
H3-1	0.4 cm	16.3 cm	1	H-112	0.45 cm	22 cm	4

H3-1	0.31 cm	23.8 cm	3	H-112	0.45 cm	21 cm	2
H3-1	0.55 cm	20 cm	2	H-112	0.45 cm	20.5 cm	3
H3-1	0.3 cm	20 cm	2	H-112	0.45 cm	19.1 cm	2
H-111	0.4 cm	23.8 cm	2	H-816	0.4 cm	35.7 cm	3
H-111	0.4 cm	33.5 cm	2	H-816	0.5 cm	18.3 cm	2
H-111	0.6 cm	6.4 cm	2	H-816	0.4 cm	12.7 cm	0
H-111	0.5 cm	22.8 cm	2	H-816	0 cm	0 cm	0
H-111	0.41 cm	28.5 cm	2	H-816	0.4 cm	17.8 cm	1
H-111	0.32 cm	23 cm	2	H-816	0.4 cm	25.4 cm	3
H- 33	0 cm	0 cm	0	H-9	0.4 cm	47.5 cm	3
H- 33	0 cm	0 cm	0	H-9	0.35 cm	27.2 cm	4
H- 33	0 cm	0 cm	0	H-9	0.35 cm	34 cm	5
H- 33	0.45 cm	33 cm	2	H-9	0.35 cm	74.8 cm	2
H- 33	0.3 cm	23 cm	1	H-9	0.4 cm	51.2 cm	2
H- 33	0.41 cm	16 cm	1	H-9	0.4 cm	25.7 cm	1



Figura 2. Posible presencia de hongo 111, obtenido a partir de muestra de raíz de Phaseolus vulgaris.



Figura 3. Hongos aislados de muestras de raíz de Phaseolus vulgaris inoculados con hongo 111 (placa de la izquierda) y hongo 104 (placa derecha) respectivamente.



Figura 4. Nódulos en raíz de planta *Phaseolus vulgaris*.

CONCLUSIONES

Fue posible establecer la colonización con dos hongos, pertenecientes a la colección de 12 que fueron previamente aislados de Lirio acuático. Dado que las plantas no presentaron ninguna característica de enfermedad se puede asumir una relación endófito, el procedimiento de inoculación fue el adecuado para que las semillas estuvieran en estrecha relación. Este estudio sienta las bases para próximas investigaciones en las que se evalúen los efectos de esta interacción sobre procesos de estrés bióticos y abióticos que tienen estos hongos endófitos en las plantas del frijol. Además de abrir un nuevo camino para investigar la bacteria que se asoció a la planta y su papel en relación a hongos endófitos con *Phaseolus vulgaris*.

BIBLIOGRAFIA

- Zhang, T., y Yao, Y.-F. (2015). Las comunidades fúngicas endófitas asociadas con las plantas vasculares en la zona ártica alta son altamente diversas y específicas de plantas huéspedes. *PLoS ONE*, 10 (6), e0130051. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0130051>
- Sapp J. La dinámica de la simbiosis: una visión histórica. *Can J Bot.* 2004; 82 : 1046-1056.
- Hardoim P. R., Van Overbeek L. S., Berg G., Pirttilä A. M., Compant S., Campisano A., et al. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 79 293–320. 10.1128/MMBR.00050-14
- Rodriguez RJ, Henson J, van Volkenburgh E, Hoy M, Wright L, Beckwith F, et al. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J.* 2008; 2: 404–416
- Bamisile, B. S., Dash, C. K., Akutse, K. S., Keppanan, R., & Wang, L. (2018). Fungal Endophytes: Beyond Herbivore Management. *Frontiers in Microbiology*, 9, 544.
- Broughton WJ, Hernández G., Blair M, Beebe S., Gepts P., Vanderleyden J. Beans (*Phaseolus* spp.) Modelo de leguminosas alimenticias. *Planta y suelo.* 2003;252:55 128
- Sarabia O.M., Madrigal P.R., Martínez T.M., Carreón A.Y., Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones, *Biológicas*, Julio 2010, 12(1): 65 – 71
- Bamisile, BS, Dash, CK, Akutse, KS, Keppanan, R., y Wang, L. (2018). Endófitos fúngicos: más allá del manejo de herbívoros. *Frontiers in Microbiology*, 9, 544.

Petrini, O. a. E. M. (1979). "Pilzliche Endophyten, am Beispiel von *Juniperus communis* L. Sydowia. . 32: 224-251.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó bajo la supervisión del Dr. Adan Topiltzin Morales Vargas' con el cual estoy gratamente agradecida por tanta amabilidad y conocimiento compartido, que sin duda alguna llevo a que mi estancia fuera parte de lo maravilloso pues también junto a mis compañeros de verano pasamos juntos muy gratos momentos, un excelente equipo de trabajo complementado para un fin en común, el cual hizo de este verano mi mejor experiencia académica.

ANÁLISIS DEL PROCESO DE RECOCIDO EN UN ACERO BAJO CARBONO

Kevin Aarón Rodríguez Banda¹ y Laura Guadalupe Castruita Ávila²

RESUMEN

El objetivo de este reporte es analizar las condiciones de tratamiento térmico del acero de doble fase y determinar su influencia sobre la estructura y las propiedades mecánicas del acero. El tratamiento térmico en acero con bajo contenido de carbono sirve para mejorar la ductilidad, mejorar la tenacidad, la resistencia, la dureza y la resistencia a la tracción y para revivir el estrés interno desarrollado en el material.

ABSTRACT

The aim of the report is to analyze heat treatment conditions of dual-phase steel and to determine their influence on the structure and mechanical properties of steel. Heat treatment on low carbon steel is to improve ductility, to improve toughness, strength, hardness and tensile strength and to relieve internal stress developed in the material.

Palabras Clave: Tratamiento térmico; propiedades térmicas.

INTRODUCCIÓN

Los aceros al carbono que consisten en aproximadamente cuatro quintos del tonelaje total de producción de acero, son económicos en comparación con los aceros aleados. Estos se usan ampliamente como componentes estructurales para muchas aplicaciones de ingeniería. En los últimos años, la búsqueda y la aplicación de nuevos materiales avanzados han tenido mucha demanda en las industrias automotrices. Los factores importantes que tiene en cuenta la industria del automóvil en un proceso de fabricación de automóviles modernos son: la alta relación entre la resistencia del material y su densidad, el consumo reducido de combustible, la mejora de la seguridad y la limitación de los gases de escape nocivos.

En la industria automotriz moderna, a menudo se usan placas laminadas en caliente de aceros micro aleadas. Se fabrican en líneas integradas que conectan la colada continua, la laminación y la refrigeración acelerada desde una temperatura de laminación de acabado. Dependiendo de la aplicación específica y la localización de un elemento en la estructura de un vehículo, se seleccionan diferentes aceros. En la presente investigación, se intenta estudiar el efecto del tratamiento térmico templado e intercrítico sobre las propiedades mecánicas del acero simple de bajo carbono. Por lo tanto, el presente documento es para mostrar otro proceso simple para mejorar las propiedades mecánicas del acero simple de bajo carbono (contenido de carbono de 0,06% en peso). La clave del proceso es comenzar con el laminado en frío y, posteriormente, el recocido intercrítico.

MARCO TEÓRICO

Acero bajo en carbono. El acero con bajo contenido de carbono es el tipo más común de acero, ya que su precio es relativamente bajo, mientras que proporciona propiedades materiales que son aceptables para muchas aplicaciones. No es externamente quebradizo ni dúctil debido a su bajo contenido de carbono.

Tratamiento térmico. El proceso de tratamiento térmico se lleva a cabo primero calentando el material y luego enfriándolo en la salmuera, agua y aceite. El propósito del tratamiento térmico es suavizar el metal, cambiar el tamaño del grano y modificar la estructura del material. Los diversos procesos de tratamiento térmico comúnmente empleados en la práctica de la ingeniería son los siguientes:

¹ Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Benito Juárez, Guadalupe, 25720 Monclova, Coah. México. kevrbk@outlook.es.

² Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Benito Juárez, Guadalupe, 25720 Monclova, Coah. México. castruita_laura@hotmail.com

Recocido: el objetivo es suavizar el acero al carbono y permitir una mayor confortabilidad, esta es la forma de acero más blanda y dúctil.

Recocido completo: el acero al carbono se calienta a aproximadamente la temperatura crítica superior (550-650 °C) durante 1 hora. El acero recocido completo es blando y dúctil sin estrés interno.

Recocido del proceso: El acero se calienta a una temperatura inferior o cercana a la temperatura crítica más baja (550-650°C), se mantiene a esta temperatura durante un tiempo y luego se enfría lentamente.

Recocido de difusión: El proceso consiste en calentar el acero a alta temperatura (1100-1200 °C). Este proceso se usa principalmente para lingotes y fundición grande.

METODOLOGÍA

Se usaron láminas laminadas en caliente de acero comercial de bajo carbono que contenía Fe-0.06C, 0.14Mn, 0.01P, 0.01S (todo el % en peso). Las hojas con un tamaño de 5 mm de espesor, 25 mm de ancho y 100 mm de longitud se cortaron de la placa y luego se laminaron en frío hasta una reducción del 50% en pasadas múltiples a temperatura ambiente usando un laminador de laboratorio (rodillo diámetro: 80 mm, velocidad: 10 rpm). Los especímenes laminados en frío se recocieron intercríticamente a diversas temperaturas que variaban de 750 °C a 850 °C durante 5 minutos antes del enfriamiento con agua helada. El proceso se indica en la Fig. 1.

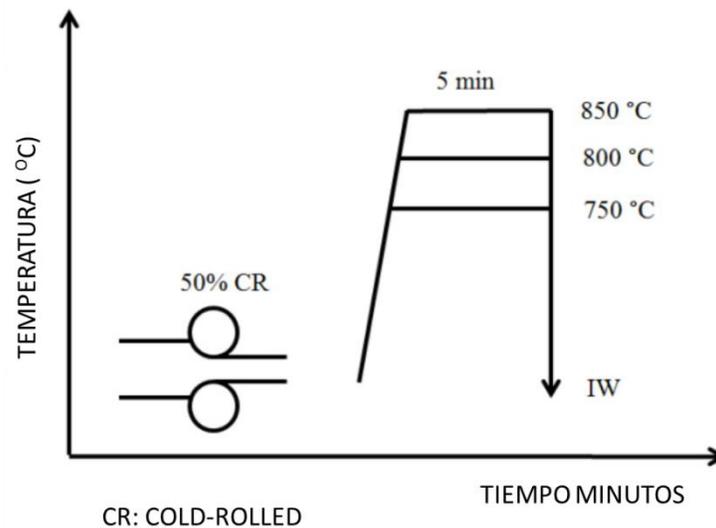


Fig. 1. Esquema de tratamientos térmicos del acero simple bajo en carbono investigado. [3]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Fig. 2. ilustra la microestructura del acero liso de bajo carbono, la deformación en frío y la muestra tratada térmicamente. Se puede ver en la Figura 2, la microestructura de la muestra tal como se recibe comprende principalmente de ferrita (F) con una cantidad menor de perlita (P). El tamaño promedio del grano de ferrita es de aproximadamente 11.5 μm . La figura 2 muestra la microestructura del 50% de la muestra laminada en frío. Los granos de ferrita y las colonias de perlita se alargan a lo largo de la dirección de laminación de la lámina.

[Escriba aquí]

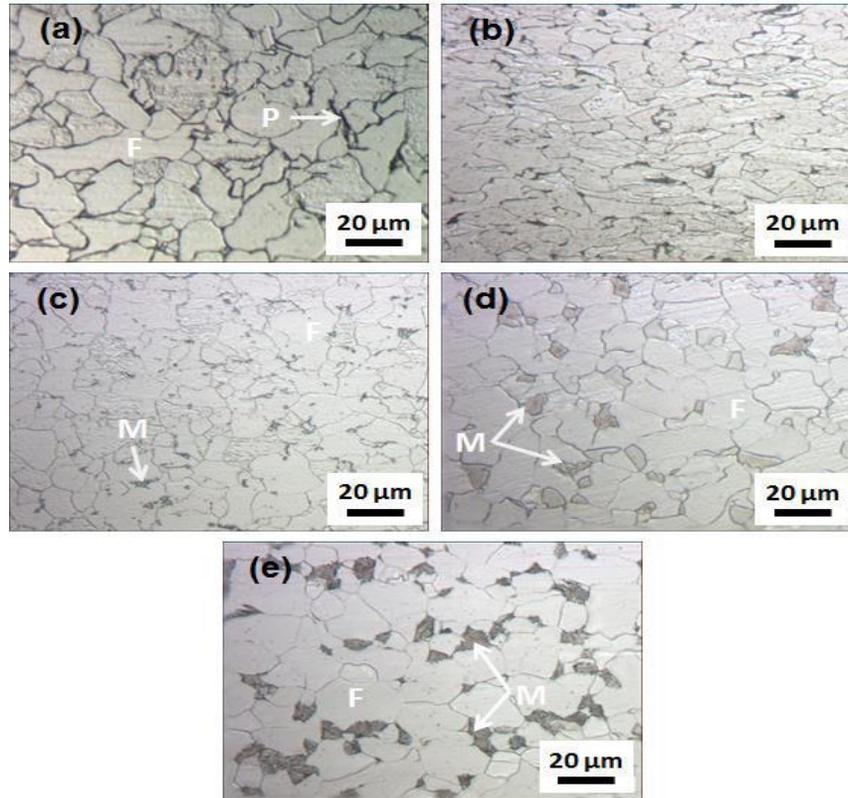


Fig. 2. Microestructuras de muestras simples de bajo carbono, laminadas en frío y tratadas térmicamente. (a) En estado de colada (b) 50% de laminación en frío (c) recocido intercrítico a 750°C, (d) recocido intercrítico a 800°C y (e) recocido intercrítico a 850°C durante 5 minutos. Observado desde la dirección transversal (TD). [3]

CONCLUSIONES

De los diversos resultados obtenidos durante el trabajo del proyecto se puede concluir que las propiedades mecánicas varían dependiendo de los diversos procesos de tratamiento térmico. Por lo tanto, dependiendo de las propiedades y aplicaciones requeridas, deberíamos buscar un proceso de tratamiento térmico adecuado. Se investigó un proceso simple para mejorar las propiedades mecánicas del acero simple de bajo carbono. La presente ruta de procesamiento parece ser un método muy simple que podría aplicarse a la producción industrial de chapa de acero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Pankaj Sharma. (2017). Study of the Effect of Quenched and Inter Critical Heat Treatment on Mechanical Properties of Plain Low Carbon Steel (0.09% C, 0.5% Mn, 0.05% S). En International Journal of Current Engineering and Technology. Vol. 7, No.1 Feb 2017 [pp. 248-255].
- [2] Saddam Hussain, S. Punaykanti, Rashmi Ranjan Panda, Dillip Mohanta. (2018). Effect of Heat Treatment in Low Carbon Steel en International Journal of Engineering and Management Research, Vol.8, No. 2, Abril 2018 [pp. 87-90].
- [3] Phoumiphon. Na,c, Radzali Othmanb, Ahmad Badri Ismaila. (2016). Improment in Mechanical Properties Plain Low Carbon Steel Via Cold Rolling and Intercritical Annealing en Procedia Chemistry, vol. 19, 2016 [pp. 822 – 827].

[Escriba aquí]

ADSORCION DE CIANURO DE SODIO EN CARBON DE LA REGION CARBONIFERA

Kevin Daniel Borrego González¹ y Leonor Muñoz Ramírez²

RESUMEN

La adsorción de cianuro de sodio en una partícula porosa de carbón involucra los fenómenos simultáneos de difusión en el poro y adsorción en las áreas activas del carbón. Las investigaciones en la adsorción consideran usualmente un modelo de difusión en el poro, comparando las isotermas de adsorción con las isotermas de Freundlich. El estudio de cinética de adsorción de carbón indica que la energía de activación para la difusión demuestra que la etapa limitante en la tasa de adsorción es la difusión. los experimentos constaron de múltiples pruebas con variantes de concentración del cianuro de sodio, gramos de carbón y función de tiempo. Mostrando el carbón vegetal mayor adsorción.

ABSTRACT

The adsorption of cyanide of sodium in a porous particle of coal involves the simultaneous phenomena of diffusion in the pore and adsorption in the active areas of the coal. The investigations(researches) in the adsorption consider usually a model of diffusion in the pore which isotherms of adsorption with Freundlich's isotherms. The study of kinetic of coal adsorption indicates that the energy of activation for the diffusion demonstrates that the bounding stage in the rate of adsorption is the diffusion. the experiments they consisted of multiple tests(proofs) with variants of concentration of the cyanide of sodium, grams of coal and function of time. The majority of types of coal. Showing the major charcoal adsorption.

Palabras clave: adsorción, carbón, difusión.

INTRODUCCION

El cianuro de sodio (NaCN) es la sal sódica del ácido cianhídrico y se puede encontrar de manera natural o puede ser manufacturado. Se utiliza como compuesto básico para la industria química, se utiliza para procesar metales, endurecer acero, se utiliza sobre todo en la minería para extraer oro y plata. El carbón vegetal se forma cuando la madera es calentada en ausencia de aire. se llama carbón activado cuando está preparado en un laboratorio especializado para aumentar su poder de adsorción, tiene la propiedad única de retener en su superficie gases venenosos, drogas, químicos, bacterias y virus. Los experimentos se basaron en la capacidad de adsorción del carbón frente a una sustancia toxica como lo es el cianuro de sodio.

METODOS Y MATERIALES

La experimentación se realizó con dos tipos de carbón (mineral y vegetal) y distintas concentraciones de cianuro para determinar cuál carbón es más eficiente en la adsorción de cianuro, preparando 3 soluciones de pH 11 de 1 litro cada una en matraz bola, se agregaron distintos pesos de cianuro a cada litro de pH 11. Tomando 250 ml de cada solución se agregaron distintos gramos de carbón y se mantuvieron en agitación durante 1 hora (con agitador magnético) la agitación debe ser suficiente para mantener al carbón suspendido en solución y maximizar el transporte de cianuro a la superficie del carbón, tomando muestras de 10 ml cada cierto tiempo, a su vez cada muestra fue filtrada a un color opalescente y posteriormente agregando 3 gotas de indicador se vertió nitrato de plata hasta lograr un color rosado. Finalmente, la muestra inicial de 250 ml con carbón fue filtrada y dejado secar para análisis posteriores.

¹. Facultad de metalurgia .Universidad Autónoma de Coahuila. Carretera 57 Kilómetro 5, Estancias de San Juan 25720 Monclova, Coahuila, kevindanielb@hotmail.com.

² Facultad de metalurgia .Universidad Autónoma de Coahuila. Carretera 57 Kilómetro 5, Estancias de San Juan 25720 Monclova, Coahuila, leonorm68@yahoo.com.mx.

RESULTADOS

Efecto pH

El nivel de pH influye la cinética de adsorción, sin embargo variaciones de pH en el rango de 9.2 a 11 no afectan significativamente la velocidad de adsorción además de ser más estable.

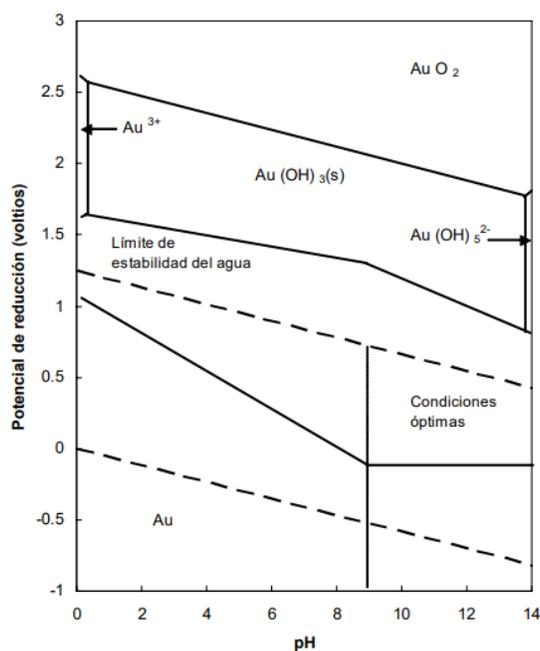


Figura 1. Diagrama de estabilidad de pH

Efecto tamaño de partícula

Uno de los efectos más importantes de analizar para el presente estudio es el tamaño de partícula del carbón. el aumento del área superficial implica que existen más sitios activos por cada unidad de masa de carbón, por lo que la capacidad de carga debería incrementarse, adicionalmente al disminuir el diámetro de la partícula se elimina gran parte de la resistencia a la difusión intrapartícula con lo que se espera que la velocidad de adsorción aumente.

los resultados experimentales revelan una clara diferencia entre la velocidad inicial de adsorción con el carbón de mayor tamaño y la velocidad al usar otros 3 más pequeños, mientras que la diferencia entre estos no es muy marcada.

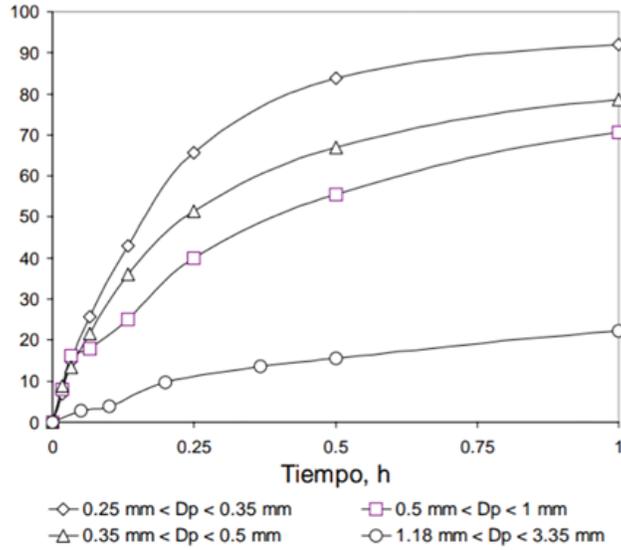


Figura 2. Efecto del tamaño de partícula en la velocidad inicial de adsorción.

Curvas de equilibrio

Para evitar que la curva cinética encuentre un equilibrio ficticio al 100% de adsorción, la concentración de carbón fue variada para asegurar que adsorción no sobrepase el 80%

En las pruebas experimentales se escogió para tal efecto los tamaños de partícula más grandes ya que todos estos servían de referencia para prevenir que el cianuro se agote al usar los carbones más pequeños. Los resultados son satisfactorios para concentraciones menores a 1 g/l para el carbón de mayor tamaño

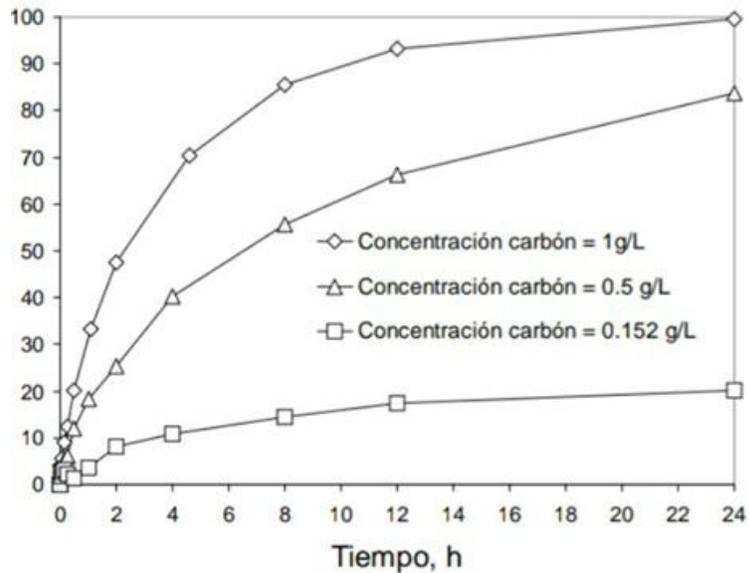


Figura 3. Efecto de la concentración de carbón en la cinética de adsorción. Diámetro de partícula: 1180-3350 μm .

Sin embargo al disminuir el tamaño de partícula se encontró que la concentración de carbón debe ser reducida drásticamente a .0152 g/ l para alcanzar el nivel de saturación

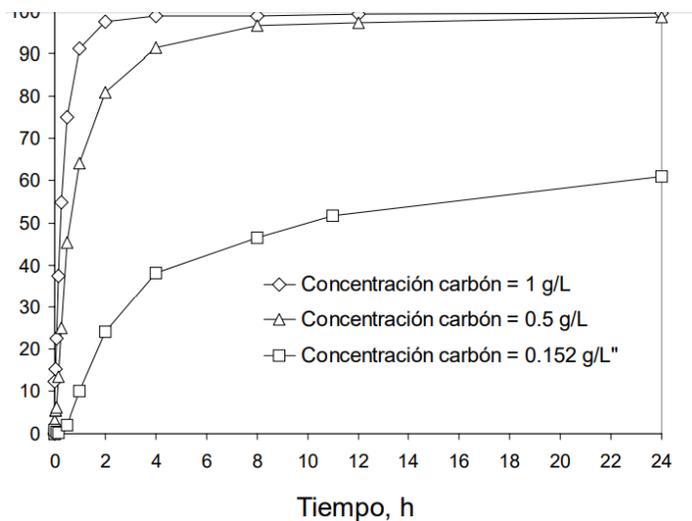


Figura 4. Efecto de la concentración en la cinética de adsorción. Tamaño de partícula: 500-1000 μ m.

CONCLUSIONES

El carbón vegetal es simple de hacer y fácil de usar, es barato, y fácil de adquirir es inofensivo y muy efectivo, además de mostrar mayor adsorción. La adsorción también es posible por la competición de los iones cianuro por ocupar espacios en la superficie del carbón .el aumento de temperatura provoca una disminución de la velocidad y la capacidad de adsorción del carbón. Un pH básico es más ideal para estos procesos ya que los vuelve más estables. La velocidad de agitación se relaciona en forma directa con la velocidad de adsorción e inversamente al tamaño de partícula, reducir el tamaño de partícula produce un incremento sustancial del área superficial externa.

BIBLIOGRAFIA

Libros

G.Mc Dougall, M. Adams y R. Hancock, Hydrurometallurgy 18(1975)125-138

BalciS., Dogu T & Yucel H.,1994, Characterization of activated carbon produced from almond shell and hazelnut shell , J. Chem. Tech. Biotechnol. vol. 60, pp, 419-426.

Bard A. J. & Faulker L. R. 2000, Electrochemycal Methods: fundamentals and aplicaciones, edition 2, Wiley: New York ,833 pp.

Bird R., Stewart W. & Lightfoot E, 1998, fenomenos de transporte, reverta barcelona

Artículos en línea

<http://carbonapelsa.com.mx/pages/english/activatedcarbon.html>

PRODUCCIÓN DE LACASAS Y MANGANESO PEROXIDASAS DE HONGOS AISLADOS DE MÉXICO

Laura Lizeth Vázquez Jaime¹ y Divanery Rodríguez Gómez²

RESUMEN

La producción de lacasas y peroxidasas que presentan algunos hongos se puede ver reflejada mediante la degradación de colorantes artificiales, para evaluar esta hipótesis se seleccionaron 8 aislados del Laboratorio de Diversidad e Interacción Microbiana (LDIM) en el Instituto Tecnológico Superior de Irapuato cuyo crecimiento fue expuesto a una concentración de Rojo Congo en medio líquido y sólido. Se demostró que todas los aislados crecieron en el medio debido a que logran degradar el colorante sin dejar residuos tóxicos. Además, los aislados 43, 38 POT y 18 MMYT resultaron ser las más eficientes con % de degradación entre 95 y 98%, concluyendo así que ésta actividad enzimática les proporciona una protección ante los contaminantes. Los resultados sugieren que estos aislados pueden ser de interés para su uso posterior en la degradación de algunos otros contaminantes xenobióticos.

Palabras Clave: Hongos, Lacasas, Peroxidasasa, Degradación, Rojo Congo.

ABSTRACT

Some fungi exhibit the production of laccases and peroxidases through the degradation of artificial dyes. In order to evaluate such hypothesis, eight isolates of fungi from the LDIM collection were selected and tested for Congo Red degradation in liquid and solid medium. It was shown that all the isolates grew in presence of Congo red medium because they managed to degrade the dye without leaving toxic residues. Besides, isolates 43, 38 POT and 18 MMYT were found to be the most efficient, with degradation percentages from 95 to 98%, concluding that this enzymatic activity provides protection against contaminants. The results suggest that these isolates may be of interest for their subsequent use in the degradation of some other environmental contaminants.

KEY WORDS: Fungi, Laccases, Peroxidase, Degradation, Congo Red.

INTRODUCCIÓN

Los hongos poseen la capacidad de producir diferentes enzimas que hacen posible adaptarse a distintas condiciones en el ambiente mediante la degradación de sustratos presentes en él, por ejemplo, la lignina que es uno de los mayores componentes de la materia vegetal (Dávila y Vázquez, 2006), debido a que una gran cantidad de estos microorganismos crecen en ella. Esta producción de enzimas puede detectarse mediante diferentes métodos cualitativos y cuantitativos. Las enzimas ligninolíticas como son Lacasas y Manganese Peroxidasas tienen actividad oxidorreductora, las cuales presentan una gran versatilidad ya que catalizan una amplia gama de sustratos (Martínez et al., 2017), entre ellos los colorantes artificiales.

El Rojo Congo (RC) es un colorante diazo-aniónico que además de afectar la estética, la transparencia del agua y la solubilidad de oxígeno en los cuerpos de agua, se ha reportado como altamente tóxico para los seres vivos debido a que puede ser metabolizado a bencidina, conocido carcinogénico humano. Los enlaces covalentes en la molécula le confieren estabilidad, que junto con su estructura molecular compleja dificultan la biodegradación y la fotodegradación (Bhattacharyya y Sharma, 2004). Sus principales aplicaciones son en medicina (como tinte biológico) y como indicador, ya que cambia de color de rojo a azul al pasar de medio ácido a básico. También se ha usado en la industria textil y como dosímetro de rayos gamma ya que su decoloración decae con la intensidad de la radiación (Murcia & Col., 2014).

En el presente trabajo se analizaron los aislados denominados como 2 Myrist, 7 BM, 17.1 Oyamel, 18 MMYT, 31.1 Peri con Morado, 43, 41x y 38 POT, los cuales fueron aislados de Santa Ana Jilotzingo en el Estado de México, Para

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5, El copal, CP: 36821, Irapuato, Guanajuato, lauravazqz@hotmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Coordinación de Ingeniería Bioquímica, Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5, El copal, CP: 36821, Irapuato, Guanajuato, divanery.rodriguez@itesi.edu.mx

determinar si estos aislados tienen la capacidad de crecer en presencia de algún colorante, en este caso Rojo Congo, así como también de degradarlo eficazmente.

METODOLOGÍA

REACTIVACIÓN DE AISLADOS

Se utilizaron los aislados 2 Myrist, 7 BM, 17.1 Oyamel, 18 MMYT, 31.1 Peri con Morado, 43, 41x y 38 POT provenientes de la colección LDIM, se sembraron en medio agar papa dextrosa (PDA) con incubación de 7 días a 30°C y se realizó observación macroscópica y microscópica.

SIEMBRA EN PRESENCIA DE ROJO CONGO

CULTIVO SUPERFICIAL:

Se preparó medio de cultivo Agar con Extracto de Malta con y sin rojo Congo a 50 ppm de acuerdo a la siguiente formulación (g/L): Extracto de Malta, 2; $(NH_4)SO_4$, 3.5; K_2HPO_4 , 3; $MgSO_4$, 0.5; $CaCl_2$, 0.5; $MnSO_4$, 0.5; Agar Bacteriológico, 15; Rojo Congo, 0.05. Se prepararon controles sin RC y medio sin inocular. En el centro de las cajas Petri se colocó un círculo de 0.7 mm de diámetro de agar PDA crecido por 7 días, de cada uno de los aislados de manera independiente. Se incubó a 30°C por 7 días y se midió diariamente el diámetro de crecimiento, y se calculó la velocidad de crecimiento radial. Además, en el caso del medio con RC se observó si existía una disminución en la coloración del medio, para comparar con la caja control sin inocular.

MEDIO LÍQUIDO:

Se preparó medio líquido con Extracto de Malta y RC a 50 ppm siguiendo la formulación del medio sólido, pero sin agregar Agar Bacteriológico y se distribuyó 50 ml en matraces Erlenmeyer de 125 ml de capacidad. Cada matraz fue inoculado separadamente con dos círculos de 0.7mm de diámetro de PDA previamente crecido. El experimento se llevó a cabo por duplicado para cada uno de los aislados con incubación a 30°C por 13 días. La decoloración del medio se hizo por espectrofotometría a 500 nm (Cary 50) para lo cual se usó una curva patrón del medio de cultivo para determinar el % de degradación de RC en el medio de cultivo.

EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO

Se realizó por el Método de Peso Seco (Arnáiz et al., 2000) usando filtros de 20 a 25 µm de poro.

PRUEBA DE TOXICIDAD

Se utilizó *Saccharomyces cerevisiae* crecida en medio YPD a 30°C y 150 rpm durante 24 horas, el cual fue agregado a los medios según se describe en la Tabla 1. Cada sistema contenía medio YPD y la fracción líquida de los medios de cultivo obtenidos después de 13 días de transcurrido el experimento de decoloración (previamente descrito). Las pruebas se incubaron a 30°C y 150 rpm durante 24 horas. Finalmente se realizó un conteo estimado de células vivas y muertas que fueron comparadas con el control (Kwolek-Mirek y Zadrag-Tecza, 2014).

Tabla 1. Formulación de muestras para prueba de toxicidad

	Componente		
	Fracción líquida	Inoculo de Levadura	YPD Estéril
Control	0	100 µl	900 µl
Sistema I	500 µl	100 µl	400 µl
Sistema II	700 µl	100 µl	200 µl

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

REACTIVACIÓN DE AISLADOS

Los aislados crecieron de forma pura en PDA y se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas con objetivo 40x, de cada uno de ellos cuyas características se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Características macroscópicas y microscópicas de las cepas

Cepa	Observación	
	Macroscópica	Microscópica
2 Myrist	Hongo de color amarillo, abundante micelio aéreo de color blanco y torna el medio a una coloración café-negra.	Hifas sin septos con pocas ramificaciones y ramilletes de esporas circulares en las terminaciones.
7 BM	Hongo de color negro y al centro una coloración amarillo-café, muy poco micelio aéreo y torna el medio a una coloración negra.	Hifas muy septadas, con ramificaciones, sin esporas presentes.
17.1 Oyamel	Hongo de color amarillo y al centro café, micelio aéreo de color blanco y torna el medio a una coloración amarillo-café.	Hifas sin septos con ramificaciones y pocas esporas ovaladas.
18 MMYT	Hongo con una coloración naranja-rosa-rojo al centro, micelio aéreo de color blanco-amarillo y no hay cambio de coloración en el medio.	Hifas septadas en forma de punta con ramificaciones y esporas circulares.
31.1 Peri con Morado	Hongo de color rojo, crece pegado al agar, muy poco micelio aéreo y torna el medio a una coloración gris-morado.	Hifas muy septadas con ramificaciones y esporas ovaladas.
38 POT	Hongo de color blanco, demasiado micelio aéreo y torna el medio a una coloración amarilla.	Hifas sin septos, ramificadas y con esporas circulares.
41x	Hongo de color blanco, sin micelio, crece pegado al agar y torna el medio a una coloración amarillo-café.	Hifas sin septos y gruesas ramificadas con abundantes esporas ovaladas.
43	Hongo de color blanco, demasiado micelio aéreo no hay cambio de coloración en el medio.	Hifas sin septos en forma de punta con pocas ramificaciones y abundantes esporas ovaladas.

De estos aislados se conoce que 18 MMYT pertenece a la especie *Fusarium*, 38 POT a *Pleurotus* y 43 a *Trametes* y de acuerdo a fichas micológicas (Cuesta y Jiménez, 2016), las características anteriormente mencionadas constatan dichas especies.

DEGRADACIÓN DE ROJO CONGO EN CULTIVO SUPERFICIAL

Todos los aislados lograron crecer en el medio sólido que contenía RC. Se encontró que el diámetro final al día 5 (Figura 1) fue menor en la mayoría de los aislados en el medio con RC que en su respectivo medio control. Los aislados 43 y 38 POT presentaron la mayor decoloración del medio con RC, sin embargo, los otros aislados presentaron una ligera disminución de la coloración, como se muestra en la Figura 2.

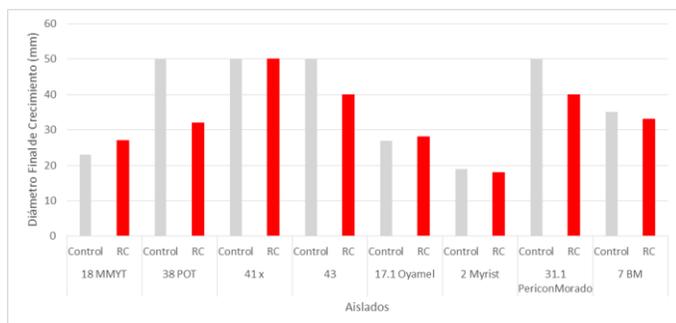


Figura 1. Diámetro final de crecimiento en medio control (barras grises) y en RC (barras rojas).

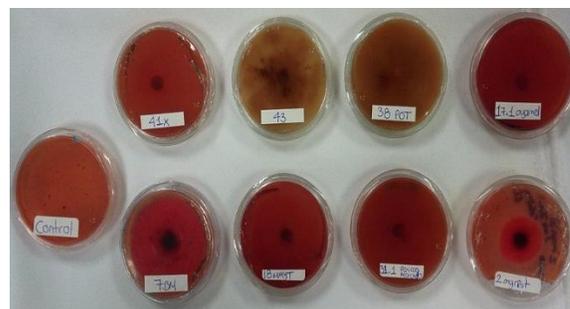


Figura 2. Decoloración de medio agar con RC de distintos aislados

En cuanto a las velocidades de crecimiento obtenidas en presencia de RC, se encontraron en valores que van de 1.2 a 4.75 mm/día, mientras que en los medios sin RC se encontró las velocidades desde 1.4 hasta 4.7 mm/día, lo cual son velocidades similares, los detalles se muestran en la Tabla 3, denotando que las mayores velocidades las presentaron los aislados 41X y 31.1.

Tabla 3. Velocidad de crecimiento radial en presencia y ausencia de Rojo Congo.

Aislado	Ur control (mm/d)	Ur RC (mm/d)
2 Myrist	1.4	1.2
7 BM	2.6	3.25
17.1 OYAMEL	2.1	2.5
18MYMT	1.4	1.7
31.1 PERI CON MORADO	4.7	3.65
38 POT	3.7	2.2
41X	4.3	4.75
43	4.2	3.4

Posteriormente, se realizaron cultivos líquidos, en todos los casos se obtuvo producción de biomasa, además se determinó el porcentaje de degradación de cada una de los aislados (Figura 3). El aislado 43 alcanzó casi el 98%, siendo la más eficaz, mientras que los aislados 38 POT y 18 MMYT mostraron cerca del 95%. Se realizaron combinaciones de aislados y se logró aumentar el porcentaje de degradación a 100% usando 43 y 38 POT. Por otra parte, los aislados 17.1 Oyamel y 2 Myrist obtuvieron porcentajes de degradación entre 90% a 95%, 31.1 Peri con Morado alcanzó casi 81%, 7 BM un poco más de 73% y 41x mostro la menor eficiencia en degradación con casi 51%.

En la Figura 4 se presentan los valores de biomasa obtenidos, algunos aislados con mayor cantidad de biomasa presentaron bajo porcentaje de degradación o viceversa, es decir que la cantidad de biomasa producida no tiene relación alguna con el porcentaje de degradación obtenido.

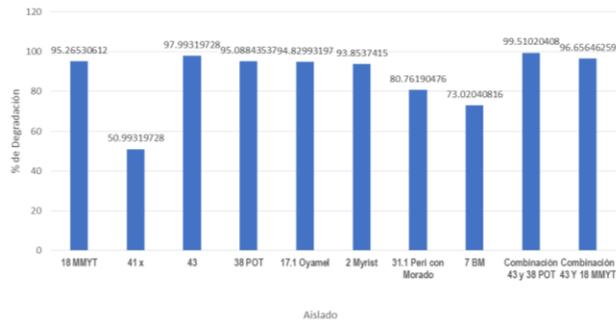


Figura 3. Porcentaje de degradación de RC en medio líquido.

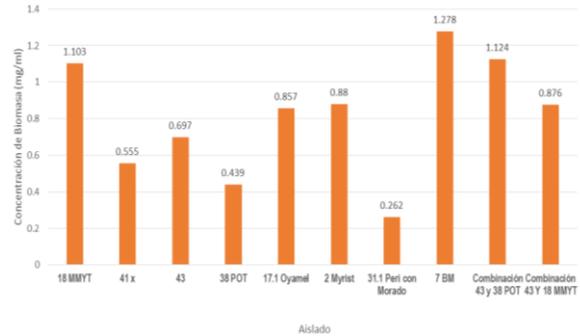


Figura 4. Concentración de Biomasa obtenida en medio líquido.

Como característica principal los aislados con altos porcentajes de degradación muestran producción de ambas enzimas en estudios cualitativos previos realizados por Martínez et al. (2017), cabe mencionar que dichos autores reportaron que 43 y 38 POT mostraron una mayor producción de lacasas, por lo que presumiblemente esta sea la enzima que tenga protagonismo en el mecanismo de degradación de RC. Estos aislados pueden ser empleados no solo para degradación de colorantes, sino también de otros contaminantes cuya estructura química sea similar.

PRUEBA DE TOXICIDAD

El porcentaje de mortalidad de los filtrados de los cultivos líquidos de cada una de las muestras no excedió en ninguna de ellas el porcentaje de mortalidad del control, lo cual se observa en la Figura 5; lo que significa que la fracción líquida de la degradación de RC no resultó tóxica para *Saccharomyces cerevisiae*.

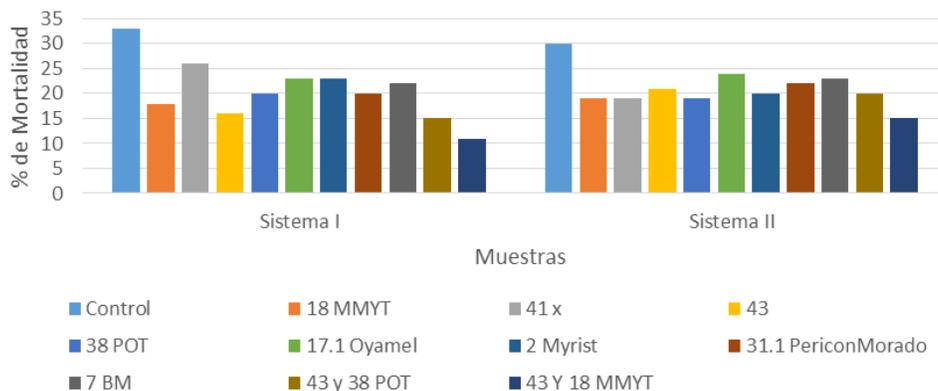


Figura 5. Porcentajes de Mortalidad obtenidos en las muestras con fracción líquida.

CONCLUSIONES

La producción de lacasas o peroxidasas que presentan estos aislados hacen posible que se desarrollen en presencia del Rojo Congo ya sea en medio líquido o sólido, aunque su crecimiento resulta ser más lento, todas las cepas son capaces de degradarlo en diferentes porcentajes, destacando 43, 38 POT y 18 MMYT con más del 95%. A pesar de esto; la cantidad de biomasa producida no influye en el porcentaje de degradación. No se encontró toxicidad sobre *S. cerevisiae* en la fracción líquida producto de la degradación; razón por la cual estos aislados tienen potencial para futuras aplicaciones en biorremediación, siendo de mayor interés el aislado 43 para trabajos posteriores.

BIBLIOGRAFÍA

- **Arnáiz, Isac y Lebrato. (2000). “Determinación de la biomasa en procesos biológicos” en Tecnología del Agua, No. 205, pp. 45-52. Consultada en sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/tvolke/00_Determin-BM.pdf (26 de Junio 2018).
- **Bhattacharyya, K. G., Sharma, A. (2004). *Azadirachta indica* leaf powder as an effective biosorbent for dyes: a case study with aqueous Congo Red solutions. *J. Environ. Management* 71: pp. 217–229.
- **Cuesta Jose y Jimenez Jorge. (2016). Guía Micológica. España. Asociación Micológica: El Royo. Recuperado de <http://www.amanitacesarea.com> (9 de agosto 2018).
- **Dávila Gustavo y Vázquez Rafael. (2006). “Enzimas Ligninolíticas Fúngicas Para Fines Ambientales” en Mensaje Bioquímico, No. 30, pp. 29-55. Consultada en https://www.researchgate.net/...Enzimas_ligninoliticas_fungicas_para_fines_ambientales (22 de Junio 2018).
- **Kwolek-Mirek y Zadrag-Tecza. (2014). “Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cells” en FEMS, pp. 1068-1079. Consultada en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25154541> (28 Junio 2018).
- **Martínez G, Martínez L, et al. (2017). “Evaluación Cualitativa De La Producción De Lacasas Y Peroxidasas En Cepas De Hongos Aislados De Suelo De Diferentes Ambientes” en Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Vol XVII, Junio.
- ** Murcia M.D., Gómez M., Ortega S., Hidalgo A.M., Gómez E., Gómez J.L. (2014). “Degradación De Rojo Congo En Un Fotorreactor Tubular De Tecnología Excimer”. Estudio Cinético.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT e ITESI por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ENDÓFITOS DE PLANTAS¹

Lesly Gisell Martínez Jurado y Jesús Israel Morales Jiménez

RESUMEN

Los hongos endófitos viven dentro del tejido vegetal y juegan un papel muy importante en la vida de la planta hospedadora ya que mantienen una estrecha relación sin provocarle daños y algunos de sus metabolitos son capaces de proporcionar defensas químicas para la sobrevivencia de ambos, es decir viven en simbiosis, por tales motivos es necesario conocerlos e identificarlos. Se realizó el aislamiento de hongos endófitos de mangles obtenidos de Sontecomapan, Veracruz. La identificación de estos hongos se hizo en base a la secuenciación de la región espaciadora interna transcrita (ITS) 5.8S y 18S del ADN ribosomal; extrayendo el ADN de las cepas fúngicas y utilizando la técnica de PCR para comprobar que el ADN extraído fuera de hongos. Se mandó a secuenciar y por medio del sistema de datos del NCBI se realizó una comparación, posteriormente se construyeron árboles filogenéticos mediante el método de máxima verosimilitud y se obtuvieron diferentes géneros fúngicos.

Palabras clave: Hongos endófitos, mangles, identificación molecular, secuenciación

ABSTRACT

Endophytic fungus live inside the plant tissue and play a very important role in the life of the host plant as they maintain a close relationship without causing damage and some of their metabolites are able to provide chemical defenses for the survival of both, in other words live in symbiosis, for such reasons it is necessary to know and identify them. The isolation of endophytic mangrove fungi obtained from Sontecomapan, Veracruz was carried out. The identification of these fungus was based on the sequencing of the transcribed internal spacer region (ITS) 5.8S and 18S of the ribosomal DNA; extracting the DNA from the fungal strains and using the PCR technique to verify that the DNA extracted was fungal. A comparison was made through the NCBI data system, phylogenetic trees were constructed using the maximum likelihood method and different fungal genera were obtained.

Key words: Endophytic fungus, mangroves, molecular identification, sequencing

INTRODUCCIÓN

En cualquier ecosistema se encuentra una gran cantidad de carga microbiana que permite la estabilidad biológica y la existencia del entorno, entre ellos se le da gran importancia a los hongos ya que secretan enzimas que pueden llegar a descomponer sustratos o/y materia orgánica en compuestos más simples para posteriormente devolverlos al suelo para su utilización, por lo que han sido llamados "*descomponedores de materia orgánica*" (Montoya, 2008), recientemente un tipo de hongos, los endófitos, han tomado mucha importancia pues son capaces de vivir dentro de las plantas sin presentar síntomas de enfermedad además de que pueden llegar a producir metabolitos bioactivos y modificar mecanismos de defensa, para así ambos prolongar su sobrevivencia (Sánchez *et al*, 2013). La palabra "*endófito*" significa etimológicamente "*dentro*

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad Universitaria, Ejido el Águila, C.P. 27276, Torreón, Coahuila. lesly080927@hotmail.com

de la planta" y refiere a cualquier organismo no agresivo que colonice dentro de ²los tejidos de las plantas (Morales & Rodríguez, 2005), pero fue en 1995 cuando Wilson limitó el término a únicamente microorganismos exponiendo solo a bacterias y hongos que no lleguen a causar lesiones a la planta (Sánchez *et al*, 2013).

Debido a las diferentes ventajas y aplicaciones que los hongos endófitos encadenan en actividades agrícolas, farmacéuticas, medicinales etc, se ha resaltado la importancia de identificarlos en los diferentes ecosistemas donde se puedan desarrollar. Uno de los ecosistemas con relevancia ecológica y económica son los ecosistemas de manglares ya que se caracterizan por su alta producción y actividad en el lavado de suelo, ocupan un papel significativo en la cadena trófica a causa de que producen bastante materia vegetal y madera en descomposición que se transforma en detrito para ser transportado hacia el mar según el flujo hídrico, para luego ser aprovechado por organismos detritívoros y transferir la energía a los sistemas marinos además se les atribuye un gran valor debido a que son excelentes detoxificadores, amortiguadores de inundaciones, y adicionalmente juegan un papel como evotranspiradores (Sánchez *et al*, 2000) la actividad de hongos es fundamental para la estabilidad del ecosistema ya que participan en el ciclaje de nutrientes y en la regulación del ecosistema.

Los primeros registros de identificación de hongos en mangles pertenecen a trabajos realizados en costas de países como la India, se estudió la presencia de estos en sedimentos marinos y de lodo, a partir de esto se lograron aislar cientos de cepas de principalmente deuteromicetes, zigomicetes, ascomycetes y oomycetes (Rai *et al*, 1978). Para la identificación de hongos existe una gran cantidad de herramientas como lo son métodos fenotípicos, bioquímicos, inmunológicos y moleculares, no obstante de que los métodos fenotípicos son los estándares, las pruebas moleculares se han convertido en parte indispensables de las pruebas fenotípicas logrando mayor especificidad y sensibilidad de los ensayos. (Lurá *et al*, 2003). Una de las herramientas moleculares más utilizada ha sido la reacción de cadena polimerasa cuyo propósito es la ampliación de un fragmento de ADN y que permite identificar a los microorganismos () ésta es relevante para secuenciación del ADN debido a que se adaptó de manera adecuada al método de Sanger que se basa en el uso de la ADN polimerasa para sintetizar cadenas con una terminación específica y generar fragmentos de ADN de todos los tamaños que se puedan distinguir entre sí; de esta forma la señal del marcaje que lleva cada fragmento aumenta y es posible obtener lecturas más claras de los fragmentos más grandes, lo que a su vez, permite la lectura de secuencias más largas. (Sanger *et al*, 1977)

MÉTODOS Y MATERIALES

Aislamiento de hongos endófitos. Teniendo en cuenta que se necesitó aislar únicamente hongos endófitos y no epífitos se requirió someter las muestras de mangles a tratamientos de desinfección. Primeramente las hojas se lavaron con agua y jabón y posteriormente se realizó un lavado con etanol al 70% durante un minuto manteniendo agitación; se repitió éste proceso pero esta vez con agua destilada estéril al menos 3 veces. Con ayuda de un bisturí estéril se hicieron cortes de aproximadamente 0.5cm² obteniendo trocitos que posteriormente se transfirieron a 3 cajas petri estériles conteniendo agar papa dextrosa (PDA), colocando 10 trozos en cada caja.

Extracción de ADN. En tubos eppendorf de 1.5 ml se colocaron 200µl de solución de lisis y aproximadamente 200mg de perlas de vidrio; en condiciones estériles y con la ayuda de un asa se tomó biomasa de las cepas y se agregaron a los tubos, después se agregaron 200µl de fenol cloroformo alcohol isoamílico (25:24:1) y se llevaron a agitación durante 5 minutos en el vórtex. Posteriormente se sometieron a un choque térmico en donde se colocaron en un baño térmico a 60°C durante 5 minutos, luego al

² Dr. Jesús Israel Morales Jiménez, División de Biología Molecular, IPICYT. Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4a secc. San Luis Potosí, 78216, México. jesus.morales@ipicyt.edu.mx Tel. 444 8342000 ext. 3244

ultracongelador a -70°C durante 5-10 minutos y finalmente en el baño térmico a 60°C durante 5 minutos; posterior a ello se añadieron 200 μl de agua estéril destilada y se llevaron a centrifugar durante 7 minutos, se recuperó el sobrenadante en otro tubo y se les agregó 200 μl de cloroformo alcohol isoamílico (24:1) se agitaron durante 30 segundos en el vórtex y se llevaron a centrifugar durante 10 minutos, se vuelve a recuperar el sobrenadante a un nuevo tubo y se adicionó 1 ml de isopropanol absoluto, se agita y se incuba al menos 2 horas a -20°C . Más adelante se llevaron a centrifugar a 4°C durante 10 minutos, se tiró el sobrenadante y se conservó la pastilla que se formó (ADN); en seguida se realizaon lavados, primero se lavó con etanol absoluto agregando 1 ml de éste, se llevó a centrifugar 10 minutos a 6°C y se tira el sobrenadante, luego se realizó este mismo procedimiento, pero con etanol al 70%. Se retiró la mayor cantidad de sobrenadante y se dejó evaporar la que no fue posible retirar con la micropipeta. Finalmente se añadieron 50 μl de agua estéril destilada y se corrió un gel de agarosa de electroforesis.

Electroforesis. Se mezcló 1 μl de de amortiguador de carga con 3 μl de la muestra de ADN. En una cámara de elctroforesis con gel de agarosa al 10% se colocaron las muestras de ADN con el amortiguador de carga y en el primer posillo se agregan 1.5 μl de marcador de peso molecular, se dejó correr el gel durante aproximadamente 1 hora.

PCR. Para realizar la PCR se preparó una mezcla con 16.3 μl de agua estéril destilada, 2.5 μl de amortiguador $(\text{NH}_4)\text{SO}_4\text{MgCl}_2$, 2 μl MgCl_2 , 1 μl de dNTPs (dATP, dGTP, dTTP y dCTP), 1 μl de oligonucleótido forward, 1 μl de oligonucleótido reverse y 1 μl de polimerasa Taq. Ésta mezcla da un total son 24 μl y se le agrega 1 μl del ADN molde con el que se está trabajando. Se agitaron los tubos se llevaron a centrifugar por 60 segundos y se llevaron al termociclador, al terminar se corrió un gel de electroforeis.

Identificación molecular y análisis filogenético. Se mandaron a secuenciar las extracciones de ADN y se realizó un análisis filogenético en donde las secuencias de sometieron a una búsqueda BLAST para determinar la identidad de los hongos, se seleccionaron secuencias relacionadas del NCBI Taxonomy Homepage (TaxBrowser) y un análisis de alineamiento utilizando Clustal X; con éstos datos se construyeron arboles filogenéticos utilizando el método de máxima verisimilitud y se ensayaron 1000bootstrap para respaldar las ramas internas utilizando el programa Mega X.

RESULTADOS

La comparación de las secuencias en BLAST arrojó resultados de diferentes géneros entre ellos se encontraron *Epicoccum*, *Xylaria*, *Mycosphaerella*, *Nigrospora* y *Alternaria*. Se construyeron los arboles filogenéticos de cada cepa fúngica por el método de máxima verosimilitud para conocer la familia a la que pertenecen, la **Figura 1** se puede identificar como *Epicoccum nigrum*; en caso de la **Figura 2** se puede identificar como *Xylaria fissilis*, la **Figura 3** como *Mycosphaerella auranti* y en cuanto a la **Figura 4** como *Nigrospora oryzae*.

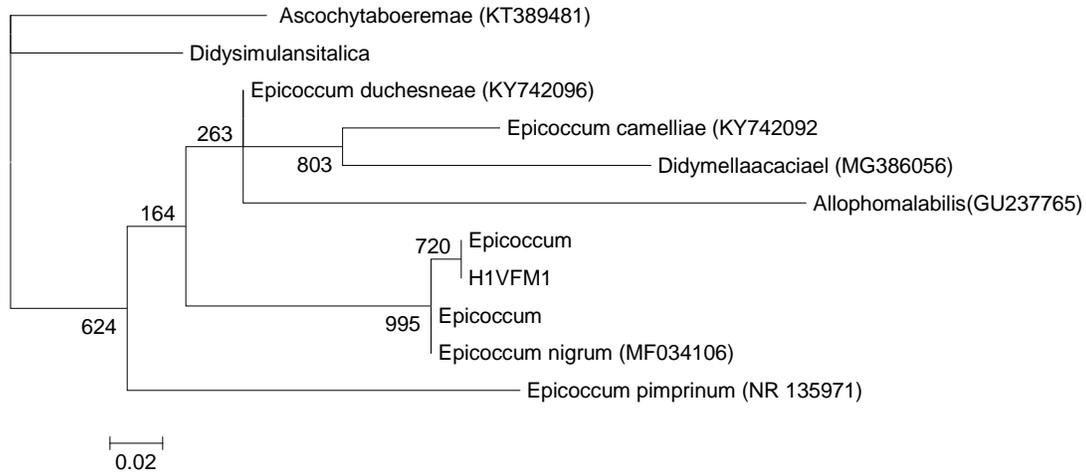


Figura 1 Árbol filogenético del género *Epicoccum* construido por el método de máxima verosimilitud (-ln L: -1056.64322). La secuencia de *Allophomalabilis* (GU237765) se usó como grupo externo. La ponderación de la transversión/ transición se realizó con el modelo Tamura-Nei 93. Para la proporción de sitios invariables I=0.822. Frecuencia nucleotídica -f(A)=0.23756 -f(C)=0.24463 -f(G)=0.22397 -f(T)=0.29384. La barra representa el 2% de divergencia estimada.

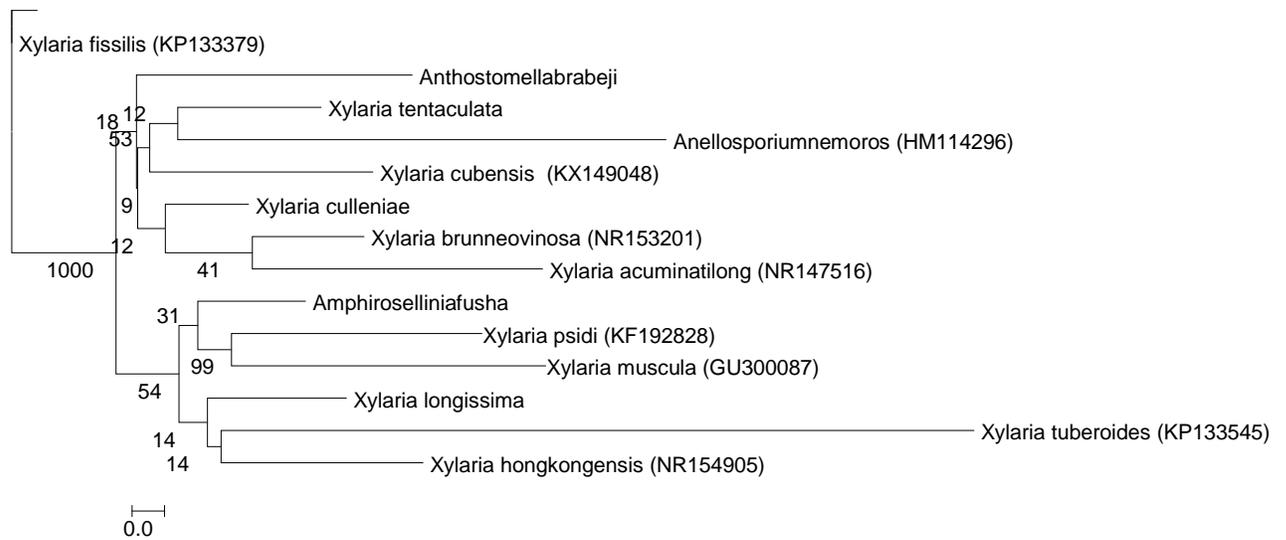


Figura 2 Árbol filogenético del género *Xylaria* construido por el método de máxima verosimilitud (-ln L:-3990.29760). La secuencia de *Anthostomellabrabeji* (HM114296) se usó como grupo externo. Se utilizó el modelo GTR. Frecuencia nucleotídica -f(A)=0.25122 -f(C)=0.23087 -f(G)=0.22579 -f(T)=0.29212. La barra representa el 2% de divergencia estimada entre las secuencias.

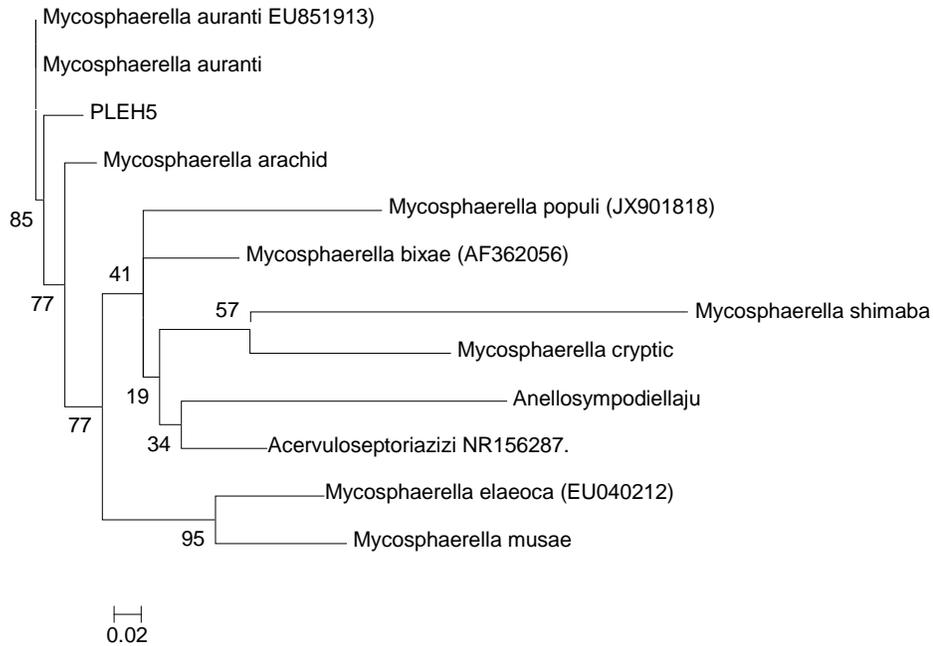


Figura 3 Árbol filogenético del género *Mycosphaerella* contruido por el método de máxima verosimilitud (-ln L:-2663.81826). La secuencia de *Anellosympodiellaju* (NR156284) se usó como grupo externo. Se utilizó el modelo GTR. Frecuencia nucleotídica -f(A)=0.21846 -f(C)=0.28647 -f(G)=0.27425 -f(T)=0.22082. La barra representa el 2% de divergencia estimada entre las secuencias.

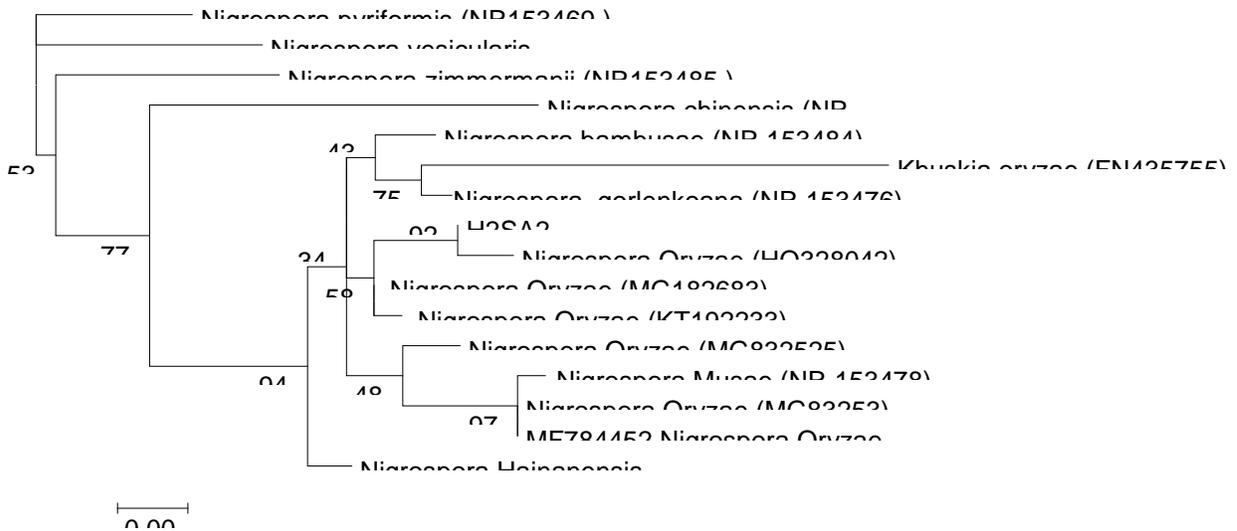


Figura 4 Árbol filogenético del género *Nigrospora* construido por el método de máxima verosimilitud (-ln L:-1229.36338). La secuencia de *Khuskia oryzae* (FN435755) se usó como grupo externo. La ponderación de la transversión/ transición se realizó con el modelo Tamura-Nei 93. Frecuencia nucleotídica -f(A)=0.23298 -f(C)=0.26810 -f(G)=0.22744 -f(T)=0.27148. La barra representa el 0.5% de divergencia estimada entre las secuencias.

CONCLUSIONES

Los hongos endófitos integran una parte importante en la vida de la planta en la que se hospedan pues son capaces de jugar un rol protector para ellas salvaguardándolas del ataque de bacterias, insectos e incluso otros hongos y la identificación molecular constituye una importante herramienta para aprovechar las propiedades de éstos y poder darles un uso biotecnológico.

BIBLIOGRAFÍA

MONTOYA, H. (2005). *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. Colombia: Universidad de Antioquia Editorial.

SÁNCHEZ, R. SANCHEZ, B. SANDOVAL, Y. ULLOA, A. ARMENDÁRIZ, B. GARCÍA, C. MACÍAS, (2013). " Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina" en *Revista especializada en ciencias químico biológicas*, Núm. 2, Vol. XVI, [pp. 132-146]

MORALES, V. RODRÍGUEZ, M. (2005). "Hongos endófitos un Paradigma para la Fitopatología. En *Revista del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela*, Vol IX

SÁNCHEZ, H. ÁLVAREZ, R. GUEVARA, O. ULLOA, A. (200). "Lineamientos estratégicos para la conservación y uso sostenible de los mangles de Colombia" en *Minambiente, Acofore*. Núm. 2 Vol II

RAI, J. CHOWDHERY, J. (1978). "Microfungi from mangrove swamps of WestnBengal" en *Geophytology Journal*. Núm , 1 Vol. VIII, [pp.103-110]

LURÁ, M. BENITEZ, J. JÁUREGUI, S. GONZÁLEZ, A. (2003). "Evaluación de diferentes técnicas de extracción del ADN de hongos filamentosos" en *Revista FABICIB*. Vol. VII, [pp. 37-44]

SANGER, F. NICKLEN, S. COULSON, A. (1977). "DNA sequencing with chain terminating inhibitors" en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Núm.12, Vol. LXXIV, [5463-5467]

“EFECTO DE UNA TAREA DE APRENDIZAJE SOBRE LOS GLUCOCORTICOIDES Y LA FOSFORILACIÓN DE SU RECEPTOR.”

Luis Daniel Solera Elizondo¹ y Gina Lorena Quirarte²

RESUMEN

En este trabajo se implementaron técnicas conductuales, bioquímicas y de biología molecular, para el estudio de procesos celulares relacionados con la vía de señalización de los glucocorticoides durante la adquisición y la formación de la memoria en condiciones de estrés. Se entrenaron ratas en la tarea de condicionamiento de miedo al contexto utilizando distintas intensidades de choque, se midió la concentración de corticosterona en suero por medio de la técnica de ELISA y se cuantificó la densidad de células inmunorreactivas al receptor a glucocorticoides (GR) fosforilado, así como la expresión de seis genes regulados por el GR, en diferentes núcleos de la amígdala. Los resultados obtenidos muestran la participación de la fosforilación del GR en los núcleos central y medial de la amígdala,

ABSTRACT

In this study, behavioral, biochemical and molecular biology techniques were implemented in order to study cellular processes related to the glucocorticoid signaling pathway during the acquisition and memory formation in a stressful environment. Rats were trained in a contextual fear conditioning task using different foot-shock intensities, serum corticosterone concentration was measured by the ELISA method and the density of immunoreactive cells to the phosphorylated glucocorticoid receptor (GR) was quantified, as well as the expression of six genes regulated by the GR in different nuclei of the amygdala. The obtained results show the participation of the GR phosphorylation in the central and medial nuclei of the amygdala.

Palabras Clave: amígdala, condicionamiento al miedo, estrés, glucocorticoides, receptor de glucocorticoides.

INTRODUCCIÓN

El estrés se define comúnmente como un estado de amenaza a la homeostasis, ya sea por factores físicos o psicológicos, que inicia una serie de cambios fisiológicos y de comportamiento que mejoran las posibilidades de supervivencia de un individuo. En presencia de un estímulo aversivo o factor estresante, se activa un rango de respuestas que involucran al sistema endocrino, nervioso e inmunológico, conocidos colectivamente como “respuesta de estrés”. (Aubry A., 2016) Durante un acontecimiento estresante o de gran carga emocional, se facilita el almacenamiento de la información (consolidación de la memoria) relacionada con el evento, sin embargo, el estrés también puede deteriorar el proceso de evocación de la información (Redolar, 2011).

El eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) es el sistema central de respuesta al estrés, que entrelaza el sistema nervioso central y el sistema endocrino. Esta respuesta inicia con la liberación del factor liberador de corticotropina desde el hipotálamo, para unirse a sus receptores en la hipófisis anterior e inducir la liberación de la hormona adrenocorticotrópica hacia la circulación sistémica (Engelmann et al., 2004). Cuando esta hormona llega a la zona fasciculada de la corteza suprarrenal, estimula la síntesis y secreción de glucocorticoides (GCs), los cuales, son los efectores río abajo del eje HHA que regulan los procesos metabólicos, inmunitarios y conductuales a través de su unión a receptores intracelulares distribuidos de manera heterogénea en distintos tejidos (Oakley, 2013).

Los GCs son hormonas esteroideas sintetizadas a partir del colesterol ingerido en la dieta, y poseen en su estructura química cuatro anillos centrales, brindándoles un carácter lipofílico, facilitando su acceso hacia diferentes regiones de tejidos celulares y al interior de las células. El glucocorticoide sintetizado principalmente en humanos es el cortisol, mientras que en roedores es la corticosterona (Chrousos y Gold, 1992; King et al., 2009; Merz et al., 2013;

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química Cerro de Las Campanas, S/N, Centro Universitario, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Qro., luisd.solera@gmail.com

²Universidad Autónoma de México, Instituto de Neurobiología; Boulevard Juriquilla 3001 C.P: 76230, Querétaro, Qro., ginaqui@unam.mx

Tsigos y Chrousos, 2002). Los efectos fisiológicos de los GCs están mediados por sus dos tipos de receptores, los mineralocorticoides y los GRs. Los primeros tienen una afinidad mayor por la hormona y por lo tanto se encuentran ocupados en condiciones basales, mientras que los GRs poseen una afinidad 10 veces menor por la hormona, y por lo tanto se ocupan cuando aumenta la concentración de esta, como por ejemplo en situaciones de estrés (Brinks V., 2017).

El GR está ampliamente distribuido por todo el cerebro. En su estado inactivo, este receptor es parte de un complejo multiproteico de varias moléculas diferentes pertenecientes al grupo de proteínas de choque térmico. Con la unión de la hormona se inducen cambios conformacionales en el GR que dan como resultado la “activación” del receptor, involucrando la disociación del complejo, la fosforilación del GR y su translocación hacia el núcleo, en donde se unirá a motivos de DNA específicos llamados “elementos de respuesta a glucocorticoides” (GRE por sus siglas en inglés), localizados en la región promotora de genes sensibles a GCs, para regular su expresión a través de la interacción con otros factores de transcripción (Yamamoto, 1985; Yamamoto et al., 1998). Se sabe que el GR puede inhibir o promover la transcripción dependiendo de la fosforilación de dos serinas en su estructura, la serina 232 promoviendo la transcripción y la 246 que la inhibe (Azic M., 2009).

En el laboratorio, un modelo útil para estudiar los efectos del estrés y de los GCs en la formación de la memoria es el condicionamiento de miedo o pavloviano, el cual es un proceso de aprendizaje asociativo en el que un estímulo condicionado neutral (EC) se asocia con la respuesta de miedo innata generada por un estímulo aversivo incondicionado (EI). Después de la presentación de ambos estímulos, el EC por sí solo inducirá la respuesta de miedo (Pearce y Hall, 1980). En roedores, la respuesta defensiva al miedo se caracteriza por un comportamiento de “congelamiento” (inmovilidad a excepción de los músculos necesarios para la respiración), y por la activación de respuestas endocrinas, incluida la activación del eje HHA y por ende la liberación de los GCs (LeDoux, 2000; Fanselow, 1980; Resstel y Corrêa, 2006; Rudy et al., 2004).

Dentro de las regiones cerebrales que participan en el condicionamiento de miedo se encuentra la amígdala, un conjunto de núcleos de neuronas localizadas en los lóbulos temporales, que forma parte del sistema límbico involucrado en el procesamiento y almacenamiento de reacciones emocionales. La amígdala es necesaria para la formación y el almacenamiento de la memoria de miedo (Jeansok y Min Whan, 2006; LeDoux, 2000). Tras lesionar o inactivar el núcleo basolateral (BLA) o central (CE) antes o inmediatamente después del entrenamiento en el condicionamiento de miedo, se observa un deterioro en la respuesta de congelamiento de los animales cuando se evalúa su retención de la memoria, indicando que esta estructura está involucrada en la adquisición y consolidación del miedo condicionado (Huff y Rudy, 2004). Además, se sabe que la aplicación de antagonistas del GR en diferentes núcleos de la amígdala también deteriora el congelamiento de los animales, por lo que se requiere que estos receptores estén activos para la consolidación de la memoria de miedo (Van Stegeren et al., 2005, 2006).

Dentro de los efectos que los GCs realizan a través de los GR en la amígdala, se encuentran diversos cambios plásticos como la remodelación de las sinapsis, la ramificación dendrítica (Mitra et al., 2005; Mitra y Sapolsky, 2008), y la expresión de genes, así como la síntesis de proteínas (Weikum et al., 2017), entre otros. Sin embargo, se desconoce si la fosforilación del GR es uno de los mecanismos por los cuales los GCs regulan la activación o inhibición de la expresión génica, por lo que en éste trabajo se tiene como objetivo identificar el efecto del entrenamiento en la tarea de condicionamiento de miedo, sobre la concentración de hormona en suero, así como en la densidad de GR fosforilado en los diferentes núcleos de la amígdala, y en de la expresión de algunos genes regulados por la actividad transcripcional de este receptor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los procedimientos experimentales fueron sometidos a aprobación del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y se realizaron conforme a la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, de acuerdo a las especificaciones para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y a las normas estipuladas en la “Guide for Care and Use of Laboratory Animals del NIH (ILAR, 2011)”. Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar (*Ratus norvegicus albinus*) adquiridas de la colonia del Instituto de Neurobiología, UNAM. Una vez en el bioterio del laboratorio, las ratas se mantuvieron en cajas de acrílico individuales (24 x 21 x 45 cm) con cama de aserrín, agua y comida disponible ad libitum, en un ciclo de luz-

oscuridad de 12/12 h y a temperatura constante de 21 ± 1 °C. Tres días después de su llegada al bioterio, se manipularon a los animales durante 5 min, tres días consecutivos.

Condicionamiento de miedo al contexto (CMC)

Los experimentos conductuales se realizaron entre las 8:00 y 15:00 h para evitar el pico de liberación circadiana de glucocorticoides en las ratas. El condicionamiento de miedo se realizó en una cámara de plexiglás localizada dentro de un cubículo atenuante de sonido (Med Associated Inc.), localizada en una habitación aislada del sonido. El condicionamiento inició el día siguiente de la última sesión de manipulación, en el que las ratas se habituaron a la cámara, dejándolas en el interior durante 20 min. La sesión de entrenamiento se realizó 24 h después, que consistió en tres minutos de exploración y, al finalizar el tercer minuto y hasta el minuto 10, se aplicó un choque eléctrico de duración de un segundo en cada minuto, que dependiendo de los grupos experimentales fue de 0.0, 0.5, 1.0 y 1.5 mA de intensidad. Un minuto después del último choque eléctrico se retiraron a los animales de la cámara y se regresaron a su caja individual. Con el objetivo de medir el grado de asociación entre el contexto y el estímulo aversivo, 48 h después de la sesión de entrenamiento se realizó una sesión de retención de la memoria, que consistió en regresar a los animales a la cámara y dejarlos en su interior durante 11 min sin la aplicación de choques eléctricos. Como control fue agregado un grupo que únicamente se sometió las sesiones de manipulación. Para cada una de las sesiones se cuantificó el porcentaje de congelamiento de las ratas por minuto. Para esto, se utilizó el programa Freeze Frame, Actimetrics (Evanston, IL).

Obtención de muestras

Se extrajeron los cerebros y se sumergieron lentamente en un vaso de precipitado con isopentano, rodeado por una mezcla de hielo seco y etanol al 96 %, en donde permanecieron 2 min. Posteriormente, cada uno de los cerebros fue almacenado de forma individual a -80 °C para su posterior seccionamiento.

Medición de los niveles de GR total y de GR fosforilado

Para el análisis de los niveles de GR total y fosforilado en la amígdala se utilizaron imágenes de inmunohistoquímica obtenidas previamente por microscopía de fluorescencia. Para cada uno de los núcleos de la amígdala, se tomaron imágenes de tres campos diferentes para posteriormente ser promediados. Las señales observadas fueron: núcleos celulares teñidos con dihidrocloruro de 4', 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), cuyo color al ser observado en microscopio es azul, en cuanto a la detección del receptor de glucocorticoides fosforilado en cualquiera de las dos serinas se utilizó un marcador fluorescente de color rojo, y para la detección del GR total se utilizó un marcador de color verde. El conteo de células inmunorreactivas se llevó a cabo utilizando el programa ImageJ, donde se utilizó la función "cell counter" para contabilizar cada una de las señales de manera individual, siendo posible calcular la cantidad de células que presentaron inmunoreactividad del receptor total y fosforilado como porcentaje en base al número de células totales.

Medición de RNA mensajero de genes regulados por el GR

Para el análisis de los niveles de RNAm en la amígdala se utilizaron imágenes de hibridaciones in situ duales obtenidas previamente por microscopía de fluorescencia. Cada una de las imágenes eran resultado del empalme de la misma imagen excitada en diferentes longitudes de onda correspondiente a los fluoróforos de color azul y rojo correspondientes a cada par de genes, además se utilizó dihidrocloruro de 4', 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para el conteo de núcleos totales. Las imágenes fueron analizadas con el programa ImageJ. La cuantificación se realizó utilizando una macro diseñada para detectar la señal de cada molécula de mRNA en forma de puntos. En primer lugar, se delimitó el área del núcleo en el cual se realizó la medición, posteriormente se definió un umbral para delimitar la señal que se deseó cuantificar, una vez se establecieron los parámetros de cada imagen, por medio de la función de selección de partículas se obtuvo como resultado el área total del núcleo, y el área correspondiente a cada una de las señales, permitiendo expresar la transcripción de cada gen en términos de porcentaje de área.

Medición de concentración de corticosterona en suero

Las concentraciones de corticosterona sérica de cada grupo experimental fueron medidas mediante el kit de ELISA competitivo ADI-901-097 (ENZO Life Sciences, Farmingdale, NY, USA) De acuerdo con las instrucciones especificadas en el manual. Las muestras fueron analizadas por duplicado. Se midió la absorbancia para cada muestra usando un lector de placas a 405 nm. Se usó un modelo de regresión logística de cuatro parámetros para ajustar la curva e interpolar los niveles de corticosterona a partir de las lecturas de absorbancia de cada sujeto experimental de manera individual.

Análisis estadístico

Las gráficas y el análisis de datos fueron realizados con el programa SigmaPlot (Systat Software, San Jose, CA, E.U.A). Los resultados se presentan como media \pm SEM. Para los datos de conducta y la cuantificación de corticosterona en suero, se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis, y la prueba de Duns para el análisis del porcentaje de tiempo de congelamiento y de concentración de hormona. Las densidades ópticas y el porcentaje de datos de células inmunorreactivas se analizaron utilizando ANOVA de una vía y Fisher como post hoc para comparaciones múltiples. Para considerar diferencias estadísticamente significativas se consideró una $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

En la Figura 1 se muestran los resultados correspondientes a la tarea de condicionamiento de miedo al contexto. La Figura 1-A muestra el porcentaje de tiempo de congelamiento por minuto para cada uno de los distintos grupos experimentales. En la Figura 1-B se muestra el porcentaje de congelamiento de cada uno de los grupos experimentales, promediando los minutos de cada sesión del condicionamiento. En la primera sesión del condicionamiento, la habituación, se observó un bajo porcentaje de congelamiento debido a que en esta sesión no se aplicó choque eléctrico y los sujetos se expusieron únicamente al contexto, lo cual no indujo una respuesta de miedo. En la etapa de pre-choque el porcentaje de congelamiento es similar a la etapa de habituación, pues en estos tres minutos el sujeto reconoció el contexto al que previamente estuvo expuesto. En la sesión de choques se presentó el estímulo incondicionado y, como se observa en la Figura A, en los grupos que recibieron choques con las intensidades de 0.5 y 1.5 mA, el porcentaje de congelamiento aumentó en comparación con el grupo entrenado sin choques. La vía sensorial involucrada en este fenómeno inicia cuando el estímulo incondicionado es detectado por los receptores sensoriales del dolor, que mandan una señal que viaja a través de la médula espinal hacia el tálamo, después a la corteza y de ahí hacia las neuronas del núcleo lateral en la amígdala, que posteriormente envían la señal hacia el núcleo central, para finalmente enviarla hacia la materia gris periacueductal, que en roedores controla el congelamiento como respuesta al miedo (Herman y Cullinan, 1997). Además de esto, el núcleo central proyecta hacia el hipotálamo paraventricular, para la activación del eje HHA (Faravelli et al., 2012).

En la sesión de retención de la memoria el sujeto se expuso nuevamente al contexto en ausencia del estímulo incondicionado. Como puede observarse, el porcentaje de congelamiento para el grupo de 1.5 mA aumentó con respecto a la sesión anterior. Esto se debe a que la despolarización en las neuronas del núcleo lateral de la amígdala durante la sesión de entrenamiento fue suficiente para llevar a cabo un proceso de plasticidad sináptica por el mecanismo de potenciación de largo plazo. Como consecuencia, la reexposición al contexto, que antes fue insuficiente para causar despolarización en las neuronas de la amígdala lateral, es ahora capaz de producir una señal independientemente de la presencia del estímulo incondicionado. Además, puede observarse en la Figura A, que, al transcurrir el tiempo, el porcentaje de congelamiento disminuye, esto puede deberse a un nuevo proceso de plasticidad sináptica, en el cual ahora se han desasociado el estímulo incondicionado y el contexto, siendo ahora insuficiente la señal del contexto para causar una respuesta al estrés. A este proceso se le llama extinción de la memoria (Johansen P., 2012).

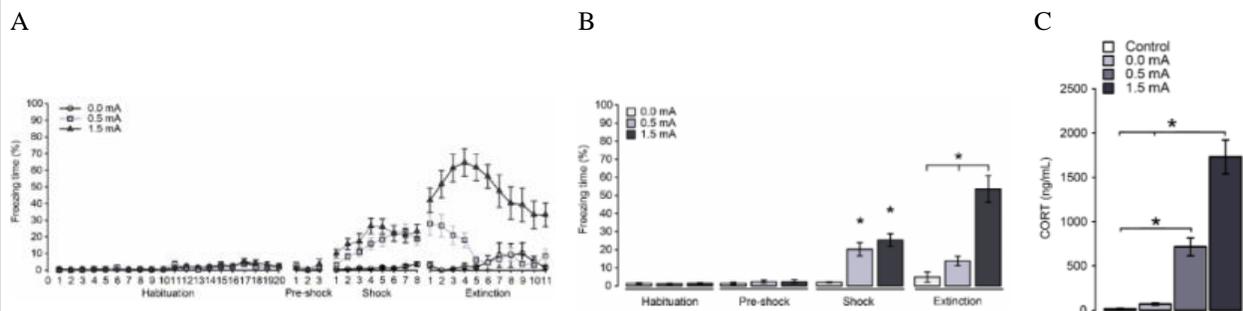


Figura 1. (A y B) Curva de aprendizaje en el condicionamiento de miedo al contexto y (C) concentración de corticosterona en suero 15 min después del entrenamiento en la tarea tras la tarea de condicionamiento de miedo al contexto.

En la Figura 1-C se muestran los resultados correspondientes a la medición de corticosterona en suero tras el condicionamiento de miedo al contexto. En la gráfica se muestra la concentración en nano gramos de corticosterona por cada mililitro de suero para cada uno de los grupos experimentales. El grupo control corresponde a sujetos que solo fueron manipulados, sin haber sido expuestos al condicionamiento. La síntesis y liberación de cortisol aumenta considerablemente en condiciones de estrés, al no existir condiciones de estrés, la concentración de corticosterona es baja. El grupo cuyo estímulo incondicionado fue de una intensidad de 0.0 mA presentó una concentración similar al grupo control, pues tampoco fue expuesto al estímulo incondicionado, únicamente fue expuesto al contexto. El grupo de 0.5 mA presentó un aumento de la concentración estadísticamente significativo en comparación con el grupo control, pero no contra el grupo entrenado sin choque. Sin embargo, puede observarse un aumento en la concentración de corticosterona. El grupo experimental que recibió un choque con una intensidad de 1.5 mA no mostró diferencias significativas con el grupo de 0.5mA. En ambos casos no se observaron diferencias debido a que se obtuvieron datos de naturaleza no paramétrica al contar con un sujeto menos en el grupo de 0.0mA con respecto a los demás grupos. El aumento de concentración de corticosterona entre el grupo control únicamente expuesto al contexto y el de 0.5mA se debe a que el estímulo incondicionado provoca la despolarización de las neuronas del núcleo central en la amígdala, que proyecta hacia el hipotálamo paraventricular, induciendo la liberación de corticosterona desde la corteza de las glándulas suprarrenales. A medida que se aumenta la intensidad del choque eléctrico, esta señal es amplificada y se libera mayor concentración de corticosterona (Oakley, 2013).

En la Figura 2-A se muestra el porcentaje de células inmunorreactivas a la serina 232 fosforilada en el receptor de glucocorticoides para cada uno de los núcleos de la amígdala tras el condicionamiento de miedo al contexto para cada uno de los grupos experimentales. Tanto en el núcleo basal como en el lateral se observa un porcentaje de células inmunorreactivas similar en cada uno de los grupos experimentales, sugiriendo que la acción del receptor fosforilado no está implicada en la formación de memoria de miedo en esos núcleos. Tanto en el núcleo central como en el medial, puede observarse un aumento significativo de células inmunorreactivas entre el grupo control y los demás grupos experimentales. Esto sugiere que, dentro del aprendizaje en el condicionamiento de miedo, está implicada la acción del receptor de glucocorticoides promoviendo la transcripción de genes en los núcleos central y medial de la amígdala. Esto puede deberse a que, en la amígdala, el núcleo central es el principal punto de salida de las señales sinápticas, proyectando tanto hacia el hipocampo paraventricular como ala materia gris periacueductal para regular la liberación de corticosterona y el congelamiento, ambos como una respuesta al estrés. Para llevar a cabo este proceso es necesaria la transcripción de genes implicados en la potenciación de largo plazo, necesarios para la síntesis de receptores, proteínas de citoesqueleto, y proteínas involucradas en la formación, transporte, y liberación de vesículas en el espacio sináptico (Maham A., 2013). La Figura 2-B muestra el porcentaje de células inmunorreactivas a la serina 246 fosforilada en el receptor de glucocorticoides. En este caso, se puede observar una mayor diferencia entre el grupo control y los demás grupos experimentales en el núcleo medial. El núcleo medial en la amígdala proyecta principalmente hacia el prosencéfalo basal involucrado en la liberación de acetilcolina, induciendo vigilia, además de controlar el sueño. Es posible que los genes que regulan estos mecanismos necesiten disminuir su transcripción durante situaciones de estrés. Además, los genes regulados en el núcleo lateral pueden estar involucrados en el proceso de depotenciación a corto plazo tales como fosfatasa que tendrían actividad sobre los receptores necesarios para la potenciación de largo plazo, disminuyendo su actividad, o de proteínas involucradas en la endocitosis y transporte de los mismos receptores, cuya acción promovería la depotenciación de largo (Duvarci S., 2014).

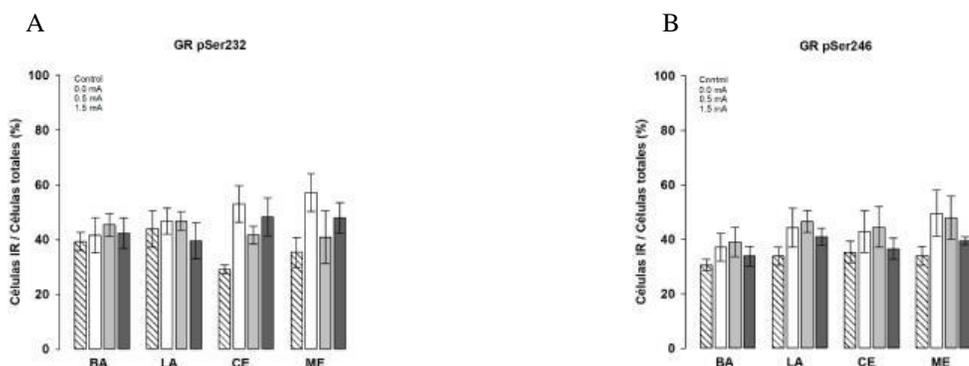


Figura 2. Medición de células inmunorreactivas al receptor de glucocorticoides fosforilado en (A) la serina 232 y (B) en la serina 246, en los diferentes núcleos de la amígdala.

En la Figura 3 se muestra el porcentaje de área correspondiente a cada uno de los genes analizados, tanto en la amígdala basal como en amígdala central, para cada uno de los grupos experimentales. Los resultados obtenidos para el gen que codifica para el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés) muestran una tendencia similar en ambos núcleos en donde se observa un decremento en porcentaje de área en el grupo de 0.0mA, esto puede deberse a que BDNF promueve la supervivencia de neuronas nuevas y el aumento de densidad de espinas, que no es necesaria al no presentarse el estímulo incondicionado (Sasi M., 2017). En cuanto al gen SNAP25, que codifica para la proteína 25 asociada a sinaptosoma, puede observarse una tendencia a disminuir su expresión en el núcleo basolateral, al aumentar la intensidad del estímulo incondicionado, esto puede deberse a que, tras el proceso de potenciación de largo plazo, existe una mayor concentración de receptores en la neurona postsináptica, y puede lograrse una mayor polarización con menor liberación de neurotransmisores en el espacio sináptico (Chen G., 2013). El gen LIMK1 aumenta en su transcripción tras aumentar la intensidad del estímulo incondicionado. Esto puede deberse a que este gen traduce para una enzima cinasa cuya actividad promueve el crecimiento de los filamentos de actina en el citoesqueleto, lo cual es necesario para el proceso de potenciación de largo plazo (Todorovski Z., 2015). El gen MAPK-2 muestra una tendencia a aumentar su expresión en la amígdala baso lateral. Este gen transcribe para la quinasa activada por mitógenos 2, que participa en la transducción de señales involucrada en proliferación celular, activando al final de esta cascada al factor de transcripción ERK. Por lo que podría estar regulando la expresión de enzimas quinastas necesarias en el proceso de depotenciación de largo plazo. El gen NDUFA en la amígdala central muestra una tendencia a aumentar su expresión en el grupo experimental de 0.5mA. Este gen codifica para la enzima NADH deshidrogenasa, que es una enzima esencial en diferentes rutas metabólicas cuyo fin es la obtención de energía, la cual en este caso se necesita para actuar de manera rápida hacia el factor estresante, además de que es necesaria su expresión para aprovechar metabólicamente la glucosa que se ha aumentado en el torrente sanguíneo como acción de los glucocorticoides. Por lo tanto, al aumentar la intensidad del estímulo incondicionado, puede necesitarse acelerar el aprovechamiento de la glucosa en la sangre. La mono oxidasa A se involucra en la degradación de serotonina y noradrenalina, por lo que es posible que se aumente su expresión debido a que en el proceso de potenciación de largo plazo el neurotransmisor excitatorio principal es el glutamato, por lo tanto, puede evitarse el gasto de energía en la producción y secreción de otros neurotransmisores.

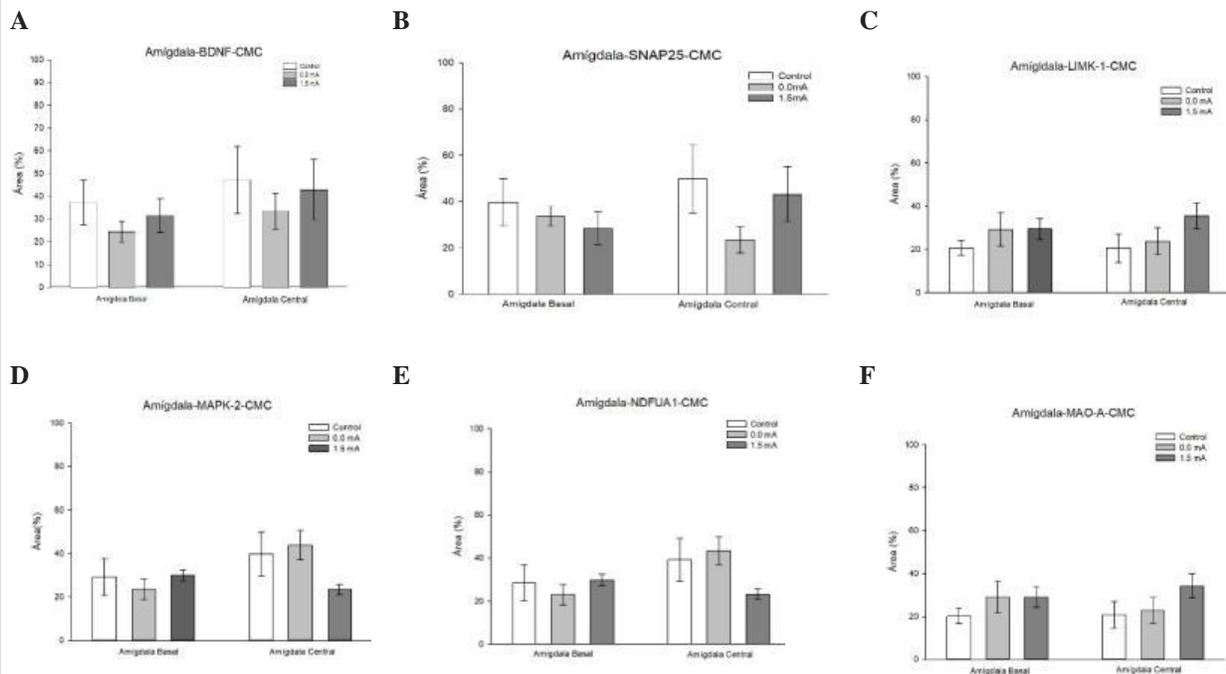


Figura 3. Medición RNA mensajero de genes regulados por el receptor de glucocorticoides

CONCLUSIONES

La investigación llevada a cabo en este trabajo permitió diferentes técnicas de biología molecular junto con una tarea conductual, el condicionamiento de miedo al contexto, para entender los efectos del estrés sobre la fosforilación del GR, así como la expresión de seis genes regulados por éste. De acuerdo con los resultados obtenidos, la plasticidad neuronal de los núcleos basal y lateral de la amígdala no parecen ser dependientes de la fosforilación del GR. Este estudio no sólo nos ayuda a comprender las interacciones complejas entre el estrés y la memoria, sino también ayuda a esclarecer los mecanismos moleculares y las bases genéticas de la consolidación de la memoria como un proceso celular que involucra modulaciones en la expresión de proteínas necesarias para la plasticidad neuronal por medio del proceso de potenciación de largo plazo. Esto posibilita el desarrollo de intervenciones terapéuticas para el tratamiento de trastornos asociados a la desregulación de estrés.

BIBLIOGRAFIA

- Adzic, M., Djordjevic, J., Djordjevic, A., Niciforovic, A., Demonacos, C., Radojic, M., & Krstic-Demonacos, M. (2009). Acute or chronic stress induces cell compartment-specific phosphorylation of glucocorticoid receptor and alters its transcriptional activity in Wistar rat brain. *The Journal of Endocrinology*, 202(1), 87–97.
- Aubry, A. V., Serrano, P. A., & Burghardt, N. S. (2016). Molecular Mechanisms of Stress-Induced Increases in Fear Memory Consolidation within the Amygdala. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10, 191.
- Brinks, V., H. van der Mark, M., de Kloet, E. R., & S. Oitzl, M. (2007). Differential MR/GR Activation in Mice Results in Emotional States Beneficial or Impairing for Cognition. *Neural Plasticity*, 2007, 90163.
- Chen, G., Hu, T., Li, Q., Li, J., Jia, Y., & Wang, Z. (2013). Expression of synaptosomal-associated protein-25 in the rat brain after subarachnoid hemorrhage. *Neural Regeneration Research*, 8(29), 2693–2702.
- Chrousos G.P., Gold P.W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA.*, 267:1244-1252.
- Duvarci, S., & Pare, D. (2014). AMYGDALA MICROCIRCUITS CONTROLLING LEARNED FEAR. *Neuron*, 82(5), 966–980.
- Engelmann M., Landgraf R., Wotjak C.T. (2004). The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited. *Front Neuroendocrinol.*, 25:132-49
- Fanselow M.S. (1980). Conditioned and unconditional components of postshock freezing. *Pavlov J Biol Sci.*, 15:177-82.
- Jeansok J.K., Min Whan J. (2006). Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: A critical review. *Neurosci Biobehav.*, 30:188-202
- Johansen, J. P., Cain, C. K., Ostroff, L. E., & LeDoux, J. E. (2011). MOLECULAR MECHANISMS OF FEAR LEARNING AND MEMORY. *Cell*, 147(3), 509–524.
- King A., Abelson J., Britton J., Phan K., Taylor S., Liberzon I. (2009). Medial prefrontal cortex and right insula activity predict plasma ACTH response to trauma recall. *Neuroimage*, 47:872- 80.
- LeDoux J.E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci.*, 23:155-84
- Mahan, A. L., & Ressler, K. J. (2012). Fear Conditioning, Synaptic Plasticity, and the Amygdala: Implications for Posttraumatic Stress Disorder. *Trends in Neurosciences*, 35(1), 24–35. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2011.06.007>
- Merz C., Starkb R., Vaitl D., Tabbertb K., Wolf O. (2013). Stress hormones are associated with the neuronal correlates of instructed fear conditioning. *Biol Psychol.*, 92:82-89.
- Mitra R. y Sapolsky R.M. (2008). Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105:5573-8.
- Mitra R., Jadhav S., McEwen B.S., Vyas A., Chattarji S. (2005). Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *ProcNatlAcadSci USA.*, 102:9371-6.
- Oakley, R. H., & Cidlowski, J. A. (2013). The Biology of the Glucocorticoid Receptor: New Signaling Mechanisms in Health and Disease. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 132(5), 1033–1044.
- Pearce J.M. y Hall G. (1980). A model for Pavlovian learning: variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. *Psychol Rev.*, 87:532-52.
- Redolar D. (2011). Fisiología de la respuesta de estrés. En: UOC (ed). *El cerebro estresado*. Barcelona, España. Pp 87-108.
- Resstel L.B., Corrêa F.M. (2006). Medial prefrontal cortex NMDA receptors and nitric oxide modulate the parasympathetic component of the baroreflex. *Eur J Neurosci.*, 23:481-8.

- Rudy J.W., Huff N.C., Matus-Amat P. (2004). Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neurosci Biobehav Rev.*, 28:675-85.
- Rudy J.W., Huff N.C., Matus-Amat P. (2004). Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neurosci Biobehav Rev.*, 28:675-85.
- Sasi, M., Vignoli, B., Canossa, M., & Blum, R. (2017). Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflugers Archiv*, 469(5), 593–610.
- Todorovski, Z., Asrar, S., Liu, J., Saw, N. M. N., Joshi, K., Cortez, M. A., ... Jia, Z. (2015). LIMK1 Regulates Long-Term Memory and Synaptic Plasticity via the Transcriptional Factor CREB. *Molecular and Cellular Biology*, 35(8), 1316–1328.
- Tsigos C. y Chrousos G.P. (2002). Hypothalamic - pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J. Psychosom. Res.*, 53: 865-871
- Van Stegeren A.H., Goekoop R., Everaerd W., Scheltens P., Barkhof F., Kuijjer J.P., Rombouts S.A. (2005). Noradrenaline mediates amygdala activation in men and women during encoding of emotional material. *Neuroimage*, 24:898-909.
- Van Stegeren A.H., Wolf O.T., Everaerd W., Scheltens P., Barkhof F., Rombouts S.A. (2007a). Endogenous cortisol level interacts with noradrenergic activation in the human amygdala. *Neurobiol Learn Mem.*, 87:57-66
- Weikum E.R., Knuesel M.T., Ortlund E.A., Yamamoto K.R. (2017). Glucocorticoid receptor control of transcription: precision and plasticity via allostery. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 18:159- 174.
- Yamamoto K. R. (1985). Steroid receptor regulated transcription of specific genes and gene networks. *Annu. Rev. Genet.*, 19:209-252.
- Yamamoto K. R., Darimont B. D., Wagner R. L., Iñiguez-Lluhí J. A. (1998). Building transcriptional regulatory complexes: signals and surfaces. *Cold Spring Harb Symp Quant.*

MOLIENDA DE CARBON ACTIVADO ELABORADO A PARTIR DE CASCARA DE NUEZ, HUESO DE DURAZNO Y BAMBU PARA LA ADSORCION DE CIANURO

Luis Enrique Barajas Castillo ⁽¹⁾ Claudia Verónica Reyes Guzmán ⁽²⁾ Leonor Muñoz Ramírez ⁽³⁾

RESUMEN

La elaboración de un carbón vegetal a partir de un desecho orgánico de la cascara de nuez, bambú, y el hueso de durazno, que normalmente desechamos, con esto pretendemos llevarlo a la etapa de carbonización y hacerlo un carbón activado de tal manera que al estar en contacto con los efluentes como es el caso de cianuro este se comporte como un carbón mineral y logre atrapar el cianuro libre.

INTRODUCCION

El carbón activado (AC) se ha demostrado ser un adsorbente eficaz para la eliminación de una amplia variedad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de medios acuosos o gaseosos. Es ampliamente utilizado debido a su excepcional superficie (rangos de 500 a 1500 m² g⁻¹). Mientras que la eficacia de ACs para actuar como adsorbentes para una amplia gama de contaminantes está bien documentada, la investigación sobre la modificación de CA está ganando importancia debido a la necesidad de desarrollar la afinidad del CA de determinados contaminantes para facilitar su eliminación del agua.

El uso de agentes oxidantes es la metodología más común para modificar el área de superficie de AC, sin embargo, en general este tratamiento reduce la superficie AC. Por lo tanto, los científicos están investigando métodos alternativos como sulfuración, amonificación y/o coordinación ligando de anclaje para aumentar la capacidad de adsorción de carbón activado. [1]

El uso de estos materiales como adsorbentes de contaminantes inorgánicos y orgánicos del agua es debido a su versatilidad única resultante de su área de superficie alta, estructura porosa, de alta capacidad de adsorción, y la naturaleza química de la superficie, que puede ser modificado adecuadamente por los tratamientos físicos y químicos para mejorar la extensión de un proceso de adsorción dado. [2]

Uno de los primeros en utilizarse como adsorbente fueron los carbones vegetales, este tipo de carbón es quizás el primer material utilizado por el hombre y su uso data probablemente desde el mismo momento en que se comienza a utilizar el fuego; dado que los trozos de madera carbonizada que quedarían en algunas hogueras pueden considerarse un carbón vegetal rudimentario. El carbón vegetal se usa no solo de uso doméstico sino también industrial, especialmente en los países en vías de desarrollo.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Primeramente, se tomaron muestras de bambú, hueso de durazno y cascara de nuez, con un peso total de 10g c/u fue molida durante 30min, 1 hora, 1.5 horas y 2 horas a una velocidad de 20 rpm, para observar cual era el mejor tiempo de molienda, con 0.5 horas de reposo por cada hora de trabajo. Esta experimentación fue realizada con la intención de encontrar el mejor tiempo de molienda.

(1) estudiante de 8 semestre de la carrera IQMM

(2) Investigadora de la Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 Km 5, C.P. 25710 Monclova, Coah clavereyes@gmail.com

(3) Colaboradora en el proyecto

Los componentes y las bolas de acero se cargaron a un vial de acero inoxidable, la molienda se realizó en un molino Restch para producir polvo de las diferentes muestras a tratar, el peso total de la muestra fue 10g.

En el proceso de molienda mecánica fue necesario, considerar 0.5 horas de reposo por cada hora de trabajo, lo cual fue debido al calentamiento del motor del molino. Una vez obtenida una gran cantidad de polvo del producto de las moliendas mecánicas, este se guardó en viales de vidrio con tapa para evitar cualquier contaminación.



Figura 1.- molienda del carbon activado en el molino Retchs

Los experimentos de adsorción de cianuro con carbones modificados se llevaron a cabo en un matraz erlenmeyer de 600 ml donde contenía 250 ml de cianuro grado reactivo y agua desionizada, ajustando el pH a 12 con una solución de NaOH como se muestra la Figura 2. El sistema se mantuvo en agitación constante durante todo el experimento. El avance del proceso se monitoreo continuamente mediante el cambio de la concentración del cianuro. La agitación se reguló con agitador magnético colocado dentro del matraz y accionado por medio de una parrilla de agitación magnética; el cianuro extraído del proceso se determinó con titulación de nitrato de plata, de acuerdo con el método APHA-AWWA 4500-CN

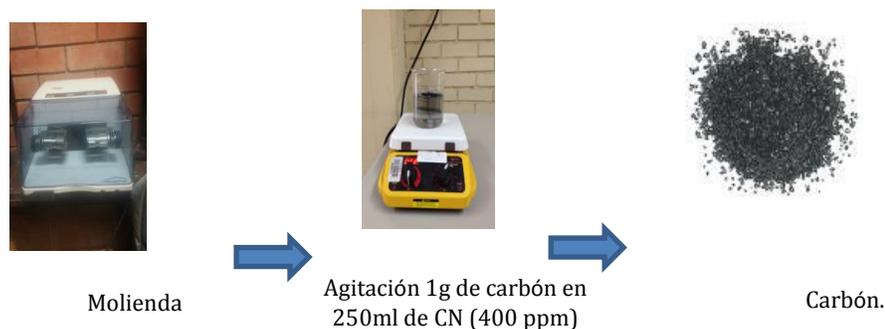


Figura 2. Adsorción de cianuro en carbón

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Adsorción de cianuro en carbón activado con diferentes tiempos de molienda.

Para cuantificar la adsorción de cianuro en los distintos carbones activados se planeó solo utilizar una concentración de cianuro de 400 ppm con el objetivo de ver el comportamiento de los carbones, así como moliendas de 30 min, 1 hr, 1.5 hr y 2 horas

Los 400 ppm de cianuro se hizo una molienda de 30 minutos a los carbones en el molino Restch, dando como resultado la Figura 3 donde se observa que la tendencia del carbón cascara de nuez es el que mejor adsorbió el cianuro en su superficie a diferencia del bamboo y durazno.

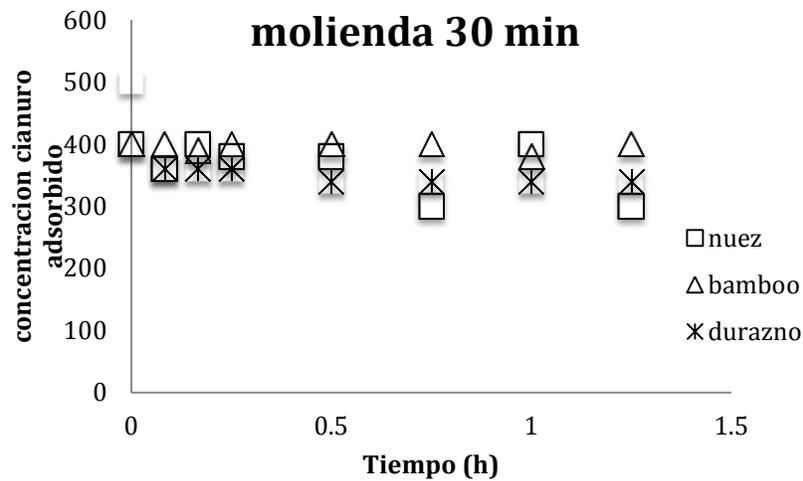


Figura 3 Carbón activado con una molienda de 30 min para la adsorción de cianuro.

En la Figura 4 nos muestra que cuando al carbón se le da una molienda de 1 hora la adsorción es mucho mejor a diferencia de la molienda de 30 minutos, esto es debido a que la partícula queda más fina y tendrá más área superficial para que el cianuro se adsorba, esto confirma que a mayor área superficial específica se tiene mayor disponibilidad de sitios para intercambiar con el cianuro.

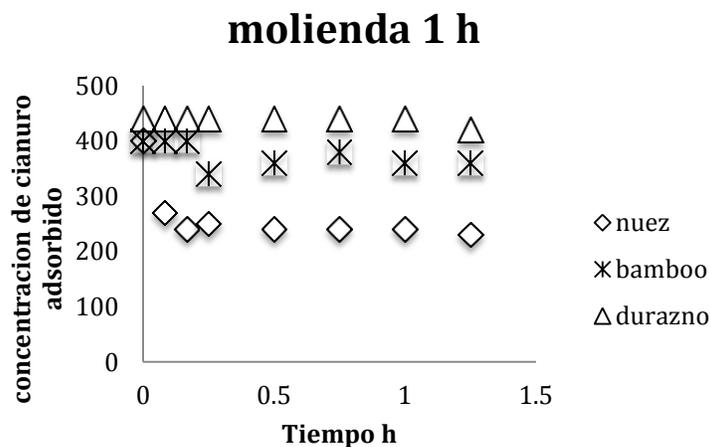


Figura 1 Carbón activado con una molienda de 1 hora para la adsorción de cianuro.

En la siguiente Figura 5 se observa la adsorción de cianuro en el carbón con una molienda de 1.5 hora, tiene el mismo comportamiento de la figura anterior, esto es debido a que la partícula queda más fina y tendrá más

área superficial para que el cianuro se adsorba, este comportamiento no lo han reportado en la literatura y en la gráfica se puede ver que el carbón cascara de nuez es el que mejor adsorbe tanto en las distintas moliendas y en 400 ppm de cianuro, esto es debido a que la cascara de nuez tiene otro elementos que reaccionan con el cianuro en solución y todo el mecanismo es a base de intercambio electrostático.

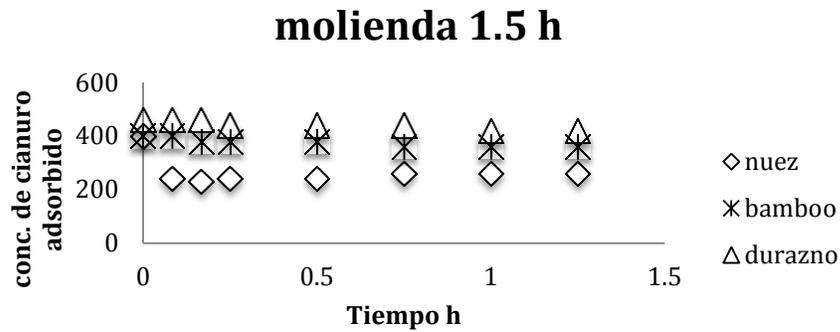


Figura 2 Molienda del carbón a 1.5 hrs con 400 ppm de cianuro en solución.

En la figura 6 se puede observar que el carbón cascara de nuez presenta el mismo comportamiento que las demás figuras ya que al estar en contacto con el cianuro este adsorbe el cianuro disponible que existe en la solución.

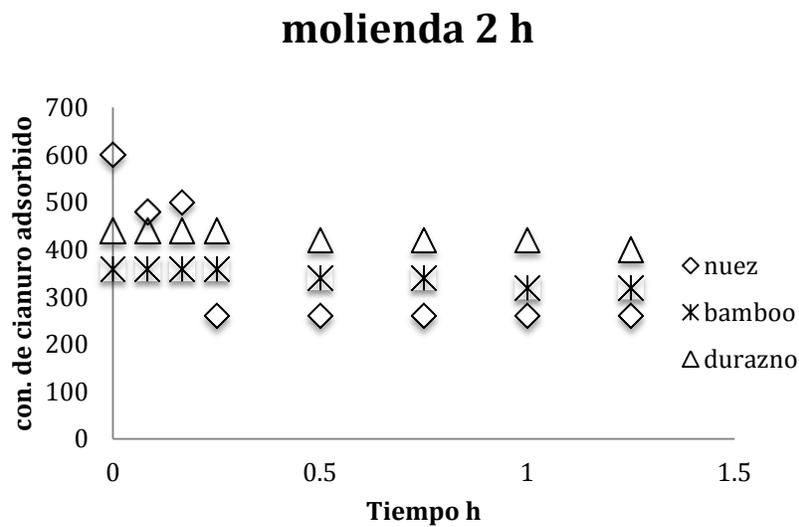


Figura 6 Molienda del carbón a 2 hrs con 400 ppm de cianuro en solución.

Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X.

La espectroscopia fotoelectrónica de rayos X es una técnica que permite identificar grupos funcionales en la superficie del carbón entre otros usos. El equipo utilizado en la investigación fue un Thermo Scientific, K-Alpha surface analysis, con una base de datos llamada Thermoavantage y con un haz, de diámetro de 400 μm y 10 nm de profundidad.

En la Figura 7 se muestra un barrido completo de la muestra de carbón cascara de nuez utilizada en la molienda de 1 hora a 400 ppm de cianuro, se puede observar los picos característicos de O1S (525-545) y C1S (280-295).

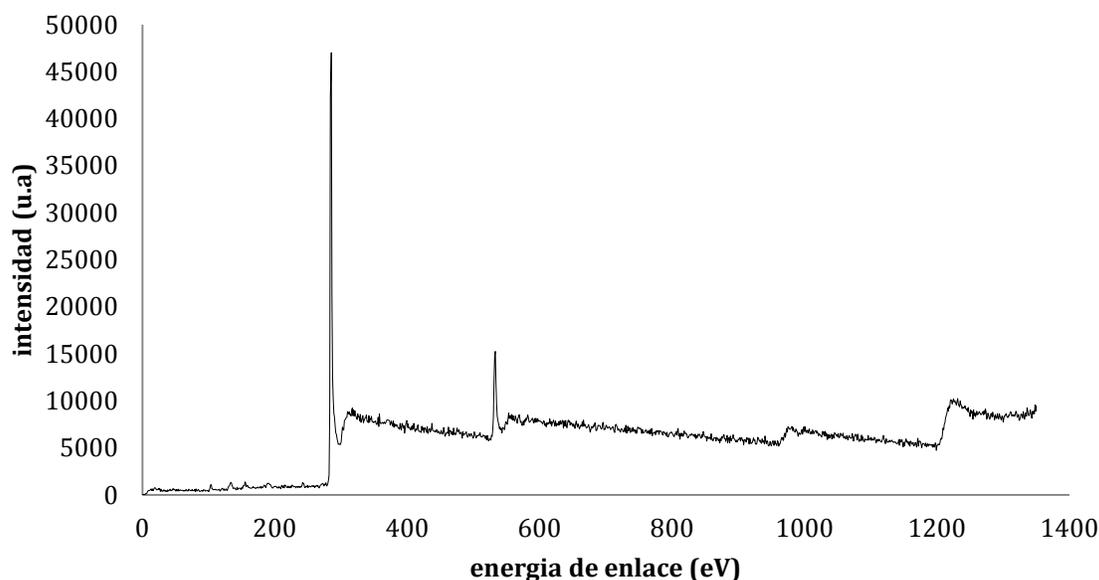


Figura 3 Carbón activado de cascara de nuez con una molienda de 1 hora para la adsorción de cianuro a 400 ppm.

Se realizó una deconvolución de la Figura anterior para C1S dando como resultado la siguiente Figura 8, se observan los picos de diferentes grupos funcionales en los cuales se encuentra enlazado el cianuro al carbón. El pico presente a 288.7 eV, es el pico característico del carbón. Junto a este pico aparecen otros dos pequeños, los cuales son distintos grupos funcionales del carbón, que se encuentran interactuando con el cianuro:

- (1) a 288.7 eV tenemos (-C=N, -N=C-O-, COOC-).
- (2) a 289.3 eV (-COOH) ácido carboxílico.
- (3) a 291.0 eV tenemos quinona carbonilo (C=O).

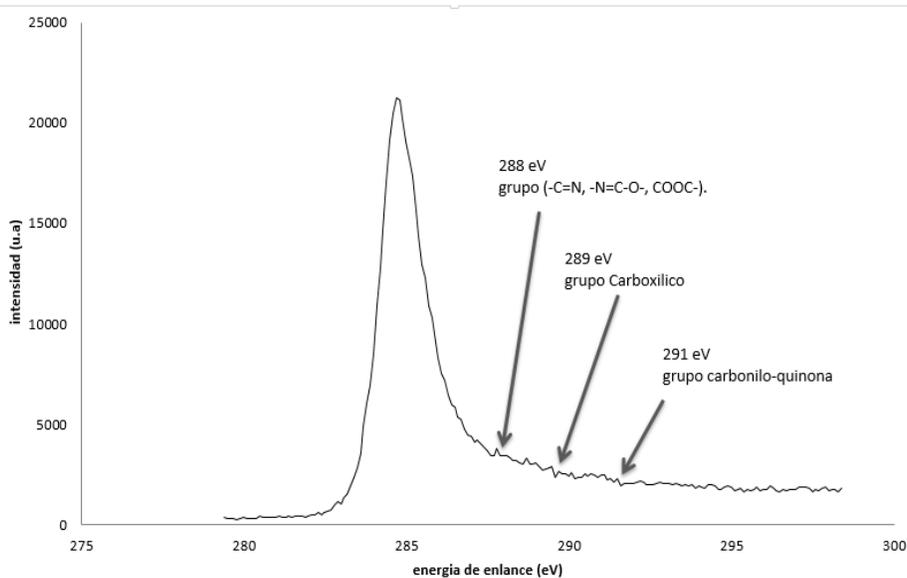


Figura 4 Espectro de la muestra de carbón cascara de nuez C1s, 400 ppm de cianuro.

CONCLUSIONES

Con relación a la adsorción de cianuro con distintos tiempos de molienda (.5, 1,1.5,2 hr) a 400 ppm de cianuro podemos concluir que la mejor adsorción la hizo el carbón activado cascara de nuez con una molienda de 1 hora esto debido a la presencia de los grupos funcionales carboxílicos, carbonilos, que según la literatura estos son los encargados de la adsorción en la cuantificación de soluciones con menor porcentaje de cianuro libre.

Con respecto a la espectroscopia fotoelectronica de rayos x, mostraron mayor presencia del grupo ciano en la mayoría de estos, en las dos muestras caracterizadas también notamos la presencia de los grupos funcionales carboxílicos y carbonilos, estos grupos según la literatura son los encargados de la atracción de ion cianuro a la superficie del carbón

BIBLIOGRAFIA

1. Carbotecnia., *el CARBÓN ACTIVADO COMO ANTÍDOTO EN EL TRATAMIENTO DE INTOXICACIONES*. Aplicaciones MÉDICAS, boletín me-001:2-4, septiembre 2004.: P. 2.
2. *Chemviron carbón. Historia DEL CARBÓN ACTIVADO []. Eeuu.*
3. Sevilla., e.u.p., *antecedentes HISTÓRICOS. España.* . P. 6.
4. Ruiz mendez, j.c., *hidrometalurgia DE ORO Y PLATA, PROCESOS CONVENCIONALES Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA*. Centro experimental méxico, 1989: P. 87-102.

5. Tomala andrade, c.e., *análisis DE UN SISTEMA DE ADSORCIÓN Y DESORCIÓN DE ORO DE CARBÓN ACTIVADO Y SU ELECTRODEPOSICIÓN. Tesis DE GRADO. Ingeniero DE minas.* Escuela superior politécnica DEL litoral. Facultad DE ingeniería DE ciencias DE LA tierra. Guayaquil, 1998: P. 19.

INGENIERÍA GENÉTICA EN *DANIO RERIO*

Luisa Fernanda Cueto Rojas¹ y Luis Roberto Rodríguez Ortiz²

RESUMEN

Se utilizó un sistema denominado CRISPR/Cas9, para realizar modificaciones genéticas de los genes *hcn2b* y *slc45a2* en el pez cebra, ya que este organismo es un modelo ampliamente utilizado en biología. Para ello se requiere la microinyección de los componentes necesarios para el sistema CRISPR/Cas9 (sgARN y mRNA Cas9) en embriones unicelulares del pez. Modificaciones genéticas en el gen *hcn2b* pueden tener repercusiones patológicas en *Danio rerio*; mientras que modificaciones en el gen *slc45a2* resulta en un fenotipo de despigmentación que puede ser utilizado para verificar que el sistema CRISPR/Cas9 funciona en este modelo biológico.

Palabras clave: *Danio rerio*, edición genética, CRISPR/Cas9, *hcn2b*, *slc45a2*

ABSTRACT

A system called CRISPR /Cas9 was used to carry out genetic modifications of the genes *hcn2b* and *slc45a2* in zebrafish, since this organism is an important used model in biology. For that purpose, the necessary components for the CRISPR /Cas9 system (sgARN and Cas9 mRNA) are microinjected into zebrafish one-cell embryos. Genetic modifications in the gene *hcn2b* that may have pathological repercussions in *Danio rerio*. While modifications in the gene *slc45a2* result in a depigmentation phenotype that can be used to verify that the CRISPR /Cas9 system works properly in this biological model.

Key words: *Danio rerio*, genetic edition, CRISPR/Cas9, *hcn2b*, *slc45a2*

INTRODUCCIÓN

Danio rerio es un organismo modelo usado ampliamente en el área de investigación biomédica, esta especie tiene amplias cualidades como lo son su alta fecundidad, un desarrollo rápido desde el comienzo de estadio embrionario hasta su etapa adulta, además de que la infraestructura, insumos y reactivos para su crianza a lo largo de su vida son económicamente bajos (Vargas, 2017). El uso de estos organismos modelo, como lo es *Danio rerio* conocido comúnmente como pez cebra, ha permitido obtener recursos importantes para el desarrollo de investigaciones científicas, como por ejemplo la secuenciación de su genoma, realización de pruebas moleculares, protocolos para la biología molecular y métodos de manipulación genética, lo cual ha hecho importantes avances en el área médica y una revolución biológica (Armenol, 2017). La modificación genética puede ser de tres tipos: delección, inserción o reemplazo de ácidos nucleicos. Para esto existen diferentes mecanismos que pueden ser aplicados para realizar dichas manipulaciones en el genoma de la célula. Una técnica utilizada es el sistema CRISPR/Cas9 para la edición de ADN, comienza con el diseño de una molécula de ARN guía asociado con una enzima endonucleasa denominada Cas9, el ARN guía es específico de una secuencia de ADN, de tal manera que por las reglas de complementariedad de nucleótidos se hibridará con esa secuencia. Entonces actúa Cas9, que es capaz de romper los enlaces en la cadena de ADN. Se activan dos mecanismos de reparación de ADN, uno de ellos, la reparación no-homóloga, produce inserciones o delecciones de nucleótidos (indels). Esto conlleva a la pérdida de la función original del segmento de ADN cortado. Otro mecanismo, la

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciudad Universitaria Carretera Torreón Matamoros Km 7.5 27276 Torreón, Coahuila, lfercueto96@gmail.com

²CONACYT-Instituto de Neurobiología, Neurobiología Celular y Molecular, Edificio D, Laboratorio 15; Boulevard Juriquilla 3001, 76230, Querétaro, Querétaro, rodriguez.ortiz.lr@gmail.com

recombinación homóloga, permite la incorporación de una secuencia concreta exactamente en el sitio original de corte (Morán, 2015). CRISPR/Cas9 es una herramienta reciente para la edición de genoma, que es fácil y rápida, además de ser eficaz (Tolosa, 2018). Los genes utilizados causan diferentes tipos de condiciones patológicas, las mutaciones del gen *slc45a2*, también llamado MATP causan albinismo oculocutáneo tipo 4 (OCA4). El albinismo oculocutáneo (OCA) es un trastorno autosómico recesivo de la biosíntesis de melanina que produce una hipopigmentación congénita de los tejidos oculares y cutáneos. También se asocia con anomalías de desarrollo comunes del ojo. (Sengupta, Chaki, Arti, Ray, 2007). Por otra parte estudios recientes del gen *hcn2b* han demostrado que los canales de *hcn2b* juegan un papel en la susceptibilidad a los ataques y en la ausencia de epilepsia límbica, incluida la epilepsia del lóbulo temporal después de convulsiones febriles prolongadas (Nakamura Y., Shi X., Numata T., Yasuo M., Inoue R., Lossin C., Baram Z., Hirose S., 2013).

METODOLOGÍA

APAREAMIENTO DE LOS PECES PARA LA OBTENCIÓN DE EMBRIONES:

Para este proceso es necesaria una pecera de cruzamiento que contiene una red en la parte inferior para la colecta de embriones y una división en medio para poder aislar machos y hembras. El cuarto del sistema de peceras cuenta con programa automático de luz y oscuridad (12 horas oscuridad y 12 horas luz). Un día antes de la cruce y antes de que la luz se apague es necesario colocar los peces en las peceras especializadas para el apareamiento. Se deja la pecera con 2 hembras y 1 macho con el agua de hábitat anterior durante toda la noche y al siguiente día cuando la luz se enciende es necesario retirar la división para que los peces interactúen entre sí y así obtener los embriones.

MICROINYECCIÓN

Para obtener la mayor cantidad de embriones microinyectados con las mezclas del sistema CRISPR/Cas9, es necesario ordenar los embriones en una caja Petri con carriles de agarosa al 2%. Se utiliza una puntilla hecha por un capilar pulido fino para evitar provocar daños graves al embrión durante la microinyección. Se carga la punta con la mezcla del sistema CRISPR/Cas9 y se coloca en el microinyector. Se establecen los parámetros de presión y periodos adecuados para que la cantidad de ARN no exceda el 10% del volumen total del embrión, estos parámetros varían dependiendo de la anchura de la punta.

Figura 1.



Figura 1. Punta de capilar dentro de la célula del embrión de *Danio rerio*, se atraviesa la primera capa llamada corión para posteriormente posicionar la punta dentro del saco vitelino.

Figura 2.



Figura 2. Embrión unicelular microinyectado con mezcla CRISPR/Cas9 en célula animal de *Danio rerio*, el color rojo corresponde al colorante rojo fenol añadido a la mezcla para su correcta visualización.

[Escriba aquí]

Es importante realizar este procedimiento dentro de los 45 min posteriores a la fertilización, esto se debe a que aproximadamente a este tiempo ocurre la primera división celular en el embrión, la microinyección en embriones de dos o más células reduce la posibilidad de que la modificación genética se transmita a las células en formación.

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

Durante las siguientes 72 horas post-fertilización es necesario observar los cambios que se presentan durante el desarrollo del embrión ya que durante este transcurso de tiempo podemos ver el fenotipo de ausencia de pigmentación en el embrión cuando modificamos el gen *slc45a2*. Este fenotipo se puede observar aproximadamente a las 48 horas post-fertilización. Es necesario también evaluar la mortalidad de los embriones que se presentan durante este periodo.

EXTRACCIÓN DE ADN

Para realizar la extracción de ADN de las larvas obtenidas es necesario anestasiarlas con hielo. Colocar 50 μ l de NaOH 50 μ M en tubos para PCR, luego con la ayuda de una micropipeta colocar las larvas anestasiadas en el tubo retirando el agua en donde se encontraban. Se colocan los tubos con larvas en el termociclador con una temperatura de 95° C durante 30 minutos y luego a 4°C. Se agrega el 10% del volumen total de Tris HCl 1M para neutralizar la solución y poder utilizarlas en reacciones de PCR.

AMPLIFICACIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Se realiza una mezcla de PCR de acuerdo al número de reacciones de PCR, para una reacción se utilizan los siguientes reactivos: Para un volumen de reacción final de 25 μ L: 0.75 μ L MgCl 50 μ M; 2.5 μ L Buffer PCR; 0.5 μ L dNTP mix; 0.1 μ L Enzima polimerasa (5U/ μ l); 9.15 μ L Agua mQ; 1 μ L Primer LR33 F; 1 μ L Primer LR35 R y 10 μ L DNA.

Se coloca la reacción en un tubo para PCR y luego en el termociclador con los siguientes parámetros:

1 Ciclo para la desnaturalización del ADN: 94°C por 2 min.

30 ciclos: 94°C 45 s, 52°C 30 s, 72°C 45 s.

1 ciclo: 72°C 2 min, 4°C en reposo.

ELECTROFORESIS

Se realiza un gel de agarosa al 2.5% con buffer TAE y bromuro de etidio (50 μ L). Se cargan en los pocillos del gel la muestra de ADN con el buffer de carga. Idealmente se carga el 10% del volumen de la muestra de PCR, en nuestro caso el volumen final era de 25 μ L, por lo tanto serían 2.5 μ L de carga, sin embargo, ya que es una extracción que no se considera 100% pura, se carga 5 μ L y 1 μ L de buffer de carga. En un pocillo aparte se coloca 1 μ L de marcador de peso molecular de 50 a 1000 pb y se corre la electroforesis durante 30 minutos a 100 volts. Se revela gracias a una cámara de luz ultravioleta y se observan las bandas.

[Escriba aquí]

RESULTADOS

Tasa de mortalidad durante el desarrollo embrionario de peces Microinyectados Con *Hcn2b* Y *Slc45a2*.

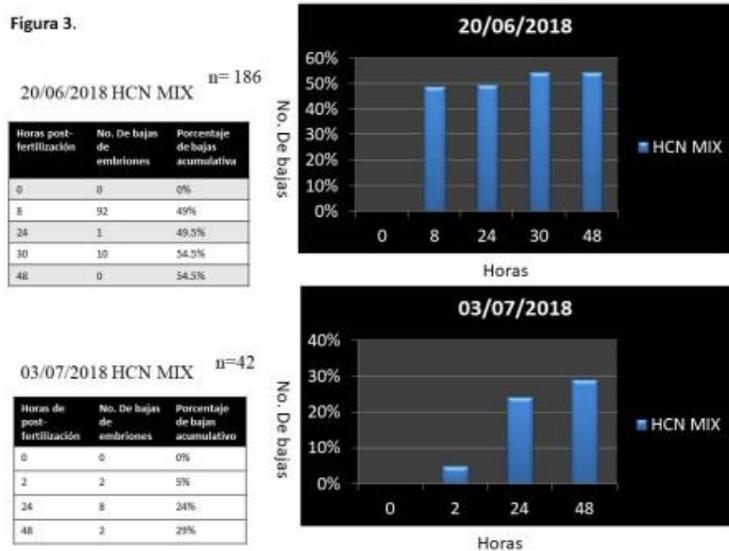


Figura 3. Tabla y grafica de dos experimentos para la edición del gen *hcn2b*. Se observa que durante las primeras 24 horas post-fertilización la tasa de mortalidad de los embriones es mayor que después de estas horas.

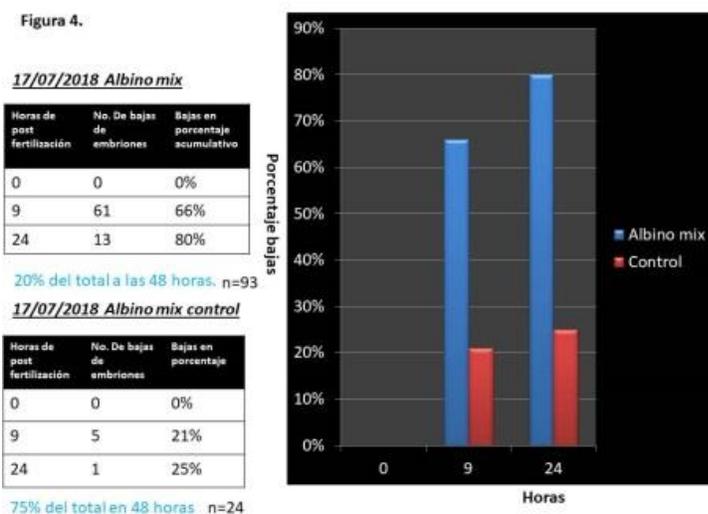


Figura 4. Tablas y grafica de embriones microinyectados para la edición del gen *slc45a2* comparando con un control, donde se muestra que la tasa de mortalidad del control es menor que con los embriones de experimentación.

[Escriba aquí]

Figura 5.

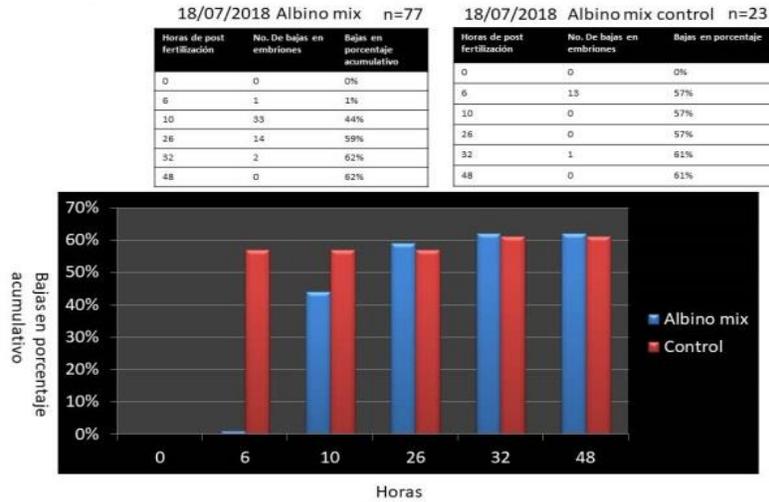


Figura 5. Tablas y grafica comparativa de la tasa de mortalidad de embriones microinyectados y no microinyectados con sgARN del gen *slc45a2*, en la gráfica se aprecia que la mortalidad es relativamente similar en ambos.

CARACTERIZACIÓN DE LARVAS MICROINYECTADAS PARA MODIFICAR EL GEN *hcn2b*

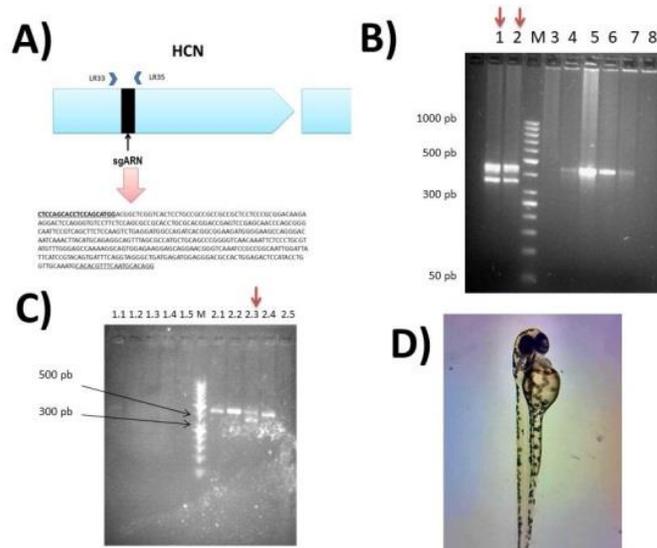


Figura 6. A) Representación del gen *hcn2b*, con la posición de los primers LR33 y LR35. B) Electroforesis de PCR de 5 larvas en cada muestra, en donde se observa que en la muestra 1 y 2 se encuentran dos bandas, una entre los 436 pb y otra entre los 300-400 pb. C) Electroforesis de PCR de ADN cada larva, de las muestras 1 y 2 de la figura B. Las muestras individuales de la muestra 1 no amplificaron, sin embargo, la muestra 2 amplificaron y se observa que en el ADN de la larva 2.3 tiene dos bandas entre 300-500 pb. D) Representación de embrión a las 48 horas post-fertilización microinyectado con sgARN de *hcn2b*.

FENOTIPOS DE LOS PECES MICROINYECTADOS PARA LA EDICIÓN DEL GEN *slc45a2*

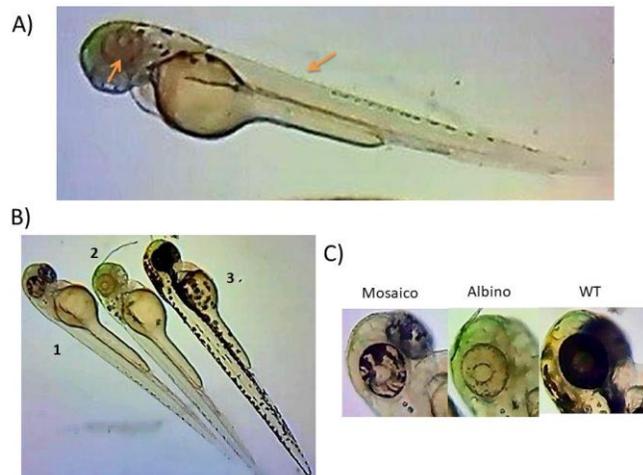


Figura 7. A) Representación de una larva albina a las 48 horas post-fertilización, con las flechas anaranjadas indica donde el fenotipo es más evidente (el ojo y el torso de larva). B) Fenotipos de 3 larvas, presentando fenotipos diferentes, en la larva #1 se encuentra un efecto de mosaicismo, se observan manchas oscuras en el ojo y escasa pigmentación, en la larva #2 se presenta albinismo, que a diferencia del mosaísmo, la pigmentación es nula, y en la larva #3 un pez silvestre, con una pigmentación completa. C) Comparación de los fenotipos presentes en el ojo de las larvas anteriores.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, la tasa de mortalidad tan elevada de los embriones microinyectados se debe a diversos factores: la capacidad y habilidad de la persona que microinyecta, el tiempo de manipulación y la salud de los embriones. También, al momento de microinyectar se puede pinchar varias veces el corión del embrión y provocar que este muera. Otro caso sería el tamaño de la punta del capilar que dañe el embrión, la cantidad del ARN microinyectado, pues cantidades elevadas también resultan tóxicas para los embriones. Además que unas camadas de embriones obtenidos se encontraban en mal estado, pues al momento de recolectarlos, la mayoría ya se encontraba su corión dañado (ver por ejemplo los controles en figura 5). El sistema CRISPR/Cas9 es eficiente, sin embargo existe la posibilidad de que realice mutaciones (deleciones) en partes extensas del genoma, por ejemplo, al caracterizar los embriones para la edición del gen *hcn2b* se verifica que al hacer la electroforesis de la PCR se obtiene más de una banda de diferente peso molecular en un mismo carril cargado de una muestra de PCR de las larvas. En la modificación del gen *slc45a2* que causa albinismo se observa el fenotipo de las larvas a las 48 horas post-fertilización y se encuentra efecto de mosaicismo. Además, al trabajar con ARN se debe de tener cuidado con las mezclas del sistema CRISPR/Cas9 porque son susceptibles de degradación.

CONCLUSIONES

El sistema CRISPR/Cas9 es un método eficiente y económico a diferencia de otros métodos de edición genética. Se pueden observar fenotipos evidentes al realizar modificaciones genéticas en el gen *slc45a2* pero se requiere una genotipificación en otros casos como en el gen *hcn2b*. La tasa de mortalidad obtenida fue elevada, sin embargo los embriones que sobrevivieron muestran características fenotípicas como el mosaísmo cuando se observan a las 48 horas post-fertilización, lo que indica que el sgARN utilizado en el sistema CRISPR/Cas9 para

[Escriba aquí]

el edición en el gen *slc45a2* de *Danio rerio* funciona de manera adecuada. Para el gen *hcn2b* también se pueden observar fenotipos como pueden ser ataques de epilepsia, sin embargo es un fenotipo que necesita más tiempo de observación, es por ello que para verificar la edición del gen es necesario el genotipado, extrayendo el ADN de las larvas, realizando PCR y compararlas con el alelo silvestre correspondiente (en nuestro caso de 436 pb con primer LR33 y LR35). Las modificaciones genéticas con esta técnica prometen grandes avances en la ciencia.

BIBLIOGRAFIA

Vargas R. A. 2017 Pez cebra (*Danio rerio*) y anestesia. Un modelo animal alternativo para realizar investigación biomédica básica, Departamento de ciencias fisiológicas, Facultad de medicina, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Armengol M.A. 2017, El pez cebra como modelo de investigación biomédica, Acuicultura, pág. 5.

Morán A., 2015, ¿Qué es la tecnología CRISPR/Cas9 y cómo nos cambiará la vida?, Ciencia para todos, Universidad Complutense de Madrid, Departamento de bioquímica y biología molecular, Madrid, España.

Tolosa A. 2018, Tecnología CRISPR, Genética médica news, Parque científico Universidad de Valencia, Av. Agustín escardino 9, 46980, Valencia, España.

Sengupta M., Chaki M., Arti N., Ray K., 2007, *slc45a2* variations in Indian oculocutaneous albinism patients, Molecular vision, Molecular & Human Genetics Division, Indian Institute of Chemical Biology, Kolkata, West Bengal, India.

Nakamura Y., Shi X., Numata T., Yasuo M., Inoue R., Lossin C., Baram Z., Hirose S., 2013, Novel HCN2 Mutation Contributes to Febrile Seizures by Shifting the Channel's Kinetics in a Temperature Dependent Manner, PLOS ONE. Fukuoka, Japan.

EXPRESIÓN EN SISTEMA *E. coli* Y ANÁLISIS PARCIAL DE PROTEÍNAS DE FUSIÓN

Manuel David Vaca Tello¹ y Antonio de León Rodríguez²

RESUMEN

Las proteínas de fusión creadas a partir de ingeniería genética son ampliamente usadas ya que representan ventajas como estabilidad estructural, rápida producción y purificación eficaz. IFN- γ e IL-2 son péptidos empleados para el tratamiento de algunos tipos de cáncer y es de interés el mejoramiento de su producción. En este trabajo se expresaron 3 construcciones de una proteína de fusión ya presentes en cepas de *E. coli*, se purificaron (mediante el sistema de purificación Ni-NTA de Invitrogen®) y se verificó la presencia de las construcciones y sus secuencias de DNA codificante mediante técnicas de electroforesis, y PCR. Las pruebas indican que las bacterias transformadas si expresan las proteínas de fusión de interés.

ABSTRACT

The fusion proteins created by genetic engineering are widely used since they represent advantages such as structural stability, rapid production and efficient purification. IFN- γ and IL-2 peptides are used to treat some cancer types and interest is improving their production. In this work, 3 fusion protein constructs already present in *E. coli* strains were expressed, purified (by the Ni-NTA purification system of Invitrogen®) and the presence of the constructions and their coding DNA sequences were verified by electrophoresis and PCR techniques. Results indicates that the transformed bacteria do express the fusion constructions of interest.

Palabras Clave: Proteínas de fusión, interferón- γ , interleucina 2, expresión.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo al Instituto Nacional de Cáncer en los Estados Unidos de América, una proteína de fusión es una proteína creada mediante ingeniería genética a partir de dos o más proteínas, en la cual se coloca en fase la secuencia de los genes codificantes para los fragmentos proteicos de interés. El uso de estas construcciones puede representar ventajas desde el punto de vista funcional al estabilizar la estructura de las proteínas, además de que el proceso de fusión suele permitir una producción y purificación más eficaz (Liang, Sandberg, & Terwilliger, 1993).

Uno de los sistemas de expresión más utilizados para éste tipo de proteínas es la bacteria gram negativa *E. coli* debido a que presenta ventajas como genoma, fisiología y metabolismo ampliamente estudiados; presenta rápido crecimiento y altos niveles de expresión en medios de cultivo muy simples, además de que se tienen identificados numerosos vectores para la manipulación genética de este microorganismo (Lara, 2011).

La interleucina 2 (IL-2) es una citosina que potencia la actividad del Interferón- γ (IFN- γ) en el organismo, y a su vez, se ha comprobado que estas dos moléculas retrasan el desarrollo de tumores en modelos de cáncer en ratones (Du et al., 2012); además, el IFN- γ induce la expresión de IRF-1 (Interferon Regulatory Factor 1) el cual contribuye a la supresión tumoral mediada por p53 y modula la transcripción de otros interferones. Se ha demostrado también que la deficiencia de señalización de IRF-1 en ratones aumenta la tasa de incidencia tumoral e IFN- γ también regula indirectamente la producción de IL-2 y potenciado por otras interleucinas disminuye la formación de tumores (Pavón Romero, Jiménez Martínez, & Garcés Álvarez, 2016).

Por todo lo anterior, es de interés emplear una proteína de fusión en el tratamiento de cáncer que contenga a IFN- γ e IL-2 de modo que se co-estimule entre sí la expresión de ambas proteínas y a su vez, la quimera tenga efecto en el tumor. Para lograr esto, se propone como objetivo de este trabajo la expresión de tres construcciones de quimeras (todas formadas por IFN- γ e IL-2) en cepas ya transformadas de *E. coli*. Las proteínas obtenidas serán analizadas parcialmente y en otro trabajo serán probadas con vistas a subclonar las secuencias codificantes para éstas proteínas de fusión en una cepa de *P. pastoris*: esto último debido a que *P. pastoris* no produce cuerpos de inclusión, facilitando así su purificación (Ahmad, Hirz, Pichler, & Schwab, 2014).

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química: Cerro de las campanas S/N, Las Campanas, C.P. 76010, Querétaro, Qro., dvacat@gmail.com

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., División de Biología Molecular: Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4ª Sección, C.P. 78216, San Luis Potosí, S.L.P., aleonr@ipicyt.edu.mx

MÉTODOS Y MATERIALES

Cultivo celular para expresión de proteína y análisis de DNA.

Para este punto se cultivaron tres cepas transformadas de *E. coli* (proporcionadas por el laboratorio) en placas medio LB sólido; las cepas expresan una quimera distinta cada una (ver Tabla 1). Posteriormente se preparó un preinóculo para cada cepa de 30mL de medio mínimo (ver Tabla 2) adicionado con extracto de levadura (10% v/v) a 31°C y 200rpm durante 24 horas. Posteriormente, cada preinóculo se pasó a matraces de 1L que contenían 300mL de medio mínimo. Todos los medios fueron adicionados con kanamicina a 50µg/mL.

Tabla 1. Variantes de la proteína quimérica.

VARIANTE	CONSTRUCCIÓN
ILQ2	IL-2 - IFN-γ
Q1C103/7	IFN-γ - IL-2
Q1MUT	IFN-γ - IL-2 (Mutada en 2 aminoácidos de IL-2)

Tabla 2. Composición del medio mínimo (para 25mL).

SUSTANCIA	CANTIDAD
Glucosa (50g/L)	250µL
Glicerol	250µL
Tiamina	250µL
(NH ₄)HPO ₄ (35g/L)	2.5mL
KH ₂ PO ₄ (35g/L)	2.5mL
MgSO ₄ (10g/L)	2.5mL
Elementos traza 10X (Tabla 3)	2.5mL
Agua	Aforar a 25mL

Tabla 3. Elementos traza 10X (para 100mL)

SUSTANCIA	CANTIDAD
FeCl ₃	27g
ZnCl ₂	2g
CoCl ₂ • 6H ₂ O	2g
Na ₂ MoO ₄ • 2H ₂ O	2g
CaCl ₂ • 2H ₂ O	1g
CuCl ₂ • 2H ₂ O	1g
H ₃ BO ₃	0.5g
Agua	100mL

Purificación de DNA plasmídico.

La purificación de DNA plasmídico se realizó mediante el protocolo de lisis alcalina (Ahn, Baek, Oh, Song, & Chatterjee, 2000).

Análisis de DNA mediante electroforesis.

Para comprobar la presencia de la secuencia codificante se corrió una PCR del DNA purificado empleando primers adecuados (proporcionados por el laboratorio) bajo las siguientes condiciones: 10' a 95°C, después, por ciclo: 1' a 95°C, 1' a 48°C, 3' a 72°C. Al concluir 35 ciclos se mantuvieron las muestras 10' a 72°C y posteriormente 10' a 4°C. Los amplicones fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% (80V, 1 hora), y observados mediante revelado con BrEt y luz UV.

Expresión de proteínas.

Se indujo la expresión de la proteína agregando D-lactosa a una concentración 1mM cuando el cultivo de 300mL alcanzó una O.D.^{600nm} de 0.5±0.05. Una vez inducida la expresión se dejó en agitación a 200rpm y 31°C durante 24 horas.

Análisis de proteína total.

Fue realizado un SDS-PAGE (Chang et al., 1994) de proteína total para confirmar la presencia de nuestras quimeras.

Purificación de proteínas.

La purificación de cada proteína se realizó mediante el protocolo de purificación Ni-NTA de la casa Invitrogen®. Posterior a esta purificación las fracciones fueron analizadas por otro estudiante por lo que los resultados no se presentan.

RESULTADOS

Cultivos celulares y expresión de proteínas.

El incremento de biomasa en los cultivos bacterianos tanto en placas (Figura 1a) como en matraz (Figura 1b) fueron apreciables a simple vista. De primera instancia podemos inferir que es nuestra cepa de interés debido a que el plásmido que tiene inserto (pET28a) tiene un cassette de resistencia a kanamicina, antibiótico que fue adicionado a la formulación de los medios.

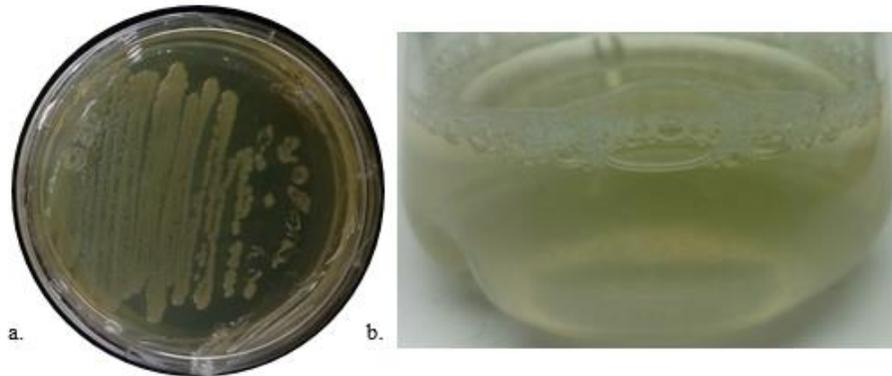


Figura 1. Crecimiento celular en placa (a) y en matraz (b).

Análisis de DNA mediante PCR y electroforesis.

La electroforesis en agarosa de los amplicones de PCR (Figura 2) evidencia la presencia de un fragmento de DNA de aproximadamente 900bp, el cual es el peso del inserto de DNA en el plásmido codificante para las quimeras de interés.

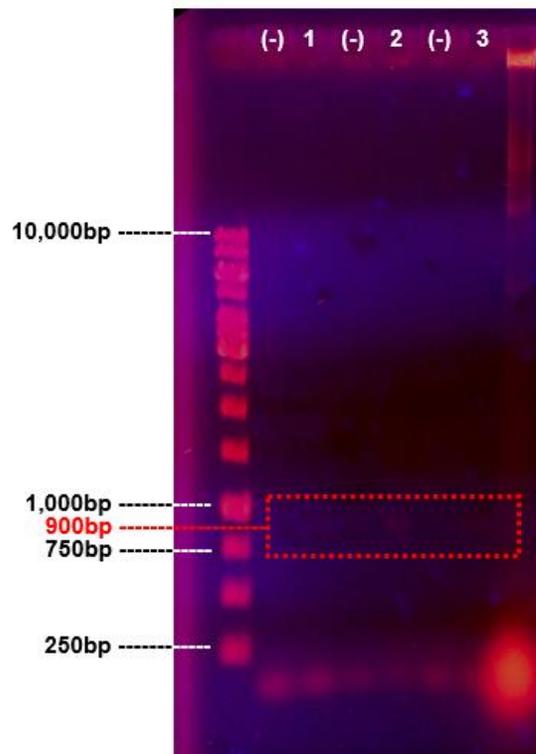


Figura 2. Fragmentos de PCR correspondientes al inserto de 900bp de DNA codificante para las quimeras ILQ2 (1), Q1C103/7 (2) y Q1MUT (3).

Purificación de proteínas y análisis mediante SDS-PAGE.

El montaje de la columna para purificación de nuestras proteínas puede apreciarse en la Figura 3. Además, el análisis por SDS-PAGE de proteína total (Figura 4) confirma la presencia de nuestras proteínas de interés (≈ 32 kDa), lo cual indica que nuestras cepas si están transformadas con el plásmido y, a su vez, éstas expresan las quimeras.



Figura 3. Montaje de columna del sistema de purificación Ni-NTA de Invitrogen®.

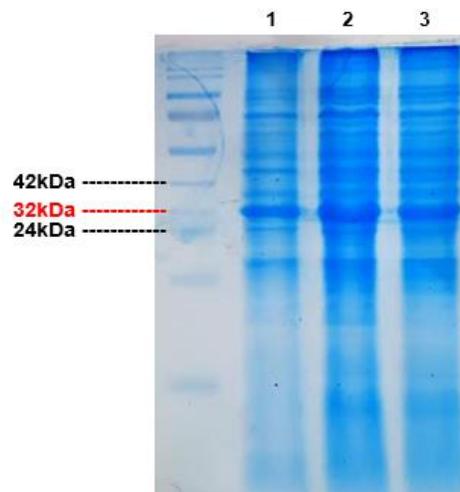


Figura 4. SDS-PAGE de proteína total, ILQ2 (1), Q1C103/7 (2) y Q1MUT (3).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que las cepas de *E. coli*, transformadas con el plásmido pET28a para la expresión de las proteínas de fusión ILQ2, Q1C103/7 y Q1MUT, si expresan dichas quimeras. Las secuencias de DNA presentes en estas cepas pueden usarse para el estudio de subclonación en *P. pastoris*.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al Biol. José Luis Ruíz Carrillo, quien de primera mano me enseñó todo lo relacionado al proyecto, además de depositar su confianza en mi persona para la realización de estos y muchos otros experimentos. Agradezco al Dr. Victor Emmanuel Balderas Hernández por todas sus atenciones y apoyo; al Dr. Antonio de León Rodríguez y al resto del equipo de trabajo por abrirnos las puertas del laboratorio y hacernos sentir como en casa. Por último, me gustaría dar las gracias toda la comunidad del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., alumnos, veranos, practicantes, profesores y administrativos. Gracias por llevar ésta experiencia más allá de la ciencia y la investigación.

BIBLIOGRAFIA

- Ahmad, M., Hirz, M., Pichler, H., & Schwab, H. (2014). Protein expression in *Pichia pastoris*: Recent achievements and perspectives for heterologous protein production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(12), 5301–5317. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5732-5>
- Ahn, S. C., Baek, B. S., Oh, T., Song, C. S., & Chatterjee, B. (2000). Rapid mini-scale plasmid isolation for DNA sequencing and restriction mapping. *BioTechniques*.
- Chang, Y., Cesarman, E., Pessin, M. S., Lee, F., Culpepper, J., Knowles, D. M., & Moore, P. S. (1994). Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.7997879>
- Du, G., Ye, L., Zhang, G., Dong, Q., Liu, K., & Tian, J. (2012). Human IL18-IL2 fusion protein as a potential antitumor reagent by enhancing NK cell cytotoxicity and IFN- γ production. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 138(10), 1727–1736. <https://doi.org/10.1007/s00432-012-1248-5>
- Lara, A. R. (2011). Producción de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*.
- Liang, H., Sandberg, W. S., & Terwilliger, T. C. (1993). Genetic fusion of subunits of a dimeric protein substantially enhances its stability and rate of folding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.15.7010>
- Pavón Romero, L., Jiménez Martínez, M. C., & Garcés Álvarez, M. E. (2016). *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1a. ED.). Wolters Kluwer.

ESTRATEGIAS MOLECULARES Y DE BIOPROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN SIMULTÁNEA DE ETANOL E HIDRÓGENO

Manuel Bermejo Chávez¹, Dr. Antonio De León Rodríguez²

RESUMEN

En este trabajo, se aplicó un diseño experimental central compuesto para evaluar el efecto de la concentración de carbonilcianuro-m-clorofenilhidrazona, indol y 2,4-dinitrofenol así como el tiempo de adición de estos compuestos en el rendimiento de hidrógeno, etanol y 2,3-butanodiol por la cepa psicrófila G088. Los experimentos se llevaron a cabo en botellas serológicas con un medio de producción con 25 g/L de glucosa y 1 g/L de extracto de levadura. Se determinaron las concentraciones de hidrógeno por cromatografía de gases además de etanol y 2,3-butanodiol en HPLC. La actividad del ionóforo permite regular la producción de biomasa y modificar el rendimiento de los productos de interés.

ABSTRACT

In this work, a composite central experimental design was applied to evaluate the effect of the concentration of carbonylcyanide-m-chlorophenylhydrazone, indole and 2,4-dinitrophenol as well as the time of addition of these compounds in the yield of hydrogen, ethanol and 2,3-butanediol by psychrophilic strain G088. The experiments were carried out in serological bottles with a production medium with 25 g/L of glucose and 1 g/L of yeast extract. The concentrations of hydrogen by gas chromatography and ethanol and 2,3-butanediol in HPLC were determined. The activity of the ionophore allows to regulate biomass production and modify the yield of the products of interest.

Palabras clave: Bacterias psicrófilas, quiescencia, biohidrógeno, alcohol

INTRODUCCIÓN

De entre tantas fuentes de energía alternativas que existen en la actualidad, el hidrógeno sobresale por ser un portador energético renovable que no genera gases de efecto invernadero y libera una gran cantidad de energía durante su combustión. Por este motivo podría ser un fuerte candidato para utilizarse como fuente de energía alterna. La producción biológica genera hidrógeno limpio de forma sustentable en base a una tecnología simple (SINGH, 2016). De este modo, la fermentación oscura es un método biológico atractivo por la variedad de microorganismos y sustratos a elegir para llevar a cabo el proceso y además es posible obtener varios productos de interés económico de forma simultánea (WU, K.-J., 2008). Sin embargo, debido a que la producción de metabolitos está relacionada con el crecimiento celular, una gran parte del sustrato utilizado es canalizada hacia la producción de biomasa y no a la generación de los productos deseados. Por este motivo, la inducción de las células productoras a entrar en un estado quiescente surge como una estrategia atractiva que permita a las células estar metabólicamente activas, pero no dividiéndose (DE, L.-R.A., 2016). En los últimos años se ha demostrado que la adición de compuestos químicos y su acción como ionóforos induce quiescencia en células bajo condiciones aerobias y anaerobias. Este efecto se atribuye a que los compuestos como el indol actúan sobre la membrana modificando su polaridad y por consecuencia afectando la producción de ATP. De León-Rodríguez y col. (2016) reportaron que la adición de 2 mM de indol al medio de cultivo induce quiescencia en cultivos anaerobios de una cepa de *E. coli* sobreproductora de hidrógeno y etanol (WDHL) utilizando glucosa como sustrato, favoreciendo la producción de hidrógeno y etanol. También se ha utilizado 2,4-dinitrofenol para observar el efecto en la fosforilación oxidativa (GAGE D., 1993) y el carbonilcianuro-m-clorofenilhidrazona (CCCP) ha sido utilizado como inhibidor de la cadena respiratoria mitocondrial en *S. cerevisiae* (YE X., 2015) y de la formación de biopelículas por *Pseudomonas aeruginosa* [IKONOMIDIS A., 2007] y *Mycobacterium smegmatis* (JIN J., 2010).

¹Universidad Autónoma de Querétaro. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. C.U., Cerro de las Campanas S/N, Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, Qro.

²División de Biología Molecular, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa San José 2055, Col. Lomas 4a, Sección, C.P. 78216 San Luis Potosí, SLP, México.

Por lo tanto, en este trabajo, se evaluaron tres diferentes ionóforos, carbonilcianuro-m-clorofenilhidrazona (CCCP), indol y 2,4-dinitrofenol (DNP) para inducir la quiescencia en la cepa psicrófila G088. Se utilizó un diseño experimental central compuesto para cada ionóforo, con el fin de establecer las condiciones óptimas de producción de hidrógeno (H₂), etanol (etOH) y 2,3-butanodiol (BDO). Las variables independientes evaluadas fueron concentración de ionóforo y tiempo de inducción.

MÉTODOS Y MATERIALES

- Cepas y medios de cultivo

En este estudio, la cepa G088 [EU636029] fue previamente aislada de muestras de sedimento de glaciar de la Antártica. De acuerdo a NCBI esta cepa está cercanamente relacionada a *Polaromonas rhizosphaerae* [EF127651] (GARCIA-ECHAURI S., 2011). La cepa fue crecida en placas con agar YPG y una vez crecida se mantuvo a 4 °C. Los experimentos de producción de hidrógeno se llevaron a cabo en un medio con 100 g/L de glucosa, 100 g/L de extracto de levadura, 200 g/L de Sulfato de Magnesio y 50x de Medio B preparado como se muestra en el material suplementario.

- Experimentos de producción de hidrógeno

Para evaluar la producción de hidrógeno, etanol y 2,3-butanodiol por la cepa psicrófila G088, se creció un inóculo en medio YPG a 25 °C y agitado a 200 rpm. Las células fueron recolectadas, centrifugadas, lavadas e inoculadas en botellas serológicas (Prisma, DF, Mex) con 50 mL de medio de producción para el caso de indol y DNP y 10 mL para los ensayos de CCCP; el medio de producción constaba de 25 g/L de glucosa suplementados con 1 mL/L de una solución de elementos traza (0.015 g/L FeCl₃·4H₂O, 0.00036 g/L Na₂MoO₄·2H₂O, 0.00024 g/L NiCl₂·6H₂O, 0.0007 g/L CoCl₂·6H₂O, 0.0002 g/L CuCl₂·2H₂O, 0.0002 g/L Na₂SeO₃, 0.01 g/L MgSO₄) [6]. Los cultivos fueron iniciados a una densidad óptica a 600 nm (OD_{600nm}) de 0.1. El rango de concentración de indol evaluado fue de 1.17-8 mM, mientras que para 2,4-dinitrofenol fue 0.86-5.86 mM y para carbonilcianuro-m-clorofenilhidrazona fue de 10.29-70.27 mM. El tiempo en el que se adicionó el ionóforo en cada experimento fue entre las 0.03-22.56 horas (Tablas 1, 2 y 3).

Tabla 1. Diseño experimental central compuesto utilizando indol como ionóforo.

Exp.	Indol (mM)	pH (-)	Tiempo (h)
1	8.00	8.00	11.29
2	1.17	6.00	3.33
3	4.00	8.00	11.29
4	4.00	9.36	22.56
5	1.17	8.00	19.26
6	6.83	6.00	3.33
7	6.83	4.00	19.26
8	4.00	6.00	11.29
9	4.00	6.00	11.29
10	0.00	6.00	11.29
11	4.00	4.00	0.03

Tabla 2. Diseño experimental central compuesto utilizando DNP como ionóforo.

Exp.	DNP (mM)	pH (-)	Tiempo (h)
1	5.00	5.00	3.33
2	2.93	2.93	11.29
3	2.93	2.93	11.29

4	2.93	2.93	0.03
5	0.00	0.00	11.29
6	0.86	0.86	19.26
7	5.86	5.86	11.29
8	2.93	2.93	22.56
9	2.93	2.93	11.29
10	5.00	5.00	19.26
11	0.86	0.86	3.33

Tabla 3. Diseño experimental central compuesto utilizando CCCP como ionóforo.

Exp.	DNP (mM)	pH (-)	Tiempo (h)
1	10.29	6.25	19.26
2	35.13	6.23	11.29
3	70.27	6.25	11.29
4	35.13	6.22	22.56
5	0.00	6.25	11.29
6	35.13	6.22	11.29
7	35.13	6.20	0.03
8	59.98	6.22	19.26
9	10.29	6.25	3.33
10	59.98	6.19	3.33
11	35.13	6.20	11.29

- Métodos analíticos

El hidrógeno producido fue medido por desplazamiento de agua ácida en una bureta invertida conectada a las botellas serológicas con una manguera de plástico y una aguja. El contenido de hidrógeno en la fase gaseosa fue determinado por cromatografía como lo describe Alvarado-Cuevas et al. (2015). Las concentraciones de ácidos orgánicos, etanol y 2,3-butanodiol presentes en el medio fueron analizadas por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, Infinity LC 1220, Agilent Technologies, Santa Clara CA, USA) usando un Detector de Índice de Refracción, una columna Phenomenex Rezex ROA (Phenomenex, Torrance, CA, USA) a 60 °C y 0.0025 M H₂SO₄ como fase móvil a 0.5 mL/min (ALVARADO-CUEVAS Z.D., 2015).

RESULTADOS

Se evaluó el efecto de la concentración de indol, DNP y CCCP, así como también el tiempo en el que se añade el ionóforo al medio de cultivo de fermentación con el fin de determinar las condiciones óptimas bajo las cuales se induce quiescencia en la cepa psicrófila G088 y de esta forma incrementar los rendimientos de hidrógeno, etanol y 2,3-butanodiol. Se llevaron a cabo 11 experimentos para cada uno de los ionóforos. (Tabla 1, 2 y 3).

Los resultados obtenidos representan los valores necesarios para realizar el modelo de respuesta de superficie utilizado, dichos valores se reducen a volúmenes de hidrógeno obtenido, así como el rendimiento de etanol y 2,3-butanodiol, para cada experimento de los modelos utilizados para cada ionóforo (Tabla 1, 2 y 3). Dichos resultados fueron almacenados en los equipos utilizados y serán evaluados posteriormente como parte de la investigación.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos solo nos permiten determinar que, acorde a la literatura, la adición de ionóforo provoca la interrupción de la producción de biomasa. Por ende, el siguiente paso debe ser la evaluación de los resultados del modelo utilizado para conocer la concentración y tiempo de adición de ionóforo adecuados para obtener el mayor rendimiento de los productos esperados.

AGRADECIMIENTOS

Al equipo de trabajo de la investigación, en especial a M.C.B.M Cecilia Álvarez, además de todos los integrantes de la división de Biología Molecular incluyendo al Dr. Antonio De León Rodríguez y al Dr. Victor Emmanuel Balderas por sus atenciones cordiales y su apoyo en todo momento. También agradezco a todos los estudiantes y doctores del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica que permitieron que la experiencia del Verano de la Ciencia fuera incluso más allá de la ciencia.

BIBLIOGRAFÍA

- SINGH, A., RATHORE D. (2016). Biohydrogen Production: Sustainability of Current Technology and Future Perspective, India: Springer
- WU, K.-J., et al. (2008). "Simultaneous production of 2, 3-butanediol, ethanol and hydrogen with a Klebsiella sp. strain isolated from sewage sludge" en Bioresource technology. Vol. **99**. [pp. 7966-7970].
- DE, L.-R.A., et al. (2016). "Indole modifies the central carbon flux in the anaerobic metabolism of Escherichia coli: application to the production of hydrogen and other metabolites. New Biotechnology. Vol. 33. [pp. 868-873]
- GAGE D., NEIDHARDT F. (1993). "Adaptation of Escherichia coli to the uncoupler of oxidative phosphorylation 2,4-dinitrophenol" J Bacteriol. Vol. 175. [pp. 7105-8].
- YE X., MORIKAWA, et al. (2015) "Evaluation of genes involved in oxidative phosphorylation in yeast by developing a simple and rapid method to measure mitochondrial ATP synthetic activity". Microbial Cell Fact. Vol. 14. [pp. 14-56].
- IKONOMIDIS A., et. al. (2007). Effect of the proton motive force inhibitor carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone (CCCP) on Pseudomonas aeruginosa biofilm development". Letters Appl Microbiol Vol 47. [pp. 298-302].
- JIN J., et. al. (2010). "Farnesol, a potential efflux pump inhibitor in Mycobacterium smegmatis". Molecules Vol. 15 [pp. 7750-7762].
- GARCIA-ECHAURI S., et al. (2011). "Isolation and phylogenetic classification of culturable psychrophilic prokaryotes from the Collins glacier in the Antarctica". Folia microbiologica. Vol **56** [pp. 209-214].
- ALVARADO-CUEVAS Z.D., et al. (2015) "Biohydrogen production using psychrophilic bacteria isolated from Antarctica". International Journal of Hydrogen Energy. Vol. **40**. [pp. 7586-7592].

SÍNTESIS VERDE DE MOLÉCULAS DE INTERÉS EN QUÍMICA MEDICINAL

Manuel Zavala Sánchez¹ y María del Rocío Gámez Montaña²

RESUMEN

En la época actual se ha hecho inclusión de la sustentabilidad en toda actividad humana incluyendo en el área de la síntesis orgánica en la cual se usan y generan gran cantidad de sustancias dañinas tanto para el medio ambiente como para el ser humano. Por lo cual se han desarrollado nuevas metodologías que permitan utilizar en su totalidad las materias primas y además llevar a cabo procesos en los cuales no se generen o se genere la cantidad mínima de residuos. En este contexto las reacciones multicomponentes (RMCs) permiten generar productos con altos rendimientos y con una nula o casi nula generación de residuos. En este trabajo se describe la síntesis de análogos de α -aciloxicarboxamidas vía la reacción de Passerini, los cuales son de interés en química medicinal.

ABSTRACT

In the actual age, sustainability has been included in all human activities, including in the area of organic synthesis in which they use and generate a large quantity of harmful substances both for the environment and for the human. Therefore, new methodologies have been developed that allow raw materials to be used in their entirety and carry out processes in which no waste is generated or the minimum of this, in this context the multicomponent reactions (RMCs) in which it has been seen that they generate products with high yields and without producing toxic waste. In this work, we describe the methodology by which analogues α -acyloxyamides were synthesized via the Passerini reaction, which have a interest in medicinal chemistry.

Palabras Clave: RMC-I, Passerini, *One-pot*, α -aciloxicarboxamida, RMN.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el desarrollo de nuevas metodologías basadas en los principios de la química verde es el reto de todos los químicos orgánicos sintéticos comprometidos con el cuidado del medio ambiente y la sociedad. En décadas anteriores los procesos químicos eran poco eficientes, se generaban subproductos no deseados además que se usaban productos nocivos para la salud y el medio ambiente, debido al deterioro generado por estos procesos se han buscado nuevas alternativas que sean amigables con el medio ambiente por lo cual se han establecido varios principios que se deben considerar para que una metodología se considere sustentable y amigable con el medio ambiente.

La química verde no tiene una definición única, pero según la Agencia de Protección ambiental es el “uso de la química para la prevención de la contaminación, y el diseño de productos químicos y procesos beneficiosos para el ambiente”. Para establecer una definición más clara y completa de lo que es la química verde se establecieron 12 principios los cuales son (José Gustavo Ávila Zárraga, Gavilán García, & Cano Díaz, 2015):

1. Prevenir la generación de residuos
2. Eficiencia atómica: Métodos de síntesis diseñados para aprovechar al máximo la incorporación de todos los materiales utilizados en los procesos.
3. Reducir los residuos, diseñar procesos que minimicen la generación de residuos siempre que sea posible
4. Diseñar sustancias seguras, las sustancias químicas deben ser diseñadas para garantizar la eficacia de una función específica de una función específica, pero deben ser de baja toxicidad.

¹ Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Av. Adolfo López Mateos #1801 Ote., Fracc. Bona Gens, C.P:20256, Aguascalientes, Aguascalientes, Manuel_zavala96@hotmail.com

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química, Calle Noria Alta, Colonia Noria Alta, C.P:36050, Guanajuato, Guanajuato, rogamma@gmail.com

5. Disolventes seguros, uso de disolventes de baja toxicidad.
6. Energía eficiente, optimización del uso de fuentes de energía.
7. Materias primas renovables, siempre que sea técnica y económicamente factible.
8. Reducción de pasos intermedios, (procesos *one-pot*) siempre que sea posible.
9. Uso de catalizadores, es preferible el uso estequiométrico de sustancias químicas.
10. Productos de fácil degradación, diseñar materiales que no persistan en el ambiente.
11. Monitoreo continuo para prevención
12. Procesos seguros

Para lograr en su totalidad o la mayoría de los principios anteriormente mencionados, se tiene como herramienta principal y más eficiente las reacciones multicomponentes basadas en isonitrilos (RMC-I), las cuales son lo más parecido a lo que se conoce como síntesis ideal y esto es debido a su alta eficiencia atómica, simple ejecución y el ahorro de tiempo y energía, lo que las convierte en estrategias sintéticas amigables con el medio ambiente y ofrecen una síntesis orientada a la diversidad (Haji, 2016)(Pharande, Rentería-Gómez, & Gámez-Montaño, 2018).

Las reacciones multicomponentes se definen como procesos en los que se combinan tres o más reactivos de manera secuencial, obteniéndose en un mínimo de etapas productos con elevada complejidad estructural. Las RMCs presentan muchas ventajas en comparación con las síntesis convencionales, conceptualmente son consideradas como procesos *one-pot*, ya que solo requieren un workup y un proceso de purificación(Gaich & Baran, 2010)(Unnamatla et al., 2016).

Las RMC's son en la actualidad las estrategias sintéticas más empleadas en la síntesis de compuestos heterocíclicos pequeños que contengan subestructuras frecuentes en fármacos y productos naturales, lo que las convierte en herramientas sintéticas valiosas en el campo de la química medicinal, ya que uno de los retos de la química medicinal es obtener productos bioactivos con alta eficiencia química, es decir crear selectivamente moléculas complejas, en una secuencia sintética única, sin intermedios y en buenos rendimientos (Dupont, 2000)(Rentería-Gómez et al., 2016)(Basavanag et al., 2017).

La primera RMC basada en isonitrilos (RMC-I) reportada fue la reacción de Passerini; en la cual un compuesto carbonílico aldehído o cetona, un ácido carboxílico y un isonitrilo reaccionan para formar una α -aciloxicarboxamida. La reacción de Passerini es simple, se realiza en un solo recipiente, ofrece productos en altos rendimientos y ofrece un 100% de economía atómica. La reacción clásica de Passerini se representa en la **figura 1** (Koszelewski, Szymanski, Krysiak, & Ostaszewski, 2008)(Pharande et al., 2018).

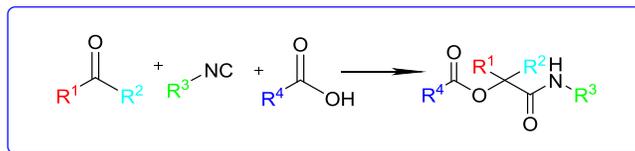


Figura 1. Reacción clásica de Passerini

La reacción de Passerini nos permite obtener análogos de α -aciloxicarboxamidas las cuales tienen gran importancia biológica, ya que son análogos de los depsipéptidos. Los depsipéptidos son una clase interesante de biopolímeros que recientemente han tenido mucha atención. Estos componentes poliméricos son análogos a los péptidos: los depsidos están compuestos por hidroxí ácidos ligados por enlaces éster, y los depsipeptidos están formados por hidroxí ácidos y aminoácidos unidos entre sí por enlaces amida y éster. **Figura 2** (Kazemizadeh & Ramazani, 2012).

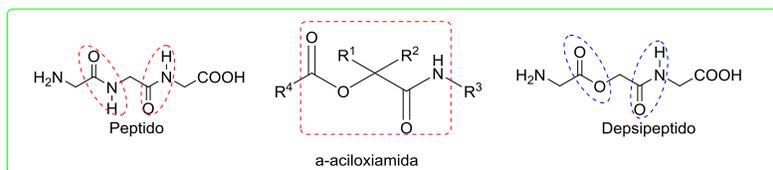


Figura 2. Estructuras de péptidos, depsipeptidos y α -aciloxicarboxamidas.

Existen depsipéptidos naturales que muestran actividades biológicas prometedoras, incluyendo anti-bacteriales, anti-virales, anti-fúngicas y propiedades anti-inflamatorias. Sin embargo, su mayor potencial terapéutico está en el tratamiento del cáncer (Kazemizadeh & Ramazani, 2012)(Pharande, Corrales Escobosa, & Gámez-Montaña, 2017).

METODOLOGÍA

Las reacciones se llevaron a cabo en tubos de vidrio, a temperatura ambiente y en sonicación.

El avance de las reacciones se monitoreó mediante cromatografía en capa fina (TLC). Se utilizaron placas de sílica-gel soportado en aluminio con indicador de fluorescencia y una lámpara UV (double band 254/365 nm) para el revelado.

Al terminar las reacciones, el producto precipito en el medio de reacción posteriormente se filtró y se secó en estufa para eliminar toda la humedad para finalmente pesarlo y determinar el rendimiento. La caracterización de los compuestos sintetizados se realizó por RMN de ^1H , para la obtención de los espectros se utilizó un equipo Bruker de 500 MHz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Optimización de la reacción

Con el propósito de encontrar las condiciones óptimas de reacción se realizaron diferentes experimentos variando parámetros como el disolvente y fuente de energía para obtener los compuestos objetivo (**4**) los experimentos se llevaron a cabo empleando benzaldehído (**1**), ácido benzoico (**2**), y t-butil isonitrilo (**3**), para llevar a cabo la RMC-I de Passerini (figura 6). Los resultados de la optimización se muestran en la **tabla 2**.

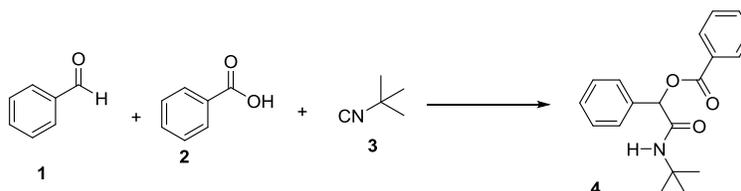


Figura 3. Optimización de las condiciones de la reacción para síntesis de análogos de α -aciloxycarboxamida.

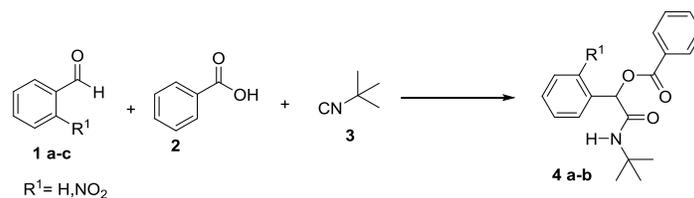
Tabla 1. Resultados de la optimización de la reacción

Experimento	Disolvente	Temperatura	Catalizador	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
1	H_2O	U.S.	-----	1.45	59
2	H_2O	T.A.	-----	1.40	46
3	EtOH	T.A.	-----	1.40	10
4	EtOH	U.S.	-----	1.45	15

Ya optimizadas las condiciones de reacción, se procedió a realizar la síntesis de análogos de α -aciloxycarboxamida, modificando la naturaleza estructural y electrónica del componente aldehído y ácido. Los análogos sintetizados se muestran en la **tabla 2**.

Síntesis de análogos

Tabla 2. Resultados de la síntesis de análogos



Experimento	Aldehído	Ácido carboxílico	Isonitrilo	Producto de Passerini	Rendimiento
1					59%
2					74%

En la figura 4 se pueden apreciar las señales características de los protones correspondientes a los grupos funcionales de la molécula sintetizada, que son los siguientes:

- En 1.39 ppm se encuentra la señal correspondiente de los protones del terbutil.
- La señal en 6.05 ppm pertenece al proton del grupo amina.
- En 6.25 ppm se puede observar la señal que pertenece al proton del carbono en el que convergen todos los materiales de partida.

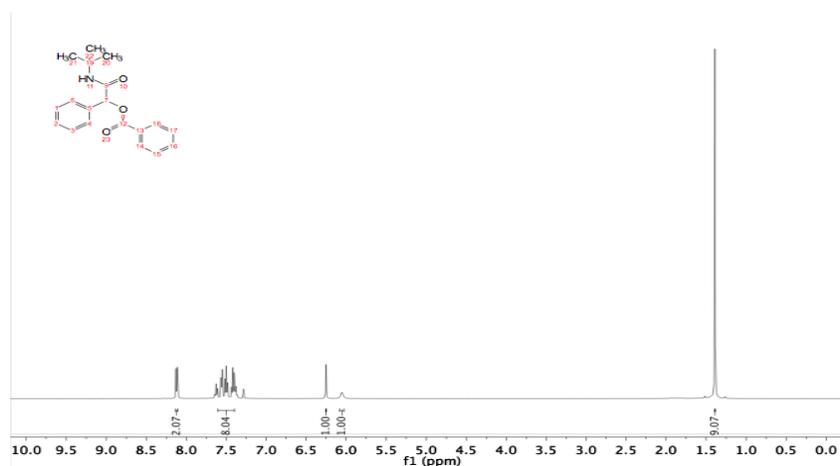


Figura 4. Espectro de ^1H del compuesto 4a

CONCLUSIONES

La metodología empleada nos permitió sintetizar análogos de α -aciloxicarboxamidas en rendimientos moderados a buenos (59-74%), usando solventes y fuentes de energía amigables con el medio ambiente, además la metodología es libre de columna ya que los productos precipitan el medio de reacción, lo cual demuestra que a través de las RMC-I se pueden sintetizar compuestos complejos de interés en química medicinal y en condiciones amigables con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

Libros

Ávila Zárraga, J. G., Gavilán García, I. C., & Cano Díaz, G. S. (2015). *Teoría y experimentos de Química Orgánica con un enfoque de Química Verde*. (J. G. Ávila Zárraga, Ed.) (1st ed.). Distrito Federal: Universidad Nacional Autónoma de México.

Artículos en línea

Basavanag, U. M. V., Islas-Jácome, A., Rentería-Gómez, A., Conejo, A. S., Kurva, M., Jiménez-Halla, J. O. C., ... Gámez-Montaño, R. (2017). Synthesis of 2-julolidin-imidazo[1,2-a]pyridines via Groebke-Blackburn-Bienaymé reaction and studies of optical properties. *New Journal of Chemistry*, 41(9), 3450–3459. <https://doi.org/10.1039/C6NJ04044F>

Dupont, J. (2000). Economía de átomos, ingeniería molecular e catálisis organometálica bifásica: conceptos moleculares para tecnologías limpias. *Química Nova*, 23(6), 825–831. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000600017>

Gaich, T., & Baran, P. S. (2010). Aiming for the Ideal Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry*, 75(14), 4657–4673. <https://doi.org/10.1021/jo1006812>

Haji, M. (2016). Multicomponent reactions: A simple and efficient route to heterocyclic phosphonates. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12, 1269–1301. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.121>

Kazemizadeh, A. R., & Ramazani, A. (2012). Synthetic applications of Passerini reaction. *Current Organic Chemistry*, 16(4), 418–450. <https://doi.org/10.2174/138527212799499868>

Koszelewski, D., Szymanski, W., Krysiak, J., & Ostaszewski, R. (2008). Solvent-Free Passerini Reactions. *Synthetic Communications*, 38(7), 1120–1127. <https://doi.org/10.1080/00397910701863608>

Pharande, S. G., Corrales Escobosa, A. R., & Gámez-Montaño, R. (2017). Endogenous water-triggered and ultrasound accelerated synthesis of 1,5-disubstituted tetrazoles via a solvent and catalyst-free Ugi-azide reaction. *Green Chemistry*, 19(5), 1259–1262. <https://doi.org/10.1039/C6GC03324E>

Pharande, S. G., Rentería-Gómez, M. A., & Gámez-Montaño, R. (2018). Isocyanide based multicomponent click reactions: a green and improved synthesis of 1-substituted 1H-1,2,3,4-tetrazoles. *New Journal of Chemistry*, 42(14), 11294–11298. <https://doi.org/10.1039/C8NJ02312C>

Rentería-Gómez, A., Islas-Jácome, A., Cruz-Jiménez, A. E., Manzano-Velázquez, J. C., Rojas-Lima, S., Jiménez-Halla, J. O. C., & Gámez-Montaño, R. (2016). Synthesis of 2-Tetrazolylmethyl-isoindolin-1-ones via a One-Pot Ugi-Azide/(N-Acylation/ exo-Diels-Alder)/Dehydration Process. *ACS Omega*, 1(5), 943–951. <https://doi.org/10.1021/acsomega.6b00281>

Unnamatla, M. V. B., Islas-Jácome, A., Quezada-Soto, A., Ramírez-López, S. C., Flores-Álamo, M., & Gámez-Montaño, R. (2016). Multicomponent One-Pot Synthesis of 3-Tetrazolyl and 3-Imidazo[1,2-a]pyridin Tetrazolo[1,5-a]quinolines. *The Journal of Organic Chemistry*, 81(21), 10576–10583. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b01576>

ANÁLISIS DE CAMPAÑA DE SENSIBILIZACIÓN AMBIENTAL Y UN PROGRAMA PILOTO DE SEPARACIÓN DE BASURA EN INSTITUCIONES DE NIVEL BÁSICO DE MATEHUALA S.L.P Y PROPUESTA DE IMPLEMENTACIÓN DEL MISMO COMO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE CULTURA VERDE EN LA COORDINACIÓN ACADÉMICA REGIÓN ALTIPLANO.

Marcela Monserrat Díaz Hernández¹ y Beatriz Virginia Tristán Monrroy²

RESUMEN

Se realizó una campaña llamada *separar es fácil* a través de un enfoque cuantitativo con un alcance descriptivo y mediante observación. La finalidad fue sensibilizar a estudiantes de nivel básico y técnico, sobre el impacto ambiental negativo que los desechos ocasionan. Se llevó a cabo un concurso de separación de basura, resultando ganadores los estudiantes de la secundaria Ponciano Arriaga. Este ejercicio mostró, que los alumnos de CECATI, quienes son personas mayores de 15 años, presentan un menor hábito en separar la basura. Por otra parte, interesados en conocer las estrategias que implementa un jardín de niños que ya tiene el hábito de separación, se invitó a los padres de familia a participar en una sesión de grupo. La dinámica se realizó exitosamente, por lo que la información que fue proporcionada servirá para implementarla en otras escuelas y en la COARA-UASLP.

Palabras clave: separación de basura, educación ambiental, campañas de concientización.

ABSTRACT

A campaign called "separating is easy" was carried out in which a quantitative approach with a descriptive scope and through observation. The purpose was to sensitize students of basic and technical level, about the negative environmental impact that the waste causes. A rubbish separation contest was held, with Ponciano Arriaga secondary school students resulting winners. This exercise showed that CECATI students, who are over 15 years old, have a lower habit of separating garbage. On the other hand, interested in knowing the strategies implemented by a kinder garden, school that already separate, parents were invited to participate in a focus group. The dynamic was successful, so the information that was provided will be used to implement it in other schools and in COARA-UASLP.

Palabras clave: separation of garbage, environmental education, awareness campaigns.

INTRODUCCIÓN

Actualmente los problemas ambientales ocasionados por el cúmulo de la basura han ido en aumento, debido a factores, como el incremento desmedido de desechos y la falta de conocimiento sobre los beneficios que aporta separarla. El efecto negativo que ocasiona la basura mal aprovechada, impacta en distintos sectores, como la contaminación de agua, enfermedades y daño a especies animales, por mencionar algunos. Ante esta problemática se han tomado acciones para disminuir y tratar de contrarrestar estos efectos, mediante la acción de separar la basura para generar energía eléctrica o reciclarla. Esta última acción, consiste en coleccionar desechos de plástico, cartón, aluminio, papel, entre otros, para transformarlos en materiales nuevos. Por lo que están catalogados como desechos con valor, en el que se ejerce la compra y venta de los mismos. El aprovechamiento adecuado de la basura, traerá beneficios económicos y al medio ambiental a un Municipio, Estado y País.

¹ Coordinación Académica Región Altiplano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera Cedral Km 5+600, Ejido San José de las Trojes, C.P. 78700, Matehuala, S.L.P., México. marce.diazhd@hotmail.com

² Coordinación Académica Región Altiplano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera Cedral Km 5+600, Ejido San José de las Trojes, C.P. 78700, Matehuala, S.L.P., México. beatriz.tristan@uaslp.mx

MARCO TEÓRICO

A nivel internacional, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) ha estado marcando a los países una pauta que los alinea a contribuir con el cuidado del medio ambiente por medio de la agenda 2030 que busca establecer el desarrollo sustentable, orillando a los gobiernos a llevar acabo la implementación de políticas y programas que son sujetos de observaciones para quienes no les den seguimiento. Sin embargo, en una sociedad capitalista como es la mexicana, el comportamiento de consumo se basa en la adquisición de bienes y servicios que se adquieren incluso si no se utilizan, sin pensar en el impacto ambiental que tienen los desechos derivados de éstos o en el agotamiento de recursos debido a la llamada sociedad del bienestar. Por lo que el impacto negativo al medio ambiente ha ido en declive.

Por este motivo, se deben tomar acciones para darle solución al problema Nacional. Algunos ambientalistas proponen que las soluciones deben planearse anteponiendo el Desarrollo Sustentable (Reyes Curcio, Pellegrini y Reyes Gil (2015). Establecen que el desarrollo humano, el cuidado de la naturaleza y el crecimiento económico no están contrapuestos al desarrollo sustentable pues se da cuando se satisfacen las necesidades de la población en el presente.

Debido al alcance de la problemática desde hace algunas décadas, Berenguer, Trista y Deas (2006) en su artículo *El reciclaje, la industria del futuro*, comparten Reutilizar, Reciclar, Reincorporarse (3R) que se deben tomar en cuenta al momento de hablar de cuidado del medio ambiente. Arias, Rivas y Vega (2014) proponen un diseño para crear un centro integral de reciclaje y que a su vez tales desechos puedan usarse como una fuente alterna de energía. Para esto, pasan por un sistema integral de residuos donde existe un proceso de reciclaje, luego un acopio inicial donde los residuos se llevan a tanques de acopio y compresores, más tarde, esta basura se separa y se hace una limpieza electrostática y electromagnética para evitar que tenga residuos de metal para después, separarla por tipo de material y embalarla.

En esta investigación se plantea la etapa de la concientización, como una parte importante para el desarrollo de un clúster económico, es decir, un conjunto de empresas que pueden ser proveedoras y clientes de este tipo servicio, integrando así, los entornos político, económico, social y medioambiental donde exista un acopio de residuos provenientes de órganos públicos y privados que sean transformados en materia prima, energía o biogás por mencionar algunos productos y posteriormente venderlos a instituciones que los necesiten, esto a partir de la separación de dichos materiales.

En relación a esto, la Organización Mundial de Propiedad Intelectual (OMPI) tiene un manual llamado Guía de la OMPI sobre campañas de sensibilización de la propiedad intelectual donde menciona los pasos a seguir para hacer una campaña de divulgación, siendo el primero hacer una estrategia de campaña, seguido por segmentar el público a quien se dirigirá la campaña, importancia de las encuestas y finalmente trazar un plan de publicidad. Además de esto, sugieren cómo utilizar los diversos canales de comunicación, relación con los medios, porta voz de la campaña y actos y eventos. Aunque la OMPI es muy diferente a la cuestión ambiental, la elaboración de una campaña debe contener los mismos aspectos, objetivos, estrategias, instrumento y medios de comunicación.

El conjunto de los elementos anteriores puede arrojar resultados interesantes para lograr así un conjunto de instituciones sustentables donde no sólo participen ellas sino también los miembros de la comunidad donde a través de campañas y programas ambientales puedan obtenerse residuos e integrarlas a una de las 3 R posteriormente. Un ejemplo de ello es la Universidad Autónoma de Nuevo León la cual implementó un programa de manejo y gestión de residuos sólidos urbanos con características reciclables, esto durante cuatro años logrando cifras en toneladas de desechos separados, esto con el fin de convertirse en una escuela socialmente responsable y fomentar la educación ambiental en los alumnos.

Actualmente, las buenas prácticas de desempeño ambiental forman parte ineludible de la mayor parte de los estándares y certificados para calificar el desempeño de las universidades en el mundo. Por consiguiente, si la visión de la UANL es que: <<La universidad Autónoma de Nuevo León es reconocida en el año 2020 como una institución socialmente responsable y de clase mundial >>, es indispensable que se formulen, establezcan y desarrollen programas de gestión ambiental... (UANL, 2017).

METODOLOGÍA

Tomando en cuenta la literatura de campañas de difusión, se realizó una campaña de concientización ambiental sobre los efectos que tiene el revolver la basura y no depositarla en su lugar en el medio ambiente, en todas las aulas de tres instituciones de nivel básico y una escuela técnica: Jardín de niños María de la Luz Castillo, primaria María del Carmen Castillo Morales, secundaria Ponciano Arriaga y Centro de Capacitación para el Trabajo Industrial 131, esto mediante apoyo visual, dinámicas adaptadas a las edades de los participantes como se puede observar en la figura 1, colocación de diferentes contenedores para la basura en puntos estratégicos de las escuelas, amarillo para el aluminio, azul para el plástico, gris para cartón y papel, verde para desechos orgánicos y negro para lo que no se puede reciclar, esto transformándolo en concurso entre dichas escuelas para motivar a los alumnos a integrarse en el proyecto.

Además de esto, se aplicaron 565 encuestas a los alumnos para conocer el conocimiento sobre educación ambiental, su contexto, saber si actualmente separan la basura, su disposición para hacerlo y motivaciones y finalmente observación en dichas escuelas, esto con el fin de implementar un programa de separación de basura para dos objetivos: Primero, con la basura inorgánica como plástico, cartón y aluminio generar un modelo de negocio donde de acuerdo a la cantidad recolectada y el precio de dichos materiales, se dé un incentivo a los participantes y así hacer conciencia del valor económico que tiene la basura y segundo, recolectar el material orgánico para generar fuentes alternativas de energía con el apoyo de una docente de la carrera Ingeniería en Energías Renovables de la COARA. Las instituciones fueron elegidas por conveniencia por cercanía al centro de acopio de desechos.

Durante el trabajo de campo surgió una variable no contemplada pues en el jardín de niños ya existía un programa de reciclaje y separación de basura y debido a que ya tenían consciencia de la problemática se optó por hacer un focus group con padres de familia como se puede observar en la figura 2 y 3, para conocer cómo empezaron el programa, qué estrategias utilizan y recomendaciones para implementarlo en otras instituciones.



Figura 1. Campaña de concientización ambiental en Jardín de niños María de la Luz Castillo



Figura 2. Focus Group con padres de familia del Kinder María de la Luz Castillo



Figura 3. Observación en escuela primaria María del Carmen

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como parte de la campaña, se llevaron a cabo encuestas; así como la colocación de contenedores en las cuatro instituciones, se realizó una revisión del tipo y cantidad de basura separada. Los resultados mostraron que el 97% de los encuestados consideran que es importante separar la basura. Sin embargo, sólo el 46% lleva a cabo esta acción. De esa población el 22% de los alumnos separa de manera frecuente las botellas de plástico y tapitas, mientras que un 16% separa el cartón y el papel. Sólo un 8% aparta latas y residuos orgánicos; así como, otros.

Los resultados obtenidos de la población que no separaba la basura, se obtuvo que, un 38% no lo ejercía debido a una falta de concientización, el 33.8% dejó de separarla por desmotivación al darse cuenta que los recolectores de basura la mezclan nuevamente al depositarla en los camiones. El resto de la población argumenta desconocer cómo se realiza la separación y otros piensan que es difícil.

8. ¿Qué basura separas? Puedes seleccionar más de una

273 respuestas

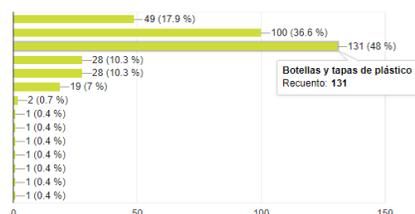


Imagen 1.4 Material que los participantes separan

Fuente: Elaboración Propia

9. ¿Por qué no separas basura?

331 respuestas

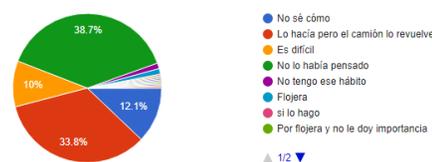


Imagen 1.5 Razones por las que las personas no separan la basura.

Fuente: Elaboración propia.

El 97% de los participantes se encontraban entre los 7-15 años de edad y en cuanto al conocimiento de educación ambiental consideran en un 70% que el principal problema que causa la basura es contaminación del agua y aire, 66% considera que reciclar significa reutilizar materiales y el 43% darle un proceso nuevo a los materiales y a su vez consideran que educación ambiental es equivalente a reciclar. Por otra parte, el 84% haría la separación para ayudar al ambiente y sólo un 7% por obtener algún beneficio. Como datos extras, el 62% de los encuestados no habían estado en una campaña de sensibilización, la mayoría de las escuelas no tienen botes para los diversos tipos de basura, ver basura tirada en las calles les causa participación, pero al saber que hay varios botes para separar les genera un sentimiento de colaboración.

Por otra parte, mediante observación se notaron conductas relacionadas al compromiso pues los alumnos sobre todo de primaria, con apoyo de sus maestros sacaron los botes de los salones para separar la basura en cada contenedor, además, los alumnos más pequeños enseñaban a sus compañeros a separar y además se amonestaban entre ellos si alguien no lo hacía. En la secundaria y en la primaria los botes fueron novedosos y causaban curiosidad, pero los estudiantes, en su mayoría, colocaban los desechos en el lugar del correspondiente, separaban además popotes, envases tetra pack, envolturas, pero lo que se separaba correctamente siempre eran botellas y latas. Por otra parte, en el CECATI 131 no se obtuvo la respuesta deseada, pues a los alumnos no les importaba el lugar donde depositaban la basura pero el que lo hacía y tuvo impacto en el resultado por escuela fue el conserje de esta institución pues él separaba las botellas y latas y en el jardín de niños no hubo respuesta pues sólo los padres de familia son los que recolectan dichos materiales y en la escuela como tal no se realiza, ya que los niños no generan cantidades considerables de basura por salón.

Tabla 1. Desechos totales en kilogramos recolectados en las escuelas del 18 junio 2018 – 9 julio 2018

Material	Jardín de niños	Primaria	Secundaria	CECATI 131
Plástico	477	6.2	12.7	11.9
Latas	3.1	0	1.2	.4
Papel / Cartón	46	6.2	3.8	2.7
Orgánico	0	4.4	1.2	0
Total	526.1 Kg	16.8 Kg	18.9 Kg	15.0 Kg

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla anterior se muestra la cantidad de desechos separada por los estudiantes de las instituciones, los materiales incluidos en esta actividad fueron plástico, latas, papel y residuos orgánicos.

Como se mencionaba anteriormente, el jardín de niños ya cuenta con un programa de separación, pero únicamente de PET y papel/cartón, sin embargo, separan 526.1 kg de basura aproximadamente a comparación de las demás instituciones pues apenas en esta campaña se empezó a implementar la cultura de la separación. La secundaria obtuvo el primer en el concurso mencionado en la metodología seguido por la primaria y finalmente. Cada escuela recolectó cantidades diferentes de los materiales pues la forma de consumo es distinta, en el caso de la primaria

reúnen más tetrapack y aluminio que en esta campaña no fueron incluidos como reciclables, en la secundaria utilizan más unicef y botellas de plástico y en el CECATI 131 tienden a depositar en los contenedores botellas incluyendo envases refrescos, jugos e incluso de detergentes y limpiadores llevados desde sus casas.

En cuanto al focus group, las madres de familia mencionaban que en su mayoría comenzaron a separar basura debido a la iniciativa que tienen en el jardín de niños pues cada salón junta cierta cantidad y con el dinero obtenido comprar material para las aulas. Las motiva ayudar al ambiente, obtener un beneficio para la escuela, pero sobre todo el ejemplo que les dan a sus hijos. Además, invitan a sus vecinos, familiares y amigos a colaborar y aunque algunas han sido criticadas y juzgadas por realizar esta actividad, dicen no importarles pues consideran que es una buena acción. Finalmente consideran que es necesaria la constancia de separar, pero también de difundir y educar a las nuevas generaciones además del reforzamiento en la escuela con el hábito y en el hogar con el ejemplo.

A partir del éxito de este programa en la primaria y secundaria se sugiere hacer campañas constantes de educación ambiental iniciando en la institución donde surgió esta investigación tomando en cuenta lo siguiente:

1. **Conocer el segmento** (¿A quién va dirigida la campaña? ¿Qué elementos y material se necesitan para hacer llegar el mensaje correctamente?)
2. **Educar a las personas** (Sensibilizar mediante charlas, apoyo audiovisual y dinámicas enseñando cómo se separa la basura para después colocar contenedores en la escuela y que lo hagan correctamente). Es importante señalar que en una primera etapa se recomienda colocar solo contenedores de tapas de plástico, botellas de plástico, latas y otros pues es lo que mejor identifican los participantes, posteriormente se pueden colocar el resto de los botes progresivamente.
3. **Incluir a los participantes:** Esto con el fin de integrar a las personas para que se haga ver que esa realidad es cercana y contaminación por basura no los exenta, por tanto, deben tomar un papel en esta situación.

Esto mediante un programa institucional permanente en la COARA en primera instancia no sólo para la separación de basura sino para la creación de proyectos sustentables y multidisciplinarios con impacto ambiental y social, además a largo plazo en escuelas del municipio fomentando constantemente la educación ambiental.



*Imagen 1.6 Propuesta de programa sustentable en la COARA y escuelas de Matehuala, S.L.P.
Fuente: Elaboración Propia*

CONCLUSIONES

Los proyectos basados en separación de basura como la generación de biocombustibles y biogás son factibles ya que con una adecuada capacitación se puede lograr en las instituciones de nivel básico.

- La disposición de las personas para ser parte de un programa de separación de basura es alta sobre todo en niños de primaria y secundaria.
- El aprendizaje de separación de basura se da de forma gradual pues los niños separan cosas simples ya que, si es complejo como cartón sin grasa, servilletas que no estén manchadas y comida orgánica envuelta en papel o aluminio no lo hacen porque implica más tiempo.
- La motivación de los niños, más el reforzamiento por parte de una autoridad como maestro o padre de familia genera compromiso con la causa.
- La señalética de los contenedores debe ser muy específica porque los participantes atienden muy bien las instrucciones.

- La sensibilización ambiental es indispensable para implementar algún programa verde pues causa preocupación que posteriormente se transforma en colaboración.
- Los incentivos son importantes para la participación de la población.

BIBLIOGRAFÍA

ARIAS, L; RIVAS E & VEGA C. (2014). Propuesta de diseño para un centro integral de reciclaje con inclusión de fuentes alternativas de energía. Rev. Esc.Adm.Neg. No. 77, x, 136-151

BERENGUER HÚNGARO, M.; TRISTA MONCADA, J.J & DEAS, Y.D; El reciclaje, la industria del futuro. Ciencia en su PC (en línea) 2006, Julio-Septiembre); Fecha de consulta: 20 Junio 2018) Disponible en: <http://redalyc.org/articulo.oa?id=181322792005> ISSN 1027-288

REYES CURCIO, A.; PELLEGRINI BLANCO, N.; REYES G. & ROSA E. (2015). El reciclaje como alternativa de manejo de los residuos sólidos en el sector minas de Baruta, Estado Miranda, Venezuela. Revista de Investigación, 39, 157-170.

UANL. (2017). Manejo y gestión de residuos sólidos urbanos con características reciclables. 10 de Julio 2018, de Universidad Autónoma de Nuevo León Sitio web: <http://sds.uanl.mx/manejo-y-gestion-de-residuos-2/>

PAPEL DE LA PROLACINA Y EL SISTEMA OLFATORIO EN EL DESARROLLO DE LAS CONDUCTAS REPRODUCTIVAS.

Marco Antonio Ávila Contreras ¹y Rebeca Corona García Cabral.²

RESUMEN.

La prolactina (PRL) u hormona luteotrópica (LTH) es secretada por la hipófisis anterior. Esta se relaciona entre otras muchas funciones con la conducta sexual (Anne Klibansk y colaboradores, 2010). La alteración de los niveles de esta hormona provocara cambios directos en las actividades reproductivas, así como problemas de infertilidad y degeneración física, generalmente provocados por la aparición de un tumor en la glándula pituitaria llamado prolactinoma (Fideleff H y colaboradores, 1991). En el siguiente documento se registran las actividades realizadas durante la estancia en el Instituto de Neurobiología de la UNAM, con el propósito de evaluar los efectos de la hiperprolactinemia adulta en las conductas reproductivas de ratones hembra.

Palabras clave: prolactina, hiperprolactinemia, conducta sexual, motivación sexual, discriminación olfatoria

ABSTRACT.

Prolactin (PRL) or luteotropic hormone (LTH) is secreted by the anterior pituitary gland. This is related, among many other functions, to sexual behavior. The alteration of the levels of this hormone will cause direct changes in the reproductive activities, as well as problems of infertility and physical degeneration, generally caused by the appearance of a tumor in the pituitary gland called prolactinoma (Anne Klibansk et al., 2010). The following document records the activities carried out during the stay at the Institute of Neurobiology of the UNAM, with the purpose of evaluating the effects of adult hyperprolactinemia on the reproductive behavior of female mice.

Keywords: prolactin, hyperprolactinemia, sexual behavior, sexual motivation, olfactory discrimination

INTRODUCCIÓN.

La actividad del sistema endocrino es esencial en el desarrollo de las características sexuales primarias y secundarias, así como la regulación de otras actividades vitales del organismo. Entre la gran cantidad de hormonas producidas por este sistema, la prolactina resulta de interés clínico por las enfermedades reproductivas ocasionadas por su alteración. Esta es una hormona de origen peptídico secretada por las células lactotropas de la hipófisis anterior cuya función esencial es estimular el desarrollo del tejido glandular mamario y su posterior hiperplasia durante el embarazo. Es la hormona principal en la lactogénesis y es esencial en el desarrollo de la conducta sexuales y reproductivas (Luz Irene Pascual-Mathew y colaboradores, 2015). La hiperprolactinemia adulta, esta consiste en el aumento anormal y desmedido de los niveles de prolactina en sangre. Los niveles normales de esta son:

- Hombres: 2-18 ng/mL.
- Mujeres que no estén embarazadas: 2-25 ng/mL.

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Ing. Bioquímica, Carretera Irapuato-Silao, km 12.5, Colonia El Copal, C.P: 36821 Irapuato, Gto., Irapuato, Gto. antonio12004@hotmail.com

² Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Blvd. Juriquilla #3001, Juriquilla, C.P: 76230, Juriquilla, Qro. coronar@comunidad.unam.mx

- Mujeres embarazadas: 10-209 ng/mL.

Cuando la hiperprolactinemia está presente, diferentes actividades sistémicas, como el ciclo menstrual, causando usualmente amenorreas, desordenes referentes a la producción de leche materna cuando los pacientes no se encuentran lactando, el desarrollo de la pubertad se ve afectado (Dr. Enrique J. y colaboradores, 1997), por estas alteraciones su diagnóstico temprano es ineficaz ya que estos síntomas también se presentan en otros padecimientos del tipo endocrino (Vance ML, Thorner, 1989). Debido al papel tan importante que tiene la prolactina en la regulación de la reproducción, y dados los antecedentes mencionados previamente que sugieren la relevancia del sistema olfatorio en el control de la reproducción, en este proyecto evaluaremos una serie de comportamientos reproductivos dependientes de olfato para comenzar a dilucidar si existe una relación entre niveles altos de la hormona PRL y cambios en la función olfatoria. Entre las diferentes pruebas realizadas se encuentran; pruebas de motivación sexual incentiva, pruebas de conducta sexual, pruebas de preferencia sexual olfatoria y pruebas de discriminación olfatoria. Estas nos ayudarán a determinar si existe alguna alteración en la capacidad olfatoria de los individuos que presentan hiperprolactinemia (G. Coronas-Sámamo y colaboradores, 2014).

OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto de la hiperprolactinemia en el desarrollo de problemas olfativos en las hembras a través de la evaluación de conductas reproductivas dependientes del olfato.

METODOS Y MATERIALES.

Animales; Para este experimento se utilizaron 40 hembras adultas intactas de 7 semanas de la cepa CD1. Estos ratones se obtuvieron del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, donde fueron alojados durante el transcurso del experimento. Los ratones se mantuvieron en un cuarto con temperatura y humedad controlada, con el ciclo de luz/obscuridad invertido (9-21h periodo de obscuridad, 21h-9h periodo de luz) lo cual nos permitió evaluar su comportamiento durante su fase de actividad que es la obscuridad, y con agua y alimento *ad libitum*. Los ratones se mantuvieron en cajas de acrílico (5 ratones por caja) y con un filtro para evitar recepción de olores externos.

Las hembras se dividieron aleatoriamente en dos grupos de experimentación (n=20 cada grupo), los cuales realizaron diferentes pruebas conductuales. A su vez, cada grupo se subdividió en 2 grupos para su tratamiento: 10 ratones recibieron un tratamiento crónico de prolactina (5mg/kg, SIGMA Aldrich, disuelto en NaCl 0.9%) para generar una hiperprolactinemia y 10 ratones recibieron durante el mismo periodo inyecciones del vehículo en el cual se disolvió la prolactina, NaCl 0.9%, este grupo se considera el grupo control del experimento. El tratamiento crónico se dio por 10 días, con inyecciones diarias, una por día a la misma hora por la mañana (11h). Debido a que en este experimento se evalúa el efecto de una hiperprolactinemia adulta, previo al tratamiento, se determinó, mediante lavados vaginales y determinación citológica, el día del ciclo estral en el que se encontraban, de tal forma que únicamente las hembras que presentaron durante 10 días un ciclo constante y claro se incluyeron dentro del experimento, ya que esto nos sugiere que se encuentran ovulando de manera normal. de ratón blanco sexualmente receptivas, separadas en 2 grupos descritos a continuación, divididas en cajas con 5 ratones una rejilla y un filtro para evitar recepción de olores externos.

Esta determinación citológica del ciclo estral se realizó durante todo el experimento para poder determinar el día en que los ratones se encontraran en periodo de receptividad sexual, que es cuando las hembras ovulan (fase de proestro/estro), para que pudieran entonces realizar las pruebas de conducta.

Ciclo estral: La figura 1 muestra el ciclo estral (A-D) de un ratón hembra joven (8 meses de edad). Se observa la progresión de las diferentes fases: en el primer día (figura 1, panel A), que corresponde al estro, se observan abundantes células epiteliales queratinizadas y algunas células nucleadas. En el

segundo día (figura 1, panel B), que corresponde al metaestro, se manifiesta el deterioro del epitelio vaginal con la presencia de leucocitos y algunas células epiteliales queratinizadas. Finalmente, al tercer y cuarto día (figura 1, paneles C-D), que corresponden al diestro, se observan abundantes leucocitos y algunas células queratinizadas (María Teresa Sepúlveda y colaboradores, 2012).

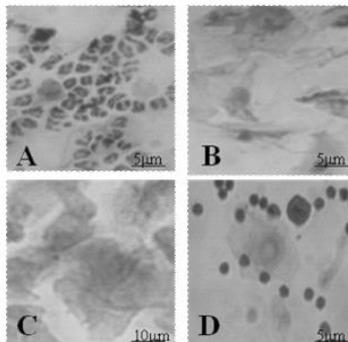


Figura 1 Ciclo estral de un ratón hembra joven (8 m de edad). A) día 1: estrus, B) día 2: metaestro, C) día 3 y D) día 4: diestro.

Para las pruebas conductuales se utilizaron también 5 ratones macho adultos (8 semanas) de la cepa CD1 que fueron alojados en el mismo cuarto que las hembras y bajo las mismas condiciones. Estos machos se entrenaron sexualmente para volverlos sexualmente expertos y así poder ser utilizados como estímulos para las diversas pruebas. Así mismo, se utilizaron 2 hembras con experiencia reproductiva (experiencia sexual + una preñez y periodo materno).

Los grupos experimentales fueron los siguientes:

Grupo 1

- Prueba de Motivación Sexual Incentiva
- Prueba de Discriminación Olfatoria o Prueba de Habitación/Deshabitación

Grupo 2

- Prueba de Conducta Sexual
- Prueba de Preferencia Sexual Olfatoria
- Prueba de Discriminación Olfatoria o Prueba de Habitación/Deshabitación

Antes de realizar cada prueba los ratones fueron habituados a las condiciones y al lugar donde se desarrollaría el experimento, por un periodo de 20 minutos en intervalos de 10 minutos para evitar cualquier variación en los resultados finales provocados por el ruido ambiental. Las pruebas se realizaron en una caja de acrílico transparente de $27 \times 16 \times 12 \text{ cm}^3$

Prueba de Motivación Sexual Incentiva: el objetivo de esta prueba es determinar si los ratones hembra muestran una clara preferencia por uno de los dos estímulos incentivos (ratón estímulo): un macho sexualmente experto o una hembra con experiencia reproductiva, así como evaluar si el tratamiento con PRL modifica esta preferencia. Se evaluó dividiendo en dos zonas cada una con un macho diferente para así poder determinar la preferencia dependiendo del tiempo que la hembra pasaba en cada zona. La prueba tiene una duración de 10 minutos, esta prueba se realizó antes y después de que los sujetos fueran sometidos al tratamiento con prolactina para poder hacer la comparación. Esta prueba se dividió en dos partes una antes del tratamiento con prolactina (Tx) y una posterior a este.

Prueba de Preferencia Sexual Olfatoria: esta prueba tiene como objetivo evaluar el interés de las hembras sobre los olores de machos sexualmente activos respecto al de hembras y ningún olor de interés sexual colocando aserrín proveniente de ratones macho sexualmente activo, de hembra sexualmente receptivas y aserrín limpio en diferentes zonas.

Prueba de Discriminación Olfatoria o Prueba de Habitación/Deshabitación: en esta prueba se expone al ratón a diferentes olores, presentados de manera ordenada y repetida (2 ó 3 veces), con

duración de 2 minutos, seguido de un periodo de descanso de 1 minuto. Esta organización permite al ratón olfatear una mayor cantidad de tiempo el olor la primera vez que lo huele (deshabitación), y disminuir el tiempo de olfateo las siguientes veces (habitación), de esta forma se pretende evaluar la capacidad del ratón re reconocer la presencia de diferentes olores de interés. Se realizaron dos sets de pruebas: 1) prueba de olores sociales vs. no sociales; en este set se utilizó un olor general, el acetato de amilo (esencia de plátano) vs un olor socialmente relevante, orina de macho sexualmente experto; y 2) olor social vs olor social; para esta prueba se utilizó también el olor de acetato de amilo vs olor a menta. Estos olores fueron seleccionados previamente en pruebas de discriminación al ser discriminados sin problema por los ratones. Ambos sets de pruebas se hicieron por duplicado modificando el orden de presentación de los olores. Todos los olores se prepararon en solución al 10% con agua desionizada y se colocaron 10 µl de este en un papel filtro que fue colocado en la rejilla, al alcance de los ratones, de la tapa de la caja de observación.

Conducta sexual: esta prueba tiene como principal objetivo evaluar el interés de las hembras de ratón sobre los machos, observando su disponibilidad sexual, si esta permitía o no intromisión del macho y el grado de lordosis que esta presentaba.

Recolección de datos: los datos generados por las pruebas antes mencionadas fueron registrados, recolectados y procesados con herramientas digitales (Excel) para su futuro análisis estadístico con un programa especializado.

Todas las pruebas se realizaron a las hembras sexualmente receptivas cuando estas se encontraban en la fase de Proestro/Estro del ciclo estral. El tiempo fue monitoreado por medio de cronómetros manuales Steren y las pruebas fueron grabadas con una videocámara Cannon compact con el fin de guardar registro Las pruebas fueron realizadas por duplicado para asegurar la fiabilidad de los datos, también se mantuvieron ratones sin tratamiento bajo las mismas condiciones como un control para evitar cualquier problema en la estadística.

RESULTADOS.

A continuación, se presentan las tablas de los resultados obtenidos en las diferentes pruebas conductuales antes descritas.

En la tabla.1. Se presentan los resultados en crudo obtenidos en las pruebas de motivación sexual incentiva antes del tratamiento con prolactina (Tx) con la finalidad de evaluar la preferencia de la hembra hacia un estímulo (selección de macho). M representa al macho, H la hembra, Lat. Latencia, Frec. Frecuencia.

Tabla .1. Motivación sexual previo Tx (M vs M)											
Ratón H	Zona 1					Zona 2					Tiempo neutro
	M	Lat	Tiempo	Frec	Olfateo	M	Lat	Tiempo	Frec	Olfateo	
12	6	4	161	25	166	4	13	137	28	146	302
16	2	11	117	22	104	6	4	132	26	136	351
17	2	19	147	23	138	5	3	142	19	142	311
19	5	3	168	28	167	2	14	108	21	97	324
14	6	16	84	23	145	5	7	127	21	128	389
13	2	4	127	23	125	5	33	187	24	187	286
11	2	4	119	19	103	3	8	176	28	198	305
18	4	15	166	22	161	2	5	107	19	103	327
20	2	10	118	20	116	4	2	120	22	127	362
9	2	2	118	28	116	4	16	141	30	131	341
10	2	9	126	27	119	6	28	152	24	124	322
6	5	36	152	29	138	6	6	109	19	145	339
8	6	2	142	27	148	5	20	130	23	121	328
7	5	2	110	22	165	4	18	149	18	151	341
3	2	13	105	26	150	4	8	101	18	108	394
4	4	13	148	17	156	2	3	122	21	125	330
1	6	12	130	28	175	2	5	94	23	108	376
2	2	13	133	27	126	6	4	153	31	205	314

La tabla. 2. Muestra los resultados obtenidos de la prueba de motivación sexual después del tratamiento con prolactina con la finalidad de determinar el macho preferido por cada hembra se maneja la misma simbología que la tabla 1.

Tabla. 2. Prueba post Tx (M vs M)							
Ratón H	Zona 1			Zona 2			Tiempo neutro
	M	Tiempo	Olfateo	M	Tiempo	Olfateo	
12	6	130	100	4	213	181	257
16	2	179	59	6	148	61	273
17	2	215	79	5	186	79	199
19	5	291	226	2	129	51	180
14	6	209	80	5	142	45	249
13	2	304	125	5	153	187	143
11	2	230	150	3	151	78	219
18	4	212	102	2	252	138	136
20	2	118	112	4	144	120	338
9	2	176	123	4	261	116	163
10	2	136	73	6	169	70	295
6	5	110	51	6	285	113	205
8	6	267	154	5	218	120	115
7	5	129	106	4	122	73	349
3	2	233	110	4	232	157	135
4	4	299	168	2	236	156	65
1	6	156	120	2	205	100	239
2	2	174	61	6	225	84	201

En la tabla. 3 se muestra la comparación entre el macho con el que cada hembra decidió pasar más tiempo contra otra hembra sexualmente receptiva, en la tabla.4. se muestra una repetición del ejercicio, pero cambiando la hembra para confirmar la preferencia entre hembra y macho. Se maneja la misma simbología que en la tabla 1.

Tabla.3. Prueba post Tx 1 (M vs H)							
Ratón H	Zona 1			Zona 2			Tiempo neutro
	M	Tiempo	Olfateo	H	Tiempo	Olfateo	
12	4	181	79	3	214	59	205
16	6	170	38	3	235	158	195
17	5	114	19	3	280	113	206
19	5	153	80	4	358	160	89
14	6	144	70	4	299	158	157
13	2	143	73	3	252	92	205
11	2	153	57	4	242	113	205
18	2	131	94	4	223	94	246
20	2	185	102	4	265	145	150
9	2	95	43	4	217	89	288
10	2	92	35	4	88	40	420
6	6	122	104	4	238	149	240
8	6	182	68	3	300	106	118
7	4	169	75	3	198	91	233
3	2	115	75	3	334	235	151
4	4	124	61	4	391	183	85
1	6	90	93	3	231	131	279
2	6	183	66	3	241	114	176

Tabla. 4. Prueba post Tx 2 (M vs H)							
Ratón H	Zona 1			Zona 2			Tiempo neutro
	M	Tiempo	Olfateo	H	Tiempo	Olfateo	
12	4	201	82	4	219	58	180
16	6	142	46	4	364	181	94
17	5	186	41	4	197	54	217
19	5	140	59	3	239	80	221
15	5	104	60	3	391	194	105
14	6	80	10	3	318	130	202
13	2	147	53	4	302	137	151
11	2	109	40	3	333	181	158
18	2	82	24	3	382	82	136
20	2	110	70	3	198	110	292
9	2	243	110	3	213	81	144
10	2	126	45	3	254	113	220
6	6	152	93	3	315	188	133
8	6	122	61	4	233	105	245
7	4	129	48	4	276	116	195
3	2	142	106	4	250	233	208
4	4	103	54	3	340	188	157
1	6	205	100	4	286	132	109
2	6	109	60	4	342	198	149
5	6	73	25	4	384	78	143

CONCLUSIÓN.

Las pruebas realizadas en ratones hembra presentadas en este documento representan el inicio de la evaluación competente de los cambios conductuales durante la hiperprolactinemia.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Clínica DAM. (2018). Prolactina. 11/07/2018, de Clínica DAM Sitio web: <https://www.clinicadam.com/salud/5/003718.html>
2. G Coronas-Sámano, W. Portillo, V. Beltrán Campos, G.I. Medina-Aguirre, R.G. Paredes, S. Diaz-Cintra. (2014). Deficits in odor-guided behaviors in the transgenic 3xTg-AD female mouse model of Alzheimer's disease. ELSEVIER, 1572, 18-25. 29/07/2018, De Sience Direct Base de datos.
3. Anne Klibanski, MD Janet A. Schlechte, MD. (2010). Hiperprolactinemia. 17/08/2018, de Endocrine society Sitio web: <https://www.hormone.org/audiencias/pacientes-y-cuidadores/preguntas-y-respuestas/2010/hiperprolactinemia>
4. Luz Irene Pascual-Mathew, Sara Rodríguez Romero, Pablo Becerra Lara, Jorge Manzo, María Elena Hernández. (Mayo- Octubre 2015). Effect of the induction of moderate hyperprolactinemia on sexual behavior in wistar male rats. Journal of Behavior, Health & Social Issues, 7, 9-17. 17/08/2018, De SienceDirect Base de datos.
5. Vance ML, Thorner MO. Prolactin: hyperprolactinemic syndromes and management. En: Degroot LY, ed. Endocrinology. Philadelphia: W.B. Saunders, 1989:408-18.
6. Dr. Enrique J. Perdomo Estrada. (1997). Hiperprolactinemia en la mujer: Causas, cuadro clínico y diagnóstico. Revista Cubana Endocrinol, 9, 47-52.
7. Fideleff H, Boquete HR, Orlandi AM, Wainstein L, Holland ME. Evolución de prolactinomas en adolescentes. Medicina (Buenos Aires) 1991;51:121-6.
8. María Teresa Sepúlveda Angulo, Myrna Sabanero López, Eduardo Durán Castro, Lérica Liss Flores Villavicencio, Joel Ramírez Emiliano, Martha Silvia Solís Ortíz. (febrero- marzo 2012). Ciclo estral del ratón hembra intacto y ovariectomizado. Acta Univercitaria , 22, 5-8.

ANÁLISIS DE CELDAS FOTOVOLTAICAS IMPLEMENTADAS EN GENERACIÓN DISTRIBUIDA

Marcos Almanza Chavez¹ y M.I. Fernando Jurado Pérez².

RESUMEN

En México actualmente el consumo de energía eléctrica no renovable es cada vez más elevado debido a los energéticos comunes que se utilizan para la generación de energía eléctrica, es por ello por lo que se han logrado innovar nuevas tecnologías para mitigar el impacto al medio ambiente, Entre ellas se ubica el desarrollo de las celdas fotovoltaicas (FV), las cuales hacen uso de los rayos del sol para generar energía eléctrica.

ABSTRACT

In Mexico currently, the consumption of non-renewable electric energy is increasingly high due to the common energy used for the generation of electric power, which is why they have been able to innovate new technologies to mitigate the impact on the environment, among them is the development of photovoltaic (PV) cells, which make use of the sun's rays to generate electrical energy.

Palabras Clave: FV, Policristalina, monocristalina y amorfa.

INTRODUCCIÓN

México está ubicado entre los mejores países con mayor eficiencia de radiación solar. Ciertamente esta tecnología no ha sido totalmente aprovechada debido a la falta de apoyos a la investigación además la falta de información que existe para los pocos consumidores.

La implementación de esta tecnología aún carece de eficiencia para absorber totalmente los rayos y radiación emitida por el sol, lo cual es perjudicial para un mejor aprovechamiento de esta fuente de energía ilimitada, de esta manera a partir de esta investigación se analiza y se estudia el tipo de celda fotovoltaica de tal manera poder determinar su máxima eficiencia aplicable en generación distribuida, así como definir mediante un análisis de radiación en la República mexicana las zonas y poder tener una mejor ubicación de esta tecnología obteniendo así un mejor aprovechamiento de sol y aplicación In Situ.

MARCO TEORICO

A continuación, se presentan de manera general algunos de los tipos de celdas fotovoltaicas en las cuales a partir de su eficiencia fotovoltaica la cual se basa en la utilización de materiales semiconductores o conductores.

El principal material utilizado en las celdas fotovoltaicas es el silicio en sus diferentes formas que son:

- silicio mono cristalino
- silicio policristalino
- silicio amorfo

De estos tipos de FV su principal composición es el material de silicio ya que es el segundo elemento más abundante en la tierra y al mezclarse con otros materiales semiconductores y/o conductores se obtiene propiedades eléctricas únicas con el contacto de la luz solar. El silicio mono cristalino es un solo cristal de muy alta pureza consiguiendo una eficiencia del 19% en un sistema FV. Cabe mencionar que este tipo sistemas tienen mayor eficiencia de producción en el mercado.

¹ Instituto Tecnológico Superior De Irapuato, Ingeniería Electromecánica, Celaya #521, Plan Guanajuato, C.P:36510, Irapuato, Guanajuato, marks.almnz@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior De Irapuato, Maestría de Electrica, carretera Irapuato-Silao km 12,5, col. El copal, Irapuato Guanajuato. fejurado@itesi.edu.mx.

El silicio policristalino se forma a partir de varios cristales de silicio. Su desarrollo es con fines para disminuir los costos de fabricación, lo negativo de este tipo de FV es que consigue una eficiencia menor a los monos cristalinos obteniendo solo un 4% menos de eficiencia que los monos cristalinos. El silicio amorfo es uno de los menos confiables debido a su proceso de producción menos costoso y por lo tanto no tienen uso suficiente, obteniendo un 9% menos que el mono cristalino.

A lo largo de los años desde que la invención de las celdas solares la eficiencia ha evolucionado en los laboratorios de silicio, en la Figura 1 se muestra el avance y evolución de estas mismas, observando un gran avance en el año 1950 [1].

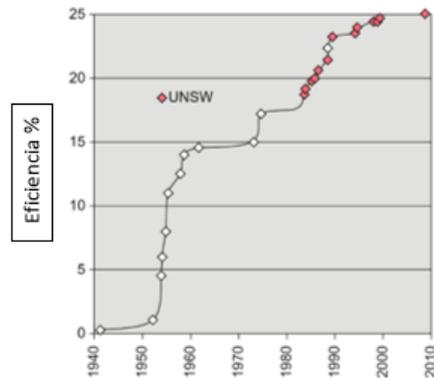


Figura 1. Evolución de la eficiencia de las células solares.

Dentro de la generalización de los tipos de silicio para la elaboración de celdas solares se encuentran diversos tipos de estas mismas para implementar y experimentar mejoras bajo ciertas condiciones de radiación [2], en la Tabla 1 se muestra algunos de los tipos de celdas que se eligieron para el análisis.

Tabla 1. Tipos de celdas solares.

Tipo de celda solar.	Eficiencia (%)	Resistencia (Ω/cm^2)	Tipo de estructura
Células cristalinas o multicristalinas.	12 – 15%		policristalino
Células tipo Czochralski	12 – 15%		policristalino
Células tipo P	19.3%	1 a 3 Ohm	
Células Moradas	16%		monocristalino
Células Negras	17 – 18%	2.2 Ohm	monocristalino

Dentro de los tipos de celdas solares que se seleccionaron entran dos tipos de estructuras más comunes (monocristalina y policristalina). Cabe mencionar que los tipos de celdas con alto rendimiento seleccionadas en la tabla previa aún se encuentran experimentándose en laboratorios o son de poca disponibilidad al público por la razón que algunas son elaboradas con implantes de inmersión en plasma (Pulsión Tipo P) según [3] y en otras se hizo uso de monóxido de silicón para mejorar el rendimiento y resistencia.

METODOS Y MATERIALES

Análisis de Radiación Solar en México.

La radiación solar también es la clave fundamental para el óptimo funcionamiento de absorción de esta energía mediante las celdas solares, es decir entre mayor radiación solar abunde en la zona donde se haga la instalación y colocación de los paneles fotovoltaicos mayor energía eléctrica producirán estos paneles. En México la radiación es muy abundante gracias a su localización geográfica siendo uno de los mejores lugares para invertir con celdas solares, en la Tabla 2 se muestran algunos de los estados de la república mexicana con su respectivo intervalo de radiación abarcando las 4 estaciones climáticas [4].

Tabla 2. Intervalos de Radiación Solar en México divididos por estado y expresado en mega Joules.

Nº	Estado	Radiación medida en Megajoules			
		Primavera	Verano	Otoño	Invierno
1	Aguascalientes	22-25	17	16-17	15-16
2	Baja California	24-25	21-22	13-15	dic-15
3	Baja California Sur	24-25	21-22	14-16	15-16
4	Campeche	21-22	19-21	16-18	13-15
5	Chiapas	19-21	18-20	15-19	13-18
6	Chihuahua	21-23	18-22	13-16	13-15
7	Coahuila	19-22	15-22	nov-16	nov-15
8	Colima	23-24	18	18-19	18-19
9	D.F.	22-23	15-17	17-19	17-19
10	Durango	21-23	18-21	15-17	14-16
11	Guanajuato	21-23	14-18	16-18	16-18
12	Guerrero	21-24	18-20	17-19	17-19
13	Hidalgo	20-22	14-16	15-17	dic-17
14	Jalisco	23-24	14-18	17-19	16-18
15	Estado de México	21-23	14-17	15-18	15-18
16	Michoacán	22-24	17-19	17-19	17-19
17	Morelos	23-24	16-19	17-19	16-19
18	Nayarit	23-24	17-19	17-19	16-18
19	Nuevo León	21-22	18-21	13-16	nov-15
20	Oaxaca	20-22	15-17	15-19	16-19
21	Puebla	19-22	15-17	15-17	13-17
22	Querétaro	20-22	14-16	15-18	13-17
23	Quintana Roo	21-22	20-22	17-19	14-15
24	San Luis Potosí	20-23	15-18	13-16	13-16
25	Sinaloa	22-23	15-18	15-17	15-16
26	Sonora	21-24	18-22	dic-16	13-16
27	Tabasco	19-21	16-20	15-17	dic-14
28	Tamaulipas	21-22	19-21	13-16	nov-14
29	Tlaxcala	19-22	15-17	15-16	15-16
30	Veracruz	19-21	15-19	14-17	oct-13
31	Yucatán	21-22	20-22	17-19	14-15
32	Zacatecas	22-23	17-18	15-18	14-17

Según los estudios indican que no todos los estados de la República Mexicana se mantiene la misma intensidad de radiación solar. Interpretando la tabla previa se seleccionan los estados con mejores intervalos de radiación solar en todo el año y se descartan los estados con menor radiación solar. Para la selección del estado de la república mexicana con una mejor ubicación y radiación solar se tomó en cuenta la mayor eficiencia durante las estaciones del año, por lo tanto y en base a su estabilidad y derivado de la existencia donde existe una excelente radiación, sin embargo, solo es por un lapso breve de tiempo.

Una vez descartando los estados de la republica con una radiación solar baja se determinan los estados con una eficiencia viable para para instalar sistemas fotovoltaicos in situ, así poder aprovechar la mayor eficiencia solar en la república. Para observar de una manera más generalizada se muestran las siguientes Figuras 2, y 3 en las cuales se aprecia el comportamiento de la radiación recibida en la república mexicana a partir de las estaciones climatológicas ya mencionadas.

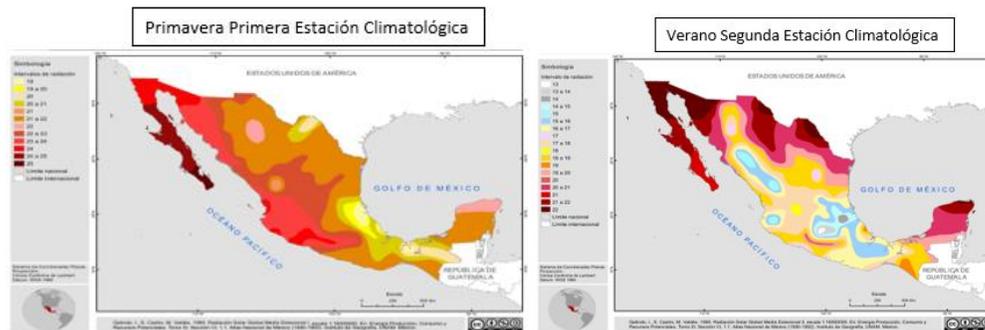


Figura 2. Representación de niveles de radiación en primavera y verano

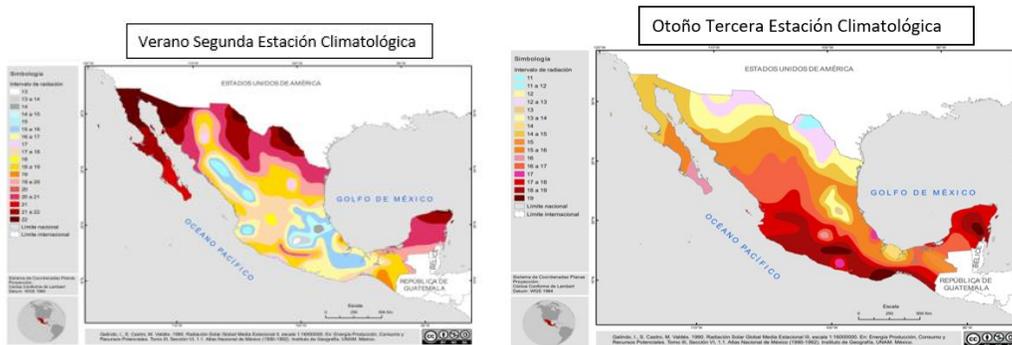


Figura 3. Representación de niveles de radiación en verano y otoño.

La máxima eficiencia obtenida en la actualidad abunda en el 20% de la radiación captada por los sistemas FV. Las correlaciones para calcular la radiación solar difusa se pueden clasificar en modelos con radiación solar global de tal importancia que la determinación de los cálculos de eficiencia para los sistemas fotovoltaicos es a partir de la zona donde se pretendan instalar estos ya que son de mayor importancia para que se obtenga el mayor aprovechamiento de esta tecnología a través de las investigaciones de las zonas seleccionadas [4].

El sistema se encarga de medir la radiación obtenida por los sistemas FV implementados en el estado, esto será reflejado por mes haciendo de esto una facilidad o una herramienta útil para observar y experimentar sobre los sistemas FV [5]. Para realizar los cálculos del sistema FV es a base de una metodología donde ya que se encuentra actualizada la información de radiación solar recibida por cada estado dentro de la republica mexicana gracias a la información contribuida por parte de (INTL) Ciudad de México un grupo encargado de observar el comportamiento y calcular la radiación recibida en todas las zonas de México [7].

RESULTADOS

Este sistema no solo plasmará la información de aprovechamiento de Kw/h a partir de la selección del sistema FV y del estado o la zona donde se haya implementado, Si no también el sistema se encarga de calcular el costeo ahorrado por el sistema plasmándonoslo en mes a mes, a su vez mostrando las radiaciones más altas y las más bajas, la selección de los mejores estados con mejor radiación se plasma en la siguiente Tabla 4 enumerando del mayor al menor en el índice de radiación recibida.

Tamaño del sistema de CC (kW)	16
Tipo de módulo.	Prima
Tipo de matriz.	Seguimiento de 1 eje
Pérdidas del sistema (%).	14%
Inclinación (grados).	30°
Azímüt (grados).	180°
Ubicación, estado o país.	Baja California Sur
Tipo de sistema.	Comercial
Costo Promedio (\$ / kWh).	0.793\$

Tabla 4. Estados seleccionados por aprovechamiento de radiación recibida por año.

N°	Estado	Promedio Kw/h.
1	Baja california sur	8.23
2	Guerrero	6.71
3	Chiapas	6.66
4	Quintana roo	5.81
5	Yucatán	5.79
6	Colima	5.75
7	Distrito federal	5.71
8	Estado de México	5.69
9	Michoacán	5.68
10	Morelos	5.66
11	Guanajuato	5.63
12	Jalisco	5.62
13	Aguascalientes	5.59
14	Nayarit	5.58
15	Durango	5.56
16	Sinaloa	5.53
17	Campeche	5.52
18	Zacatecas	5.49

La selección de los estados fue realizada en 4 niveles de intensificación de radiación, en la Tabla 5 se muestran los rangos y significado de los colores de la Tabla 4.

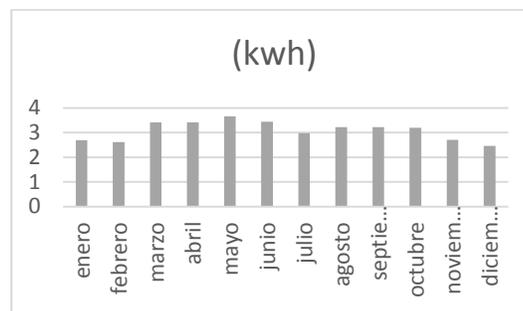
Tabla 5. Rangos de radiación respecto a su color.

Color	Promedio (Kw/h)
Rojo	Mayor a 7
Anaranjado	6 – 7
Amarillo	5.66 – 6
Verde	Menor a 5.66

El tipo de modulo se refiere al porcentaje de eficiencia que se tenga en los sistemas seleccionados de la Tabla 1, se selecciona de tipo prima ya que se hace referencia a celdas de mayor eficiencia o de alto rendimiento de absorción de radiación solar como lo son los tipos de celdas propuestos. El tipo de matriz se toma de seguimiento de un eje respecto a Y . Las pérdidas de un sistema se promedian a un 14%, esto se encuentra dentro de la instalación de sistemas FV generalmente. Para la inclinación de los paneles fotovoltaicos se rige a partir de las normas ISO y aplicaciones prácticas de modelos de orientación para asegurar la efectividad y seguridad del sistema FV [2].

El costo de Kw/h se estandariza bajo el coste de CFE, por la razón de ser la empresa líder de distribución de energía eléctrica en la república mexicana que sería de 0.793\$ por Kw/h . La medición de la energía demandada en la red, como la vertida del FV a esta, es responsabilidad de CFE. Las mediciones de esas cantidades de energía deben cumplir con la normatividad que emita por la Comisión Reguladora de energía o en su defecto con las especificaciones de CFE y su valor económico debe de ser establecido de acuerdo con lo indicado en el contrato de interconexión y sus anexos. [6]. Otro factor importante y determinante son las ganancias económicas obtenidas por mes arrojando un total anual bastante considerado por la efectividad del sistema. Cabe mencionar que en este apartado lo destacable serian (kw/h) obtenidos por el sistema por lo que son mostrados en la Figura 4 para observar con detalle su comportamiento al paso de los 12 meses incluyendo el efecto de las cuatro estaciones climáticas en estos [7,8 y 9].

Figura 4. Muestra la gráfica de los resultados obtenidos de baja california.



En esta última gráfica se puede apreciar el potencial que tiene uno de los estados de la república mexicana, existen unas pequeñas variaciones sin embargo es factible poder implementar la conexión a la red en algunos de los estados. Estos son los resultados aproximadamente que se tendrían si se implementara el sistema FV de alta eficiencia propuesto en estados como Baja California de tal modo poder aprovechar la buena radiación que entra a la República Mexicana sin mencionar el alto capital económico que se podría ahorrar descartando los combustibles comunes.

CONCLUSIONES

La radiación solar absorbida en México depende de la ubicación que sea medida ya que cada estado posee una diferente capacidad de absorción de radiación solar, debido a esto la eficiencia de las celdas fotovoltaicas dependerá directamente del lugar en el que estén situadas, la presente investigación muestra que Baja California es el estado de la república mexicana ideal para la implementación de celdas fotovoltaicas para la generación de energía encontrando que en diferentes meses del año hay mayor radiación solar.

REFERENCIAS

- [1] Markvart y Castaner). Solar Cells First Edition, Materials, Manufacture and Operation
- [2] Markvart y Castaner (2012). Solar Cells 2nd Edition, Materials, Manufacture and Operation. 88-98
- [3] Augustin McEvoy, Tom Markvart, Luis Castaner. Practical Handbook of Fundamentals and Applications.
- [4] <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/>
- [5] <http://pvwatts.nrel.gov/pvwatts.php>
- [6] CFE. Interconexión a la red eléctrica de baja tensión de sistemas fotovoltaicos con capacidad hasta 30 k.W, México, DF: S/E, 2008
- [7] *PV Asia Pacific Conference 2012, 19.3% Efficiency on P-Type Silicon Solar Cells by Pulsion®, Plasma-Immersion Implantation*
- [8] *Calculating the diffuse solar radiation in regions without solar radiation measurements*
- [9] <http://pvwatts.nrel.gov/pvwatts.php>

EFFECTOS AGUDOS DE ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES V1a-V2 DE VASOPRESINA SOBRE LA DIURESIS EN LA RATA

Santiago Nava Marcos¹ y Quintanar Stephano Andrés²

RESUMEN

El receptor V2 de AVP es un receptor transmembrana acoplado a la proteína G. En el riñón, los receptores V2 se localizan principalmente en la porción basolateral de las células del túbulo colector y su activación da lugar a la reabsorción de agua mediante el sistema de acuaporinas 2. Existen diversos antagonistas no peptídicos de los receptores de vasopresina llamados *vaptanes* entre los que destacan el Tolvaptan y el Conivaptan. Actualmente estos antagonistas se utilizan en la práctica clínica por su efecto acuareético en cuadros de hiponatremia euvolémica e hiponatremia hipervolémica en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva crónica y pacientes con cirrosis hepática con ascitis. Los vaptanes son fármacos de elevado costo, y en México no han sido aprobados para su uso clínico. Ante la necesidad de tener acceso a estos compuesto a precios razonables, el Dr. José Correa Basurto del IPN utilizando procedimientos *in silico* sintetizó el compuesto C9, con posibles propiedades antagonistas de los receptores V1a- V2 de AVP. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar los efectos acuareéticos agudos del compuesto C9 en el modelo murino de carga oral de agua-desmopresina-C9. Los resultados mostraron que el C9 no tiene efecto acuareético a corto plazo.

ABSTRACT

The AVP V2 receptor is a transmembrane receptor coupled to the G protein. In the kidney, the V2 receptors are mainly located in the basolateral portion of the collecting tubule cells and their activation results in water reabsorption by the aquaporin system 2. There are several non-peptidic vasopressin receptor antagonists called vaptans including Tolvaptan and Conivaptan. Currently these antagonists are used in clinical practice for their aquatic effect in euvolemic hyponatremia and hypervolaemic hyponatremia in patients with chronic congestive heart failure and patients with liver cirrhosis with ascites. Vaptanes are high cost drugs, and in Mexico they have not been approved for clinical use. In view of the need to have access to these compounds at reasonable prices, Dr. José Correa Basurto of the IPN synthesized the compound C9, with possible antagonistic properties of AVP V1a-V2 receptors. The objective of the present work was to study the acute aquatic effects of the compound C9 in the murine model of oral water loading-demopressin-C9. The results showed that at short-term C9 has not an aquatic effect.

Palabras clave: antagonistas de receptores V1-V2 de AVP, acuareisis, desmopresina, conivaptan, compuesto 9

INTRODUCCIÓN

La hormona arginina vasopresina (AVP) es una hormona hipotalámica sintetizada en las neuronas de los núcleos supraópticos (SON) y paraventriculares (PVN); es transportada a través de tracto hipotálamo neurohipofisiario a la neurohipófisis (lóbulo posterior) desde donde es liberada a la circulación general. Las funciones mejor conocidas de esta hormona son la regulación del equilibrio hidroelectrolítico y la regulación de la presión arterial. El mecanismo de estimulación de la secreción de la AVP es mediado por un incremento en la tonicidad de los líquidos corporales (incremento en la concentración de sodio) que estimulan a los osmorreceptores localizados en los órgano vasculoso de la lámina terminalis en el área hipotalámica anterior,

¹ Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Media, Carretera Rioverde-San Ciro, Km 4, puente del Carmen, CP 79615. Rioverde, San Luis Potosí. México, markos.230911@gmail.com

² Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Fisiología y Farmacología. Avenida Universidad 940, Universidad Autónoma de Aguascalientes, CP 20130. Aguascalientes, Ags. México. aquinta@correo.uaa.mx.

los cuales responden estimulando la secreción de AVP de los núcleos SO y PV. Una vez secretada al torrente sanguíneo, la AVP llega a las células de los túbulos colectores de las nefronas en donde interactúa con los receptores V2 de AVP estimulando la absorción de agua a través de la activación del sistema de proteínas G-AMPC-acuaporinas 2. El agua reabsorbida diluye la concentración de sodio y restablece la tonicidad de los líquidos corporales. Existen algunas enfermedades como la insuficiencia cardíaca congestiva crónica y la ascitis en la cirrosis hepática, caracterizadas por la retención de grandes volúmenes de líquido a nivel renal, secundarios a un incremento en la secreción de AVP. Dado que en estas condiciones clínicas existe una gran dilución de los líquidos corporales, el desarrollo de nuevos fármacos con capacidad de bloquear específicamente los receptores V2 de AVP de los túbulos colectores de riñón, han despertado un gran interés para eliminar el exceso de líquido sin pérdida de electrolitos (acuarexis). Estos nuevos compuestos se han llamado vaptanes. A la fecha su uso clínico se ha visto limitado por los efectos secundarios, sobre otros sistemas de órganos, por lo que la búsqueda de nuevos compuestos continúa siendo un área de investigación muy activa. En este proyecto se describen los efectos acuareéticos del vaptán mexicano llamado compuesto 9 (C9) creado para bloquear los receptores V1a-V2 de AVP.

HIPÓTESIS

Se ha demostrado que el conivaptán (antagonista de los receptores V1a-V2 de AVP) posee un poderoso efecto acuareético. Si el compuesto C9 posee efecto acuareético, entonces los animales tratados con el compuesto C9, responderán con un incremento en la formación de orina a través de un mecanismo semejante al del conivaptán.

OBJETIVOS

- 1) Estudiar el efecto acuareético del compuesto C9 en el modelo de carga oral de solución hipotónica de ratas tratados con desmopresina (agonista de los receptores V2 de AVP con efecto antiurético) y compuesto C9
- 2) Comparar el efecto acuareético de los compuestos C9 y conivaptán

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Neuroinmunoendocrinología. Edificio 202 Planta baja, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Ciudad Universitaria.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague Dawley de 150-230 gr de peso. Durante los experimentos las ratas se mantuvieron bajo las siguientes condiciones: Ciclos de luz-obscuridad 12x12 horas, con encendido a las 7 AM, temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Alimentación con purina Chow para roedor y agua a libre demanda. Para el cuidado y manejo de los animales se siguió la normatividad del manejo humanitario de ratas del laboratorio de la UAA.

Los animales se dividieron en grupos 5 de la siguiente manera:

1) grupo control (GC)

A este grupo se le administraron a través de una sonda gástrica agua de beber por vía oral agua (5 ml/100 g p.c.) y se colocaron en jaulas metabólicas, posteriormente se procedió a registrar el volumen de orina producido a los 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 y 270, 300, 330 minutos.

Nota. Para la producción de orina, cada animal se colocó en una jaula metabólica durante el periodo de observación (mismas evaluaciones que las del GC).

2) Grupo Desmopresina (DP, agonista de los receptores V2 de AVP)

Este grupo se utilizó para demostrar el efecto antidiurético de la DP en los animales con la carga oral de agua (5 ml/100 g p.c). Para observar el efecto antidiurético de la desmopresina a los animales se les administró el agua por vía oral al tiempo cero y la DP (2.5 µg/kg de p.c/i.p.) a los 60 minutos

3) Grupo DP+ Conivaptan (CNV, antagonista de los receptores V1a-V2 de AVP)

Una vez administrada el agua por vía oral y la DP a los 60 minutos, al minuto 90, a los animales se les administraron 10 mg de conivaptán/100 g de p.c./i.p.). Las mediciones de la orina formada continuaron a los mismos tiempos antes mencionados.

4) Grupo DP + C9

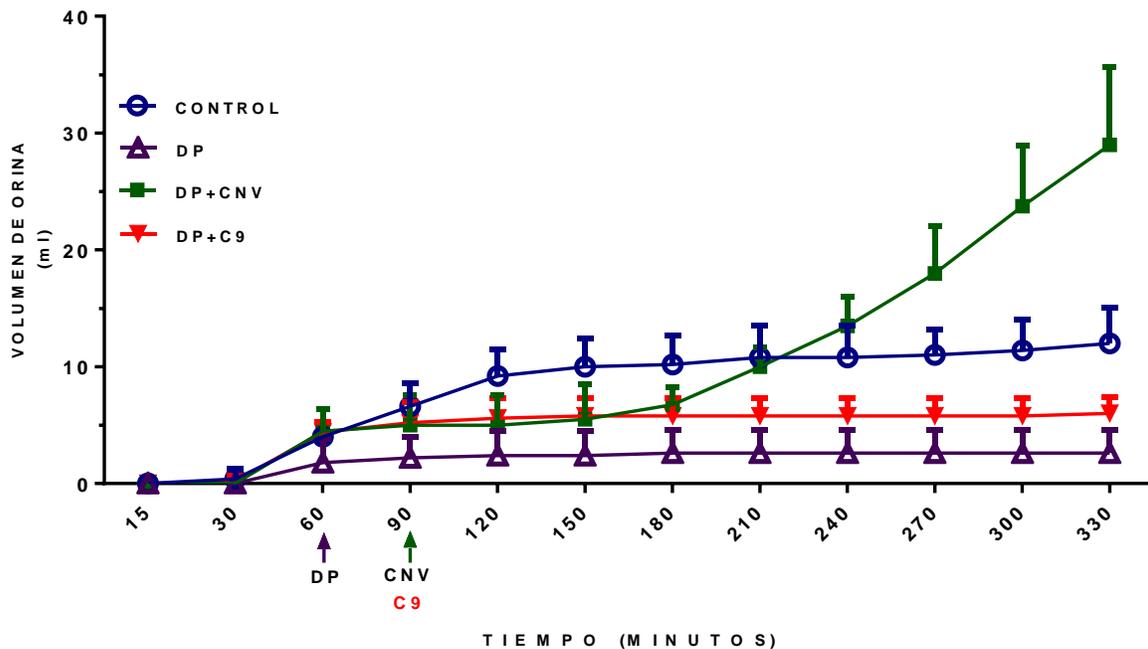
En este grupo se repitieron las condiciones experimentales del grupo 3, excepto que el CNV fue sustituido por el compuesto 9 /i.p.

El vehículo utilizado para disolver el conivaptán y el compuesto C9 fue DMSO al 70%.

Los resultados se presentan como la media ± DE. Para el análisis estadístico se utilizó en programa Graph-Pad Prism versión 6.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La gráfica 1 muestra los efectos de la carga oral de agua en el grupo control, la administración de desmopresina, el conivaptán y C9 en los diferentes grupos experimentales sobre la producción de orina.



Gráfica 1. Efectos de una carga de agua (5%/100 g p.c./per os), desmopresina (DP, 2.5 µg/kg de p.c./i.p.), conivaptán (CNV, 10 mg/100g/p.c./i.p.) y Compuesto C9 (10 mg/100 g p.c./i.p.) sobre la producción de orina. Para fines de comparación se incluyó el grupo Control. Se utilizaron ratas macho Sprage-Dawley. n=5 animales/grupo.

Grupo Control

Observe en la figura 1 como la carga oral de 10 ml de solución hipotónica al grupo control indujo una inhibición de la secreción endógena de AVP lo cual provocó una diuresis intensa de tal manera que al cabo de 2.5 horas, los animales orinaron el volumen de agua administrado (10 ml).

Desmopresina

Como se puede observar en la misma gráfica, la administración de DP ejerció un poderoso efecto antidiurético mismo que persistió hasta el final del experimento. Este resultado corrobora lo descrito en la literatura; la DP posee un poderoso y prolongado efecto agonista sobre los receptores V2 de los túbulos colectores de la nefrona causando una antidiuresis prolongada.

Conivaptan

El efecto antagonista de los receptores V2 de AVP se aprecia claramente en la curva de DP+CNV, ya que al comparar la curva del efecto antidiurético de la DP este fue completamente inhibido por la administración del CNV, el cual sobreponiéndose al efecto antidiurético de la DP, indujo una abundante y prolongada acuareisis, la cual indujo una pérdida de agua mayor a 17 ml por arriba de los 10 ml administrados para la prueba. Esto puede explicar parcialmente los efectos secundarios que se presentan en pacientes tratados con CNV, lo cual incrementa en muy poco tiempo la tonicidad de los líquidos corporales.

C9

En la gráfica se aprecia que las curvas de DP y DP+C9 tuvieron un comportamiento semejante, lo que indica que a diferencia de la curva del CNV, el C9 no mostró efecto acuarético. Dado que en experimentos previos se demostró que a largo plazo el compuesto C9 si tuvo efecto acuarético, en animales sin tratamiento con DP, es posible que en este experimento la DP haya tenido una mayor afinidad por los receptores V2 de AVP, lo que estaría bloqueando el efecto del C9. Cabe destacar que se realizó un experimento en los que el efecto acuarético del C9 se observó claramente, lo que apoya las posibilidades anteriores, sin embargo, la repetición del experimento en tres ocasiones, no se pudo observar el efecto acuarético. Otra posibilidad es que en las condiciones de este experimento, tendría que haberse utilizado una concentración menor de DP, con el objeto de que el C9 tuviera mayor probabilidad de competir con la DP por los receptores V2 del riñón. Más experimentos tienen que hacerse para probar estas posibilidades. Otra posibilidad es que el C9 contenga impurezas por lo que las concentraciones reales del compuesto hayan sido menores a las esperadas. Otra posibilidad más sería el problema del solvente para el C9, ya que el DMSO utilizado como vehículo tuvo que emplearse a una concentración del DMSO al 70%, lo que pudiera afectar la acción biológica del C9.

CONCLUSIÓN

En las condiciones del presente experimento no se pudo demostrar el papel acuarético del compuesto 9. Es necesario realizar más experimentos con el compuesto 9 a diferentes dosis, y buscar un solvente más adecuado para probar los efectos bloqueadores de los receptores V2 por el C9

Es necesario hacer más experimentos para determinar si utilizando menores cantidades de DP el C9 podría competir con la DP sobre los receptores V2 de AVP de los túbulos colectores del riñón.

BIBLIOGRAFÍA

Martínez Reséndiz, H. A. (2016). Papel de los antagonistas de los receptores V1a y V2 de arginina vasopresina en la regulación de la presión arterial a largo plazo. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Contreras Romo, M. C. (2013). Síntesis y caracterización química y farmacodinámica de antagonistas no-peptídicos de los receptores V1A y V2 de vasopresina. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Villabona, C. (2010). Antagonistas del receptor de vasopresina: los vaptanes. *Endocrinología y nutrición*, 57, 41-52.

Dvorkin, M. A., & Cardinali, D. P. (2011). *Best & Taylor. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*. Ed. Médica Panamericana.

Aslı Tanındı, Hasan Fehmi Töre. Use of “Vaptans” in treatment of hyponatremia. *Turk Kardiyol Dern Ars*. 2015; 43(3): 292-301

SÍNTESIS DE NANOCOMPÓSITOS PARA APLICACIONES AMBIENTALES

María Guadalupe Flores Martínez¹ y Eduardo Arturo Elizalde Peña²

RESUMEN

En la estancia de Verano de la Ciencia de la Región Centro realizada en el Laboratorio de Materiales Nanoestructurados y Funcionales de la Universidad Autónoma de Querétaro se elaboraron esferas de un compósito de quitosano (CTS) con glicidil metacrilato (GMA) y magnetita; posteriormente fueron introducidas a una solución de agua destilada con Nitrato plumboso ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) con una concentración determinada de Pb^{2+} en un flujo simulado y se tomaron muestras cada 15 minutos durante 2 horas. El proceso se repitió para tres sistemas de esferas que consistían de: quitosano (CTS) y de los compósitos CTS-GMA y CTS-Magnetita. El objetivo de tener éstos 4 tipos de esferas fue comparar la efectividad de adsorción de iones de plomo que presenta cada una de ellas, esperando que el compósito CTS-GMA-Magnetita presente una mayor adsorción de plomo.

ABSTRACT

In the Summer of Science of the Central Region, conducted in the Laboratory of Nanostructured and Functional Materials of the Autonomous University of Querétaro, spheres of a chitosan composite (CTS) with glycidyl methacrylate (GMA) and magnetite were prepared; subsequently, they were introduced to a solution of distilled water with Plumbate Nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) with a determined concentration of Pb^{2+} in a simulated flow and samples were taken every 15 minutes for 2 hours. The process was repeated for three systems of spheres consisting of: chitosan (CTS) and the CTS-GMA and CTS-Magnetite composites. The objective of having these 4 types of spheres was to compare the effectiveness of the adsorption of lead ions that each of them presents, hoping that the composite CTS-GMA-Magnetite will present a greater adsorption of lead.

Palabras clave: quitosano, aguas residuales con plomo, nanocompósitos

INTRODUCCIÓN

La quitina es un polisacárido lineal compuesto de enlaces (1-4) de 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranososa y es la segunda forma prevalente de carbono polimerizado en la naturaleza. Es categorizado como un derivado de celulosa, a pesar del hecho de que no aparece en organismos que producen celulosa. Su estructura es similar a la celulosa, pero en la posición C2, tiene un grupo acetamida ($-\text{NHCOCH}_3$). Todos los años, moluscos, crustáceos, insectos, hongos, algas y organismos relacionados producen aproximadamente 10 mil millones de quitina.

El quitosano (CTS) es un derivado desacetilado de la quitina, un biopolímero en segundo lugar en abundancia a celulosa; es biodegradable, no tóxico y biocompatible. El CTS ha sido sometido a modificaciones químicas para producir materiales funcionales avanzados; de esta forma sus principales aplicaciones son en el área biomédica, materiales farmacéuticos, cosméticos, ingeniería de tejidos, agricultura, medios cromatográficos y analíticos, aditivos para alimentos e ingeniería del agua., siendo esta última en la cual se trabajó, específicamente en el tratamiento de aguas residuales, empleando al CTS como absorbente de residuos industriales, especialmente en interacción de su grupo amino libre con iones metálicos en el control de la contaminación de metales pesados. (Zargar, 2015)

¹ Instituto Tecnológico de Celaya, Ingeniería Bioquímica; Antonio García Cubas Poniente # 600 esq. Av. Tecnológico, Colonia FOVISSSTE, C.P: 38010, Celaya, Guanajuato, 15030726@itcelaya.edu.mx

² Universidad Autónoma de Querétaro Campus Aeropuerto, Facultad de Ingeniería, División de Investigación y Posgrado, Laboratorio de Materiales Nanoestructurados y Funcionales, Carretera a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, C.P: 76140, Santiago de Querétaro, Querétaro, eelizalde@uaq.com.mx

El metacrilato de glicidilo (GMA) es un monómero polifuncional. Actúa como un comonómero de reticulación que promueve la adhesión para resinas acrílicas y vinílicas. También es un diluyente incoloro reactivo. GMA es soluble en etanol, acetona, dietil éter, benceno. (Sigma-Aldrich, 2018)

La magnetita, Fe_3O_4 (o también FeFe_2O_4), es un óxido mixto de hierro; su composición corresponde a 27,6% de oxígeno y 72,4% de hierro. Uno de los usos que tiene la magnetita es como soporte versátil de un gran número de catalizadores funcionalizados, empleados en la catálisis de una gran variedad de reacciones orgánicas e inorgánicas. En general, diversos óxidos nanoestructurados basados en magnetita son buenos dispositivos para la manufactura de materiales magnéticos, películas de protección sensibles y pigmentos, así como para el tratamiento y eliminación de residuos y agentes contaminantes del agua. (Noval, 2016)

La adsorción es la remoción, por adherencia, de las impurezas (líquidos, gases, materia suspendida, coloides, moléculas, átomos e iones disueltos) de la sustancia en la superficie (que incluye los poros o superficie interna) del sorbente (interfase entre las dos fases). Este proceso es sumamente necesario e imprescindible para una planta purificadora de agua. (Ponce, 2005)

Descripción del problema

La mayoría de las actividades humanas que emplean agua producen aguas residuales. En todos los países, salvo en los más desarrollados, la gran mayoría de las aguas residuales se vierte directamente en el medio ambiente sin tratamiento adecuado, con consecuencias perjudiciales para la salud humana, la productividad económica, la calidad de los recursos ambientales de agua dulce y los ecosistemas. (Connor, 2017)

El crecimiento demográfico, la urbanización, la industrialización y el aumento de la producción y el consumo han generado una demanda de agua dulce cada vez mayor. Se prevé que en 2030 el mundo tendrá que enfrentarse a un déficit mundial del 40% de agua en un escenario climático en que todo sigue igual. (Franek, 2015)

Justificación

En México, las diversas actividades industriales, así como las agrícolas y mineras, son fuentes de emisión al ambiente de sustancias tóxicas, principalmente compuestos orgánicos persistentes como pesticidas y metales. En cuanto a la actividad minera, ésta arroja al ambiente metales tóxicos como plomo, mercurio, cadmio, arsénico y cromo, que son tóxicos para la salud humana y para la mayoría de formas de vida. Estas emisiones se encuentran en la atmósfera como material suspendido que respiramos, así como, en las aguas residuales no tratadas, provenientes de las minas y fábricas; contaminando las aguas subterráneas, ríos y lagunas, suelos, sedimentos, acumulándose en la biota, causando daños en el ecosistema y en la salud de la población. El municipio de San Joaquín, Querétaro, debido a que es una zona minera, padece de contaminación del agua por metales pesados. (Ramirez, 2008)

Hipótesis

Por medio del uso de esferas de CTS-GMA-Magnetita será posible reducir la concentración de iones de Pb^{2+} en un flujo simulado de agua residual que contiene dicho metal, en comparación con las esferas de CTS, CTS-GMA y CTS-Magnetita, debido a que las esferas de éste compuesto contienen magnetita, la cual atrae al plomo, y CTS absorbente de residuos industriales, y junto con el GMA presentan mejores propiedades mecánicas.

Objetivos

General

- Desarrollar esferas que tengan la capacidad de remover iones de Pb^{2+} en un flujo simulado de agua residual.

Específicos

- Sintetizar de manera correcta los compuestos con los que se elaboraran las esferas.
- Elaborar de manera que sean funcionales los cuatro tipos de esferas: CTS, CTS-GMA, CTS-Magnetita y CTS-GMA-Magnetita.

- Demostrar mediante espectrometría de absorción atómica y espectroscopia UV-Visible la remoción de iones de Pb^{2+} de las muestras del flujo simulado de agua residual respecto al tiempo.

MÉTODOS Y MATERIALES

Síntesis de las esferas

Disolver quitosano en polvo en ácido acético 0.4 M. Una vez disuelto adicionar GMA e hidróxido de potasio (KOH), mantener ésta solución en agitación por 1 hora. Después se precipita la solución anterior en acetonitrilo, en esta precipitación se obtienen fibras parecidas al algodón, las cuales se van a mantener en acetonitrilo y en refrigeración. Posteriormente se les retira el exceso de acetonitrilo y se disuelven en ácido acético 0.4 M; con ésta solución se elaboran las esferas: se agrega gota a gota la solución de CTS-GMA en hidróxido de sodio (NaOH) 0.5 M a temperatura ambiente y se dejan reposar 24 horas. Luego se enjuagan con agua destilada hasta tener un pH de 7. Es importante resaltar que para la síntesis de esferas de CTS, CTS-Magnetita y CTS-GMA-Magnetita se sigue un procedimiento similar, a diferencia de que en las soluciones que contienen magnetita se meten a baño ultrasónico.



Figura 1. Síntesis de esferas de CTS-GMA

Flujo simulado de agua residual con Pb^{2+}

Para hacer las corridas del flujo simulado se utiliza una pecera y una bomba con una solución de agua destilada y $Pb(NO_3)_2$ con una concentración determinada de Pb^{2+} . Se toma una muestra de la solución al tiempo inicial, y a partir de entonces se incorporan las esferas y empieza a contar el tiempo hasta 2 horas, tomando muestras cada 15 minutos.



Figura 2. Esferas de CTS-GMA-Magnetita en el flujo simulado

RESULTADOS

Se obtuvieron buenos resultados en la preparación de las esferas, y no se tuvieron problemas para usarlas. Se seleccionaron las muestras de 15 y 45 minutos y 2 horas del flujo simulado usando cada tipo de esferas y fueron preparadas con ácido nítrico para analizarse por medio de espectrometría de absorción atómica y espectroscopia UV-Visible. Sin embargo, debido a que fue relativamente poco el tiempo en que se realizó la estancia del verano de la ciencia no alcance a conocer los resultados de la espectrometría de absorción atómica y espectroscopia UV-Visible de las muestras, ya que están próximos a realizarse, espero, con base en lo que consulte en la literatura, que demuestren que efectivamente se adsorben iones de Pb^{2+} , y aun mejor cuando se utilizaron las esperas de CTS-GMA-Magnetita ya que eran las que tenían mejores propiedades mecánicas, además de que la magnetita tiene atracción por el plomo.

CONCLUSIONES

Durante el Verano de la Ciencia de la Región Centro adquirí bastantes conocimientos en cuanto al área de nanotecnología, sobre todo en lo que respecta a síntesis de nanocompósitos para aplicaciones ambientales. Me pareció bastante interesante el proyecto con el cual estuve colaborando ya que responde a una problemática actual, la contaminación del agua por plomo, y considero que otra aplicación donde tendría mucho impacto, además de las zonas mineras, sería en la industria automotriz, en el tratamiento de aguas residuales, que como ya sabemos contienen este metal por las pinturas que utilizan, y que tanto en Celaya como en Querétaro actualmente tienen un gran auge. Por otro lado, fue realmente muy satisfactorio colaborar en un proyecto fuera de mi estado y poder trabajar en conjunto en soluciones a favor del medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

- ⇒ Al laboratorio de Materiales Nanoestructurados y Funcionales de la Universidad Autónoma de Querétaro Campus Aeropuerto por las atenciones y el apoyo brindado durante la estancia del Verano de la Ciencia de la Región Centro.
- ⇒ Al Instituto Tecnológico de Celaya por la beca de Verano de la Ciencia de la Región Centro.

BIBLIOGRAFÍA

- Connor, R. *et al.* (2017). *Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas 2017*. Italia: WWAP.
- Franek, A. *et al.* (2015). *Informe de las Naciones Unidas sobre los recursos hídricos en el mundo 2015*. Italia: WWAP.
- Noval, V. *et al.* (2016). Magnetita (Fe_3O_4): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea. *Revista Colombiana de Química*, 42-43.
- Ponce, E. (2005). Diseño de un tren de potabilización para una planta generadora de agua embotellada. Colección de Tesis Digitales Universidad de las Américas Puebla, México.
- Ramirez, I. (2008). "*Evaluación de la contaminación por metales en San Joaquin, Querétaro*". México: Sistema de Administración de Programas y Proyectos de Investigación del IPN .
- Sigma-Aldrich. (2018). "Glycidyl methacrylate" en *Sigma-Aldrich Company*. Consultada en: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/151238?lang=es®ion=MX> (fecha de consulta 20-07-2018)Zargar, V. *et al.* (2015). "A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications" en *ChemBioEng* No. 00, [pp. 1-24].

MEDICIÓN DEL pH DEL AGUA DE LLUVIA EN LA CIUDAD DE GUADALUPE, ZACATECAS, PERIODO JUNIO - JULIO 2018

María Guadalupe Torres Aldana¹ y Jorge Bluhm Gutiérrez²

RESUMEN

El presente reporte, pretende presentar los resultados obtenidos del desarrollo del proyecto que se efectuó durante cinco semanas, el periodo de medición fue a partir del 12 de junio al 15 de julio de 2018, en la ciudad de Guadalupe, Zac. en específico a la zona conurbada Zacatecas - Guadalupe. El objetivo principal fue realizar la medición del pH del agua de lluvia, en dicha área, las mediciones se realizaron en una casa – habitación; así mismo se realizó el análisis de las causas probables que originan el fenómeno de la lluvia alcalina según los registros.

Obteniendo resultados de 7.5 de pH en promedio ponderado que difieren a los niveles que menciona la EPA en la escala de pH, estableciendo un pH ligeramente ácido de 5.6 para el agua de lluvia, concluyendo que se muestra un incremento de alcalinidad dentro de la zona de estudio.

ABSTRACT

This report aims to present the results obtained from project development which was carried out for five weeks, the measurement period was from June 12 to July 15, 2018, in the city of Guadalupe, Zacatecas, specifically, the suburban area Zacatecas - Guadalupe. The main objective was to measure pH of the rainwater in such area, the measurements were made in a house; Likewise, the analysis of the probable causes that cause the phenomenon of alkaline rain according to the registered results was made.

Obtaining results 7.5 pH on a weighted average that differ to the levels mentioned by the EPA in the pH scale, setting a slightly acidic pH of 5.6 for rainwater, concluding that an increase of alkalinity is shown within the study zone.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el interés por el estudio e investigación por la calidad y composición del agua de lluvia ha ido en aumento, la mayoría de los estudios se enfocan al análisis del fenómeno que origina la lluvia ácida que se genera en las grandes metrópolis, no obstante, se han desarrollado líneas de investigación sobre la lluvia alcalina alrededor del mundo. La química del agua de lluvia ha sido objeto de numerosas investigaciones durante las últimas dos décadas debido al aumento de los problemas ambientales causados por la lluvia ácida. La composición del agua de lluvia es importante para comprender el papel del transporte de los componentes solubles de la atmósfera y la contribución de las diferentes fuentes de contaminantes atmosféricos (Ramírez-Lara *et al.*; 2010).

MARCO TEÓRICO

El agua de lluvia en condiciones naturales sin alteraciones de contaminantes presenta un pH de 5.6 según la Agency of Environmental Protection (EPA). La principal causa de lluvia alcalina es el polvo alcalino y el polvo continental transmitido por el suelo en las áreas semiáridas (Zhang *et al.*; 2002).

Los polvos se derivan de suelos superficiales en el área. Dichos suelos comúnmente contienen posiciones que forman bases, CO_3^{2-} , HCO_3^- y sales solubles libres, que podrían contribuir a la atmósfera con partículas alcalinas. Además, la calcificación es el principal proceso de formación del suelo en las regiones semiáridas y áridas, que produce abundante calcita (CaCO_3).

La Ciudad de Guadalupe ubicada dentro de la zona conurbada Zacatecas- Guadalupe, se caracteriza por su clima semiseco templado con lluvias en verano, además el uso de suelo es mayormente agrícola, el 52.5 % de su territorio se utiliza para la agricultura (INEGI, 2017).

MATERIALES

Pluviómetro, Vaso de precipitado aforado, Agua destilada, Medidor digital de pH (marca Hanna), Tiras indicadoras de pH Mcolorhast, Termómetro digital y Bitácora de Registro.

MÉTODO

- Primer paso: Esterilización con agua destilada del pluviómetro que posteriormente era colocado en el patio exterior de la casa - habitación, en un lugar estratégico, libre de barreras que pudiesen obstaculizar la captación del agua de lluvia.
- Segundo paso: Cada veinticuatro horas se realizaba la verificación del contenido de agua de lluvia captada en el pluviómetro, para la deposición de la muestra en el vaso de precipitado previamente esterilizado con agua destilada.
- Tercer paso: Una vez colocada la muestra en el vaso de precipitado, se realizaba la esterilización del medidor de pH y así mismo se encendía, para posteriormente colocarlo dentro del vaso de precipitado, una vez sumergido el medidor, pasaban 10 segundos para permitir que el registro se estabilizara y obtener el parámetro.
- Cuarto paso: Para corroborar el resultado registrado en el medidor de pH, se realizaba la comprobación mediante colorimetría a través de tiras Mcolorhast.
- Quinto paso: Una vez comprobado el resultado del parámetro, se realizaba la medición de la temperatura mediante termómetro digital marca Taylor.
- Sexto paso: Los resultados eran registrados de manera continua en la bitácora de registro.

RESULTADOS

Durante el periodo de medición se registró un acumulado de 194.3 mm de precipitación pluvial, referente a la medición del pH se ponderó el promedio obteniendo un resultado de 7.53, lo que nos indica que existe ligera alcalinidad de la precipitación en la zona de estudio, el día 24 de junio se registró un pH de 8.3, considerado como el valor más alto registrado en el periodo de estudio, a diferencia del 15 de junio se registró 6.5 de pH, considerado el valor inferior.

Es importante destacar que, durante el periodo de estudio, no precipitó agua de lluvia diariamente, las lluvias fueron escasas además de no ser muy abundantes en cuanto al volumen de precipitación. Cabe mencionar que, en el periodo de estudio, no se registraron valores que indicaran acidez del agua. **CICLO DE DESARROLLO Y CICLO DE VIDA DEL SISTEMA DE CONTROL DE USUARIOS PARA LA ALBERCA OLÍMPICA DE GUADALUPE**

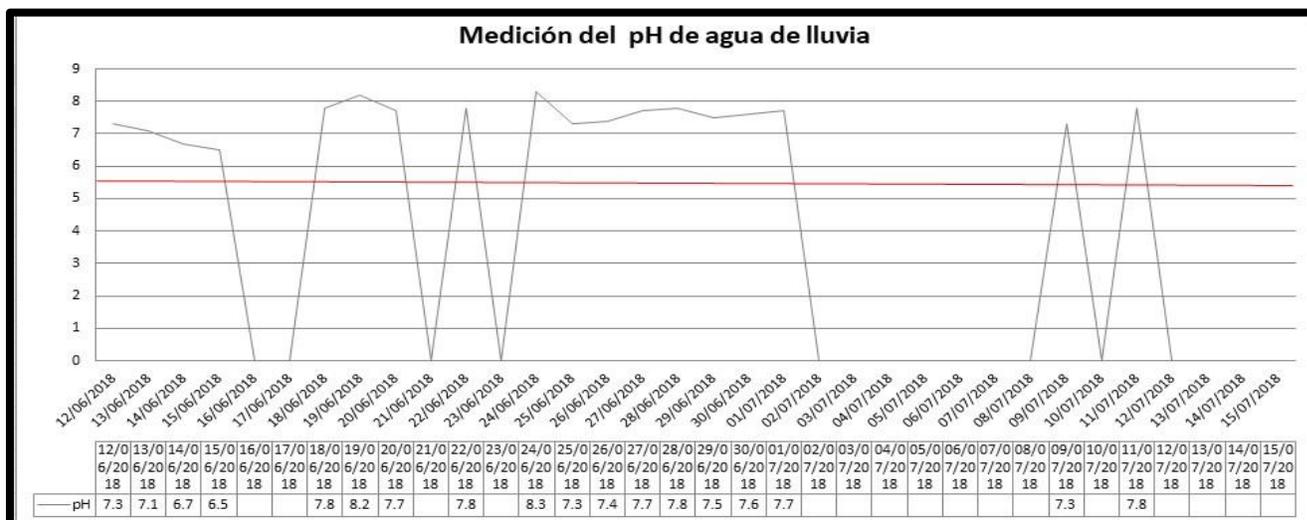


Grafico 2. Registros del pH del agua de lluvia precipitada con referencia al pH ideal establecido

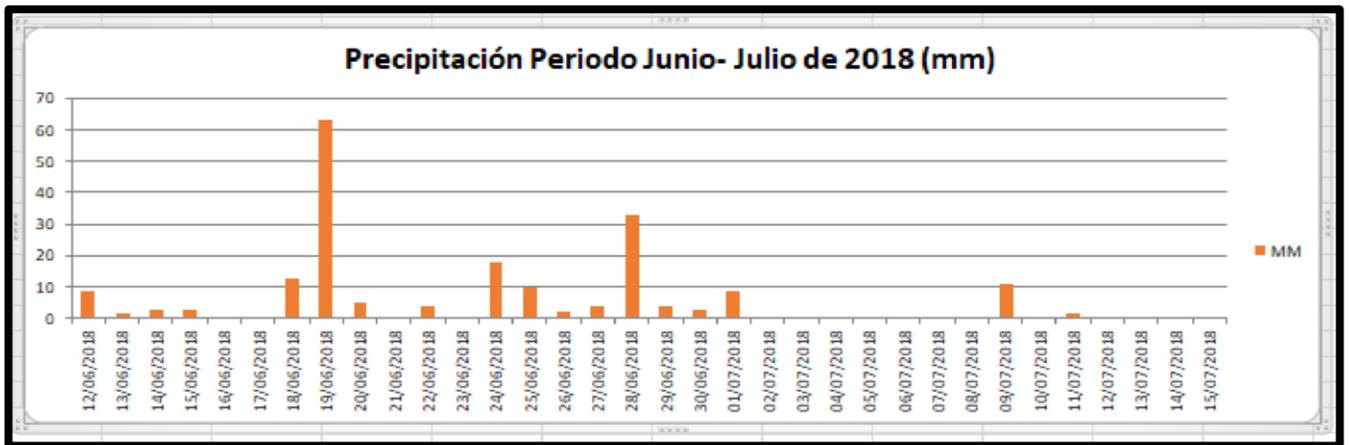


Gráfico 1. Registros de precipitación pluvial (mm)

por la EPA, en la ciudad de Guadalupe, Zacatecas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto de investigación indican alcalinidad del agua de lluvia dentro de la zona de estudio, este fenómeno es poco común pero no menos importante, existe escasa información relacionada con el mismo, las causas probables podrían ser principalmente la alta concentración de partículas suspendidas de polvo en la atmósfera derivados de la erosión; el área de estudio está altamente expuesta a este fenómeno debido al uso de suelo caracterizado por ser mayormente para la agricultura, lo que representa que exista mayor inestabilidad en el área por ausencia de vegetación nativa, aunado a esto el clima semiárido con lluvias en verano que limita la presencia de precipitaciones pluviales para el crecimiento de flora durante el resto del año y propicia condiciones de erosión en suelo natural.

Pueden ser diversas las causas de este fenómeno, pero es indispensable desarrollar líneas de investigación que permitan indagar a profundidad, es importante contemplar el estudio de la química del agua de lluvia, debido a que es un indicador de la calidad atmosférica.

REFERENCIAS

Calheiros, Herlane Costa; Gómez, Mónica Regina and Estrella, Percy Máximo Anco. 2014. Calidad de las aguas meteóricas en la ciudad de Itajubá, Minas Gerais, Brasil. Rev. Ambient. Água., Documento Electronico. Fecha de Consulta: 26/07/2018 Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2014000200014.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Prontuario de información geográfica municipal de los estados unidos mexicanos Guadalupe, Zacatecas. clave geoestadística 32017. Año 2017. Documento electrónico. Fecha de consulta: 26/07/2018.

Ramírez Lara E., Miranda Guardiola R., Gracia Vázquez., Balderas Rentería I. (2010). Atmósfera. Documento Electrónico. Fecha de Consulta: 24/07/2018. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-62362010000300001

Zhang, DD; Peart, MR; Jim, CY; La, J. (2002). Alkaline rains on the Tibetan Plateau and their implication for the original pH of natural rainfall. Journal of geophysical research. Documento Electrónico. Fecha de consulta: 23/07/2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/248802366_Alkaline_rains_on_the_Tibetan_Plateau_and_their_implication_for_the_original_pH_of_natural_rainfall.

DESARROLLO DE POLÍMEROS DE IMPRESIÓN MOLECULAR PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBAMAZEPINA EN AGUAS RESIDUALES

M.I. Cárdenas Bravo¹ y R. Flores Ramírez²

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis y limpieza de polímeros de impresión molecular (MIP) para la adsorción selectiva de carbamazepina (CBZ) en aguas residuales mediante tres diferentes métodos de polimerización: emulsión, bulceo y co-precipitación, usando CBZ como molécula plantilla, metacrilato de sodio como monómero, tolueno como porógeno, etilenglicol dimetilacrilato como agente entrecruzante y azobisisobutironitrilo como iniciador. Así mismo, se desarrollaron polímeros no impresos (NIP). El método de limpieza consistió en una extracción soxhlet. Finalmente, se obtuvieron 3 MIPs y 3 NIPs completamente libres de molécula plantilla y listos para su posterior caracterización física, química y de los sitios de unión.

ABSTRACT

In the present work, the synthesis and cleaning of molecularly imprinted polymers (MIP) for the selective adsorption of carbamazepine (CBZ) in wastewater was carried out through three different polymerization methods: emulsion, bulk and co-precipitation, using CBZ as template molecule, sodium methacrylate as a monomer, toluene as a porogen, ethylene glycol dimethylacrylate as a crosslinking agent and azobisisobutyronitrile as initiator. Also, non-imprinted polymers (NIP) were developed. The cleaning method consisted of a soxhlet extraction. Finally, 3 MIPs and 3 NIPs completely free of template molecule were obtained and ready for further physical, chemical and binding site characterization.

Palabras Clave: Polímeros de Impresión Molecular, Carbamazepina, Cromatografía de Líquidos de alta resolución.

INTRODUCCIÓN

La presencia de compuestos farmacéuticos en aguas residuales y superficiales se debe al uso veterinario y humano, lo anterior ocurre ya que las sustancias activas de dichos compuestos pueden ser excretadas sin metabolizar o como metabolitos activos y también a la eliminación inadecuada de medicamentos vencidos (Andreozzi et al., 2002).

La carbamazepina (CBZ) es un compuesto tricíclico neutral altamente lipofílico (Figura 1). Es un fármaco anticonvulsivo, antiepiléptico y estabilizador del humor. Su nombre químico es 5H-dibenzo-[b,f]-azepina-5-carboxamida.

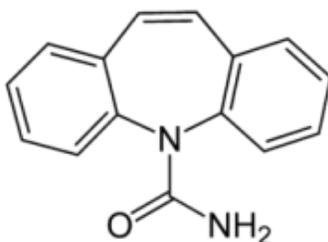


Figura 1. Carbamazepina.

Aproximadamente el 28 % de la CBZ que se administra por vía oral se descarga al medio ambiente a través de las heces (Hassaninejad-Darzi et al., 2018). La resistencia a la biodegradación y estabilidad de la CBZ en diferentes ambientes acuáticos (Clara et al., 2004) vuelven necesaria su cuantificación. Cada vez es más recurrente la necesidad

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas; Av. Dr. Manuel Nava No. 6, Zona Universitaria, C.P.: 78210. San Luis Potosí, S.L.P., isa.cardenas@gmail.com

² Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT), Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS); Av. Sierra Leona No. 550, Col. Lomas Segunda Sección, C.P.:78210. San Luis Potosí, S.L.P., rogelio.flores@uaslp.mx

de identificar y determinar de manera precisa la concentración de estos compuestos, los cuales se encuentran en cantidades como ppm (partes por millón, $\mu\text{g/L}$) o ppb (partes por billón, ng/L). Las concentraciones muy bajas además de las matrices complejas hacen difícil la medición. Una de las diferentes soluciones propuestas para llevar a cabo la determinación de los fármacos en diferentes ambientes es el desarrollo de polímeros de impresión molecular.

Los polímeros de impresión molecular (MIPs) son materiales sintéticos, su forma, tamaño y funcionalidades son complementarios del analito objetivo y son altamente selectivos. (Hafiz Rozaini et al., 2017). Los reactivos requeridos en la síntesis de MIPs son plantilla, monómero funcional, agente entrecruzante, iniciador radicalario y un solvente porógeno. La técnica de impresión molecular ocurre por la polimerización del monómero funcional y el agente entrecruzante en presencia de la plantilla, es decir, el analito de interés. El monómero funcional y la molécula plantilla pueden interactuar de forma no covalente mientras el agente entrecruzante imparte estabilidad mecánica al polímero formado regulando su morfología. Durante la polimerización, el monómero y el agente entrecruzante forman una red tridimensional alrededor de las moléculas plantilla. Finalmente, las moléculas plantilla son removidas mediante un proceso de limpieza dejando cavidades con sitios de unión que pueden volver a unirse selectivamente con el analito o con un grupo de analitos estructuralmente relacionados (Mzukisi-Madikizela et al., 2018).

El objetivo de este trabajo fue desarrollar polímeros de impresión molecular mediante tres diferentes técnicas para su uso posterior en la determinación de carbamazepina en aguas residuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo la síntesis de MIPs y NIPs (misma metodología que los MIPs pero sin presencia de plantilla) por tres diferentes métodos, siguiendo el método propuesto por Díaz de León-Marínez et al. (2017): i) Emulsión, ii) Bulkeo y iii) Co-precipitación.

Los reactivos usados para la polimerización fueron metacrilato de sodio (NaMA) como monómero, el agente entrecruzante fue etilenglicol dimetilacrilato (EDGMA), se usó azobisisobutironitrilo (AIBN) como iniciador y tolueno como porógeno. La plantilla utilizada en el caso de los MIPs fue carbamazepina. Todos adquiridos de Sigma-Aldrich.

Se realizaron tres síntesis de polimerización (Figura 2):

- i) Emulsión. Se elaboró la mezcla orgánica, la molécula plantilla (200 mg) y el monómero (200 mg) se mezclaron y fueron disueltos en metanol (2 mL) y en el porógeno (4 mL). Se agregó el entrecruzante (1 mL) y el iniciador (150 μL) a esta mezcla. En un matraz de fondo plano con agitación magnética se disolvió alcohol polivinílico (PVA, 1.55 g) y dodecilsulfato de sodio (SDS, 0.1078 g) en 75 mL de agua caliente, en una atmósfera inerte de nitrógeno, después se selló con un tapón de goma. El matraz se colocó en un baño de glicerina a 65 °C y la mezcla orgánica fue añadida gota a gota a través del tapón con ayuda de una jeringa. Se mantuvo la temperatura y la agitación durante 24 h. Al finalizar la reacción, se realizó una serie de 10 lavados con agua caliente a las partículas esféricas obtenidas, centrifugando a 500 rpm durante 5 min, para eliminar el PVA y el SDS. Este procedimiento fue el mismo para el NIP, sin agregar CBZ.
- ii) Bulkeo. La molécula plantilla (200 mg) se mezcló con el monómero (200 mg) en un matraz Erlenmeyer esmerilado con tapón de 25 mL mediante agitación magnética. A lo anterior se agregó el porógeno (4 mL) y metanol como disolvente (2 mL) aún con agitación, por último, el agente entrecruzante (1 mL) y el iniciador (150 μL) fueron adicionados. Antes de la polimerización, la solución se burbujeó con nitrógeno y se selló con el tapón. La reacción se llevó a cabo en un baño de glicerina a 65 °C, sin agitación, durante 24 h. Los polímeros obtenidos requirieron de una etapa de triturado.
- iii) Co-precipitación. Esta polimerización se realizó con las mismas condiciones experimentales que la polimerización por bulkeo pero la cantidad de porógeno y disolvente añadido fue 5 veces mayor. No se dio un tratamiento posterior a los polímeros obtenidos.

Posterior a la síntesis, se efectuó la limpieza de MIPs y NIPs con el fin de extraer la molécula plantilla, liberando así los sitios de unión selectivos. La limpieza consistió en una extracción soxhlet, utilizando como disolvente de limpieza



Figura 2. Métodos de polimerización. a) Emulsión. b) Bulkeo. c) Co-precipitación.

una solución de HCl en metanol 0.1 M durante 3 días, cambiando la solución cada 24 h. Después de este procedimiento los polímeros se dejaron secar y se colocaron en un desecador.

Para determinar si los MIPs aún contenían CBZ se agregaron 10 mg en 4.5 mL de solución para elución. La solución de elución consiste en 30% metanol grado HPLC y el otro 70% en un buffer de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) 50 mM a pH de 4.5. Después de 10 min de agitación, el líquido se filtró con acrodiscos de nylon de 0.22 μm .

La medición de CBZ en las muestras se realizó utilizando un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) Agilent 1260 Infinity Series con el método previamente descrito por Díaz de León-Martínez et al. (2017) con una columna Zorbax Eclipse XDB-C18, a temperatura ambiente (25 °C), la fase móvil utilizada fue Metanol: Acetonitrilo: Agua en una relación 25.25:50 en 10 minutos, con un flujo de 1 mL/min y un volumen de inyección de 20 μL ; se utilizó también un detector UV con arreglo de diodos (DAD) y se cuantificó el compuesto de interés a 280 nm. Los datos de la cromatografía fueron obtenidos con el software ChemStation.

Se elaboró una curva de calibración, con el fin de conocer la concentración de analito en las muestras, a partir de una solución CBZ 1000 ppm en metanol, de ésta se obtuvo una solución de 10 ppm de la cual se hicieron los estándares de 200 ppb, 400 ppb, 600 ppb, 800 ppb y 1000 ppb. Siendo 200 ppb el nivel mínimo de detección del método cromatográfico.

RESULTADOS

Se obtuvieron diferentes polímeros por distintos métodos de polimerización, tres MIPs y tres NIPs elaborados por emulsión, bulkeo y co-precipitación.

Cada par de MIP y NIP elaborados por el mismo método contó con las mismas características entre sí. Los polímeros por emulsión fueron un polvo fino con textura uniforme que en el caso del MIP y NIP tuvo un color blanquecino; los sintetizados por bulkeo tuvieron una apariencia gomosa, el MIP adquirió un color amarillento mientras que el NIP fue completamente blanco, y los elaborados por co-precipitación contaron con una apariencia gelatinosa, de igual manera que en los otros polímeros, el MIP fue de color amarillo y el NIP de color transparente. Se concluye que el color de los MIPs se debe a la presencia de CBZ.

La CBZ presenta un tiempo de retención de alrededor de 9 min (Figura 3) analizada con las condiciones descritas.

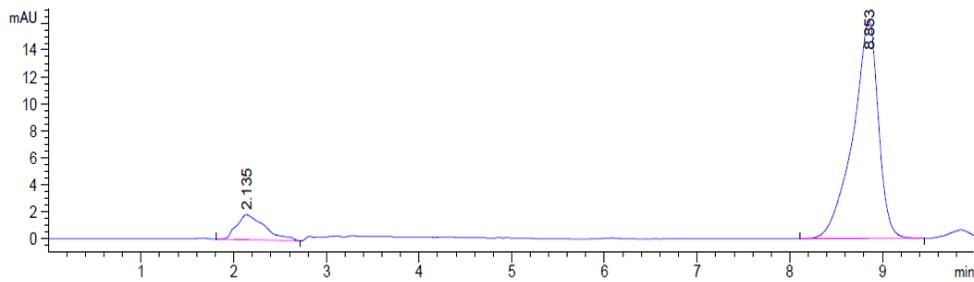


Figura 3. Cromatograma CBZ

El análisis de los MIPs después de la limpieza indica que no hay presencia de este compuesto en los realizados por emulsión y bulqueo (Figura 4), sin embargo, el MIP de co-precipitación aún mostro el pico de retención de la CBZ. Esto sugiere que al no recibir ningún tratamiento posterior que haga más uniforme y de menor tamaño al polímero obtenido podría ser más difícil la eliminación de la plantilla.

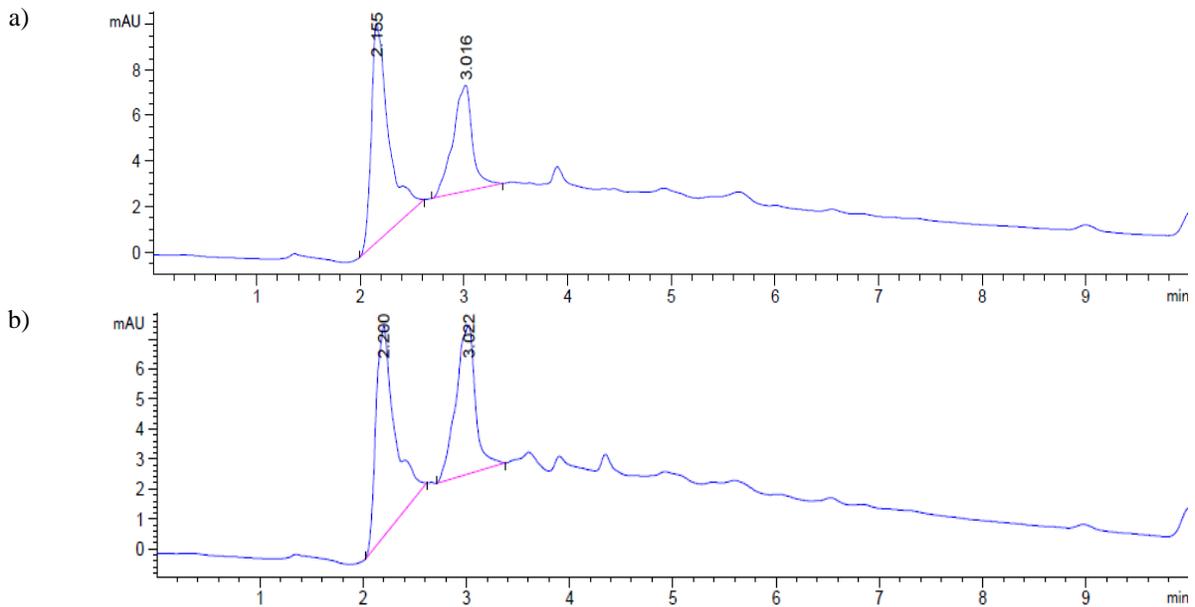
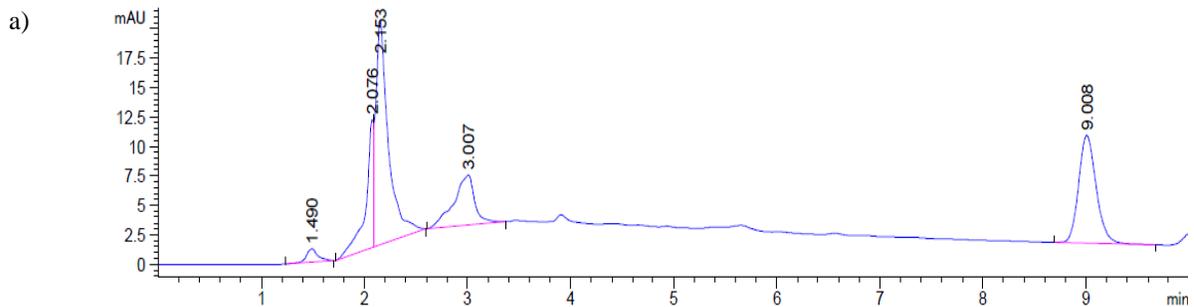


Figura 4. Cromatogramas de MIPs después de limpieza. a) Emulsión; b) Bulqueo

Por lo anterior, el MIP de co-precipitación volvió a pasar 3 días más en la etapa de limpieza, y al analizarse nuevamente no se encontró el pico de retención de CBZ (Figura 5).



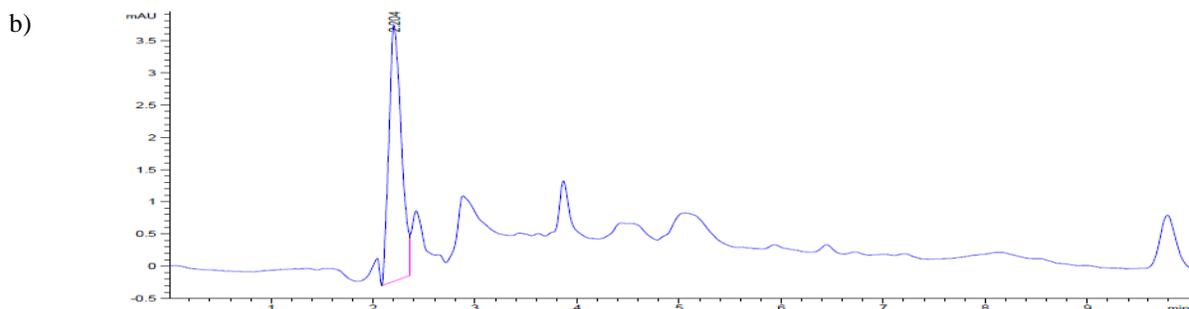


Figura 5. MIP de co-precipitación después de limpieza. a) Primer limpieza; b) Segunda limpieza.

Debido a que en los MIPs se encontraron libres de la molécula plantilla, es posible proceder a ensayos para conocer el tipo, número y distribución de los sitios de unión formados.

CONCLUSIÓN

Este trabajo muestra la síntesis de tres polímeros impresos, mediante polimerización por radicales libres, para reconocer al compuesto carbamazepina. Se han aplicado tres métodos diferentes de polimerización. Los polímeros obtenidos por cada método mostraron diferencias estructurales. Al comparar MIP y NIP se observó diferencias en la coloración de estos, siendo amarillenta para los MIPs y blanquecina para los NIPs. La efectividad de la limpieza del material depende en gran parte de la uniformidad y tamaño del polímero.

BIBLIOGRAFÍA

ANDREOZZI, R., MAROTTA, R., PINTO, G. POLLIO, A. (2002). “Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity” en *Water Research*, Núm 36, [pp. 2869-2877].

CLARA, M., STRENN, B., KREUZINGER, N. (2004). “Carbamazepine as a posible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration” en *Water Research*, Núm 28, [pp. 947-954].

DÍAZ DE LEÓN, L., RODRÍGUEZ, M., OCAMPO, R., GUTIÉRREZ, J.M., DÍAZ, F., BATRES, L., & FLORES, R. (2017). “Synthesis and Evaluation of a Molecularly Imprinted Polymer for the Determination of Metronidazole in Water Samples” en *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Núm 100, [pp. 2249-2256].

HAFIZ ROZAINI, M. N., YAHAYA, N., SAAD, B., KAMARUZAMAN, S., MOHAMAD HANAPI, N. S. (2017). “Rapid ultrasound assisted emulsification micro-solid phase extraction base don molecularly polymer for HPLC-DAD determination of bisphenol A in aqueous matrices” en *Talanta*, Núm. 171, [pp. 242-249].

HASSANINEJAD-DARZI, S. K., SHAJIE, F. (2018). “Simultaneous determination of acetaminophen, pramipexole and carbamazepine by ZSM-5 nanozeolite and TiO₂ nanoparticles modified carbón paste electrode” en *Materials Science & Engineering C*, Núm 91, [pp. 64-77].

MZUKISI MADIKIZELA, L., TAWANDA TAVENGWA, N., CHIMUKA, L. (2018). “Applications of molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs and analgesics from environmental waters and biological samples” en *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Núm. 147, [pp. 624-633].

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer al Dr. Rogelio Flores Ramírez por brindarle la oportunidad de trabajar con él mediante el programa del Verano de la Ciencia 2018 y también a su equipo de trabajo, especialmente a la M. C. Lorena Díaz de León Martínez por todo el apoyo durante la estancia.

FISIOLOGÍA DE LA GLÍA EN MODELOS MURINOS DE AUTISMO

María José Rodríguez Hernández¹, Francisco Emmanuel Labrada Moncada², Daniel Reyes Haro².

RESUMEN

El cerebelo está involucrado en el control de los movimientos, la coordinación, el equilibrio y funciones cognitivas. La sustancia blanca del cerebelo contiene axones y células gliales, con actividad de proliferación durante la primera semana del desarrollo postnatal. El valproato (VPA) es un fármaco antiepiléptico que, suministrado en la etapa prenatal, afecta la proliferación celular y puede inducir autismo. Este trastorno se caracteriza por la disfunción social, comportamientos repetitivos e intereses restringidos. El objetivo fue determinar si la exposición prenatal al VPA altera la proliferación celular en la sustancia blanca del cerebelo durante el desarrollo postnatal temprano (P5-P21). Para ello se inyectaron ratones hembras CD-1 en el día de gestación E12.5 con VPA (500 mg/kg). Se inyectaron 55 crías macho en el día postnatal (P) P5, P9, P13, P17 y P21, con EdU (160 mg/kg). Después, las crías se perfundieron de forma intracardiaca para fijar y extraer los tejidos, se crioprotegieron y se cortaron 3 veces (40 μ m) por cada animal. Se realizó la Reacción de Clic (EdU y Alexa fluor azida 594), se contratiñó con DAPI y se tomaron fotografías por microscopia de fluorescencia para la cuantificación celular. Los resultados mostraron que la exposición prenatal de VPA redujo la tasa de proliferación celular (de $1363 \pm 54 / \text{mm}^2$ control a $1168 \pm 58 / \text{mm}^2$ VPA) comparando el grupo control en el grupo tratado con VPA en la edad P5, una disminución en el número de núcleos totales en las edades P9 ($3056 \pm 136 / \text{mm}^2$ control, $1806 \pm 174 / \text{mm}^2$ VPA), P17 ($1041 \pm 70 / \text{mm}^2$ control, $625 \pm 77 / \text{mm}^2$ VPA), y P21 ($674 \pm 63 / \text{mm}^2$ control, $128 \pm 40 / \text{mm}^2$ VPA) y una variación mayor en la relación de células en proliferación y núcleos totales al comparar el grupo control con en el grupo tratado con VPA en la edad P9 ($403 \pm 038 / \text{mm}^2$ control, $0.78 \pm 0.19 / \text{mm}^2$ VPA). Se concluyó que la exposición prenatal al VPA disminuye la proliferación celular en la sustancia blanca del cerebelo.

ABSTRACT

The cerebellum is involved in the control of movements, coordination, balance and cognitive functions. The composition of cerebellar white matter is mainly glial cells and axons. VPA is an antiepileptic drug that affects cell proliferation and has been shown to induce autism when administered prenatally. This disorder is characterized by social dysfunction, repetitive behaviors and restricted interests. The aim of this study was to test if prenatal exposure to VPA modifies cellular proliferation in the cerebellar white matter throughout early postnatal development (P5-P21). CD-1 pregnant mice were injected with VPA (500 mg/kg) on P12.5 day. We used 55 male pups and injected them with EdU (160 mg/kg), an intracardiac perfusion was performed to fix and extract the tissues, then they were cryoprotected and 3 cuts (40 μ m) were made for each animal. The Clic Reaction was performed (EdU and Alexa fluor azide 594), contrasted with DAPI and photographs were taken by fluorescence microscopy for cell quantification. The results showed that prenatal VPA exposure reduced the rate of cell proliferation (from $1363 \pm 54 / \text{mm}^2$ control to $1168 \pm 58 / \text{mm}^2$ VPA) between the control group and the VPA group at age P5, a decrease in the number of total cores in ages P9 ($3056 \pm 136 / \text{mm}^2$ control, $1806 \pm 174 / \text{mm}^2$ VPA), P17 ($1041 \pm 70 / \text{mm}^2$ control, $625 \pm 77 / \text{mm}^2$ VPA) y P21 ($674 \pm 63 / \text{mm}^2$ control, $128 \pm 40 / \text{mm}^2$ VPA) and a greater variation in the ratio of proliferating cells and total nuclei between the control group and the VPA group at age P9 ($403 \pm 038 / \text{mm}^2$ control, $0.78 \pm 0.19 / \text{mm}^2$ VPA). We concluded that prenatal exposure to VPA decreased cell proliferation in the white matter of the cerebellum.

Palabras Clave: Cerebelo, sustancia blanca, valproato, proliferación celular, desarrollo postnatal temprano

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de las Campanas, Niños Héroes, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, majose0880@gmail.com ² Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Neurobiología Molecular y Celular. Instituto de Neurobiología, Boulevard Juriquilla 3001, C.P: 76230, Santiago de Querétaro, Querétaro, dhoro@unam.mx.

INTRODUCCION

El cerebelo es un órgano ubicado en la región del encéfalo por debajo del lóbulo occipital y temporal de la corteza cerebral que está implicado en el control voluntario de los movimientos de las extremidades, el control motor ocular, el equilibrio, la coordinación y las funciones cognitivas superiores no motoras. Esta estructura contiene tres capas corticales y una capa de sustancia blanca. La capa más externa es la capa molecular que contiene las arborizaciones dendríticas de las Células de Purkinje, interneuronas en cesta y estrelladas. La capa intermedia es la capa de Células de Purkinje en donde se encuentran las neuronas del mismo nombre y la glía de Bergmann. La capa más interna es la granular que comprende células granulares y células de Golgi. La sustancia blanca está compuesta por axones y células gliales (Salman, 2016). En las primeras semanas del desarrollo postnatal se encuentran poblaciones heterogéneas de células gliales en la sustancia blanca del cerebelo; una fracción de las células gliales es neurogénica y produce interneuronas GABAérgicas durante una etapa restringida del desarrollo postnatal temprano (P2-P12). En P18, los progenitores neuronales alcanzan su destino final en la capa molecular y dejan de aparecer en la sustancia blanca. Finalmente, al llegar a P20, los precursores salen del ciclo celular y migran ventralmente a través de las fibras de glía de Bergmann para poblar la capa granular interna (Silbereis, 2009). El valproato (VPA) es un fármaco antiepiléptico que además puede ser administrado en pacientes con migraña y trastorno bipolar. La administración clínica del VPA durante el embarazo está asociado con un incremento en la incidencia de autismo. El mecanismo de acción de VPA involucra una modulación de la neurotransmisión y regula la expresión génica a través de la remodelación (epigenética) de la cromatina mediante la inhibición de la actividad de la histona desacetilasa 1 (HDAC), puede modificar el nivel de proliferación celular, migración y diferenciación de un tipo celular a nivel cerebelar (Pérez-Puchoulen, 2016). El autismo es un trastorno del neurodesarrollo y se caracteriza por la disfunción social, comportamientos repetitivos e intereses restringidos. Estudios postmortem en individuos diagnosticados con autismo reportaron alteraciones consistentes en los lóbulos 7 y 10 del cerebelo (específicamente en las regiones crus I y crus II que constituyen el lóbulo 7), que incluían una densidad reducida de células de Purkinje (Skefos et al., 2014). Crus I y II son conocidos por conectarse recíprocamente con redes corticales prefrontales que modulan el comportamiento social y la planificación del comportamiento (Ito, 2008; Schmahmann, 2010). El modelo de VPA reproduce estas alteraciones (Christianson et al., 1994; Ingram et al., 2000; Snow et al., 2008). En consecuencia, el modelo de exposición prenatal al valproato puede ayudar a comprender las alteraciones que se producen en el sistema nervioso central en etapas tempranas del desarrollo postnatal, previo al diagnóstico del autismo. En este estudio se investigó si el VPA modifica la tasa de proliferación celular de la sustancia blanca del cerebelo durante el desarrollo postnatal temprano.

Hipótesis: La exposición prenatal al VPA modificará la tasa de proliferación celular en la sustancia blanca del cerebelo.

Objetivo: Investigar si la exposición prenatal al VPA modifica la tasa de proliferación celular en la sustancia blanca del cerebelo.

METODOLOGIA

Se utilizaron dos grupos de ratones hembras preñadas CD-1 del día postnatal 12.5 (P12.5) (UNAM, Querétaro), para el tratamiento con VPA y control. El grupo tratado fue inyectado intraperitonealmente con una solución salina (0.9%) que incluía VPA (500 mg/kg), mientras que al grupo control sólo se le inyectó solución salina. Se utilizaron 55 (N) crías machos y se analizaron 156 tejidos (n). Las edades postnatales fueron P5, P9, P13, P17 y P21 de ambos grupos. Después, cada ratón fue inyectado con 160mg/kg de EdU (Sigma-Aldrich).

Histología

Los ratones se anestesiaron con pentobarbital sódico por vía intraperitoneal. Después se realizó la disección y la perfusión intracardiaca con amortiguador fosfato salino (PBS) al 4% y paraformaldehído (PFA) al 4% para fijar los tejidos. Se extrajo el encéfalo y se conservó por 24 hrs en paraformaldehído al 4% para evitar su deterioro. Se transfirió a medios de sacarosa al 10%, 20% y 30%, cada uno por 72h con el objetivo de crioproteger el tejido. Para realizar los cortes, los tejidos fueron congelados (Tissue Tech O.C.T.) a una temperatura de -20°C por 24 hr. Se

realizaron cortes sagitales de 40 μm en el criostato, se seleccionaron 3 tejidos por animal que contenían el vermis y hemisferios del lóbulo VII y fueron almacenados a 4°C para su posterior uso.

Reacción clic

Para llevar a cabo la reacción clic que revela la marca de EdU, los tejidos se lavaron 3 veces con PBS al 4% cada uno durante 10min y se incubaron 20 min en la solución “coctel” que contenía 1mM de sulfato de cobre (Sigma-Aldrich), 100mM de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich) y 0.1mM de Alexa fluor azida 594 (Invitrogen) en 100mM de PBS. Posteriormente se contratiñeron con DAPI, y se montaron sobre portaobjetos usando Vecta-Shield H1000 (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), Todo el proceso se realizó a temperatura ambiente.

Microscopía de Fluorescencia

Los cortes histológicos fueron examinados en un microscopio de epifluorescencia (AxioImager Z1) con cámara AxioCam MRm Zeiss y objetivo 25X. La obtención de las imágenes se realizó con el software Axiovision. La longitud de onda de excitación del fluoróforo Alexa 594 fue de 561 nm y la de emisión fue de 617 nm. La longitud de onda de excitación para DAPI fue de 358 nm y de emisión de 461nm. Una vez obtenidas las imágenes, fueron procesadas en el software ZEN 2.3 lite para ajustar de forma lineal el balance de blancos. Para seleccionar el área de interés a estudiar se procesaron las imágenes ajustadas en el software Image J. Las secciones estudiadas se tomaron de la intersección de las regiones crus1 y crus2 del lóbulo 7 del cerebelo con un tamaño de 360x144 pixeles.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó con la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) seguida de una prueba de Tukey post-hoc, previamente analizada con una prueba de Shapiro para determinar la distribución normal de la población. Los datos están expresados como el promedio \pm error estándar de la muestra (S.E.M.) y fueron graficados con el software OriginLab 8.0.

RESULTADOS

La exposición prenatal al VPA reduce la tasa de proliferación en la sustancia blanca del cerebelo.

Las estimaciones de proliferación celular fueron del día P5 al P21 debido al proceso de maduración y migración de células precursoras, desde la sustancia blanca hacia las tres capas corticales del cerebelo (Silbereis, 2009). Nosotros encontramos que la proliferación celular del grupo control en el día P5 fue significativamente mayor ($1363 \pm 54 / \text{mm}^2$) con respecto al grupo tratado con VPA ($1168 \pm 58 / \text{mm}^2$) ($p < 0.05$; Fig. 1. C, F,O). La proliferación celular en los días P9, P13, P17 y P21 no fue significativamente diferente entre el grupo control y el grupo tratado con VPA. Estos resultados indican que la exposición prenatal al VPA redujo la tasa de proliferación celular.

CTL-P5 A

VPA-P5 B

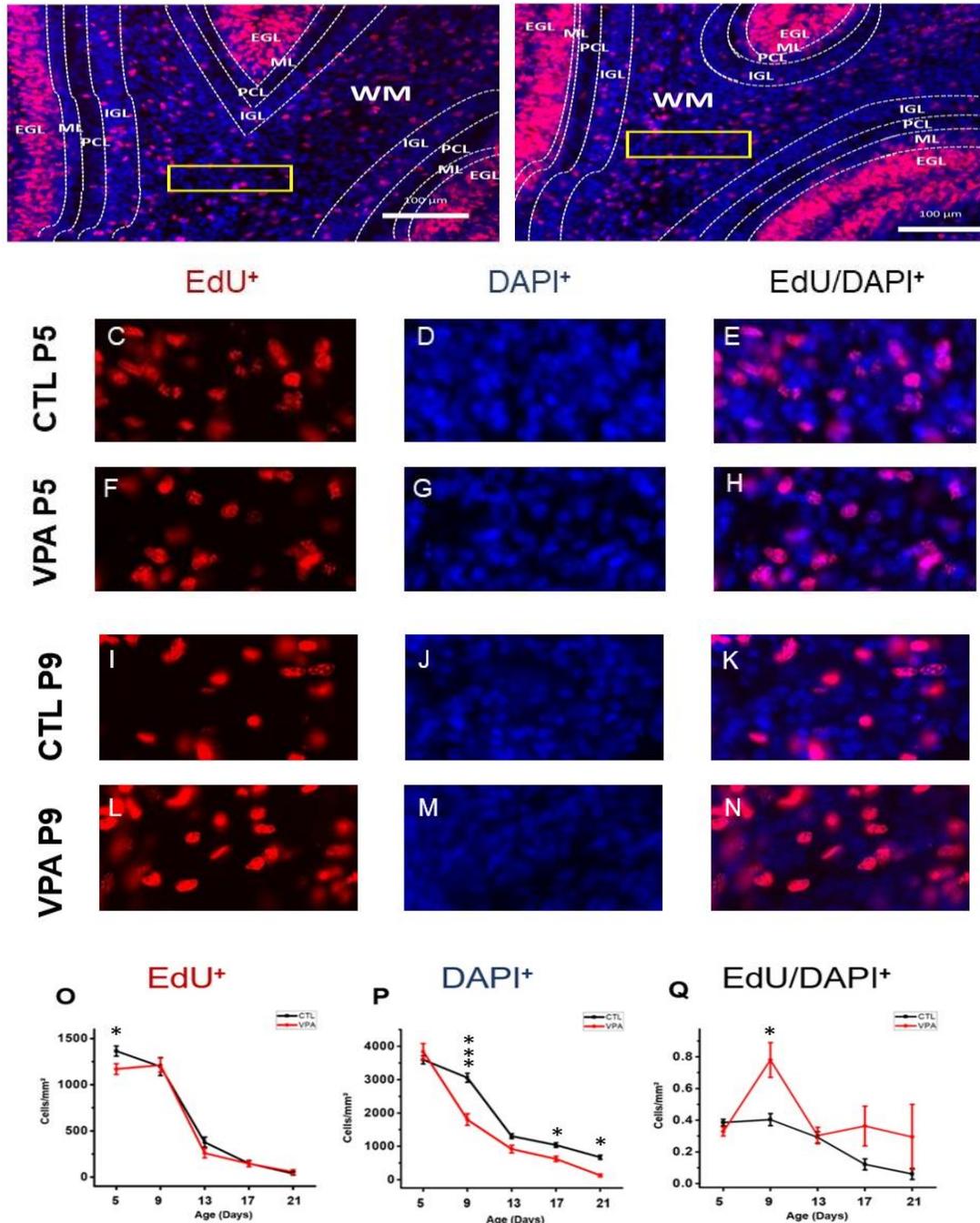


Figura 1. Comparación del efecto del grupo VPA sobre el control en la proliferación celular (EdU), núcleos totales (DAPI), y en la relación proliferación celular y núcleos totales. Fotografías del cerebelo 25X en P5 control y VPA, el cuadro amarillo indica la sección de interés estudiada (A y B). Células analizadas en las regiones de interés para P5 y P9 tratadas y con su control (C-N). Las células en color rojo indican las células en proliferación marcadas con EdU (C, F, I, L). Las células en color azul indican los núcleos celulares marcados con DAPI (D, G, J, M). Las células rosas y azules indican la proporción entre células en proliferación y núcleos celulares presentes (E, H, K, N). Gráfica que representa la cantidad de células en proliferación marcadas con EdU ($p=0.0107$) (O). Gráfica que representa la cantidad núcleos. ($p=5.25864E-10$) (P). Gráfica que representa la proporción de proliferación celular con los núcleos totales ($p=0.00561$) (Q). Cantidad de células y núcleos (células/mm²) en las 5 edades estudiadas (días). EGL: capa granular externa, ML: capa molecular, PCL: capa de células de Purkinje, IGL: Capa granular interna, WM: sustancia blanca,

CTL: Control, VPA: valproato, EdU: 5-etinil-2-desoxiuridina, DAPI: 4' 2'diamino fenilindol. Diferencia significativa (*) $p < 0.05$, () $p < 0.001$, (***) $p < 0.0001$.**

La exposición prenatal al VPA reduce el número de núcleos totales en la sustancia blanca del cerebelo.

Se encontró que el número de núcleos totales entre el grupo control y el grupo tratado con VPA, presentó diferencia significativa en el día P9 ($3056 \pm 136/\text{mm}^2$ control, $1806 \pm 174/\text{mm}^2$ VPA; $p < 0.0001$), P17 ($1041 \pm 70/\text{mm}^2$ control, $625 \pm 77/\text{mm}^2$ VPA; $p < 0.05$), y P21 ($674 \pm 63/\text{mm}^2$ control, $128 \pm 40/\text{mm}^2$ VPA; $p < 0.05$) (Fig. 1. P). En P5 y P13 no se encontró diferencia significativa entre el grupo control y grupo tratado con VPA. Los resultados indican que la exposición prenatal al VPA disminuyó el número de núcleos totales en la sustancia blanca del cerebelo.

La relación proliferación celular y número de núcleos totales disminuye en la sustancia blanca del cerebelo.

Nuestro siguiente paso fue realizar un cociente entre el número de células en proliferación celular y el número de núcleos totales. La relación que presentó una diferencia significativa fue en la edad P9 ($403 \pm 038/\text{mm}^2$ control, $0.78 \pm 0.19/\text{mm}^2$ VPA; $p < 0.05$) (Fig. 1. Q). Por otro lado, en las edades P17 y P21 se observó un comportamiento similar a P9 pero no el suficiente para delimitarlo como diferencia significativa. En cuanto a las edades P5 y P13, la relación entre el control y VPA fue parecida sin obtener diferencia significativa.

DISCUSION

La exposición prenatal al VPA ha sido implicado en autismo en humanos y reproduce malformaciones funcionales y morfológicas asociadas con autismo inducido en roedores (Ingram et al., 2000). Por lo tanto, un modelo animal expuesto prenatalmente al VPA es considerado como modelo animal de autismo. Estudios previos han reportado que en el autismo existe una disminución significativa en el volumen del cerebelo, con interés en el lóbulo posterior de animales que han sido expuestos a VPA a comparación con el grupo control (Snow, 2018). Este hecho se puede relacionar con los resultados obtenidos en la presente investigación, debido a que, de manera global, los valores de la proliferación celular y el número de núcleos totales en el grupo tratado con VPA fueron menores a comparación con el control, lo que se esperaría en volúmenes pequeños del cerebelo. La inhibición de HDAC por la exposición prenatal al VPA, está involucrado en la disminución de la expresión de numerosas proteínas en el cerebelo. Estos cambios pueden alterar la maduración de las neuronas y glía (Kawanai et al., 2016). En nuestro estudio se observó una disminución en la proliferación celular en el grupo tratado con VPA al compararlo con el grupo control en la edad P5. Sin embargo, en la edad P9 ese valor aumentó, aunque no de manera significativa respecto al control. Esto podría estar implicado por consecuencia en un retardo en la maduración de las células precursoras, sin embargo, disminuye drásticamente en la edad P13. El cociente entre la proliferación celular y el número de núcleos totales se estudió con la finalidad de evidenciar el número de células que se estaban dividiendo a comparación con el número total de células (núcleos totales) que ya se encontraba en la sustancia blanca. Al analizar los resultados, en el día P9 hubo un incremento en esta relación en el grupo tratado con VPA, sin embargo, al llegar al día P13 este valor se redujo a más de la mitad, es decir, la proliferación celular se detuvo de manera acelerada. Este resultado podría ser motivo de realizar diversos estudios en futuras investigaciones. Los resultados aquí descritos apoyan la afirmación de que la exposición prenatal al VPA en modelos murinos disminuye la tasa de proliferación celular y disminuye el número de núcleos totales.

CONCLUSION

La exposición prenatal al VPA disminuyó la tasa de proliferación celular en la edad P5 y el número de núcleos totales en la sustancia blanca del cerebelo murino en las edades P9, P17 y P21. Por otra parte, la relación entre la proliferación celular y núcleos totales incrementó y se redujo de manera acelerada de la edad P9 a P13. Se necesitan más estudios para conocer la causa de ese comportamiento.

BIBLIOGRAFIA

Ingram JL, Peckham SM, Tisdale B, Rodier PM. (2000). Prenatal exposure of animals to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism en *Neurotoxicol Teratol* , Vol XXII, Mayo-Junio, [pp. 319-324].

Ito M. (2008) Control of mental activities by internal models in the cerebellum en *Nat Rev Neurosci* , Núm 9, Vol IV: Abril, [pp. 304-313].

Kawanai T, Ago Y, Watanabe R, Inoue A, Taruta A, Onaka Y, Hasebe S, Hashimoto H, Matsuda T, Takuma K. (2016) Prenatal exposure to histone deacetylase inhibitors affects gene expression of autism-related molecules and delays neuronal maturation en *Neurochem Res*, Núm 10, Vol XL1: Abril, [pp. 2574–2584].

Pérez-Puchoulen, M., Miquel, M., Saft. P., Brug. B., Toledo, R., Hernandez. M. & Manzo. J. (2016). “Prenatal exposure to sodium valproate alters androgen receptorexpression in the developing cerebellum in a region and age specificmanner in male and female rats” en *International Journal of Developmental Neuroscience*, Núm 5, Octubre, [pp-46-52].

Salman, M. S., & Tsai, P. (2016). “The role of the pediatric cerebellum in motor functions, cognition and behavior: a clinical perspective” en *Neuroimaging Clinics of North America*, Núm. 26, Vol. III, Agosto, [pp. 317–329].

Schmahmann JD. (2010). The Role of the Cerebellum in Cognition and Emotion: Personal Reflections Since 1982 on the Dysmetria of Thought Hypothesis, and Its Historical Evolution from Theory to Therapy en *Neuropsychology Review* Núm 20, Vol V, Marzo, [pp. 236-260].

Silbereis, J., Cheng, E., Ganat, Y., Ment, L., Vacarrino , F. (2009). “Precursors with Glial Fibrillary Acidic Protein Promoter Activity Transiently Generate GABA Interneurons in the Postnatal Cerebellum” en *Stem Cells*, Núm 27, [pp.1152-1163].

Snow WM, Hartle K, Ivanko TL.(2008). Altered morphology of motor cortex neurons in the VPA rat model of autism en *Dev Psychobiol*, Núm 50, Vol VII, Septiembre, [pp. 633-639].

“LOCALIZACIÓN DEL HONGO *Beauveria bassiana* EN SU ASOCIACIÓN CON LA PLANTA *Medicago sativa*”.

Noriega Vargas María Paula¹, Areli Durón-Castellanos², Piña Torres Iván Horacio², González Hernández Gloria Angélica², Padilla Guerrero Israel Enrique².

RESUMEN

Los hongos del género *Beauveria* son entomopatógenos, pueden interactuar con las plantas colonizando las raíces. La planta *Medicago sativa* es considerada la principal especie forrajera que se cultiva en el mundo y en México. En el presente trabajo se realizaron interacciones en condiciones *in vitro* para determinar el nivel de asociación y efectos entre la planta *M. sativa* y diferentes cepas del hongo *Beauveria bassiana* aisladas en el estado de Guanajuato.

ABSTRACT

The fungi of the genus *Beauveria* are entomopathogenic, they can interact with the plants colonizing the roots. The *Medicago sativa* plant is considered the main forage species that is grown in the world and in Mexico. In the present work interactions were carried under *in vitro* conditions to determine the level of association and effects between the *M. sativa* plant and different strains of the *Beauveria bassiana* fungus isolated in the state of Guanajuato.

Palabras Clave: Interacción, Micorriza, Beauveria; Alfalfa, Fluorescencia.

INTRODUCCIÓN

Una simbiosis se define como una relación estrecha y persistente entre organismos de diferentes especies. Estas interacciones se clasifican en base al efecto que existe en los simbiosites: benéfico, perjudicial o no afectados por la asociación (1). La asociación establecida entre las raíces de las plantas y algunos grupos de hongos es conocida como micorriza y es una de las simbiosis más exitosas de la naturaleza. El término "endófito" fue acuñado por De Bary (1884) y se utiliza para definir hongos o bacterias que se encuentran dentro de tejidos vegetales asintomáticos. Varios géneros de entomopatógenos fúngicos se han aislado como endófitos en varias plantas diferentes (2).

Beauveria bassiana es un hongo entomopatógeno, con distribución mundial. Además de parasitar insectos, *B. bassiana* ha sido reportado como un hongo endofítico de varias especies de plantas (3) y se ha demostrado que protege las plantas contra patógenos. Entre las plantas con las que podría establecer *Beauveria* una asociación, se encuentra *Medicago sativa* (Alfalfa), que es una especie de planta herbácea, considerada la principal especie forrajera que se cultiva en el mundo. En México, cuenta con un rendimiento promedio nacional de 75.6 t de forraje verde por hectárea por año (4).

La promoción del crecimiento de plantas por del hongo *B. bassiana* han sido reportados, en este trabajo nosotros evaluamos, la existencia de colonización de hongo *B. bassiana* en la planta *M. sativa* y la promoción del crecimiento.

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Qro. mpaulanoriega@gmail.com

² Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Noria Alta S/N, Noria Alta, 36050 Guanajuato, Gto. ie.padillaguerrero@ugto.mx

METODOLOGÍA

Cepas y semillas utilizadas.

Se utilizaron las cepas STC3, AT5, UG4, UG1-2, RPV2 y LCP12 de *Beauveria bassiana*, pertenecientes a la Colección de Hongos Entomopatógenos del Laboratorio de Genética Molecular de Hongos, Universidad de Guanajuato, México. Se empleó la variedad de *Medicago sativa* “San Miguelito” (Semillas Berentsen®).

Esterilización de las semillas de *M. sativa*.

Las semillas se cubrieron con Ácido Fosfórico concentrado en un tubo Corning de 15 ml y se agitaron lentamente por 5 minutos. Posteriormente en esterilidad se decantó el ácido y se realizaron 8 lavados con agua destilada esteril, dejando secar las semillas en una caja Petri en campana de flujo laminar.

Ensayo *in vitro* de la interacción de *B. bassiana* con *M. sativa*.

En cajas de Petri con medio agar-agua fueron colocadas 10 semillas de *M. sativa* en línea recta y a 2 cm de distancia se inocularon 50 μ l a una concentración de 1×10^8 /ml de conidios de las cepas de *B. bassiana*. Las cajas se incubaron a 26 C en fotoperiodo de 16 h luz y 8 h oscuridad, por 10 días. Posteriormente se analizaron las interacciones en un estereoscópico Zeiss AX10 Zoom.V16 y utilizando el programa Zen Pro-2012 para observar la localización de los hongos en las raíces.

Evaluación de la asociación de *B. bassiana* con *M. sativa* utilizando una cepa reportera.

Derivado de los ensayos *in vitro*, se utilizó cepa STC3 de *B. bassiana* que expresa la proteína fluorescente mCherry, se inocularon las raíces de plantas de *M. sativa* de 10 días germinadas en agar-agua, mediante su inmersión en una suspensión de 1×10^7 /ml de conidios, siguiendo el proceso de interacción por 3 días utilizando un microscopio Nikon OPTIPHOT-2 equipado con iluminación fluorescente y el programa SPOT Advanced software versión 4.6.

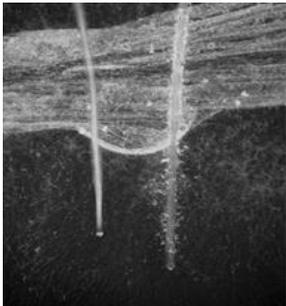
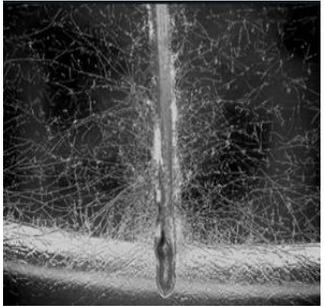
Ensayo de interacción en invernadero *B. bassiana* con *M. sativa*.

Para el ensayo de invernadero se utilizó como sustrato una mezcla de turba (Kekkilä) esterilizada en autoclave. La siembra se realizó en una charola de germinación. Se realizaron 14 interacciones por cepa, inoculando las semillas con 100 μ L de la suspensión de 1×10^8 conidios/mL. Los cultivos se dejaron crecer por espacio de 20 días durante el cual fueron regados diariamente con agua destilada (10 ml por planta). Posterior a este lapso las plantas fueron extraídas para determinar su peso seco, se deshidrataron en una estufa Lumina HEC-13 por 3 días a 50°C. Los datos fueron analizados estadísticamente usando el programa Statistica®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

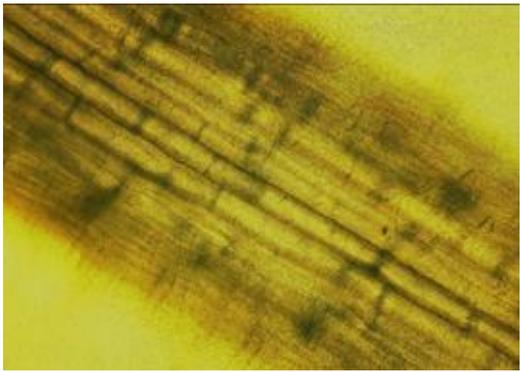
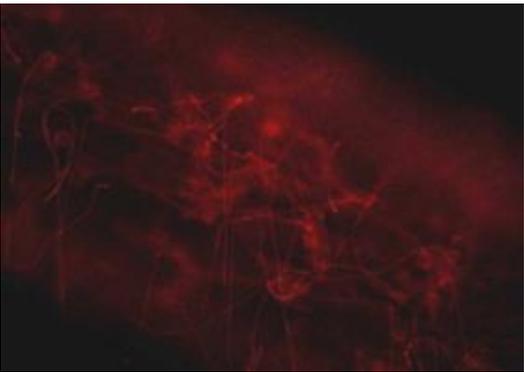
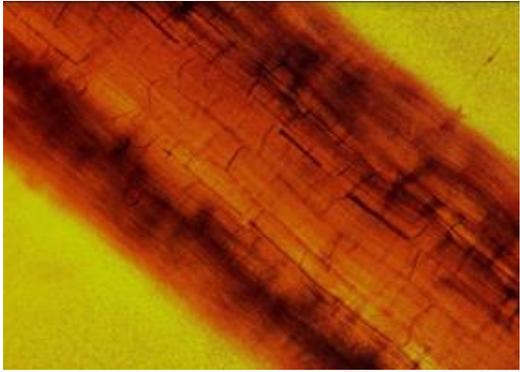
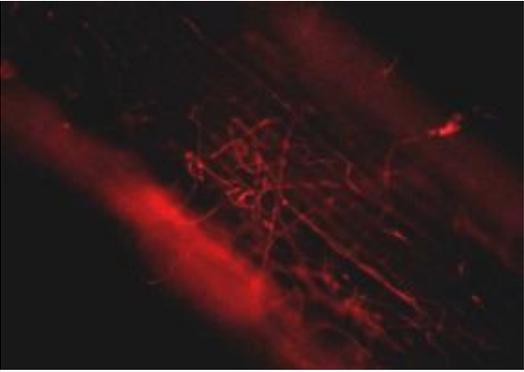
Se probaron diferentes cepas de *B. bassiana* en un ensayo cualitativo *in vitro*, en el cual se observó que, aunque todas las cepas mencionadas en la metodología fueron aisladas y caracterizadas como pertenecientes a la especie *B. bassiana* no todas interaccionaron de la misma manera con la planta de alfalfa. En la Tabla 2 se puede observar que la cepa STC3 colonizó completamente la planta de Alfalfa, la cepa UG 1-2 colonizó débilmente algunas raíces y a otras raíces no y, por último, la cepa UG 4 no mostró interacción alguna con las raíces de la alfalfa. Las demás cepas utilizadas, mostraron colonización también.

Tabla 2.- Tabla comparativa de la interacción de las diferentes cepas de *B. bassiana* en asociación con *M. sativa* después de 10 días de cultivo *in vitro*.

Control	UG4	UG 1-2	STC3
			

Después de observar las diferentes interacciones se eligió la cepa STC3 para realizar los ensayos con una transformante reportera de esta cepa, la cual expresa la proteína fluorescente mCherry, ya que fue la que mayor colonización mostró en los ensayos cualitativos, en la Tabla 3 se muestra la asociación que hubo entre cepa reportera STC3-mCherry con *M. sativa* en un periodo de incubación de 3 días, observándose la germinación de las conidios del hongo y el inicio de la colonización de la raíz de las plantas.

Tabla 3.- Asociación de la cepa STC3 de *B. bassiana* expresando la proteína fluorescente mCherry con *M. sativa* después de 2 y 3 días de inoculación *in vitro*.

Tiempo	Campo Claro	Fluorescencia
2 días		
3 días		

Las micorrizas se caracterizan porque se asocian a las raíces de las plantas proporcionándole al hongo carbohidratos (azúcares, producto de su fotosíntesis) y un microhábitat para completar su ciclo de vida; mientras que el hongo, a su vez, le permite a la planta una mejor captación de agua y nutrimentos minerales con baja disponibilidad en el suelo (principalmente fósforo), así como defensa contra patógenos (5). Gracias a los ensayos *in vivo*, podemos determinar que no todas las cepas utilizadas de *B. bassiana* en este trabajo se asocian de igual manera con las raíces de la planta de alfalfa y que estas no promovieron el crecimiento vegetal, ya que no hubo diferencia estadísticamente significativa de las plantas inoculadas con las diferentes cepas con respecto al control, sin embargo, esta descrito que existe una transferencia de nitrógeno por parte del hongo *B. bassiana* a las plantas (6) y se predice que otros nutrimentos pueden estar intercambiando en esta interacción, por lo que nosotros hipotetizamos que el sustrato que utilizamos para la interacción en invernadero contiene los nutrientes suficientes que ocupan las plantas de *M. sativa* para su crecimiento y no se evidencia el efecto de las cepas de *B. bassiana* utilizadas en la interacción.

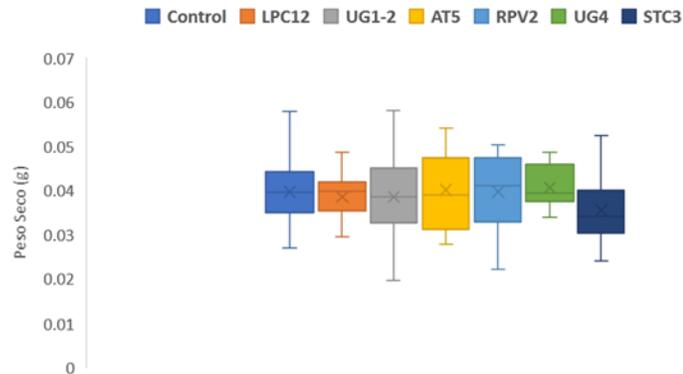


Fig. 1.- Grafico de cajas y bigotes del peso seco de *M. sativa*. Se muestra el peso seco obtenido de *M. sativa* en interacción con las diferentes cepas de *B. bassiana* respecto al control.

CONCLUSIONES

Las cepas de *B. bassiana* utilizadas en este trabajo tienen la capacidad de colonizar las raíces de *M. sativa*, pero esto no promovió el crecimiento de las plantas en las condiciones utilizadas. Mas experimentos necesitan realizarse para refutar o avalar estos resultados.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al programa de Veranos de la Investigación Científica de la Región Centro por la beca otorgada y a la Universidad de Guanajuato por el recibimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Paracer, S., Ahmadjian, V (2000). Symbiosis: an introduction to biological associations. 2nd edition. Oxford University Press.
- 2.- Vega F. (July 2008). Insect pathology and fungal endophytes. Journal of Invertebrate Pathology, 98: 277-279.
- 3.- Bonnie H. Ownley; Mary R. Griffin; William E. Klingeman; Kimberly D.Gwinna; J. Kevin Moultona; Roberto M. Pereira. (July 2008). Beauveria bassiana: Endophytic colonization and plant disease control. Journal of Invertebrate Pathology, 98: 1-13.
- 4.- Montemayor Trejo, J. A., Aguirre Aguiluz, H. W., Olague Ramírez, J., Román López, A., Rivera González, M., Preciado Rangel, P., & Yescas Coronado, P. (2010). Uso del agua en la alfalfa (*Medicago sativa*) con riego por goteo subsuperficial. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 2: 145-156.
- 5.- Camargo-Ricalde S, Manuel Montaña N, Rosa-Mera C, Montaña Arias S (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. Revista Digital Universitaria, 13: 1.
- 6.- Behie S, Jones s, Bidochka M (2014). Ubiquity of insect-derived nitrogen transfer to plants by endophytic insect-pathogenic fungi: an additional branch of the soil nitrogen cycle. Applied and environmental microbiology, 80: 1553-1560.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE $Zn_{(1-x-y)}Fe_xAl_yO$ PARA SU APLICACIÓN EN FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA

Marian Areli Taboada Padilla¹ y José Elías Pérez López²

RESUMEN

Se reporta la síntesis y caracterización de 4 materiales fotocatalizadores basados en ZnO, dopado a diferentes concentraciones de Fe^{3+} y Al^{3+} . Los resultados de las caracterizaciones muestran que después de cierto tiempo de calcinado, se obtiene el material de interés cristalizado de forma hexagonal zincita con tamaños de partícula de entre 32 y 10 nm, así como también sugiere que a mayor concentración de elementos de transición empleados como dopantes, disminuye el tamaño la misma.

ABSTRACT

Synthesis and characterization of 4 photocatalyst materials in ZnO, doped at different concentrations of Fe^{3+} and Al^{3+} is reported. The results of the characterization of the same after a certain time of calcining, shows that the material of interest is obtained in hexagonal zincite phase with particle size between 32 and 10 nm, also suggests that the higher concentration of transition elements used as dopants, decrease the size the same.

Palabras clave: Óxido de Zinc, Fotocatálisis, Dopaje; Nanopartículas.

INTRODUCCIÓN

La fotocatálisis es el proceso de oxidación avanzado, definido como la aceleración de una fotoreacción a través de la presencia de un material interaccionante con contaminantes, a través de un estado excitado o de la aparición de pares electrón-hueco, de manera que el catalizador generará reacciones de óxido-reducción que provocan la degradación y mineralización de la sustancia tratada. [1]

El óxido de Zinc (ZnO) es un cristal hexagonal que posee estructura cristalina wurtzita o zincita, utilizado como fotocatalizador debido a su eficiencia y baja toxicidad, además de poseer características como brecha de banda directa y ancha en la región del ultravioleta cercano, fuerte capacidad de oxidación y una elevada energía de enlace libre, que permite que los procesos de excitación persistan o no, a temperatura ambiente. [2]. Es un semiconductor de bajo costo con un band gap de 3,37 eV a temperatura ambiente. [3] Las propiedades de los nanocristales semiconductores, incluido el ZnO, dependen del tamaño, forma y composición del nanocristal. [4] Un enfoque para mejorar las propiedades del ZnO es el dopado con elementos de metal de transición. La incorporación de átomos dopantes de metales de transición introduce nuevos estados en la estructura de bandas de semiconductores y, por lo tanto afecta las propiedades del material. Se ha demostrado que el dopaje de ZnO con metales de transición como hierro (Fe), disminuye la energía de banda prohibida del semiconductor que eventualmente mejora su desempeño como fotocatalizador. [5]

En éste proyecto se realizó la síntesis y caracterización de $Zn_{(1-x-y)}Fe_xAl_yO$ utilizando diferentes concentraciones de dopantes (Fe^{3+} y Al^{3+}) y tiempos de calcinación (Tc) a fin de evaluar las propiedades fotocatalíticas de los compuestos sintetizados.

¹Universidad de Guanajuato, Lascuráin de Retana No. 5, Col. Centro, C.P. 36000, Guanajuato, Gto., MÉXICO, ma.taboadapadilla@ugto.mx

²Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Manuel Nava No.6 C.P.78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO, elias@ifisica.uaslp.mx; evillabona12@gmail.com

METODOLOGIA

- Síntesis y Caracterización

Se realizaron las síntesis del fotocatalizador utilizando como precursores Acetato de Zinc dihidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 99.6% pureza), cloruro férrico (FeCl_3 , 97% pureza) y nitrato de aluminio nonahidratado ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 98% pureza) en diferentes concentraciones, utilizando además como agente precipitante carbonato de sodio (Na_2CO_3).

Se disolvieron diferentes cantidades de los precursores con el objetivo de obtener $\text{Zn}(1-x-y)\text{Fe}_x\text{Al}_y\text{O}$ (donde $x=0, 3, 6$ % mol, $y=0, 1, 2$ % mol) en 800 mL de agua desionizada, posteriormente se adicionaron 0.1 g de NaCl y 200 μl de ácido oleico, bajo agitación magnética a 1000 rpm. El pH fue controlado entre 7.5-8.5 con una solución 0.5 M de Na_2CO_3 y ácido acético. El volumen se completa a 1 L. El matríz de reacción se colocó en reflujo con baño de aceite a 70°C por 6h. El producto obtenido fue recuperado y lavado 3 veces con agua y 3 con alcohol. Finalmente fue secado por 12h a 90 °C, y calcinado a temperaturas entre 600°C y 300°C por 4 horas.

Tabla 1. Concentraciones de dopantes utilizadas en la síntesis y temperatura de calcinación (T_c)

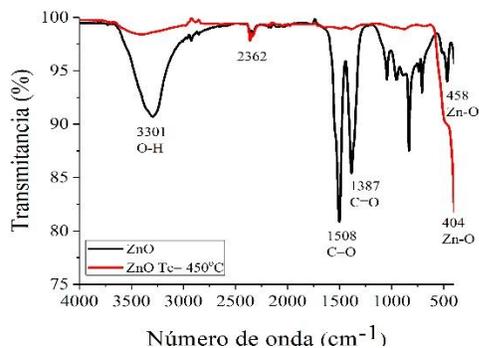
MUESTRA	% Fe	%Al	TC (°C)
1	3	1	450
2	0	0	450
3	6	1	300
4	6	2	450

A fin de comprobar las fases cristalinas y estructura de los productos, se realizó la caracterización de estos utilizando el Espectrómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier *Cary 660 de Agilent Technologies* en ATR de diamante, utilizando un rango de número de onda de $(4000-400) \text{ cm}^{-1}$ y un Difractómetro de Rayos X de *Brucker* con radiación de $\text{Cu-}\alpha_1=1,5406 \text{ nm}$. Posteriormente se realizaron estudios en Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) con el microscopio *Jeol JEM 1230*.

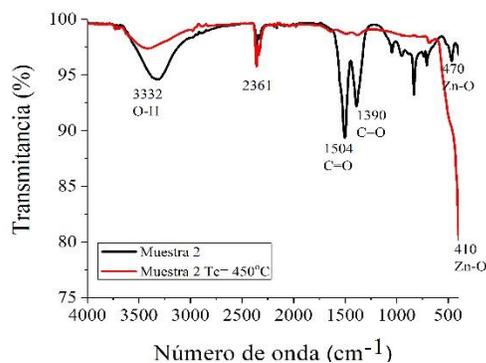
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- Espectroscopía Infrarroja

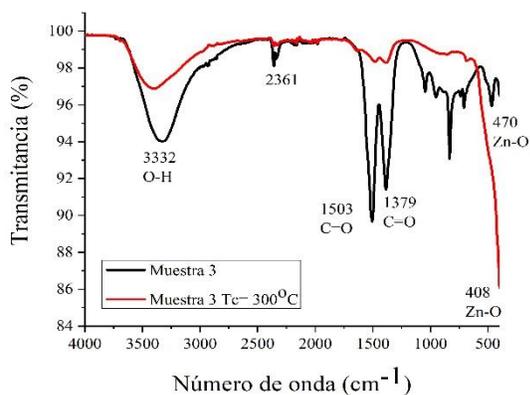
Se realizó el análisis por espectroscopía infrarroja de los diferentes catalizadores antes y después de calcinados, con la finalidad de identificar los diferentes grupos funcionales presentes.



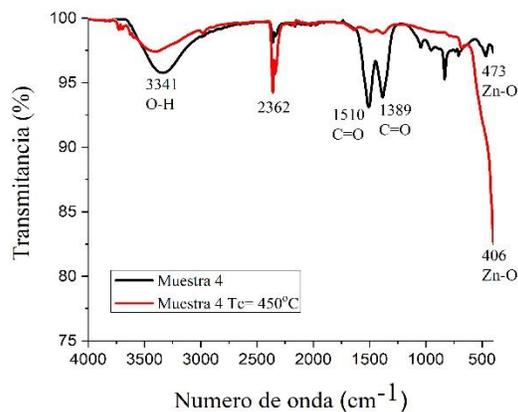
A) Espectro Infrarrojo de ZnO



B) Espectro Infrarrojo de ZnO:Fe 3%,Al 1%



C) Espectro Infrarrojo de ZnO:Fe 6%,Al 1%



D) Espectro Infrarrojo de ZnO:Fe 6%,Al 12%

Fig.1 Espectros Infrarrojos de los catalizadores de ZnO con diferentes concentraciones de dopantes y Tc.

En la **Fig. 1** se observa que en las muestras sin calcinar se presentan las bandas de enlaces de alargamiento de O-H ($3341\text{-}3301\text{ cm}^{-1}$), C=O ($1510\text{-}1503\text{ cm}^{-1}$) y Zn-O, ($470\text{-}404\text{ cm}^{-1}$), así como en la región de ($1100\text{-}700\text{ cm}^{-1}$) se observan bandas asociadas correspondientes a enlace C-O de alargamiento y C-H de deformación fuera del plano, lo que nos indica que dichas señales corresponden a remanentes de nuestros precursores, en éste caso, acetato de zinc. Dichas bandas desaparecen después de realizada la calcinación, dejando únicamente la banda de nuestro interés (Zn-O).

- *Difracción de Rayos X*

Se realizó el análisis de la estructura cristalina y pureza de los productos obtenidos. **Fig. 2**

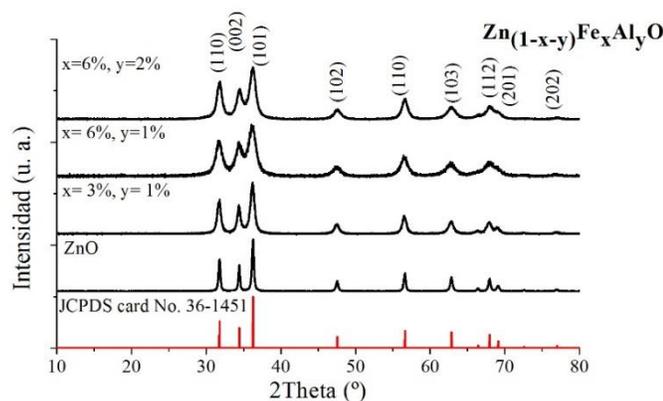


Fig.2 Espectro de Difracción de Rayos X de $\text{Zn}_{(1-x-y)}\text{Fe}_x\text{Al}_y\text{O}$ a diferentes concentraciones y temperatura de calcinación.

De la **Fig.2** se encuentra que los picos observados, son correspondientes a óxido de zinc (ZnO) de estructura hexagonal zincita, lo que se demuestra al analizar los picos en el patrón de difracción, correspondientes a los ángulos 31.84° , 34.34° , 36.28° , 47.44° , 56.78° , 62.84° , 68.03° , 68.98° y 76.88° , asociados a los planos (110), (002), (101), (102), (103), (110), (112), (201), (202), respectivamente. No se detectaron picos externos a los correspondientes a la red, lo que sugiere que los iones Fe^{3+} y Al^{3+} fueron incorporados en la red cristalina del ZnO.

Se observó un ensanchamiento de los picos de difracción, a medida del incremento en la cantidad de hierro insertada en la red, lo que provocó la pérdida de cristalinidad, así mismo, se mostraron más intensos a temperatura de calcinación de 450°C , lo que favoreció la obtención de la fase zincita.

Se realizó el cálculo de tamaño de cristalita utilizando la ecuación de Scherrer, de la que se obtuvieron los tamaños de partícula de las muestras 1 a 4, resultando un tamaño de 32 nm, 17 nm, 10 nm y 11 nm, respectivamente

$$D = \frac{0.94\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

- Microscopía Electrónica de Transmisión.

Se realizó el análisis por Microscopía Electrónica de Transmisión a fin de conocer el tamaño de las partículas obtenidas, de lo que se obtuvieron diferentes tamaños dentro de la muestra.

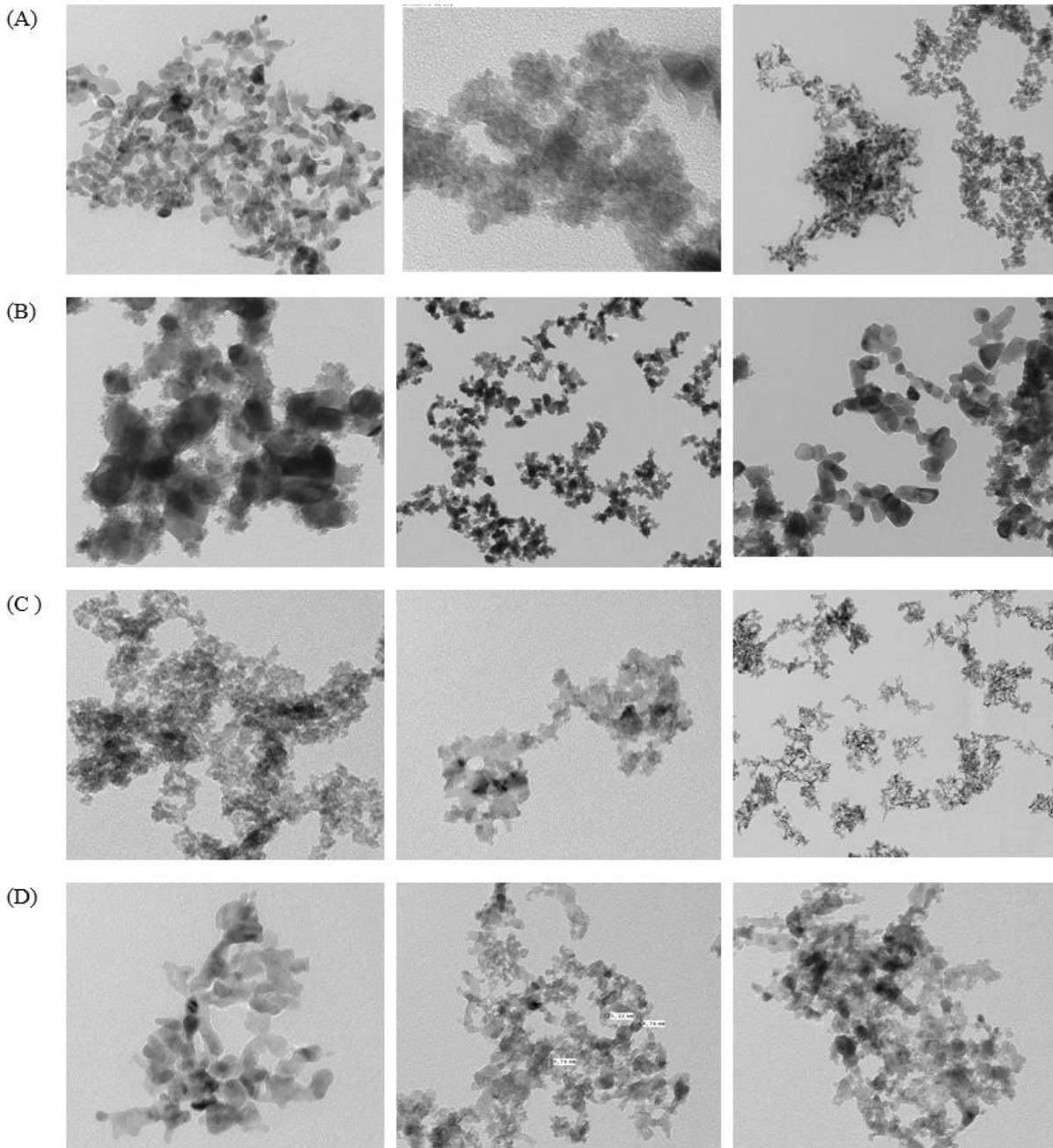


Fig.3 Micrografías obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) de (A) muestra 1 , (B) muestra 2 , (C) muestra 3 y (D) muestra 4.

Así mismo, se realizó un estudio de distribución de tamaño, a fin de conocer de manera más precisa el tamaño y dispersión del cristal (**Fig.3 y 4**). Como se observa en las imágenes, se encontraron partículas de diferentes tamaños, lo que sugeriría una precipitación no homogénea debida al agente precipitante empleado en la síntesis, sin embargo, al analizar los gráficos de dispersión de tamaño, se muestra que las partículas no se encuentran polidispersas.

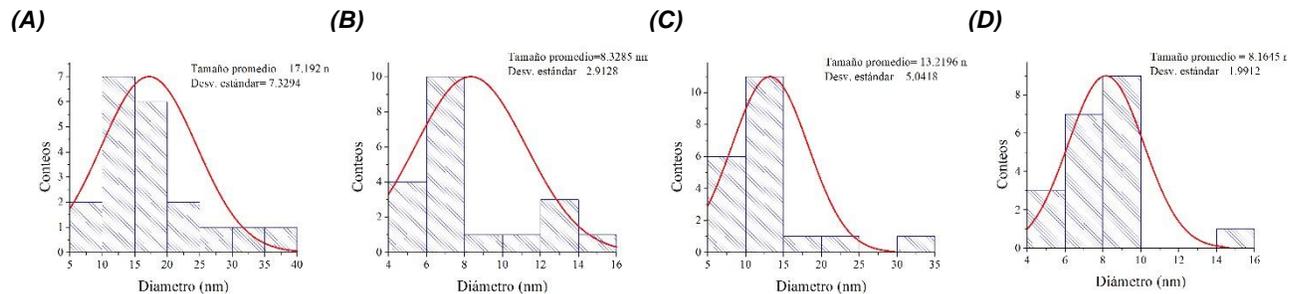


Fig.4 . Análisis de Distribución de tamaño de partícula de (A) muestra 1, (B) muestra 2, (C) muestra 3, (D) muestra 4

Comparando lo obtenido en DRX ,observando las micrografías y gráficos de distribución de tamaño de las muestras 3 y 4 , se observa que un mayor grado de inserción de hierro en la red, modifica el tamaño del cristal volviéndolo de menor tamaño.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron cristales de ZnO en fase zincita dopados con diferentes concentraciones de Fe y Al, lo cual fue confirmado al realizar la caracterización por FT-IR y DRX.

La cantidad de dopante añadida a la red modifica el tamaño del cristal obtenido. Se observó que el uso de otros agentes precipitantes como la urea, favorecen a la precipitación homogénea logrando que el tamaño de partícula sea más uniforme.

La inserción de hierro y aluminio a la red como dopantes, sugiere una mejora en las propiedades catalíticas del óxido de zinc (ZnO), lo que abre las puertas a futuros trabajos enfocados a la evaluación de los materiales reportados en éste trabajo.

BIBLIOGRAFIA

[1] Guarín Llanes, C.Y.; Mera Benavides A.C.. (05/10/2011). FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA CON TiO₂ PARA EL TRATAMIENTO DE DESECHOS LÍQUIDOS CON PRESENCIA DEL INDICADOR VERDE DE BROMOCRESOL. Revista Ingenierías, Universidad de Medellín, 10, 79-88.

[2] Yanqing Zong; Zhe Li; Xingmin Wang; Jiantao Ma; Yi Men. (August 2014). Synthesis and high photocatalytic activity of Eu-doped ZnO nanoparticles. Ceramics International, 40, 10375-10382.

[3] De La L. Olvera, M & Maldonado, A & Matsumoto, Y & Asomoza, R & Meléndez-Lira, M & Acosta, Dwight. (2001). Chromium doped ZnO thin films deposited by chemical spray: Chromium effect. Journal of Vacuum Science & Technology A - J VAC SCI TECHNOL A. 19. 2097-2101. 10.1116/1.1374632.

[4] Smith, Andrew & Nie, Shuming. (2009). Smith, A. M. & Nie, S. M. Semiconductor nanocrystals: structure, properties, and band gap engineering. *Acc. Chem. Res.* 43, 190-200. *Accounts of chemical research.* 43. 190-200. 10.1021/ar9001069.

[5] Behnajady, Mohammad & Modirshahla, Nasser & Shokri, Mohammad & Vahid, Behrouz. (2008). Effect of operational parameters on degradation of Malachite Green by ultrasonic irradiation. *Ultrasonics sonochemistry.* 15. 1009-14. 10.1016/j.ultsonch.2008.03.004.

[6] Juan Pablo López Neira; Edgar Giovanni Villabona Leal. (2011). Efecto de las propiedades ópticas y superficiales del TiO₂ dopado con La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd en la fotodegradación de cristal violeta y naranja de metilo. Tesis de licenciatura (pags.72). Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y TÉRMICA DE MICROGELES HÍBRIDOS DE ÁCIDO ACRÍLICO

Sánchez Gil, Mariana del Carmen¹ y Palestino Escobedo Gabriela²

RESUMEN

El uso de polímeros de base biológica presenta una alternativa de sustituir los polímeros sintéticos y mejorar sus propiedades biodegradables, biocompatibles y mantener sus características mecánicas. En vista de esto, el presente trabajo reporta la síntesis y caracterización de microgeles híbridos de ácido acrílico/microalga *Schizochytrium* sp. Se determinaron los parámetros óptimos de síntesis utilizando una concentración constante de la fracción insoluble y una concentración de 0.3 mg/mL de ácido acrílico por el método de ultrasonificación, donde el menor tamaño de partícula fue de 347 nm cuando la amplitud de sonicación fue de 40% durante 20 minutos. Además mediante microscopía electrónica de transmisión se analizó la morfología de los microgeles, determinándose como parámetros óptimos la amplitud de sonicación de 20% durante 20 minutos, que arrojó un tamaño promedio de partícula de 800 nm, asimismo estas partículas mostraron la mayor homogeneidad con una morfología definida lo cual indica la formación de microgeles.

ABSTRACT

The use of bio-based polymers presents an alternative to replace synthetic polymers and improve their biodegradable and biocompatible properties in order to preserve their mechanical characteristics. In view of this, the present work reports the synthesis and characterization of hybrid acrylic acid microgels and the insoluble fraction of the cell wall as the soluble polysaccharides of the microalga *Schizochytrium* sp. The best results of the test were obtained with a concentration of 0.3 mg / ml of acrylic acid by the method of ultrasonication, which produced a particle size of 347 nm by using 40 % amplitude for 20 minutes. In addition, by transmission electron microscopy, the morphology of the microgels was analyzed and the most homogeneous particles were obtained at a 20% sonication amplitude for 20 minutes with an average particle size of 800 nm also these particles showed the highest homogeneity with a defined morphology which indicates the formation of microgels.

Palabras clave: polímeros de base biológica, microgeles, *Schizochytrium* sp.

INTRODUCCIÓN

Los polímeros sintéticos poseen características que aportan ventajas frente a otros materiales, por ejemplo, presentan una resistencia mecánica elevada, son de bajo costo, son buenos aislantes térmicos y eléctricos, son reciclables y ofrecen resistencia a la degradación por agua, químicos y microorganismos. Sin embargo estos son inflamables, el costo de reciclado es alto, su vida útil es corta lo que genera grandes volúmenes de deshecho además que no todos son biodegradables.

Una medida correctiva para disminuir el volumen de residuos de polímeros sintéticos es el reciclaje, el cual es un proceso que ahorra tanto energía como materia prima además de que se disminuye la generación de desechos, sin embargo, es selectivo y costoso. Una solución alternativa es el uso de biopolímeros que son sustancias compuestas de un tipo de biomacromoléculas. Los biopolímeros son biodegradables y biocompatibles no obstante el costo de su producción es alto. En este marco teórico diversos estudios apuntan al uso de polímeros de base biológica que son una combinación de polímeros sintéticos y biopolímeros con el objetivo de mejorar sus propiedades biodegradables, biocompatibles y mecánicas.

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO; marianasanchez.gil@hotmail.com

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí Av. Manuel Nava No. 6, C.P. 78260, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO; palestinogabriela@uaslp.mx

Actualmente, existen algunos hidrogeles de base biológica dirigidos a diversas aplicaciones a la salud, la agricultura, ingeniería, etc. Éstos se definen como redes poliméricas reticuladas que poseen la propiedad de retener agua o fluidos biológicos (Mahinroosta et. al 2018) los cuales son sintetizados a nivel macro, micro y nanométrico, y debido a su naturaleza hidrófila son, en gran medida, biocompatibles. En los últimos años se ha estudiado el uso de microgeles en sistemas de liberación controlada de moléculas, que ofrecen protección en ambiente fisiológico. Además de ser materiales inteligentes que mediante distintos estímulos de pH, temperatura y salinidad proponen un mejor control en la administración de fármacos, péptidos, vacunas, entre otros. (Zhang et. al 2016).

Por otra parte, el desarrollo de materiales poliméricos biocompatibles y biodegradables, abren camino a distintos estudios que plantean nuevas síntesis de polímeros de base biológica. Por ejemplo, Zeller y cols. (2013) sintetizaron un polímero termoplástico con la microalga *Chlorella* sp. y la cianobacteria *Spirulina* sp. a través de un método plastificante donde no ocurre reacción química. Otros trabajos, como el de Debele y cols. (2016) reportan la síntesis de nanogeles híbridos basados en polisacáridos de quitosano, celulosa, heparina, alginato y almidón como portadores de agentes farmacéuticos, mejorando el control de la administración de estos medicamentos para el tratamiento contra diversos tipos de cáncer.

En este contexto, el uso de polisacáridos para la síntesis de polímeros de base biológica se debe a que estos son abundantes en la naturaleza, el costo de su producción es bajo además de ser biocompatibles y degradables. Éstos se encuentran en distintos organismos como animales, plantas, hongos y microalgas. Las microalgas son un importante elemento en la industria alimenticia debido a su alta concentración de proteínas, fibra dietética, omega-3 y omega-6, vitaminas y minerales además de su concentración de polisacáridos como agar, alginato y carragenano (Quitral et al. 2012).

Hoy en día la microalga *Schizochytrium* sp. es utilizada como suplemento debido a su alto contenido de omega-3 (43% del peso total de la microalga) quedando como desecho industrial la pared celular, la cual se compone de proteínas y carbohidratos siendo la L-galactosa la principal azúcar en su pared (95-98%) (Darley; Porter & Fuller 1973). Debido a que la pared celular de la microalga *Schizochytrium* sp. es un residuo industrial y está tiene un alto contenido de polisacáridos, en el presente trabajo se reporta la síntesis y la caracterización de un de un microgel híbrido basado en poli (ácido acrílico) y los polisacáridos solubles de la pared celular de *Schizochytrium* sp.

METODOLOGIA

Preparación del cultivo para *Schizochytrium* sp. Para el crecimiento de *Schizochytrium* sp. se usó el medio Sani 790 By líquido, que fue preparado con 5g de dextrosa, 1g de extracto de levadura, 1g de peptona, 35 g de NaCl y 1 L de agua destilada. De un medio sólido de *Schizochytrium* sp. se inoculó el medio Sani 790 By líquido y se incubó durante 7 días entre 27 °C a 30 °C.

Obtención de la fracción insoluble de pared celular de *Schizochytrium* sp. (FIPC). De la biomasa recuperada del cultivo de *Schizochytrium* sp. se agregaron 25 mL de agua destilada estéril y se sonicó mediante el Procesador Ultrasónico Sonics VCX-130PB durante 5 minutos con pulsos de 30 segundos a una amplitud de 60% por dos ciclos y posteriormente 2 minutos con pulsos de 30 segundos a una amplitud de 90% por un ciclo. Después fue centrifugado por un Centurion Scientific K3 series a 5200 rpm durante 10 minutos.

Obtención de los polisacáridos solubles de la pared celular (PS). Se agregó etanol a la fracción insoluble de la pared celular. Se calentó durante 4 horas, se centrifugó a 5200 rpm por 10 minutos, se retiró el sobrenadante y se agregó cloroformo:metanol durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó a 5200 rpm por 10 minutos, se retiró el sobrenadante, se incorporó acetona, se dejó secar durante 4 horas a temperatura ambiente. Finalmente, se retiró el sobrenadante y se agregó agua destilada a 100°C por 4 horas.

Síntesis de hidrogel poli (ácido acrílico)-polisacáridos solubles (PAA-PS) y poli (ácido acrílico) (PAA). En un reactor cilíndrico de 5 mL se agregaron el ácido acrílico (monómero) y los polisacáridos (entrecruzante), 1.25 mL de AA y 0.78 g de PS 1.75 mL de agua desionizada, se calentó a 60°C con un baño de glicerina con agitación continua para incorporar como iniciador 0.0065 g de persulfato de amonio y 2 mL de agua desionizada. Se esperó de 10 a 20 minutos a que se completara la reacción. Por último se realizaron cinco lavados con agua desionizada pasando 5

minutos entre cada lavado. Para la síntesis del PAA se utilizó la misma metodología con la excepción de que no se incorporó el agente entrecruzante.

Síntesis de microgel de PAA-FIPC. Se disolvieron concentraciones de PAA de 0.1 mg/mL, 0.3 mg/mL y 0.5 mg/mL en 40 mL de agua desionizada, se agregaron 6 mg de FIPC y se sonicó mediante el reactor por ultrasonidos sonics vibra-cell durante 5 minutos a 20% de amplitud con pulsos de 30 segundos. Después se disolvió PAA a una concentración de 3 mg/mL en 40 mL de agua desionizada, se agregaron 6 mg de FIPC y se cambiaron los parámetros de sonicación en un rango de 5 a 20 minutos a 20% y 40% de amplitud.

Caracterización. La caracterización de las partículas se realizó mediante las técnicas de espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) para identificar los grupos funcionales, calorimetría diferencial de barrido (DSC) para conocer la temperatura de transición vítrea, análisis termogravimétrico (TGA) para obtener las temperaturas de degradación, dispersión de luz dinámica (DLS) con el fin de determinar el tamaño de las partículas, microscopía electrónica de transmisión (TEM) para conocer la morfología de las micropartículas y gravimetría para estudiar la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los hidrogeles por medio de FTIR. La Figura 1 muestra el espectro de PS, PAA y PAA-PS. Se observan las vibraciones de estiramiento de $-\text{CH}_2$ asimétrico ($2900\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$) y CO_2 (2400 cm^{-1}) en los tres polímeros que corresponden la cadena polimérica y a la porosidad de los hidrogeles. Para los polímeros PAA y PAA-PS se observó la banda a 1716 cm^{-1} característica de $\text{C}=\text{O}$ en dímeros de ácidos carboxílicos, lo que indica que hay permanencia de estos grupos en la copolimerización final. Se observa además un ligero pico en 1000 cm^{-1} el cual se adjudica a vibraciones de los polisacáridos.

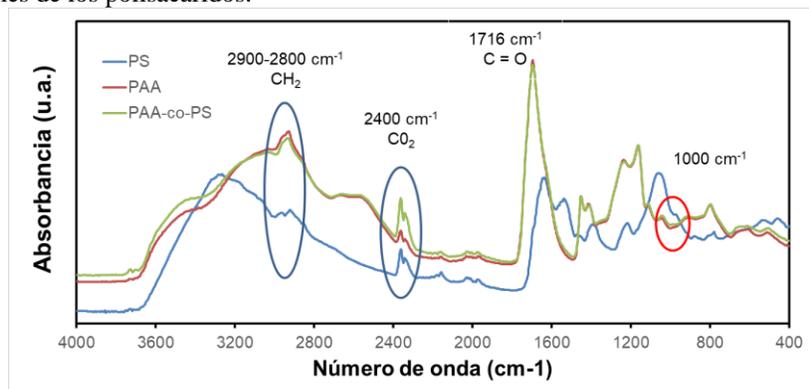


Figura 1. Espectro FTIR de PS, PAA y PAA-PS.

Caracterización térmica. La Figura 2 muestra las características térmicas de PS, PAA y PAA-PS evaluadas por DSC y TGA. En la Figura 2(a-c) se observan las temperaturas de transición (T_g) de PAA, PS y PAA-PS (50°C , 80°C y 50°C , respectivamente). Tanto en el PAA-PS y el PAA se observa la misma T_g característica del PAA, sin embargo, el ΔC_p en la segunda es mayor debido a la presencia de los polisacáridos, que evidencia una menor rigidez para el polímero híbrido. En el TGA (Figura 2(d)) se observan 2 pasos de descomposición, el primero asociado a la descarboxilación, y el segundo asociado a la depolimerización, donde ambos surgen cambios respecto al PAA-PS y el PAA con un desplazamiento del máximo de 290°C a 305°C y de 397°C y 402°C , respectivamente, que da certeza a un cambio en los enlaces de polimerización y que corrobora la copolimerización. Además, se observa una temperatura de degradación en el PAA a 425°C la cual no está presente en el PAA-PS pero en esta banda aparece una nueva temperatura de degradación a 345°C , lo que nos indica que hay un cambio en la cadena polimérica del poli (ácido acrílico) formando enlaces químicos con los polisacáridos solubles de la pared celular.

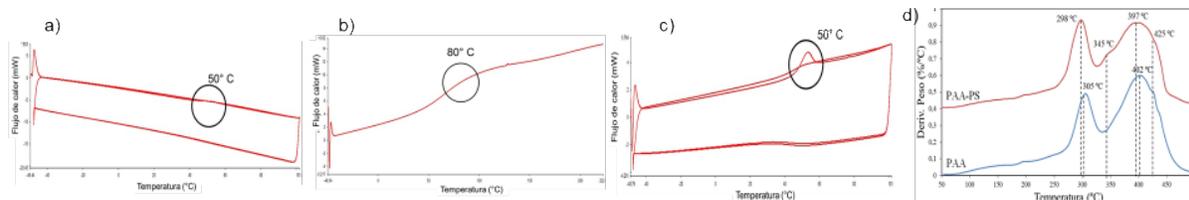


Figura 2. DSC a) PAA b) PS c) PAA-PS y TGA d) PAA-PS y PAA

Cinética de porcentaje de hinchamiento. La Figura 3 muestra las cinéticas de hinchamiento durante 25 horas del PAA y el PAA-PS evaluados a pH de 3, 7 y 9. Se observa que el máximo de hinchamiento en el PAA fue de 22000% y 19000% a pH de 7 y 9, respectivamente. Mientras que a pH de 3 el hidrogel tuvo su mayor hinchamiento con un 5000%, que demuestra la formación del hidrogel y una alta capacidad de hinchamiento en pH básico y neutro, que se debe a la desprotonación de los grupos carboxílicos promoviendo la absorción de agua. El polímero híbrido de PAA-PS no mostró hinchamiento, sino una hidrotdegradación, que indica que no se ha llevado a cabo un entrecruzamiento, debido a un posible impedimento estérico por parte de los polisacáridos o a una falta de actividad reactiva por parte de éstos, a pesar de que en las pruebas de TGA, DSC y FTIR se muestra que hay una copolimerización entre el ácido acrílico y los polisacáridos solubles.

Caracterización de microgeles de PAA-FIPC por medio de FTIR. La Figura 4 muestra la caracterización por FTIR de los microgeles de PAA-FIPC a distintas concentraciones y del hidrogel de PAA con el objetivo de comparar los grupos funcionales. Se observó que a las distintas concentraciones de PAA-FIPC una vibración en 1719 cm^{-1} (estiramiento C=O) el cual está asociado al grupo carboxilo y que es representativo del ácido acrílico, por consiguiente se puede afirmar un grado de copolimerización entre la fracción insoluble de pared celular y el poli(ácido acrílico).

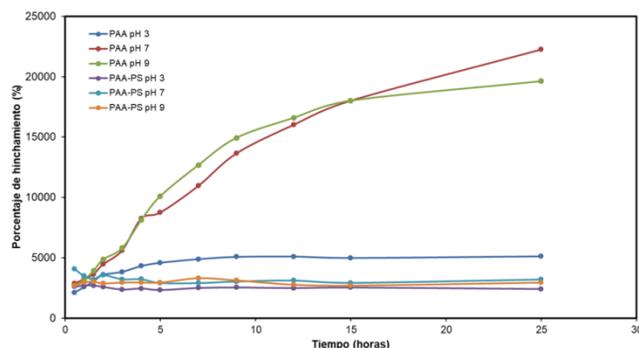


Figura 3. Gráfica de cinética de porcentaje de hinchamiento de PAA y PAA-PS evaluado a distintos pH.

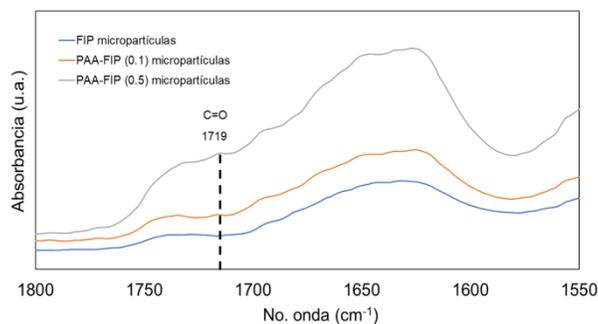


Figura 4. Espectro de FTIR de microgeles de PAA-FIPC y de la fracción insoluble de la pared celular.

Análisis del efecto de la variación de parámetros sobre el tamaño de partícula. La Figura 5 muestra la comparación de los tamaños de partícula realizada por medio de DLS a una concentración de 0.3 mg/mL de PAA modificando los parámetros de la sonicación. Se puede observar que a una amplitud de 40% durante 20 minutos el tamaño de la partícula es el menor (347 nm), no obstante la polidispersidad es de 0.40. En cambio la menor polidispersidad (0.29) se registró a una amplitud de 40% durante 5 minutos y el tamaño de la partícula fue de 434 nm. Esperando un tamaño menor de partícula estas micropartículas fueron filtradas y con lo que se obtuvo un tamaño de 372 nm con una polidispersidad mayor (0.39) debido a que posiblemente se vieron afectadas durante el filtrado provocando cambios en su morfología.

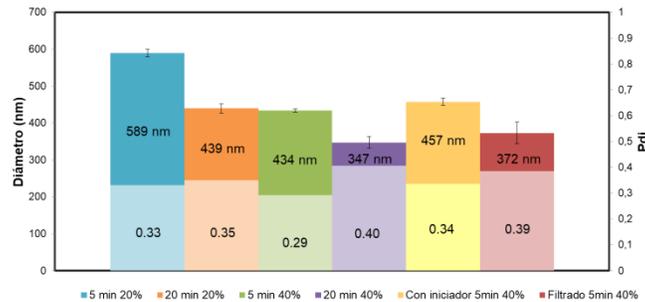


Figura 5. Efecto de la variación de parámetros en tamaño de microgeles de PAA-FIPC. El color más oscuro representa el diámetro de la partícula y el color claro la polidispersidad.

Análisis de la morfología por medio de TEM. Se analizó la morfología de las partículas de PAA-FIPC por medio de TEM (Figura 6) y se obtuvieron los microgeles más homogéneos y definidos a una amplitud de 20% por 20 minutos con un tamaño promedio de partícula de 800 nm. A una amplitud de 40% por 20 minutos se observa una distribución más grande de tamaños. Asimismo se observa que tanto a una amplitud de 40% por 5 minutos como el filtrado con estos parámetros la partícula tiene una forma indefinida y no homogénea.

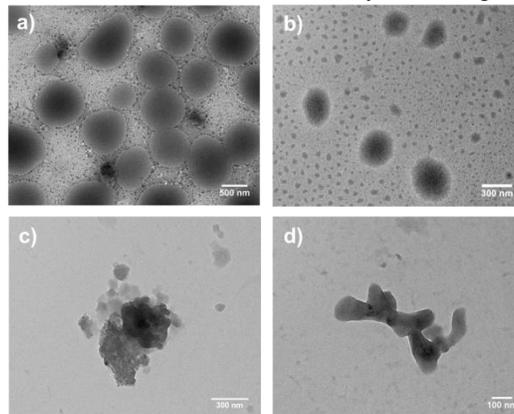


Figura 6. Análisis de TEM de PAA-FIPC a distintos parámetros a) 20 minutos a 20%, b) 20 minutos a 40%, c) 5 minutos a 40% y d) 5 minutos 40% filtrado.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron los polímeros de ácido acrílico/polisacáridos y se observó un grado de copolimerización por medio de las técnicas de TGA, DSC y FTIR, no obstante, por medio de la cinética del porcentaje de hinchamiento se observó que los polímeros de ácido acrílico/polisacáridos no presentaron capacidad de hinchamiento a los pH evaluados sino que mostraron una hidrodegradación. Además se sintetizaron microgeles de ácido acrílico/fracción insoluble de pared celular y se observó que la amplitud y el tiempo tienen efecto sobre el tamaño de partícula disminuyendo de

589.5 nm (5 minutos a 20% de amplitud) a 347.2 nm (20 minutos a 40% de amplitud). Además, en las imágenes de TEM se observó que las partículas más homogéneas son a una amplitud de 20% durante 20 minutos.

BIBLIOGRAFIA

DEBELE, T. A., MEKURIA, S. L., & TSAI, H. C. (2016). Polysaccharide based nanogels in the drug delivery system: Application as the carrier of pharmaceutical agents. *Materials Science and Engineering: C*, 68, 964-981.

LAMBERT, S., & WAGNER, M. (2017). Environmental performance of bio-based and biodegradable plastics: the road ahead. *Chemical Society Reviews*, 46(22), 6855-6871.

MA, Y., GE, Y., & LI, L. (2017). Advancement of multifunctional hybrid nanogel systems: construction and application in drug co-delivery and imaging technique. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 1281-1292.

MAHINROOSTA, M., FARSANGI, Z. J., ALLAHVERDI, A., & SHAKOORI, Z. (2018). Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications. *Materials today chemistry*, 8, 42-55.

OH, J. K., DRUMRIGHT, R., SIEGWART, D. J., & MATYJASZEWSKI, K. (2008). The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in Polymer Science*, 33(4), 448-477.

VERT, M., DOI, Y., HELLWICH, K. H., HESS, M., HODGE, P., KUBISA, P., ... & SCHUÉ, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84(2), 377-410.

ZELLER, M. A., HUNT, R., JONES, A., & SHARMA, S. (2013). Bioplastics and their thermoplastic blends from *Spirulina* and *Chlorella* microalgae. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(5), 3263-3275.

ZHANG, H., ZHAI, Y., WANG, J., & ZHAI, G. (2016). New progress and prospects: The application of nanogel in drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 60, 560-568.

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS DESPUÉS DE UN PROCESO DE DIGESTIÓN IN VITRO

Sauceda Lara Mariana Guadalupe¹ y Victoria Campos Claudia Inés²

RESUMEN

Las antocianinas son pigmentos de plantas con efectos benéficos en la salud derivados de su función antioxidante, sin embargo, esta se afecta por su inestabilidad química durante la digestión. Esta investigación evaluó los cambios en la bioactividad durante la digestión *in vitro* con y sin iones divalentes. Se utilizaron las metodologías de FRAP y DPPH. Se interpretaron resultados con pruebas de ANOVA y pruebas de Tukey-Kramer ($p < 0.05$) en el software SAS 9.0. Las antocianinas de zarzamora, fresa y uva fueron estables en condiciones gástricas, pero al llegar a intestino delgado por cambios de pH, perdieron funcionalidad aquellas provenientes de uva y fresa. La digestión con iones divalentes como el Ca, Zn, Mg y Fe intervino en la bioactividad de antocianinas de las 3 frutas, algunos (Ca y Mg) disminuyéndola y otros (Fe) incrementándola. Su actividad antioxidante se ve afectada en intestino delgado, la utilización de iones podría mantener su función antioxidante.

Palabras clave: Antocianinas, actividad antioxidante, bioactividad, iones divalentes.

ABSTRACT

Anthocyanins are pigments of plants with beneficial effects on health derived from their antioxidant function, however, this is affected by their chemical instability during digestion. This investigation evaluated changes in the bioactivity during *in vitro* digestions with and without divalent ions. The FRAP and DPPH methodologies were used. Results were analyzed with ANOVA and Tukey-Kramer tests ($p < 0.05$) in the software SAS 9.0. The anthocyanins of blackberry, strawberry and grape were stable in gastric conditions, but when they reach the small intestine by changes of pH, those coming from grapes and strawberries lose their functionality. Digestions with divalent ions (Ca, Zn, Mg and Fe) intervened in the anthocyanin bioactivity of the 3 fruits, some (Ca and Mg) decreasing it and others (Fe) increasing it. Its antioxidant activity is affected in the small intestine, the use of ions could maintain its antioxidant function.

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas (ACN) pertenecen al grupo de los flavonoides, los cuales forman parte de la familia de los polifenoles (Li et al., 2017). La palabra antocianina deriva del origen griego significa *Anthos* “flor” y *Kyanos* “azul oscuro” (He & Giusti, 2010) Las ACN son pigmentos de las plantas que les brindan coloraciones como azul, rojo, púrpura y negro, además son de gran utilidad para ellas, ayudan en el proceso de polinización, dispersión de semillas y en la absorción de luz protegiendo contra rayos UV (Steyn et al., 2010). Las antocianinas están presentes en flores, frutas y hortalizas pigmentadas, entre los alimentos más ricos en ACNs se encuentran las moras, arándanos, cerezas, grosellas, uvas, frambuesas, fresas, rábano, etcétera (Wu et al 2006; He & Giusti, 2010).

R1	R2	ACN
H	H	Pelargonidina
OH	H	Cianidina
OCH ₃	H	Peonidina
OH	OH	Delfinidina
OCH ₃	OH	Petunidina
OCH ₃	OCH ₃	Malvidina

¹ Facultad de Enfermería y Nutrición, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Niño Artillero No. 130 Zona Universitaria. C.P. 78240, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO, mariiana.sauceda3e@gmail.com

² Facultad de Enfermería y Nutrición, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Niño Artillero No. 130 Zona Universitaria. C.P. 78240, San Luis Potosí, S.L.P., MÉXICO, claudia.victoria@uaslp.mx

Las ACN tienen una estructura base llamada catión flavilio, en la naturaleza, se encuentran como heterósidos, que son moléculas glucosiladas con uno o más azúcares (Li et al., 2017). Sin embargo, estas también pueden ser aciladas, es decir, pueden unirse a algunos ácidos (Wu et al., 2006). Del conjunto de antocianinas aciladas o glucosiladas, se conocen más de 635, de las cuales destacan 6 (antocianidinas, pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina) (He & Guisti 2010). Las antocianinas difieren en su pigmentación, biodisponibilidad y efectos benéficos en la salud dependiendo de la localización, posición y número de los grupos hidroxilo y metoxilo, así como del azúcar que las glucosila (Wu et al., 2006).

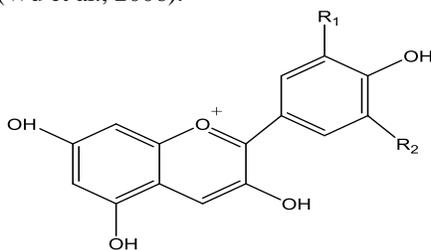


Figura 1. Estructura química de las antocianinas

Su estructura química tiene una estrecha relación con su estabilidad ante factores externos como son el ambiente, pH, temperatura, rayos de luz, así como la interacción con enzimas digestivas y otras moléculas (He et al., 2010).

Se ha comprobado que las antocianinas tienen efectos benéficos en la salud, por lo que bien podrían ser utilizadas como forma de prevención o tratamiento, en diversas enfermedades. Tienen actividad antimutagénica (Kamei et al., 1995), caracterizada por una inhibición en la proliferación y el crecimiento de células cancerígenas (Renis et al., 2008). También pueden proteger contra tratamientos invasivos derivados del cáncer como la quimioterapia (Dai et al., 2009). Las antocianinas son antiinflamatorias, actúan sobre vías de señalización, bloqueándolas y reduciendo niveles de sustancias proinflamatorias (NOS, TNF e interleucinas IL6 y IL8, así como de COX-2) los cuales intervienen con el proceso inflamatorio (Hou et al., 2005). Las ACN también poseen actividad neuroprotectora, en Parkinson, disminuyen la apoptosis de células dopaminérgicas, protegen el sistema nervioso y previenen daño neuronal (Strathearn et al., 2014). En el Alzheimer, reducen la hiperfosforilación de la proteína TAU y favorecen un adecuado funcionamiento cognoscitivo, incrementando la capacidad de aprendizaje y memoria (Hung et al., 2001). Las ACN previenen enfermedades cardiovasculares, reduciendo el riesgo de infartos, dislipidemias y aterosclerosis, ya que previenen la oxidación de lipoproteínas de baja densidad LDL, disminuyen niveles de colesterol, triglicéridos y ácidos grasos saturados en el plasma, además con su actividad antiinflamatoria evitan el deterioro de tejidos vasculares y la disfunción endotelial (Mauray et al., 2010; Mink et al., 2007). Contribuyen en la prevención de la obesidad, evitando el incremento de peso y mejorando el funcionamiento de células del tejido adiposo (Tsuda, 2008). En relación con la diabetes, disminuyen los niveles de leptina e insulina, reducen la expresión de GLUT2 (transportadores de glucosa) y los niveles de glucosa en sangre, mejoran sensibilidad a la insulina por medio de vías de señalización (AMPK) (Takikawa et al., 2010), protegen a las células β del páncreas contra el estrés oxidativo (Al-Awwadi et al., 2005).

Así, las ACN tienen una gran importancia nutricional, pues varios de estos efectos benéficos en la salud derivan de su función antioxidante, la cual consiste en detener la oxidación en cadena causada por radicales libres que genera daño en el organismo (Tedesco et al., 2001). Los radicales libres se encuentran diariamente en nuestro organismo, debido a que se producen de manera natural por funciones que realiza de manera cotidiana el ser humano como la respiración, metabolismo, señalización celular, inmunidad, entre otras, en cantidades excesivas, estos pueden provocar daños a la salud, enfermedades y envejecimiento, por medio de mecanismos de oxidación (Allen & Tresini et al., 2000), sobre los cuales actúan moléculas antioxidantes como las antocianinas. Sin embargo, debido a la alta inestabilidad química de las ACN y la pérdida de su bioactividad durante el tránsito gastrointestinal, puede verse afectada su función antioxidante. Es por esto que, esta investigación tiene por objeto evaluar la actividad antioxidante de ACN aisladas de diferentes fuentes después de un proceso de digestión *in vitro*, así como determinar si una digestión con iones divalentes modifica su bioactividad. Los resultados de esta investigación permitirán vislumbrar cómo es la actividad antioxidante residual después del proceso de digestión gastrointestinal con y sin la presencia de iones divalentes.

METODOLOGÍA

Para evaluar como interfiere el proceso digestivo en la actividad antioxidante de las antocianinas, se utilizaron extractos de ACN provenientes de uvas, fresas y zarzamoras después de una digestión *in vitro*, además de radicales libres sintéticos como DPPH y FRAP para los cuales se siguieron respectivas metodologías.

Se preparó una solución de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) en metanol a concentraciones de 25 mg/L (Brand Williams et al., 1995). Con una micropipeta se tomaron alícuotas de 280 μ L de la solución de DPPH previamente mencionada y se colocó en una microplaca con 96 pocillos.

Se agregaron 20 μ L del extracto de antocianinas digeridas (Cervantes-Paz et al., 2014). Seguido de esto, por medio de un espectrofotómetro se tomó lectura de absorbancia a 490 nm después de 30 minutos (Brand Williams et al., 1995).

Se preparó el reactivo de FRAP mezclando 25 mL de buffer de acetato a 300 mM, 2.5 mL de solución TPTZ a 10 mM en HCl a 40 mM y 2.5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 20 mM (Benzie et al., 1996). De este reactivo, se tomaron alícuotas de 280 μ L para ser colocadas en el pocillo de una microplaca. Se tomaron 20 μ L de muestra con extracto de antocianinas digeridas, para después colocar en el mismo pocillo donde se encontraba el reactivo. Se procedió a tomar lectura de absorbancia a 630 nm después de 30 minutos en la obscuridad (Cervantes-Paz et al., 2014; Benzie et al., 1996).

Para cada determinación se realizaron 4 repeticiones en las cuales, los datos se analizaron utilizando pruebas de ANOVA y las diferencias estadísticas se compararon utilizando el método Tukey Kramer. Todos los análisis consideraron un $P < 0.05$ y se llevaron a cabo en el software SAS 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las siguientes gráficas permiten analizar la actividad antioxidante que tienen las ACN de frutas como uva, fresa y zarzamora, sin ser digeridas (inicio) y después de una digestión *in vitro* tanto gástrica como intestinal (control) así como con la presencia de iones (Ca, Mg, Zn y Fe), frente a los radicales libres FRAP y DPPH. Esto con el fin de determinar la bioactividad de ACN después de la digestión y evaluar si existe una mejora con la presencia de los minerales ya mencionados.

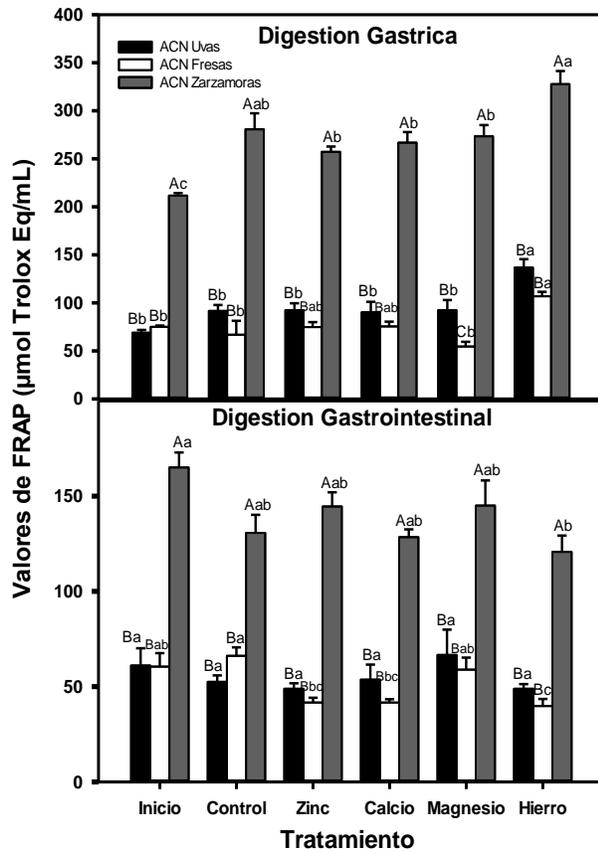


Figura 2. Actividad antioxidante de ACN con FRAP

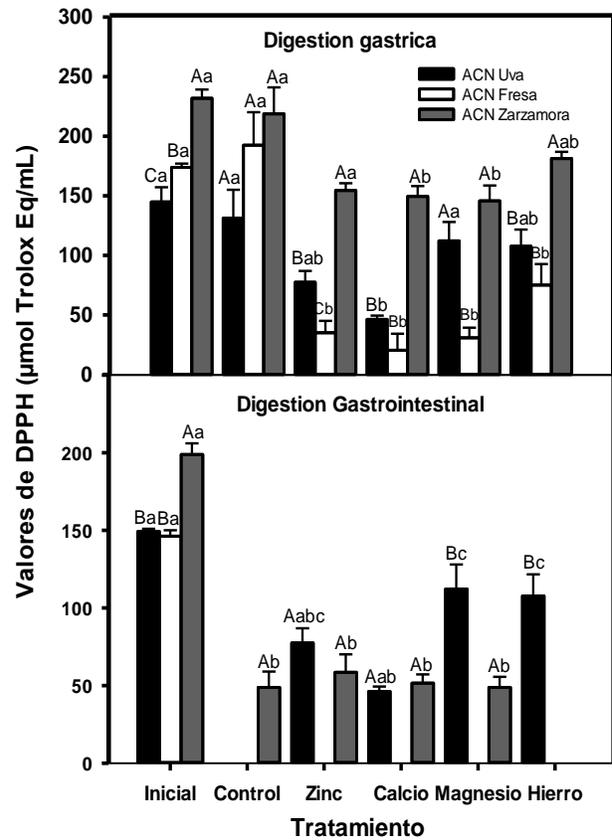


Figura 3. Actividad antioxidante de ACN con DPPH

Los datos que arrojan cada una de las barras de las gráficas representan el promedio de los valores obtenidos de las 4 repeticiones de cada muestra, incluyendo el error estándar. Para poder realizar una comparación de la actividad antioxidante de las antocianinas de las tres frutas se colocó en cada barra una letra minúscula (a, b ó c) y según el tratamiento al que fueron sometidas una letra mayúscula (A, B ó C), la diferencia entre las literales minúsculas y mayúsculas representan el cambio en la actividad antioxidante.

En la gráfica de la figura 2, se muestran los resultados de la actividad antioxidante de la técnica de FRAP en donde se da una reacción de óxido-reducción, donde el antioxidante reduce al oxidante (ROS), en la prueba de FRAP participa TPTZ (tripiridilriazina ferrosa) como radical (Benzie et al., 1996). En la digestión gástrica se observa que las ACN de zarzamora en comparación con las de uva y fresa tiene mayor actividad antioxidante en todos los tratamientos, sin embargo, esta incrementa aún más cuando pasa por un proceso de digestión gástrica, acompañado o no de iones. Las ACN tienen una gran estabilidad a condiciones gástricas, incluso se ha sugerido que se absorben directamente en estómago, sin embargo, aún faltan estudios que lo demuestren (Liang et al 2012; Bouayed et al 2011). Tanto las ACN de uva fresa como de zarzamora, demostraron tener un aumento en su capacidad antioxidante al ser digeridas en conjunto con hierro. En las digestiones gastrointestinales, se observa que de igual manera que las ACN de zarzamora en cualquier tratamiento tienen mayor actividad antioxidante, seguido de las ACN de uvas y finalmente las de fresa.

Sin embargo, una digestión gastrointestinal con iones (Ca, Mg, Zn y Fe) no incrementa la actividad antioxidante de las ACN. Algunos de estos iones pueden estar interfiriendo con su estabilidad gastrointestinal, ya que iones como el calcio y magnesio pueden llegar a alterar funciones de la bilis y jugos pancreáticos que trabajan a nivel de intestino delgado, esto se vio en otros estudios donde se comprobó que el Ca y Mg afectaron negativamente el aprovechamiento de carotenoides (Corte-Real et al., 2018). En las ACN de uva no se observan cambios al

combinarse con estos iones, en el caso de la fresa su mayor actividad antioxidante se puede observar después de una digestión gastrointestinal sin minerales, pues estudios comprueban que minerales u otros componentes alimenticios afectan la solubilidad, disponibilidad y estabilidad de las antocianinas y los carotenoides (Liang et al 2012., Corte Real, 2018).

En la figura 3, se representa la actividad antioxidante de las ACN frente al radical 2,2-Diphenyl- picrylhydrazyl (DPPH), por medio de una reacción de Redox, el antioxidante evita que los radicales libres oxiden a otras moléculas, estabilizando la reacción química, (Brand Williams et al., 1995). Comparando las tres muestras de fruta, se observa que en las ACN sin digerir tienen una mayor capacidad antioxidante aquellas que provienen de zarzamora, que, de fresa y uva, sin embargo, cuando las ACN de las 3 frutas pasan por un proceso de digestión gástrica *in vitro* se obtiene entre ellas el mismo poder antioxidante. Al igual que en la técnica de FRAP, se puede observar que los extractos de antocianinas presentan una gran actividad antioxidante cuando son digeridas gástricamente, esto asociado a que para llevar a cabo su función antioxidante, es necesario que durante la digestión las ACN sean liberadas de los alimentos y disueltas en el estómago, además estudios comprueban que las ACN son altamente estables durante la digestión gástrica (Tagliazzuchi et al 2010., Bouayed et al 2011., Liang et al 2012). Las ACN de las tres frutas pierden capacidad antioxidante al ser digeridas con los minerales, pues ya se ha demostrado algunos minerales disminuyen la bioactividad de compuestos como carotenoides (Corte-Real et al., 2017). El hierro incrementó más la función antioxidante de ACN de zarzamora en comparación con los otros minerales.

Después de un proceso de digestión gastrointestinal, se observa una pérdida de la función antioxidante en fresa y uva, esta pérdida total se puede asociar a una poca cantidad de ACN presente en estas frutas, como ha sucedido en otros estudios (Bouayed et al., 2011), en la zarzamora también se reduce significativamente. Esto también puede estar relacionado a que en general las antocianinas tienen una gran inestabilidad en el intestino delgado, asociado principalmente al pH alcalino que este presenta, así como jugo pancreático y bilis que son liberados en él, contribuyendo a que las ACN se degraden, oxiden o metabolicen, perdiendo bioactividad (Tagliazzuchi et al 2010., Bouayed et al 2011., Liang et al 2012). Por otro lado, la digestión gastrointestinal con minerales mejora la función de ACN provenientes solo de uva y zarzamora, ya que la gráfica muestra que la digestión con minerales (Zn, Ca, Mg, Fe) mantiene su actividad antioxidante, sin embargo, es menor que la actividad antes de la digestión.

Con lo analizado anteriormente y en comparación con estudios recientes, se encuentra una importante pérdida de actividad antioxidante de las antocianinas cuando pasan de un pH ácido del estómago a uno alcalino en el intestino, esto afecta su biodisponibilidad, sin embargo, se conserva en gran parte su función antioxidante, en el tracto gastrointestinal pueden intervenir contra ROS, previniendo así cáncer. (Tagliazzuchi et al 2010., Liang et al 2012).

CONCLUSIONES

Después de analizar la actividad antioxidante de las antocianinas y cómo esta se ve alterada durante el proceso digestivo, se demostró que, de los extractos de ACN provenientes de las tres frutas analizadas, las de zarzamora contenían mayor actividad antioxidante en todos los tratamientos utilizados para DPPH y FRAP, después de una digestión tanto gástrica como intestinal. La actividad antioxidante de las antocianinas es mayor cuando no es sometida a digestión gastrointestinal. Sin embargo, para poder aprovechar los beneficios de las ACN, estas deben ser digeridas previamente, por lo que, para conservar sus funciones, se pueden incluir en su digestión minerales como el calcio, zinc, magnesio y hierro, ya que se identificó que, en la mayoría de los casos, contribuyeron a mantener o incrementar la actividad antioxidante después de la digestión. Se observó que, de los iones utilizados, el hierro potencia más el poder antioxidante que otros minerales durante la digestión gástrica.

BIBLIOGRAFIA

- WU X., BEECHER G. R., HOLDEN J. M., HAYTOWITZ D. B., GEBHARDT S. E & PRIOR R. L. (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption, 54 (11).
- LI D., WANG P., LUO Y., ZHAO M & CHEN F. (2017). Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade, 57 (8), 1729 – 1741.
- HE J & GIUSTI M, M. (2010). Anthocyanins: Natural colorants with health – promoting properties, 163 – 187.

STEYN W, J. (2009). Prevalence and functions of anthocyanins in fruits

KAMEI H., KOJIMA T., HASEGAWA M., KOIDE T & UMEDA T. (1995). Suppression of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. *Cancer Investig.* 13. 590–94

ALLEN RG & TRESINI M. (2000). Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic. Biol. Med.* 28. 463–99

RENIS M., CALANDRA L., SCIFOC., TOMASELLO B & CARDILE. (2008). Response of cell cycle/stress-related protein expression and DNA damage upon treatment of CaCo2 cells with anthocyanins. *Br. J. Nutr.* 27–35

AL-AWWADI NA., ARAIZ C., BORNET A., DELBOSC S & CRISTOL JP. (2005). Extracts enriched in different

TSUDA T. (2008). Regulation of adipocyte function by anthocyanins; possibility of preventing the metabolic syndrome. *J. Agric. Food Chem.* 56. 642–46

DAI, J., GUPTA A., GATES L & MUMPER, R. J. (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food Chem. Toxicol.* 47. 837–847.

HUNG T C., CHANG T T., FAN M J., LEE C C & CHEN C Y. (2014). In Silico insight into potent of anthocyanin regulation of FKBP52 to prevent Alzheimer's disease. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*

MAURAY A., FELGINES C., MORAND C., MAZUR A., SCALBERT A & MILENKOVIC D. (2010). Nutrigenomic analysis of the protective effects of bilberry anthocyanin-rich extract in apo E-deficient mice. *Genes Nutr.* 5. 343–353.

MINK P J., SRAFFORD C G., BARRAJ L M., HARNACK L., HONG C P., NETTLETON J A & JACOBS D R. (2007). Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: A prospective study in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* 85. 895–909.

TAKIKAWA M., INOUE S., HORIO F & TSUDA T. (2010). Dietary anthocyanin- rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. *J Nutr.* 527-533

TEDESCO I., LUIGI RUSSO G., NAZZARO F., RUSSO M & PALUMBO R. (2001). Antioxidant effect of red wine anthocyanins in normal and catalase-inactive human erythrocytes. *J. Nutr. Biochem.* 12. 505–11

BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M E & BERSET C. (1995). Use of a ree adical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm - Wiss. U - Technol.* 28. 25-30

BENZIE F., IRIS F & STRAIN J J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay

CERVANTES B., YAHIA E., ORNELAS J., VICTORIA C., IBARRA V., PÉREZ J & ESCALANTE P. (2014). Antioxidant activity and contenido f chlorophylls and carotenoids in raw and heat – processed jalapeño peppers at intermediate stages of ripening. *Food Chem.* 146. 188–19

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

LIANG L., WU X., ZHAO T., ZHAO J., LI F., ZOU Y., MAO G & YANG L. (2012). In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. *Food Res. Int.* 46. 76–82

TAGLIAZUCCHI D., VERZELLONI E., BERTOLINI D & CONTE A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120. 599–606

CORTE-REAL J., DESMARCHELIER C., BOREL P., RICHLING E., HOFFTMANN L & BOHN T. (2018). Magnesium affects spinach carotenoid bioaccessibility in vitro depending on intestinal bile and pancreatic enzyme concentrations. *Food Chem.* 239. 751–759.

CORTE-REAL J., BERTUCCI M., SOUKOULIS C., DESMARCHELIER C., BOREL P., RICHLING E., HOFFMANN L & TORSTEN B. (2017). Negative effects of divalent mineral cations on the bioaccessibility of carotenoids from plant food matrices and related physical properties of gastrointestinal fluids. *Food Funct.* 1008 - 1019.

REMOCIÓN DE COLORANTES EN AGUA EMPLEANDO MATERIALES ORGANICOS

Maricela Esmeralda Guzmán¹ y Didilia Ileana Mendoza Castillo²

RESUMEN

En el presente experimento se llevaron a cabo pruebas para determinar si el uso de materiales orgánicos resulta factible para la remoción de colorantes en el agua. Se probaron 2 tipos de adsorbentes (carbón activado y zeolita) en el tratamiento de 2 colorantes (Acid blue 80, acid blue 129). Los resultados nos muestran la capacidad de adsorción que presentan dichos adsorbentes orgánicos, así como su afinidad por los colorantes de menor peso molecular y las condiciones a las cuales se llevan a cabo los experimentos de adsorción

ABSTRACT

In the present experiment tests were carried out to determine if the use of organic materials is feasible for the removal of dyes in the water. Two types of adsorbents (activated carbon and zeolite) were tested in the treatment of 2 dyes (Acid blue 80, acid blue 129). The results show the adsorption capacity of said organic adsorbents as well as their affinity for the lower molecular weight dyes and the conditions to which the adsorption experiments are carried out.

Palabras Clave: Absortion; Dye; Isotherm; Flamboyant; Modeling

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas principales que se presentan hoy en día es la contaminación, gracias a la contaminación se ven afectados los ecosistemas que nos rodean y con ello la población que habita dicho ecosistema, la industria es uno de los principales causantes de la contaminación, afectando recursos fundamentales como el agua, la tierra, el aire.

La contaminación del agua ha sido uno de los grandes retos que ha enfrentado la población, por ello se han obtenido diversos métodos de limpieza y purificación de agua. El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de diferentes materiales de adsorción para la remoción de contaminantes en el agua, dichos materiales tales como el carbón F900-5, el cual es obtenido de desechos orgánicos por lo que su obtención y uso son amigables con el planeta.

En el periodo de la estancia de investigación se inició la experimentación para establecer si dichos materiales presentan adsorción de un contaminante en el agua, en este caso se utilizaron 2 colorantes industriales: Acid blue 80 y acid blue 129 los cuales son contaminantes del agua y suelo. A continuación se presenta la nomenclatura utilizada en el documento.

Nomenclatura

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Departamento de Biotecnología, Blvd. Venustiano Carranza s/n, Col. República, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, maricelaesmeraldagu@uadec.edu.mx

² Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Departamento de Química y Bioquímica, Av. Adolfo López Mateos #1801 Ote. Fracc. Bona Gens, C.P. 20256, Aguascalientes, Ags, didi_men@hotmail.com

Q_{abs}	Capacidad de absorción del absorbente con respecto al absorbato
C_0	Concentración inicial
C_f	Concentración final
g	Masa del absorbente

Tabla 1
Notación

tura

MATERIALES Y METODOLOGÍA

4.1 Absorbente

Se utilizó como precursor el flamboyán para la obtención de un adsorbente por sus propiedades, el flamboyán es un residuo lignocelulósico por lo cual es propicio para la adsorción de ciertos contaminantes. A dicho material se le da un tratamiento seguido de una pirólisis para después obtener el carbón en ausencia de oxígeno. Se trabajó a 600°C y 1 atm de nitrógeno por 2 horas de carbonización.

4.2 Absorbato un colorante catiónico (C.I. Azul Ácido 80, C.I.2046) Azul Ácido de fórmula molecular ($C_{32}H_{28}N_2Na_2O_8S_2$).

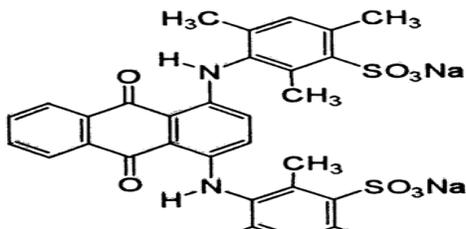


Figura 1. Estructura química de Azul Ácido 80

4.2 Absorbato, un colorante catiónico (C.I. Azul Ácido 129, C.I.62059) Azul Ácido de fórmula molecular ($C_{23}H_{18}N_2Na_2O_8S_2$).

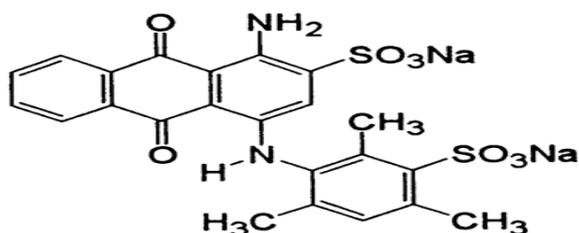


Figura 2. Estructura química del colorante Azul Ácido 129

Para comenzar con la experimentación fue necesario realizar una curva de calibración para determinar la absorbancia de los colorantes a una concentración conocida, para ello se preparó una solución madre de cada uno de los colorantes (Acid blue 80, acid blue 129). La solución madre de ambos se realizó a una concentración de 500 mg L^{-1} de la cual se realizaron disoluciones de 4,8,12,16,20,30,40 y 5,10,15,20,30,40 mg L^{-1} respectivamente, dichas soluciones se leyeron en el espectro visible (Thermo Spectronic Genesys 20) con pH ajustado y sin ajustar, las lecturas se realizaron a diferentes longitudes de onda para cada colorante (626 y 629nm) respectivamente. Las curvas de calibración obtenidas se presentan a continuación.

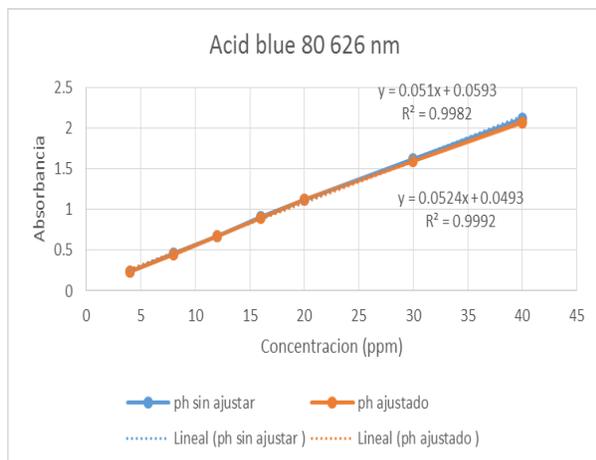


Figura 3 Curva de Calibración del ácido azul 80

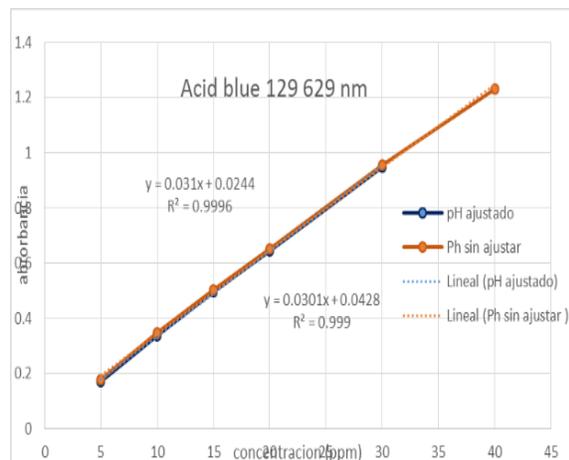


Figura 4 Curva de Calibración del ácido azul 129

Al obtener la ecuación de la recta (Ecuación 1.) arrojada por la curva de calibración y el factor de dilución (Ecuación 2.) se pudo conocer la ecuación de la concentración real (Ecuación 3) despejando de la ecuación 1, donde “y” es la absorbancia y “x” es la concentración teórica.

$$y = mx + b \quad (1)$$

$$F = V_f / V_i \quad (2)$$

$$x = \frac{y - b}{m} \quad (3)$$

Al obtener las concentraciones reales por medio de la curva de calibración se procedió a la experimentación con el adsorbente (carbón F900-5), utilizando 5 mg de dicho adsorbente con 10 ml de una solución madre de concentración 500 mg L⁻¹ de cada uno de los colorantes utilizados. El experimento se realizó por triplicado en un baño con una velocidad de agitación constante a 120 rpm y una temperatura de 30°C por un tiempo aproximado de 24 horas. Al mismo tiempo se hizo una dilución de la solución madre de 500 a 40 mg L⁻¹ la cual se leyó en el espectro visible (Thermo Spectronic Genesys 20) a la longitud de onda correspondiente para cada colorante, para conocer la concentración final real de la solución.

Al obtener la concentración real de las soluciones se determinó la capacidad de adsorción (ecuación 4)

$$Q_{abs} = \frac{(C_0 - C_f)V}{W} \quad (4)$$

Se procedió a utilizar 4 nuevos adsorbentes diferentes (zeolita) las cuales cuentan con un pretratamiento diferente para cada una. Llevando a cabo la metodología antes descrita para dichos colorantes.

RESULTADOS

Al no obtener cambios significativos en las concentraciones iniciales y finales se pudo determinar que el adsorbente (carbón F900-5) no tiene capacidad de adsorción para dichos colorantes (acid blue 80, acid blue 129).

Los resultados de la experimentación con la zeolita se presentan en la sig tabla.

Zeolita	Colorante	Capacidad de adsorción
S2	Acid blue 80 Acid blue 129	No presenta capacidad de adsorción No presenta capacidad de adsorción
S4	Acid blue 80 Acid blue 129	No presenta capacidad de adsorción Qabs= 7.05
S6	Acid blue 80 Acid blue 129	No presenta capacidad de adsorción No presenta capacidad de adsorción
S10	Acid blue 80 Acid blue 129	No presenta capacidad de adsorción Qabs= 13.58

CONCLUSIONES

Durante la estancia de investigación se pudo concluir que el carbón F900-5 no presenta capacidad de adsorción frente a los colorantes, acid blue 80 y acid blue 129, sin embargo la zeolita si presenta capacidad de adsorción frente a uno de los colorantes, también se probó como el Ph de las soluciones no es un factor importante en la determinación de la concentración.

El tiempo no fue suficiente para obtener resultados más concretos debido a que los tratamientos para el material adsorbente llevan un tiempo de procesamiento extenso. Sin embargo al utilizar las zeolitas se abre paso a la futura experimentación con este material orgánico.

BIBLIOGRAFIA

Oualid Hamdaoui, Fethi Saoudi, Mahdi Chiha, Emmanuel Naffrechoux, Sorption of malachite green by a novel sorbent, dead leaves of plane tree: Equilibrium and kinetic modeling, Chemical Engineering Journal, Volume 143, Issues 1-3, 2008, Pages 73-84, ISSN 1385-8947,

<https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.12.018>.

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894707008078>)

CUANTIFICACIÓN DE NIVELES HORMONALES EN LA TORTUGA BLANCA QUE HABITA EN EL CARIBE MEXICANO.

Jiménez Jiménez, Marina Lizbeth¹ y Labrada Martagón, Vanessa²

RESUMEN

Resulta prioritario entender la demografía de las poblaciones de tortugas marinas para desarrollar estrategias de manejo y conservación adecuadas; sin embargo, el conocimiento actual sobre parámetros demográficos y dinámica poblacional de la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) es escaso y en el Caribe Mexicano prácticamente nulo. Al ser una especie en riesgo resulta aún más importante generar y validar técnicas de estimación *in vivo*, económicas y poco invasivas. En el presente proyecto se cuantificaron las hormonas sexuales, estradiol y testosterona, así como tiroxina, utilizando la técnica ELISA para su cuantificación en suero. Con ayuda de un software especializado se calcularon las respectivas concentraciones a partir de las absorbancias medidas. Los resultados obtenidos podrán ser empleados en modelación estadística para una futura validación del uso de las hormonas como marcadores de parámetros demográficos tales como, sexo y madurez, para el diseño apropiado de estrategias de manejo y conservación para las tortugas marinas.

ABSTRACT

It is a priority to understand the demography of sea turtle populations to develop appropriate management and conservation strategies; however, current knowledge about demographic parameters and population dynamics of the green turtle (*Chelonia mydas*) is scarce and in the Mexican Caribbean practically nil. Being a species at risk, it is even more important to generate and validate *in vivo*, economic, and minimally invasive estimation techniques. In the present project, the sex hormones, estradiol and testosterone, as well as thyroxine were quantified, using the ELISA technique for its quantification in serum. With the help of specialized software, the respective concentrations were calculated from the measured absorbances. The results obtained can be used in statistical modeling for a future validation of the use of hormones as markers of demographic parameters such as sex and maturity, for the appropriate design of management and conservation strategies for sea turtles.

Palabras clave: *Chelonia mydas*, hormonas, madurez sexual, demografía, ELISA.

INTRODUCCIÓN

La tortuga blanca o tortuga verde (*Chelonia mydas*), es la más grande en tamaño dentro de la familia Cheloniidae, y se caracteriza por presentar varios colores y tonalidades incluso en ejemplares adultos (Gibert et al, 2010). Normalmente se le encuentra en costas, arrecifes, islas, bahías y zonas protegidas (Márquez, 1990). Se ha registrado su anidación en cerca de 80 países, principalmente en el océano Atlántico y Pacífico. En México, la tortuga blanca anida en playas de Tamaulipas, Veracruz, Campeche y Quintana Roo, en el Golfo de México y Caribe Mexicano. En el Pacífico, se ha registrado en Baja California y desde Sinaloa hasta Chiapas. Los juveniles normalmente son vistos en lagunas costeras de poca profundidad, en donde pueden vivir por más de 20 años.

¹División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Colonia Noria Alta, C.P.: 36050, Guanajuato, Gto., jimenezjimenez_marina@hotmail.com

²Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Salvador Nava Martínez s/n, Zona Universitaria, C.P.:78290, San Luis Potosí, S.L.P., vanessa.labrada@uaslp.mx

Después de alcanzar la madurez sexual, los adultos migran de las áreas de alimentación a las de anidación (CONANP, 2011). Al igual que otras especies de tortugas marinas, estos reptiles son susceptibles al declive de sus poblaciones por factores ambientales y presiones antropogénicas, principalmente por el aumento del turismo en las costas y playas mexicanas. La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) clasifica a la especie en peligro de extinción, lo que significa que tiene un alto riesgo de desaparecer en un futuro cercano de no tomar cartas en el asunto (L. Lutz, 1997).

El estudio de parámetros demográficos nos ayuda a comprender la dinámica de poblaciones animales, como las tortugas marinas, ya que con ellos podemos estimar la edad a tallas específicas, la madurez sexual, edad de reproducción, entre otros; además nos ayuda a percibir presiones ambientales y antropogénicas. Todos estos parámetros permiten la formulación de estrategias de conservación para la especie (Gibbons, 1987; Balazs, 1995). Actualmente los trabajos enfocados a esta temática se centran básicamente en áreas de anidación y no tanto a zonas de alimentación o más alejadas, donde puede haber juveniles, así mismo reducen su trabajo utilizando comúnmente sólo información de hembras adultas (Balazs 1995, Chaloupka et al. 2004, Balazs & Chaloupka 2006). Las técnicas para estimar madurez sexual que se han utilizado se enfocan en características visuales o resultan invasivas para las tortugas, lo que implica clasificaciones erróneas o bien esperar a utilizar animales muertos.

Se han realizado estudios para evaluar la utilidad de la medición en suero de hormonas esteroideas como un método no letal y poco invasivo para la determinación de parámetros demográficos en especies en riesgo, dichas determinaciones, con ayuda de modelos estadísticos, han resultado ser una fuente importante de información demográfica, obteniéndose datos sobre la talla de madurez sexual y razón sexual (Labrada-Martagón et al 2014). El presente trabajo pretende determinar la concentración en suero de esteroides sexuales (testosterona y estradiol) así como tiroxina, en individuos inmaduros y adultos de ambos sexos capturados en las costas de Quintana Roo y playas del Caribe Mexicano, para proveer de datos biológico para la estimación de la talla promedio de madurez sexual y sexo de los individuos, por medio de técnicas inmunológicas y modelación estadística.

La técnica ELISA, del acrónimo en inglés Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas es un inmunoensayo en el cual un antígeno es detectado por un anticuerpo enlazado a una enzima, dicha enzima es capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo de señal. ELISA se ha vuelto extraordinariamente útil porque permite la detección rápida o cuantificación de un gran número de muestras para la presencia de un analito específico o el anticuerpo que lo reconoce y es también muy popular debido a su facilidad de rendimiento y automatización, precisión y disponibilidad por su bajo costo de reactivos. Existen distintos tipos de ELISA, si se utiliza un anticuerpo marcado podemos hablar de ELISA directo, indirecto o el llamado “en sándwich”, en cambio, si se utiliza un antígeno marcado se trata de un ELISA competitivo (KPL, 2005).

Las hormonas de este estudio fueron cuantificadas por medio del método ELISA en fase sólida competitiva, en el que las hormonas de las muestras y de un conjugado enzimático de trabajo compiten por los sitios limitados de unión en una microplaca cubierta con el anticuerpo específico. El lavado y decantado del proceso remueve los materiales libres que no se unen para que posteriormente, con el compuesto TMB, que es un sustrato cromogénico que permite la visualización de la reacción generada entre la enzima y el anticuerpo genere una señal de color en la microplaca. La intensidad de color formada resulta proporcional a la concentración de enzima presente e inversamente proporcional a la concentración de la hormona en la muestra (entre mayor muestra menor señal-color). La absorbancia es leída por medio de un lector de microplaca y a partir de esta se calculan las concentraciones utilizando como base una curva de calibración con ayuda de un software específico que realiza la interpolación de los datos generados.

METODOLOGÍA.

Las muestras de suero ya se tenían colectadas, procesadas y en ultracongelación, y algunas de ellas ya habían sido analizadas. Se realizó una base de datos en la que se ordenaron los datos y se registró las pruebas previamente realizadas para cada muestra y resultando un total de 108 muestras sin analizar, pertenecientes a distintas zonas de captura. En la Tabla 1 se presentan el número de muestras colectadas y analizadas por zona de estudio. Adicionalmente se calculó el número de alícuotas necesarias por muestra así como el número de microplacas y kits comerciales requeridas para realizar las ELISAS, se realizó la cotización de dicho material.

Tabla 1. Total de muestras a analizar por zona de estudio.

Zona	Clave	Número de individuos analizados
Akumal	AK	19
Punta Arenas	PA	32
Punta Herrero	PH	11
Ixlache	IX	11
Xcalac	M	20
Tortugranja	TG	15
Total		108

Posteriormente se prosiguió a elaborar 3 alícuotas de 50µL para cada muestra, necesarias para la medición de niveles hormonales específicos, las hormonas de las que se realizó la cuantificación fueron: Tiroxina (T4), Testosterona (Test) y Estradiol (E2). Las alícuotas se transportaron cuidadosamente en hielo seco dentro de una hielera, evitando su descongelación, desde el ultracongelador donde eran almacenadas hasta el laboratorio en el que se realizarían las pruebas y fueron acomodadas para que estuvieran listas al momento de ser procesadas, se conservaron dentro del congelador hasta su uso.

Para determinar la cantidad de cada una de las hormonas analizadas en las muestra de suero obtenidas, se utilizó la técnica inmunológica ELISA. Los ELISAS se realizaron de acuerdo a Labrada-Martagón et al., 2013 siguiendo las especificaciones del proveedor. Los kits comerciales empleados son T4 total, marca MBM, Cat No. C-3149; Test total, marca MBM, Cat. 2095-18, y E2 total, marca Diagnostic Automation/Cortez Diagnostics, Cat No. C-2046. Se utilizaron los estándares y controles específicos en cada uno, así como los buffers de lavado, frenado y se prepararon los conjugados enzimáticos a las concentraciones indicadas. Brevemente el método consistió en colocar cada una de las muestras en la microplaca que contenía el anticuerpo específico, así como los controles y estándares utilizados, la cantidad de muestra colocada es distinta en cada hormona pero se acató lo que requería cada kit. Enseguida se colocó el conjugado enzimático, también específico en cada caso y se dejó incubar por el tiempo especificado por el protocolo del kit. Posterior a la incubación se realizaron lavados con la solución de lavado o agua destilada, según fuera el caso, desechando en cada ocasión el contenido en papel absorbente. Después del lavado se agregó el sustrato TMB que al unirse con la enzima confirió color, esto tras ser incubado nuevamente, la reacción enzimática terminó tras la adición de la solución de frenado.

Se midió la absorbancia de las muestras con un lector de microplaca utilizando un filtro de 450nm. Se obtuvo una curva estándar al graficar la concentración conocida contra la absorbancia media, la obtención de los valores de concentración se obtuvo por medio del modelo típico de la curva generada por una ELISA de competencia, esto es a partir de la ecuación de cuatro parámetros o en su defecto un ajuste log/logi, por medio de interpolación que se procesó con el software específico (GraphPad Prism V.7), así fue posible tener valores para cada muestra. Finalmente se calculó el coeficiente de variación en todos los casos utilizando Microsoft Excel.

Dentro del periodo de estancia, colaboramos con otros proyectos en curso del Laboratorio de Ecología de la Salud de la Facultad de Ciencias de la UASLP. Estos involucraron actividades de colecta, muestreo y análisis de muestras de aves, que resultan muy similares a las utilizadas en reptiles, en caso particular, a tortugas; asistimos a colecta de pájaros del parque Tangamanga, se prosiguió a su registro, marcaje y toma de muestras sanguíneas y su preparación para ser analizadas, así como la elaboración de frotis sanguíneos. Dentro del laboratorio, nuestra aportación consistió en realizar conteos sanguíneos, de parte de las muestras obtenidas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron exitosamente las concentraciones de las muestras analizadas que pudieron ser analizadas con GraphPad Prism V.7. Como se muestra en la Figura 2 y 3, se obtuvieron las curvas estándar para Test y E2 como era lo esperado, es decir, la absorbancia medida resultó inversamente proporcional a la concentración de la hormona en la muestra, esto pudo notarse igualmente en casa placa, puesto que aquellas que presentaban mayor concentración de la hormona cuantificada, tuvieron una menor coloración, mientras que en todas aquellas que tenían concentraciones menores se observaron colores más intensos (ver Figura 1). No se interpolaron algunos valores de muestras por el programa, pero se determinó que dicho valor debía ser cero puesto que las absorbancias que se midieron en dichos casos sobrepasaron a la absorbancia del estándar para 0 pg/mL. Se obtuvieron los coeficientes de variación intraensayo para cada grupo de muestras, es decir, de cada hormona cuantificada, 6.02% correspondiente a testosterona, 8.49% para estradiol y 8.54% para tiroxina.

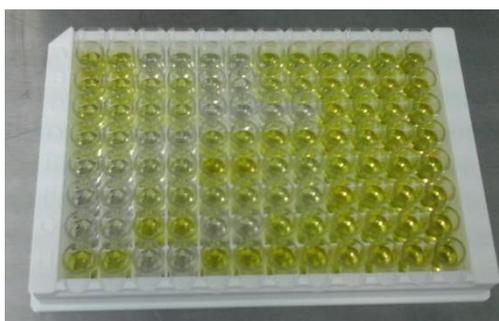


Figura 1. Microplaca utilizada en la cuantificación de Estradiol.

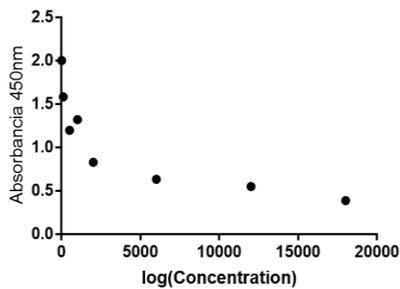


Figura 2. Curva estándar de la concentración de Testosterona.

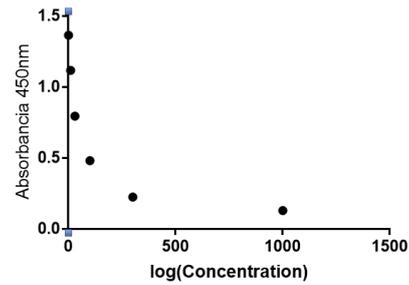


Figura 3. Curva estándar de la concentración de Estradiol.

CONCLUSIONES

La determinación de los niveles hormonales en la tortuga blanca resultó rápida y sencilla, destacando que es un método poco invasivo para los especímenes y de bajo costo. Por medio de kits comerciales se obtuvieron las concentraciones de las hormonas estudiadas de cada muestra de forma óptima. Los datos generados por el proyecto permitirán estimar parámetros demográficos en la población de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en el Caribe Mexicano y el monitoreo de los mismos permitirá utilizarlos como base para la futura determinación de la dinámica poblacional en respuesta a factores intrínsecos o extrínsecos como la perturbación ambiental.

BIBLIOGRAFIA

Anónimo. *Technical Guide for ELISA, protocols and troubleshooting*, 37 p. [consultado el 11 de junio de 2018 en: <http://www.kpl.com>]

Anónimo. *GraphPad Curve Fitting Guide*, GraphPad Software Inc., 2014.

BALAZS GH. (1995). Growth rates of immature green turtles in the Hawaiian Archipelago. In: Bjorndal KA, ed. *Biology and Conservation of sea turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C., pp 117-125.

BALAZS GH. (1999). Factors to consider in the tagging of sea turtles. In: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M. eds. *Research and management techniques for the conservation of sea turtles*, No. 4, IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group, Pennsylvania, pp 101.

CHALOUPKA M, LIMPUS C, MILLER J. (2004). Green turtle somatic growth dynamics in a spatially disjunct Great Barrier Reef metapopulation. *Coral Reefs* 23(3): 325-335.

CHALOUPKA MY, MUSICK JA. (1997). Age, Growth, and Population Dynamics. In: Lutz PL, Musick JA, eds. *The biology of sea turtles*. CRC Press, Boca Raton, pp 233- 276.

CONANP (2011). Programa de Acción para la Conservación de la Especie: Tortuga verde/negra, *Chelonia mydas*. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. México. 52 p.

GIBERT, I. S., INFANTE, M. O. Y NARRO, E. I. (2010). Riqueza natural mexicana y sus especies en riesgo. Camino al Ajusco No. 200, Col. Jardines en la Montaña, Del. Tlalpan. C. P. 14210, México D. F. Diciembre 2011. Dimensión Natural-Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 287 pp.

L.LUTZ, PETER, A. MUSICK, JOHN. (1997). Survival status of living cheloniids. *The biology of the sea turtles, Vol. I*, CRC Marine Science Series, [pp. 17]

LABRADA-MARTAGÓN V, MÉNDEZ L, MANGEL M, ZENTENO-SAVÍN T. (2013). Applying generalized linear models as an explanatory tool of sex steroids, thyroid hormones and their relationships with environmental and physiologic factors in immature East Pacific green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 166:[pp. 91-100].

LABRADA-MARTAGÓN, V., ET AL. (2014). "Linking physiological approaches to marine vertebrate conservation: using sex steroid hormone determinations in demographic assessments." *Conservation Physiology* 2(1): cot035.

MÁRQUEZ, M. R. (1990). FAO Species Catalogue, Vol. 11. Sea turtles of the world. *An annotated and illustrated catalogue of the sea turtle species known to date*. FAO United Nations, 81 pp.

SÍNTESIS DE ESFERAS QUITOSANO CON MAGNETITA

Mario Eduardo Dávila Brondo¹ y Dr. Eduardo A. Elizalde Peña²

RESUMEN

Durante el verano se estuvieron sintetizando esferas de quitosano. Se hicieron de tres tipos diferentes, esferas de quitosano, con magnetita y con magnetita cubiertas de cáscara de plátano. El propósito de dichas esferas es absorber iones metálicos para remediación del agua. Para poder obtenerlas había que sintetizar quitosano-GMA, soluciones de ácido acético e hidróxido de sodio, moler magnetita y cáscara de plátano. Todo esto fue el material que se utilizó en su síntesis. Para analizar la absorbancia de las esferas se hicieron pruebas de absorción de metales pesados sacando pruebas cada cierto tiempo que después fueron analizados en espectrofotómetro UV/VIS.

ABSTRACT

During the summer, chitosan spheres were synthesized. The spheres were made of three different types, pristine chitosan, chitosan with magnetite and chitosan with magnetite covered in banana peel. The purpose of these spheres is to absorb metal ions from water. In order to obtain these spheres, it was necessary to synthesize chitosan-GMA, solutions of acetic acid and sodium hydroxide and to grind magnetite and banana peel. In order to analyze the absorbance of the spheres, heavy metal absorption tests were carried out, which were then analyzed in a UV / VIS spectrophotometer.

Palabras Clave: Quitosano, magnetita, esferas, remediación, agua.

INTRODUCCIÓN

El agua es indispensable para la vida en la Tierra y la falta de ella puede afectar a toda la población mundial. La necesidad del agua en nuestro día diario ha hecho que se hagan investigaciones sobre como radicar el problema o buscar alternativas de purificación y potabilización del agua. Entre las principales fuentes de contaminación del agua se encuentra la industria textil, minera, pintura y agrícola.

Entre los principales contaminantes de dichas actividades industriales se encuentra la contaminación de metales pesados los cuales tienen efectos tóxicos sobre las células. Su consumo puede causar daños al sistema reproductivo, cardiovascular, nervioso, digestivo e inmune. Mientras tanto en el ecosistema también se consideran daños graves ya que afecta a las biomoléculas, modificándolas, rompiendo su integridad y bloqueando grupos funcionales.

Una de las maneras de quitar los metales pesados del agua es a través de la absorción de ellos con la utilización de algún material, en este caso esferas de quitosano con magnetita. El quitosano es reconocido como un excelente bioabsorbente para la remoción de iones de metales pesados por sus propiedades (biodegradabilidad, bioactividad, biocompatibilidad y no toxicidad), aparte de ser el polímero más abundante y barato.

Por otra parte, la razón por la que se tiene un recubrimiento de cáscara de plátano es porque en ella se encuentra hidroxila y carboxila de pectina capaz de absorber metales pesados. La cáscara de plátano absorbe metales por fisiorción. Dichas moléculas se encuentran también en otros frutos, pero la cáscara de plátano al ser considerada un deshecho y encontrarse en abundancia se eligió sobre otras fuentes de pectina. Los metales pesados tienen una carga positiva que les hace ser atraídos por las moléculas negativas del polvo de la cáscara de plátano.

METODOLOGÍA

Para sintetizar las esferas de quitosano primero se debe de hacer soluciones de ácido acético e hidróxido de sodio que se utilizará en todo el proceso. En un vaso de precipitado se vierte el ácido acético y después se disuelven el quitosano por medio de agitación magnética a una temperatura media. En otro vaso se

1. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería; Carretera a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, 76140 Santiago de Querétaro, Qro, mireslash.md@gmail.com

2. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería; Carretera a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, 76140 Santiago de Querétaro, Qro, laloelizaldep@gmail.com

agrega el hidróxido de sodio (KOH) con ácido acético. Ya que se disolvió el quitosano en el ácido acético, se agrega la segunda solución y se deja en agitación durante 1 hora.

En un vaso de se vierte acetonitrilo y se calienta. Al ser una reacción endotérmica se debe de estar midiendo la temperatura constantemente para que no salga de un rango de alrededor de 4 grados centígrados. Después se precipita el quitosano-GMA a velocidad moderada. Una vez obtenido, se guarda a bajas temperaturas en acetonitrilo.



Fig. 1: Acetonitrilo en agitación.



Fig. 2: Esferas de quitosano en reposo.

La magnetita se tuvo que moler en un mortero y se tamizó varias veces antes de pasar al mortero de agata donde nuevamente la magnetita fue tamizada con el fin de obtener las partículas más finas y después facilitar la producción de esferas.



Fig. 3: Magnetita molida.

Para la cáscara de plátano se hace un secado y un molido para obtener pequeñas partículas que será el recubrimiento de las esferas. Se quitan las fibras más grandes antes de molerlo y una vez molido se tamiza para que sólo queden las partículas más pequeñas.

En la síntesis de esferas de quitosano-magnetita y las esferas de quitosano-magnetita-cáscara de plátano, primero se disuelve un poco de magnetita en el quitosano-GMA. Después se agregan la solución de quitosano y se mete en baño sónico durante 35 minutos. Dicha solución será la que haga las esferas. Para las esferas de quitosano-magnetita se vierte en un cristalizador hidróxido de sodio y se gotea la solución generando esferas. En las esferas de quitosano-magnetita-cáscara de plátano, primero se espolvorea la cáscara de plátano en el hidróxido y después se gotea la solución de quitosano para generar las esferas. Las esferas se dejan reposar 24 horas en el hidróxido de sodio y después se lavan con agua destilada hasta un pH neutro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para obtener resultados de absorción, se dejaron cuatro gramos de esferas en 400ml de agua con 50 ppm de de los siguientes metales pesados: Niquel, Hierro, Plomo y Cobre. Se dejaron en reflujo durante dos horas sacando un amuestra de 10 ml a los 15, 30, 60 y 120 minutos. Como se midió la absorción de las esferas de quitosano-magnetita y quitosano-magnetita-cáscara de plátano se obtuvieron un total de 32 muestras. Una vez concluidas las pruebas, se utilizó un espectrofotómetro UV/VIS para detectar la cantidad del metal presente en la solución final.

Al graficar las distintas concentraciones de metales pesados divididos por el tipo de esfera, se logra observar que la más eficaz en promedio son las esferas de quitosano-magnetita-cáscara de plátano y las que menos absorben las de quitosano solo.



Fig. 4: Pruebas de absorción

CONCLUSIONES

El tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados es un tema de gran relevancia debido a que este tipo de contaminación está altamente distribuida en el planeta. Uno de los métodos más amigables debido a que no involucra la adición de químicos externos es la adsorción de los iones. Se ha comprobado que la cáscara de plátano y el quitosano son buenos adsorbentes de metales pesados y al hacer un material compuesto de ambos, sus propiedades se suman.

El quitosano magnetita logra atraer metales pesados y dichas esferas pueden después sacarse del agua sin problema, a excepción de una concentración alta en plomo ya que puede deshacer las esferas dejando el agua más contaminada de lo que inicialmente estaba. Las esferas con recubrimiento de cáscara de plátano logran aumentar la absorción de metales pesados en el agua por poco más del 10% en cada prueba. El tiempo óptimo de absorción es de 1 hora, ya que después de la hora deja de ser significativa la absorción.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Elizalde-Peña, E. A., & Flores-Ramírez, N. (2005). Characterization and degradation of functionalized chitosan with glycidyl methacrylate. *Journal of Biomaterials Science*, 16(4), 473-488. Retrieved July 23, 2018.
- [2] Elizalde-Peña, E. A., Flores-Ramírez, N., & Luna-Bacernas, G. (2007). Synthesis and characterization of chitosan-g-glycidyl methacrylate with methyl methacrylate. *European Polymer Journal*, 43(9), 3964-3969. Retrieved July 23, 2018
- [3] R. O. Cañizares Villanueva, «Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana,» *Revista Latinoamericana de Microbiología*, vol. 42, n° 3, pp. 131- 143, 2000.
- [4] S. E. Manahan, *Introducción a la química ambiental*, México: Reverté ediciones, 2007.
- [5] Zhang, L., Zeng, Y., & Cheng, Z. (2016). Removal of heavy metal ions using chitosan and modified chitosan: A review. *Journal of Molecular Lipids*, 175-191. Retrieved July 23, 2018.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE BIOPOLÍMEROS DE POLI(L-LACTIDA) Y SUS POLI(ÉSTER-URETANOS)

Mario Michael Villegas Herrera¹ y José Eduardo Báez García²

RESUMEN

En este estudio se expone la síntesis de nuevos biopolímeros de poli(L-lactida) y sus poli(éster-uretano)s con la finalidad de proporcionar información útil para la continuidad de su estudio y búsqueda de aplicaciones. La poli(L-lactida) fue sintetizada a partir de los iniciadores: 1,5-pentanodiol, 2,2-dimetil-1,3-propanodiol y 2,2-dietil-1,3-propanodiol, utilizando el 2-etilhexanoato de estaño como catalizador. Del mismo modo, a partir de los tres tipos de poli(L-lactida) obtenidos fueron sintetizados sus poli(éster-uretano)s utilizando 1, 6-hexametilendiisocianato y 2-etilhexanoato de estaño. Los elementos sintetizados fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) y espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis). Finalmente, se realizaron pruebas de degradabilidad para los poliuretanos obtenidos en medio ácido, neutro y básico.

ABSTRACT

In this study we exposed the synthesis of new biopolymers of poly(L-lactide) and its poly(ester-urethanes) to bring useful information for the continuity of its study and search of applications. The poly(L-lactide) was synthesized from the initiators: 1,5-pentanediol, 2,2-dimethyl-1,3-propanediol and 2,2-diethyl-1,3-propanediol, using the tin(II) 2-ethylhexanoate as catalyst. In the same way from the three types of poly(L-lactide) obtained, their poly(ester-urethanes) were synthesized using 1,6-hexamethylene diisocyanate and tin(II) 2-ethylhexanoate. The synthesized elements were characterized by nuclear magnetic resonance (NMR), infrared spectroscopy (FT-IR) and ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis). Finally, degradability tests of the polyurethanes obtained in acidic, neutral and basic medium were carried out.

Palabras Clave: Biopolímero. Polimerización por apertura de anillo. Iniciador. Poli(L-lactida). Poli(éster-uretano).

INTRODUCCIÓN

La gran versatilidad que presentan los biopolímeros en su síntesis ha generado la creación de polímeros biodegradables con un gran número de aplicaciones. Tal es el caso de los polímeros de poli(L-lactida) (PLLA), los cuales ya se han utilizado como una opción ambiental en bolsas de supermercado (Vink et al., 2004), además, se ha estudiado su uso en implantes médicos (Sang-Don, Young-Sam y Kyu-Sung, 2017), sistemas de liberación de fármacos (Dellacasa et al., 2016), entre otros.

Otra familia muy versátil de biopolímeros son los llamados poliuretanos. Éstos se distinguen de otros por su dureza, elasticidad y resistencia, teniendo aplicación en una gran diversidad de campos especialmente en la industria médica como biomateriales (Gregori et al., 2017). Con la finalidad de mejorar las propiedades de la poli(L-lactida) se ha reportado la síntesis de poliuretanos a partir de ésta (Báez et al., 2017), obteniéndose resultados deseables que abren paso a nuevos biopolímeros con un potencial campo de aplicación.

Con la finalidad de explorar nuevos biopolímeros y abrir paso a la continuidad de su estudio, en el presente reporte se expone la síntesis de poli(L-lactida) utilizando tres diferentes tipos de diol: 2,2-dimetil-1,3-propanodiol, 2,2-dietil-

¹Universidad Autónoma de Aguascalientes, centro de ciencias básicas; Av. Universidad #940, Ciudad universitaria, C.P: 20131, Aguascalientes, Aguascalientes, villegas.chemist@gmail.com

²Universidad Autónoma de Guanajuato, facultad de química; Noria alta S/N, Noria alta, C.P:36050, Guanajuato, Guanajuato, jebaez@ugto.mx

1,3-propanodiol y 1,5-pentanodiol, usando para este propósito el catalizador 2-etilhexanoato de estaño II y como monómero la L-lactida. Así mismo, a partir de los polímeros obtenidos de los diferentes dioles se expone la síntesis de sus poli(éster-uretanos), utilizando el 1,6-hexametilendiisocianato (HDI), y de igual manera el 2-etilhexanoato de estaño II como catalizador.

Los polímeros de poli(L-lactida) y sus poliuretanos fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H) e infrarrojo (FT-IR). Se realizó un análisis UV-Vis de de 190 a 750 nm para determinar la longitud de onda máxima a la cual absorbe el polímero. Por último, se realizaron pruebas de degradabilidad recortando 1 cm² de las películas de poli(éster-uretano) obtenidas en medio ácido, neutro y básico por triplicado.

MARCO TEORICO

La polilactida (poli(L-lactida)) es un poliéster alifático ya que en su estructura química se repite constantemente el grupo funcional éster. La susceptibilidad del grupo éster a ser hidrolizado y convertido en oligómeros de bajo peso molecular permite que el polímero pueda ser metabolizado por microorganismos como fuente de carbono (Báez et al., 2010). El monómero que se repite n veces para formar los polímeros de polilactida es la lactida. Éste es un dímero cíclico del ácido láctico que se obtiene por la fermentación de recursos renovables como el maíz y la caña de azúcar (Vink et al., 2004).

El monómero lactida presenta dos centros quirales que se ubican en los dos metinos (CH) del anillo. Debido a esta característica existen los siguientes esteroisómeros: D-lactida, L-lactida, meso-lactida y podría mencionarse un compuesto también utilizado llamado D,L- lactida que es una mezcla racémica de D-lactida y L-lactida (Báez et al., 2010).

El monómero utilizado junto a un iniciador (alcohol, diol o poliol) y un catalizador metálico propician el mecanismo de polimerización por apertura de anillo (ROP) para producir, dependiendo del monómero, polímeros como poli(L-lactida), poli(D-lactida), poli (D,L- lactida) y poli(meso-lactida) (Báez et al., 2010).

El catalizador más utilizado, que además ha sido avalado por la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA), en la polimerización para obtener poliésteres biodegradables es el 2-etilhexanoato de estaño II (Sn(Oct)₂). Se ha encontrado que este catalizador en presencia de un alcohol primario o secundario tiene la característica de presentar una reacción de transferencia en donde se produce una nueva especie de alcóxido de estaño que es la especie activa que lleva a cabo la ROP (Kowalski, Duda y Penczek, 2000). De esta manera y utilizando las condiciones de reacción indicadas, se espera que la ROP de L-lactida ocurra conforme a la figura 1 de forma única para cada diol utilizado.

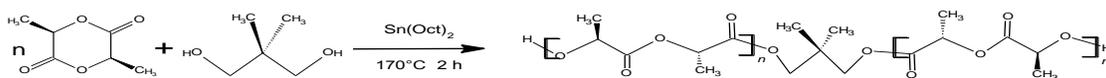


Figura 1. Polimerización por apertura de anillo de L-lactida utilizando como iniciador el 2,2-dimetil-1,3-propanodiol

Por otro lado, los poli(éster-uretano)s (poliuretanos) componen la familia más versátil de polímeros que existe. Como característica distintiva, su cadena principal contiene como eslabón al grupo uretano.

Como ya se ha mencionado, se ha reportado que la síntesis de poliuretanos a partir de poli(L-lactida) mejora las propiedades de los polímeros de ésta.

Para la síntesis de poliuretanos se necesita de un alcohol o poliol, un isocianato polifuncional y un extendedor de cadena. De esta manera y utilizando las condiciones de reacción indicadas, se espera que la síntesis de poliuretanos a partir de poli(L-lactida) ocurra conforme a la figura 2 de forma única para cada poli(L-lactida) sintetizado.

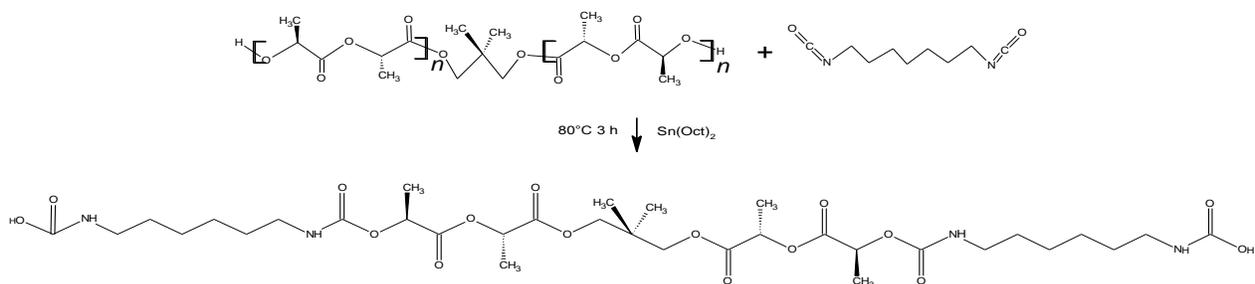


Figura 2. Síntesis de poli(éster-uretano) a partir de poli(L-lactida) utilizando como iniciador el 2,2-dimetil-1,3-propanodiol

MÉTODOS Y MATERIALES

Materiales

L-lactida, 1,5- pentanodiol, 2,2-dimetil-1,3-propanodiol, 2,2-dietil-1,3-propanodiol, 2-etilhexanoato de estaño (II), 1,6-hexametilendiisocianato, 1,2-dicloroetano, cloroformo, cloroformo deuterado, solución buffer (pH=8), solución 0.01 M HCl, solución 0.01 M NaOH. Los reactivos mencionados fueron proveídos por Sigma-Aldrich y usados sin purificación.

Método

La síntesis de poli(L-lactida) utilizando tres diferentes tipos de dioles (iniciadores) se llevó a cabo en un matraz balón de fondo redondo de 25 mL previamente secado, agregando L-lactida (40 mmol, 5.7652 g), 2-etilhexanoato de estaño (II) (SnOct₂) (4 gotas, ~48 mg) y adicionando por separado a cada mezcla 1,5-pentanodiol (8 mmol, 0.8332 g), 2,2-dimetil-1,3-propanodiol (8 mmol, 0.8332 g), 2,2-dietil-1,3-propanodiol (8 mmol, 1.0576g). Tomando en cuenta una razón molar L-lactida/diol = 10. Cada matraz fue sellado por medio de una septa y calentado con agitación a 170°C en un baño de aceite de silicón durante dos horas. Transcurrido el tiempo, el crudo de reacción caliente fue vertido en un vial de 10 mL.

Para la síntesis de los poli(éster-uretanos) se utilizó un matraz balón de fondo redondo de 25 mL secado previamente, agregando para cada reacción 1.7 gramos del polímero de poli(L-lactida) respectivo disuelto en 7 mL de 1,2-dicloroetano, tomando una relación molar 1:1.5 para la cantidad de HDI a adicionar, junto a 4 gotas (~48 mg) de 2-etilhexanoato de estaño (II) (Sn(oct)₂). El matraz balón fue conectado a un sistema de reflujo con desecador. La reacción se colocó en un baño de aceite de silicón a 80°C durante 3 horas agregando más disolvente si es que el crudo de reacción se tornaba viscoso. Después de ese tiempo la mezcla fue vaciada dentro de un anillo de vidrio sobre una superficie nivelada de teflón. El anillo fue cubierto por dos días con un embudo cónico para protegerlo del polvo y generar una evaporación lenta del solvente. Después de 72 horas la película de poliuretano obtenido fue liberada del aro de vidrio.

La caracterización de poli(L-lactida) y sus poli(éster-uretano)s se realizó por resonancia magnética nuclear de protón en el equipo Varian Inova or Mercury 400 MHz, utilizando como solvente y referencia CDCl₃ [δ (ppm) 7.26 (¹H)]. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR) se realizó en el equipo Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR espectrómetro con un accesorio de espectroscopia de reflectancia total atenuada (ATR).

Se realizó un barrido UV-Vis de 190 a 750 nm con cloroformo como disolvente.

La prueba de degradabilidad se realizó colocando cortes de 1 cm² de las diferentes películas de poli(éster-uretanos) obtenidas en 5 mL de medio ácido (0.01 M HCl), neutro (Buffer pH= 8) y básico (0.01 M NaOH) por triplicado, sin renovación de la solución a temperatura ambiente. Al cabo de tres días las películas fueron extraídas, secadas cuidadosamente con papel filtro, pesadas y regresadas al vial.

RESULTADOS

La síntesis de poli(L-lactida) a partir de los dioles 2,2-dimetil-1,3-propanodiol, 2,2-dietil-1,3-propanodiol y 1,5-pentanodiol en las condiciones mencionadas anteriormente mostraron como resultado para todos los casos un gel viscoso transparente sin aparente diferencia física entre ellos. La síntesis de poli(éster-uretano)s a partir de las muestras de poli(L-lactida) en las condiciones ya mencionadas mostraron como resultado películas transparentes, flexibles y no quebradizas para todos los casos (Figura 3), sin aparente diferencia física entre ellas.



Figura 3. Película de poli(éster-uretano) a partir de poli(L-lactida) utilizando como iniciador el 2,2-dimetil-1,3-propanodiol

Como evidencia de la síntesis de la poli(L-lactida) conforme al esquema de reacción representado en la Figura 1, a continuación, se muestran las asignaciones de las bandas de absorción de RMN ^1H utilizando los diferentes iniciadores.

Para el iniciador 1,5-pentanodiol se obtuvo en su RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ (A) 4.35 (cuartete, 1 H, [CH-OH], poli(L-lactida)), (B) 1.40 (doblete, 3 H, [CH₃], poli(L-lactida)), (C) 5.17 (picos traslapados, 1 H, [CH] poli(L-lactida)), (E) 1.59 (picos traslapados, 2H, [CH₂] pentilo), (H) 1.65 (doblete, 3H, [CH₃] poli(L-lactida)). (D) 5.02 corresponde a monómero sin reaccionar.

Para el iniciador 2,2-dimetil-1,3-propanodiol se obtuvo en su RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ (A) 4.35 (cuartete, 1 H, [CH-OH], poli(L-lactida)), (B) 1.48 (doblete, 3 H, [CH₃], poli(L-lactida)), (C) 5.17 (picos traslapados, 1 H, [CH] poli(L-lactida)), (E) 0.8 (picos traslapados, 3H, [CH₃] propilo), (H) 1.57 (picos traslapados, 3H, [CH₃] poli(L-lactida)), (D) 5.03 corresponde a monómero sin reaccionar (Figura 4).

Para el iniciador 2,2-dietil-1,3-propanodiol se obtuvo en su RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ (A) 4.35 (cuartete, 1 H, [CH-OH], poli(L-lactida)), (B) 1.41 (doblete, 3 H, [CH₃], poli(L-lactida)), (C) 5.17 (picos traslapados, 1 H, [CH] poli(L-lactida)), (E) 1.49 (cuartete, 2H, [CH₂] etil), (F) 1.58 (triplete, 3H, [CH₃] etil), (H) 1.66 (doblete, 3H, [CH₃] poli(L-lactida)). (D) 5.02 corresponde a monómero sin reaccionar.

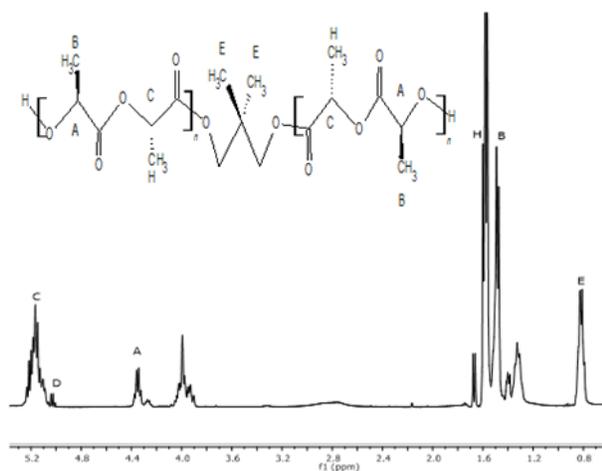


Figura 4. Espectro de RMN ¹H de poli(L-lactida) utilizando 2,2-dimetil-1,3-propanodiol como iniciador

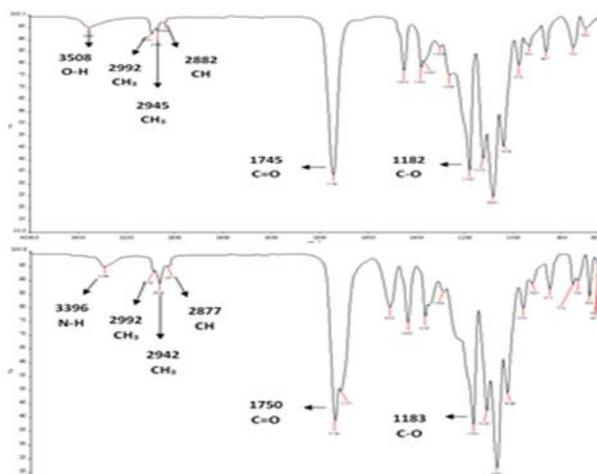


Figura 5. Espectro de infrarrojo para poli(L-lactida) utilizando 2,2-dimetil-1,3-propanodiol en la imagen superior y en la inferior el correspondiente a su poliuretano

El análisis de espectroscopia de infrarrojo realizado como evidencia de la síntesis de poli(éster-uretanos) conforme a la reacción de la Figura 2, indicó para la poli(L-lactida) utilizando 2,2-dimetil-1,3-propanodiol como iniciador las siguientes señales: 3508 (OH, grupo terminal), 2992 (CH₃, metilo), 2945 (CH₃, metilo), 2882 (CH, metino) 1745 (C=O, éster), 1182 (C-O, éter). En el espectro correspondiente a su poli(éster-uretano) las señales anteriores son muy similares, sin embargo, no es posible observar la banda correspondiente al grupo hidroxilo, en cambio, se observa un pico característico del enlace N-H del uretano a 3396 cm⁻¹. Así mismo, la banda asignada al carbonilo presenta un ensanchamiento que corresponde a la absorción del carbonilo del grupo uretano. Ya que no se tiene alguna banda en 2300 cm⁻¹ característica del grupo isocianato (R-N=C=O) se confirma que no existe isocianato sin reaccionar (Báez et al., 2017) (Figura 5).

En los espectros de infrarrojo del resto de las muestras de poli(L-lactida) y sus poli(éster-uretanos) se observa la misma semejanza descrita anteriormente.

Los resultados del análisis UV-Vis de 190 a 750 nm para observar la longitud de onda a la cual se tiene un mayor nivel de absorbancia para las muestras sintetizadas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Longitud de onda a la cual se registró un mayor nivel de absorbancia para los compuestos sintetizados

	λ (nm)		λ (nm)		λ (nm)
Poli(L-lactida) a partir de 1,5- pentanodiol	249.5	Poli(L-lactida) a partir de 2,2-dimetil-1,3-propanodiol	246.5	Poli(L-lactida) a partir de 2,2-dietil-1,3-propanodiol	246
Poli(éster-uretano)	249.5	Poli(éster-uretano)	258	Poli(éster-uretano)	251

Las pruebas de degradabilidad realizadas recortando 1 cm² de las películas de poli(éster-uretanos) obtenidas (Figura 3) en medio ácido, neutro y básico por triplicado se indican en la tabla 1.

Tabla 2. Resultados de la prueba de hinchamiento para las películas de poli(éster-uretano)s a partir de poli(L-lactida) utilizando distintos diol como iniciador.

Poli(éster-uretano)	Promedio de la pérdida (-) o ganancia (+) de peso registrado al tercer día (g)	Poli(éster-uretano)	Promedio de la pérdida (-) o ganancia (+) de peso registrado al tercer día (g)	Poli(éster-uretano)	Promedio de la pérdida (-) o ganancia (+) de peso registrado al tercer día (g)
Poli(L-lactida) utilizando como iniciador 1,5-pentanodiol	Medio ácido: -0.00073	Poli(L-lactida) utilizando como iniciador 2,2-dimetil-1,3-propanodiol	Medio ácido: 0.00070	Poli(L-lactida) utilizando como iniciador 2,2-dietil-1,3-propanodiol	Medio ácido: 0.0011
	Medio neutro: -0.00070		Medio neutro: 0.0010		Medio neutro: 0.0016
	Medio básico: -0.0049		Medio básico: -0.0050		Medio básico: -0.0021

Los resultados muestran que los polímeros son degradables en los medios expuestos. En los resultados donde se muestra un incremento de peso no se descarta que también esté ocurriendo un fenómeno de degradación, puesto que en muchos polímeros antes de degradarse absorben agua.

CONCLUSIONES

Mediante técnicas de caracterización se demostró la síntesis de poli(éster-uretano)s de poli(L-lactida) sintetizados a partir de los iniciadores 1,5-pentanodiol, 2,2-dimetil-1,3-propanodiol y 2,2-dietil-1,3-propanodiol. De acuerdo a lo anterior, el método de polimerización puede ser versátil y útil para diferentes especies de diol (HOROH). Las películas de poliuretano obtenidas fueron transparentes, flexibles y no quebradizas. Se demostró su degradabilidad en medio ácido, neutro y básico.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por acompañarme durante este viaje y brindarme experiencias para crecer como persona.
 A mi familia, especialmente a mi madre que sin su apoyo y ejemplo esto no hubiese sido posible.
 A mis mejores amigos, especialmente Mariana, que con su apoyo engrandecieron esta experiencia.
 A la gente amable de Guanajuato ya que sus pequeñas acciones hicieron de mi estancia una experiencia inolvidable.
 Al CONACYT, UAA y UG por el apoyo otorgado para la elaboración de este proyecto.

BIBLIOGRAFIA

- Vink ETH, Rábago KR, Glassner DA, Springs B, O'Connor RP, Kolstand J, Gruber PR. (2004). "The sustainability of NatureWorks™ polylactide polymers and Ingeo™ polylactide fibers: an update of the future" en *Macromol Bioscience*, Vol. 4. [pp. 551-564].
- Sang-Don Yoon, Young-Sam Kwon, Kyu-Sung Lee. (2017). "Biodegradation and Biocompatibility of Poly L-lactic Acid Implantable Mesh" en *international neurology journal*, Vol. 21. [pp. 48-54].
- Dellacasa E, Zhao L, Yang G, Pastorino L, Sukhorukov, G. B. *Beilstein J. Nanotechnol.* (2016). "Fabrication and characterization of novel multilayered structures by stereocomplexion of poly(D-lactic acid)/poly(L-lactic acid) and self-assemble of polyelectrolytes" en *Beilstein journal of nanotechnology*, Vol. 7, [pp. 81-90].
- Gregorí Bárbara Susana, Alba Livan, Brown Adolfo, Fernández Mirna, Bordado Joao, de la Hoz Yohana, Alvarez Andrés. (2007). "Los poliuretanos biodegradables. Estudio bibliográfico de su síntesis y aplicaciones" en *Instituto cubano de investigaciones de los derivados de la caña de azúcar*, No. 2, [pp. 3-9].
- Moreno Ruvalcaba José FRANCISCO, Báez García José Eduardo, Fernández Ángel Marcos. (2017). "SÍNTESIS DE OLIGÓMEROS DE POLILACTIDA Y SUS POLIURETANOS" en *Jovenes en la ciencia*, Núm. 1, Vol. III, [pp. 226-230].
- Báez, J. E. (2010). "Cómo obtener un polímero degradable en el laboratorio: síntesis de la poli(D,L-lactida) y caracterización por RMN" en *Educación química*, Vol. XXI, Issue 2, Abril. [pp. 170-177].
- Kowalski, A., Duda, A., Penczek, S. (2000). "Mechanism of cyclic ester polymerization initiated with tin(II) octoate.2., Macromolecules fitted with tin(II) alkoxides observed directly in MALDI-TOF spectra" en *Macromolecules*, Núm. 3, Vol. XXXIII, [pp. 689-695].

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS MICROBIANOS LIGNOCELULOLÍTICOS, PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS ÁRIDOS DEL NORTE DE MÉXICO.

Verdín García Marisol¹, Dr. Árgel Gastélum Arellánez² y Dr. José Luis Hernández Flores³.

RESUMEN

En este trabajo se presenta el estudio de una colección de aislados bacterianos hemicelulolíticos, obtenidos de las pozas (agua y sedimento) y suelos de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Existe un gran número de enzimas responsables de catalizar la hidrólisis de la hemicelulosa, llamadas hemicelulasas. Muchas bacterias son capaces de degradar la hemicelulosa liberando dichas enzimas al medio. La producción de hemicelulasas podría mejorar los procesos involucrados en el procesamiento de materiales hemicelulósicos para facilitar la obtención de combustibles y diversos productos químicos. Es por ello que se estudiaron cinco aislados de la región de Cuatro Ciénegas, Coah., en medio mineral salino sólido con xilano como única fuente de carbono. Se evaluó la formación de halos de hidrólisis mediante la técnica del rojo Congo. Se encontró que el microorganismo denominado XYL3 presentó halos con diámetros significativamente mayores que el resto de los aislados estudiados, por lo que se propone el estudio posterior de este aislado, con el fin de determinar su potencial biotecnológico.

ABSTRACT

In this work we present the study of a collection of hemicellulolytic bacterial isolates, obtained from the pools (water and sediment) and soils of Cuatro Ciénegas, Coahuila. There is a large number of enzymes responsible for catalyzing the hydrolysis of hemicellulose, named hemicellulases. Many bacteria are capable of degrading hemicellulose by releasing these enzymes into the environment. The production of hemicellulases could improve the processes involved in the processing of hemicellulosic materials, to facilitate the obtaining of fuels and various chemical products. That is why we studied five isolates from the region of Cuatro Ciénegas, Coah, in a solid mineral salt medium with xylan as the sole carbon source. The formation of hydrolysis halos was evaluated by the Congo red technique. It was found that the microorganism designated as XYL3 presented halos with diameters significantly higher than the rest of the isolates studied, so it is proposed the subsequent study of this isolate, in order to determine its biotechnological potential.

Palabras clave: aislados bacterianos hemicelulolíticos, xilano, halos de hidrólisis, xilanasas, xilosidasas.

INTRODUCCIÓN

Los métodos tradicionales de cultivo de microorganismos han limitado considerablemente su estudio a sólo aquellos que pueden crecer en condiciones de laboratorio. Por tal motivo la microbiología además de la biotecnología, enfrentan un reto a superar. Un nuevo panorama es el de buscar propiedades en aquellos microorganismos que son capaces de crecer en ambientes extremófilos, puesto que estas condiciones favorecen su implementación dentro de los procesos industriales. El estudio de microorganismos aerobios que crecen bajo condiciones extremas, no solamente resultan de interés para la ciencia, sino también para todo proceso con fines lucrativos, ya que tienen la capacidad de sintetizar enzimas con importancia en el sector industrial (Ríos M *et al.*, 2007).

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de Las Campanas, S/N, Centro Universitario, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Qro., mariisol_05@live.com.mx

² CIATEC, A.C., Departamento de Investigación, Posgrado y Capacitación, Omega No. 201 Col. Industrial Delta C.P. 37545, León, Gto., agastelum@ciatec.mx

³ CINVESTAV Unidad Irapuato, Departamento de Ingeniería Genética, Libramiento Norte Carr. Irapuato-León Km. 9.6, C.P: 36821, Irapuato, Gto., josehernandezf@cinvestav.mx

En el Valle de Cuatro Ciénegas, Coah., que se encuentra en el desierto Chihuahuense mexicano, habitan microorganismos que ya se encontraban en el planeta Tierra desde hace millones de años. Esta zona es un pequeño valle árido, donde las temperaturas suelen ser extremas, rodeado de altas cadenas montañosas que rebasan los 730 m sobre el nivel del mar. Dentro de las pozas, la concentración de minerales es alta y hay pocos nutrientes (Arocha-Garza *et al.*, 2017). Esto lo hace un ecosistema valioso digno de estudiar, debido a la diversidad biológica presente en dicha zona geográfica y su posible aprovechamiento, para la obtención de enzimas de interés biotecnológico.

Los procesos catalizados mediante el uso de enzimas no sólo representan una opción atractiva, sino que también es económicamente factible en comparación con los procesos químicos tradicionales, puesto que se produce un menor número de subproductos, ofrece mayor selectividad y sobre todo existe una menor generación de contaminantes (Ríos M *et al.*, 2007).

Por otra parte, la pared celular de las plantas está compuesta por material lignocelulósico, que a su vez se constituye principalmente de celulosa, lignina y hemicelulosa, siendo este último el de principal interés para este trabajo. Dicho heteropolisacárido se encuentra compuesto principalmente de pentosas (xilosa), hexosas y en la mayoría de los casos de ácidos urónicos (Morales de la Rosa, 2015). Cabe mencionar que la xilosa constituye aproximadamente el 80% de los residuos glicosídicos presentes en el xilano. La hemicelulosa es de los polisacáridos renovables más abundantes que existen en la naturaleza, le antecede la celulosa (Walia A *et al.*, 2017).

Existe un gran número de enzimas responsables de catalizar la hidrólisis de la hemicelulosa, las cuales son denominadas como hemicelulasas (Morales de la Rosa, 2015). Gran cantidad de hongos y bacterias son capaces de degradar la hemicelulosa mediante la síntesis y secreción de las enzimas anteriormente mencionadas. Dentro de la familia de las hemicelulasas, se encuentra la enzima α -L-arabinofuranosidasa, la endo-1,4- β -xilanasas, la cumaril esterase y la feruloil esterasa, además de las xilosidasas (Ríos M *et al.*, 2007). Las xilanasas son enzimas ampliamente estudiadas y dichas proteínas se encargan de despolimerizar la hemicelulosa presente en la pared vegetal, mediante la hidrólisis del enlace glicosídico β -1,4 del complejo esqueleto de la hemicelulosa. En concreto, las hemicelulasas además de las xilosidasas, se encargan de degradar el xilano en xilosa (Bajpai P, 2014). La producción de las hemicelulasas podría mejorar significativamente los procesos que involucren el procesamiento de materiales hemicelulósicos, para la obtención de combustibles y diversos productos químicos de interés industrial (Bajpai P, 2014).

En este trabajo se presenta el estudio de cinco microorganismos hemicelulolíticos aerobios, en un medio mineral salino con xilano como única fuente de carbono. Estos aislados fueron seleccionados a partir de una colección de 50 microorganismos, mismos que fueron crecidos en cultivo sólido para establecer las mejores características de crecimiento, indicando la posible producción de enzimas hemicelulolíticas. La medición del diámetro de los halos de hidrólisis del xilano generado por cada aislado, permitió establecer qué microorganismo presentó una diferencia significativa con respecto al resto del grupo, lo que servirá para posteriores estudios tales como la medición de la actividad enzimática producida en cultivo sumergido y caracterización cinética del aislado.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se extrajeron y aislaron microorganismos de la región de Cuatro Ciénegas, Coah., que fueron proporcionados por el Dr. Árgel Gastélum Arellánez y la Dra. Montserrat Orencio Trejo. Estas muestras se sembraron en una superficie de medio mineral salino sólido (Tabla 1). Se ajustó a pH 7.0 y se esterilizó durante 15 minutos a 121 °C y 15 psi. Se buscó que el grosor del medio en cada caja fuera de 5 mm. Los cultivos en placa Petri se mantuvieron en aerobiosis a 28 °C durante 8 días (incubadora Thermo Scientific IGS400), hasta que la superficie del medio se encontrara cubierta completamente por el microorganismo inoculado.

Tabla 1. Medio mineral salino usado para el cultivo de microorganismos hemicelulolíticos.

Reactivo	Concentración (g/L)
Xilano (SIGMA X4254)	5
Agar bacteriológico (DIBICO 1298)	15
Sales marinas	25
Fosfato de potasio monobásico	2
Sulfato de amonio	0.35
Urea	0.0748

Fuente: Que Baños E. y Álvaro E., 2017.

Posterior al tiempo de cultivo, se volvió a realizar una segunda resiembra a partir de la inicial, con medio mineral salino (Tabla 1) a 28 °C durante 8 días. A continuación, se procedió a cortar bocados de 0.89 cm de diámetro. Dichos bocados fueron cortados con la boquilla más ancha de la punta de una micropipeta con capacidad de 100 a 1000 µL, los cuales se sembraron en nuevas cajas Petri de 9 cm de diámetro con medio mineral salino. Se incubaron a 28 °C por 3 días. Para revelar los halos de hidrólisis de los aislados hemicelulolíticos, se usó la técnica de rojo Congo (1 g/L) (Teather R., Wood P., 1982). Se añadió a cada placa Petri, 7 mL de dicha solución durante 15 min, seguido de dos lavados con 7 mL de NaCl 1 M durante 5 min, para retirar el exceso del colorante. La técnica de rojo Congo resulta de utilidad para observar a simple vista, la hidrólisis enzimática del xilano por el efecto de las xilanasas. Dicho colorante se asocia a los enlaces β -1,4 de la hemicelulosa, revelando así la presencia de los halos de hidrólisis debido a la actividad xilanolítica (Que Baños E. y Álvaro E., 2017).

Para la medición de los diámetros, las placas Petri fueron fotografiadas (cámara Nikon D3300) y procesadas con el programa para análisis de imágenes ImageJ 1.52e (Schindelin *et al.*, 2012). El diámetro de los halos se determinó mediante calibración del programa con la escala de medición presente en cada imagen. Todos los cultivos se realizaron por triplicado.

El análisis estadístico se realizó en el programa R 3.5.1 (R Core Team, 2018). La normalidad y homogeneidad de las varianzas fueron evaluadas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey fueron aplicados cuando las muestras se distribuyeron de manera normal y homogénea (paquete "stats"). Para las muestras que no se distribuyeron normalmente fue aplicado el método ANOVA max-t, un procedimiento estadístico para evaluar múltiples medias, en las que no es necesaria ninguna suposición con respecto a la distribución, el tamaño de la muestra o la homogeneidad de la varianza. En el caso de muestras heterogéneas, se compararon las medias mediante el método ANOVA max-t, el cual considera la heterogeneidad utilizando la estimación de covarianza coherente heterogénea HC3 (max-t + HC3). Tanto los métodos max-t como max-t + HC3 fueron aplicados con la opción de prueba de Tukey para todas las comparaciones de medias (paquetes "multcomp" y "sandwich"), (Zeileis, 2004, Herberich *et al.*, 2010; R Core Team, 2016; Hothorn *et al.*, 2008).

RESULTADOS

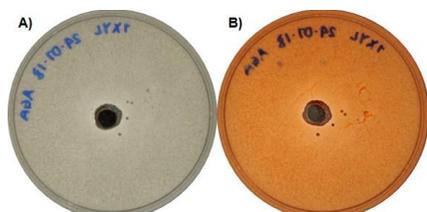


Figura 1. Aislado XYL1. (A) sin teñir, (B) tinción con rojo Congo.

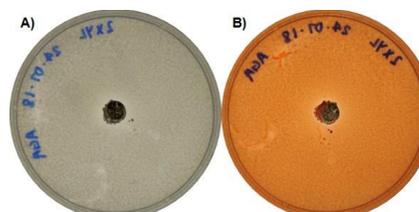


Figura 2. Aislado XYL2. (A) sin teñir, (B) tinción con rojo Congo.

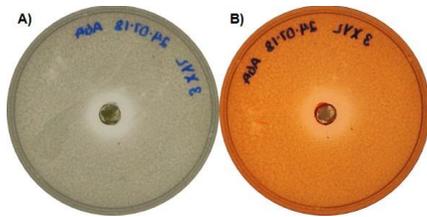


Figura 3. Aislado XYL3. (A) sin teñir, (B) tinción con rojo Congo.

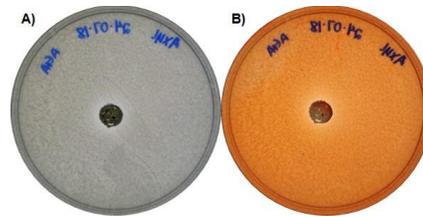


Figura 4. Aislado XYL4. (A) sin teñir, (B) tinción con rojo Congo.

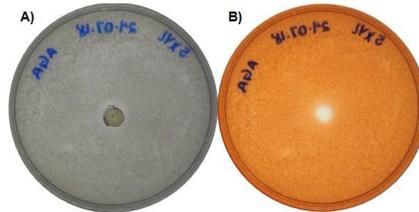


Figura 5. Aislado XYL5. (A) sin teñir, (B) tinción con rojo Congo.

Los cinco aislados bacterianos estudiados mostraron la capacidad de crecer en el medio salino con xilano como única fuente de carbono, evidenciando la capacidad de estos microorganismos para producir enzimas hemicelulolíticas (Figuras 1 a 5). La técnica de rojo Congo y el posterior análisis de imágenes para la medición del diámetro de los halos, permitió seleccionar el aislado XYL3, que presentó halos significativamente mayores al resto de los microorganismos evaluados (Tabla 2).

Trabajos previos reportaron que la incubación de los bocados, se llevó a cabo en un periodo de ocho días (Que Baños E. y Álvaro E., 2017). No obstante, con la información analizada y por medio de las imágenes obtenidas, hay un aspecto importante a resaltar: la posible presencia de celulosomas en la cepa XYL1, la cual mostró crecimiento en el medio de cultivo, pero no la formación de halos de hidrólisis mayores al tamaño de la colonia formada, indicando que las enzimas no se están secretando al medio de cultivo, sino que se encuentran estrechamente asociadas a la biomasa bacteriana (ver relaciones halo/colonia en la Tabla 2). Cabe mencionar que los celulosomas son uno de los sistemas más complejos, puesto que está compuesto de múltiples cadenas polipeptídicas, donde el número de dichas cadenas es específico para cada microorganismo. La diferencia de las enzimas celulosomales a las hemicelulasas libres, es que las anteriores poseen un dominio de anclaje (Hernández, S *et al.*, 1999). En bacterias, el dominio de anclaje consta de 70 residuos dentro de los cuales, 22 residuos se encuentran de manera conservada.

Tabla 2. Halos de hidrólisis observados en medio sólido con xilano como única fuente de carbono.

Aislado	Diámetro del halo (cm) ^{u *}	Diámetro de la colonia (cm) ^{u ***}	Relación halo/colonia ^{u ***}
XYL1	1.4480 ± 0.0895 ^B	1.3276 ± 0.0826 ^A	1.0903 ± 0.0009 ^C
XYL2	1.1403 ± 0.0262 ^{BC}	1.0010 ± 0.0246 ^A	1.1393 ± 0.0065 ^B
XYL3	1.9813 ± 0.0375 ^A	0.9453 ± 0.0100 ^A	2.0986 ± 0.0620 ^A
XYL4	1.1026 ± 0.0229 ^C	0.9933 ± 0.0192 ^A	1.1100 ± 0.0105 ^{BC}
XYL5	1.1733 ± 0.0752 ^{BC}	0.8576 ± 0.0136 ^B	1.3673 ± 0.0782 ^{BC}

* *p* Shapiro-Wilk= 0.972, distribución normal. *p* Bartlett= 0.329 varianzas homogéneas.

p ANOVA= 3.462e-05, para el ANOVA y la prueba de Tukey se utilizó el método, max-t.

** *p* Shapiro-Wilk= 0.063, distribución normal. *p* Bartlett= 0.041, varianzas heterogéneas.

p ANOVA= 8.347e-04, para el ANOVA y la prueba de Tukey se utilizó el método, max-t+HC3.

****p* Shapiro-Wilk= 0.0254, distribución no normal. *p* Bartlett= 2.759e-04, varianzas heterogéneas.

p ANOVA= 9.778e-07, para el ANOVA y la prueba de Tukey se utilizó el método, max-t+HC3.

^u Media ± error estándar de tres repeticiones independientes. En cada columna los aislados marcados con la

misma letra no fueron significativamente diferentes en la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

CONCLUSIONES

El presente trabajo reporta el estudio de cinco aislados otorgados por la Dra. Montserrat Orenco Trejo y el Dr. Árgel Gastélum Arellánez, tomados de las pozas y suelo de la zona de Cuatro Ciénegas, Coah. Dichos aislados fueron cultivados en medio sólido con xilano como única fuente de carbono.

La actividad xilanólítica se evidenció con la evaluación cualitativa de zonas de aclaramiento producidos a través de la técnica de rojo Congo. Dicho indicador revela dónde hubo degradación de enlaces β -1,4 glicosídicos en medio sólido, siendo una prueba de detección rápida, sensible y confiable para las bacterias degradadoras de material hemicelulósico.

De los microorganismos cultivados en xilano, el aislado XYL3 fue el que presentó halos de hidrólisis significativamente mayores. Se sugiere realizar pruebas de hidrólisis de xilano, bajo una incubación de 8 días, para la obtención de resultados más contundentes.

El producto del presente trabajo de investigación es un avance importante para las primeras etapas del aislamiento, selección y caracterización de microorganismos hemicelulolíticos con potencial biotecnológico, proveniente de la zona oligotrófica de las pozas de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Este tipo de proyectos contribuirá a la búsqueda de nuevos microorganismos con aplicaciones industriales biotecnológicas que fomenten el desarrollo de la región y que representen beneficios económicos para nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

Walia, A., Guleria, S., Mehta, P., Chauhan, A., & Parkash, J. (2017). Microbial xylanases and their industrial application in pulp and paper biobleaching: a review (pp. 1-12). *3 Biotech*, 7(11).

Bajpai, P. (2014). *Xylanolytic Enzymes: Chapter 1 – Introduction* (pp. 1-7). Academic Press. Science Direct.

Bajpai, P. (2014). *Xylanolytic Enzymes: Chapter 5 - Sources, Production, and Classification of Xylanases* (pp. 43-52). Academic Press. Science Direct.

Que Baños, E., & Álvaro, E. (2017). Selección de aislados microbianos lignocelulolíticos obtenidos de Cuatro Ciénegas, Coahuila (pp. 1-33). Memoria profesional. Universidad Tecnológica De Usumacinta.

Herberich, E., Sikorski, J., & Hothorn, T. (2010). A Robust Procedure for Comparing Multiple Means under Heteroscedasticity in Unbalanced Designs. *Plos ONE*, 5(3): e9788.

Morales de la Rosa, S. (2015). Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos (pp. 30-31). Madrid: Instituto de Catálisis y Petroleoquímica Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Rios, M., Crespo, M., Carla, F., Terrazas, S., Luis, E., Alvarez, A., & Maria, T. Aislamiento de cepas anaeróbicas termófilas productoras de celulasas y hemicelulasas implicadas en la producción de Bioetanol mediante técnicas de cultivo y aislamiento tradicionales y no tradicionales (pp. 43-50). *BIOFARBO*, 15(1).

Arocha-Garza, H., Canales-Del Castillo, R., Eguiarte, L., Souza, V., & De la Torre-Zavala, S. (2017). High diversity and suggested endemism of culturable Actinobacteria in an extremely oligotrophic desert oasis. *PeerJ*, 5: e3247.

Teather R. & Wood P. (1982). Use of Congo red-polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen (pp. 777-780). *Appl Environ Microbiol*.

Schindelin. J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kayning V., Longair M. & Pietzsch T. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis (pp. 676-681). *Nature methods*. 9(7).

Zeileis A. (2004). Econometric Computing with HC and HAC Covariance Matrix Estimators. *Journal of Statistical Software* (pp. 1-17), 11(10).

Hothorn T., Bretz F. & Westfall P. (2008) Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal* (pp. 346-363), 50(3).

Hernández Santoyo, A., García Hernández, E., & Rodríguez Romero, A. (1999). Celulosomas: sistemas multienzimáticos (pp. 137-142). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 43 (3-4).

DETERMINACIÓN DE FLÚOR EN BEBIDAS Y LECHE INFANTILES COMERCIALES EN LOS ESTADOS DEL BAJÍO.

Cisneros Rodríguez Marlene¹ y Cilia López Virginia Gabriela²

RESUMEN

El objetivo de estudio es la determinación de la concentración de flúor en bebidas y leches infantiles comerciales procedentes de los estados de San Luis Potosí, Aguascalientes, Guanajuato, Durango, Jalisco y Querétaro.

Para su determinación se recolectaron muestras de bebidas infantiles en mercados, dulcerías y supermercados de la ciudad de San Luis Potosí. Se obtuvieron dos muestras con diferente número de lote y fecha de caducidad de 30 marcas diferentes. El análisis se realizó mediante el método potenciométrico con electrodo de ion selectivo. Las muestras derivadas de productos lácteos, se analizaron adicionando EDTA, mientras que las muestras de jugos y bebidas azucaradas se le añadió solución TISAB.

De acuerdo a los resultados obtenidos; 16 de las 30 marcas analizadas (53.33%), se encontraron por encima de la norma oficial mexicana, la cual indica un máximo de 0.7 mg/l. Realizando una relación de la concentración entre el volumen de cada una de las muestras; se obtuvo que solo 4 marcas de las 30 analizadas (13.3%) estuvieron por encima de la norma oficial mexicana. El valor más alto fue de 1.7 mg/L la cual correspondió a una bebida saborizada procedente de la ciudad de San Luis Potosí, mientras que la concentración menor fue de 0.019 mg/L, correspondiente a una bebida saborizada procedente de la misma ciudad.

Conclusiones: De acuerdo la Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Nos indica un límite máximo permisible de 0.70 mg/L. Por lo que la bebida saborizada con una concentración de 1.7 mg/L, la leche entera con una concentración de 0.94 mg/L, el jugo con una concentración de 0.75 mg/L y la bebida de soya con una concentración 0.72 mg/L; son las bebidas que se encontraron fuera de la Norma Oficial Mexicana. La problemática de la presencia de flúor en el agua, representa un factor importante en la calidad de vida de quienes se encuentran expuestas a dichas condiciones. Muchos de los productos que los niños consumen se encuentran fuera de la norma, por lo que es de suma importancia conocer la concentración que dichos productos presentan y poder crear alternativas; ya que de todas las bebidas analizadas ninguna presenta información acerca de la concentración de flúor en sus etiquetas o envases.

Palabras Clave: Flúor, bebidas infantiles, electrodo de ion selectivo, EDTA, TISAB.

ABSTRACT

The objective of the study is to determine the concentration of fluoride in commercial drinks and infant formulas from the states of San Luis Potosi, Aguascalientes, Guanajuato, Durango, Jalisco and Queretaro.

For its determination, samples of children's drinks were collected in markets, sweetshops and supermarkets in the city of San Luis Potosí. Two samples were obtained with different batch number and expiration date of 30 different brands. The analysis was performed using the potentiometric method with selective ion electrode. The samples derived from dairy products were analyzed by adding EDTA, while samples of juice and sugary drinks were added TISAB solution.

According to the results obtained; 16 of the 30 brands analyzed (53.33%), were found above the official Mexican standard, which indicates a maximum of 0.7 mg / l. Making a relationship of the concentration between the volume of each of the samples; it was obtained that only 4 brands of the 30 analyzed (13.3%) were above the official Mexican norm. The highest value was 1.7 mg / L, which corresponded to the Maambo brand juice, from the city of San Luis Potosí, while the lower concentration was 0.019 mg / L, corresponding to a flavored "Ada" brand drink from the city of San Luis Potosí.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas; Carretera Torreón- Matamoros km. 7.5, Ejido el Águila, C.P.27275, Torreón, Coahuila. marlene_cisneros_rodri@uadec.edu.mx

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Medicina, Av. Sierra Leona #550, Col. Lomas 2a., C.P.78210, San Luis, S.L.P. gabriela.cilia@uaslp.mx

Conclusions: According to the Official Mexican Standard NOM-201-SSA1-2015, Products and services. Water and ice for human consumption, packaged and in bulk. It indicates a maximum permissible limit of 0.70 mg / L. So the Mamba brand juice with a concentration of 1.7 mg / L, whole milk brand Hacienda del Valle with a concentration of 0.94 mg / L, Poky brand juice with a concentration of 0.75 mg / L and drink Güd soybean with a concentration of 0.72 mg / L; are the brands that were found outside the Official Mexican Standard. The problem of the presence of fluoride in water represents an important factor in the quality of life of those who are exposed to these conditions. Many of the products that children consume are outside the norm, so it is very important to know the concentration that these products present and to be able to create alternatives; since none of the analyzed drinks presents information about the concentration of fluoride in their labels or packages.

KEY WORDS: Fluorine, infant drinks, selective ion electrode, EDTA, TISAB

INTRODUCCION

El agua subterránea es la mayor fuente de abastecimiento de agua potable en zonas áridas y semiáridas, su disponibilidad puede ser amenazada no sólo por la introducción de contaminantes a partir de actividades humanas, sino también por procesos naturales (*Bocanegra, 2011*). El flúor es un ion de alta electronegatividad, abundante en la corteza terrestre; comúnmente se encuentra asociado y forma fluoruros en rocas. La concentración de fluoruro en el agua de un acuífero depende de varios factores, entre los que destacan la concentración de flúor en el mineral, descomposición, disociación, disolución, tiempo de residencia y cinética de reacción química (*Chacón et al. 2011*). La exposición al F en los seres humanos pasa casi inadvertida a través de la utilización de compuestos como F en su uso como aditivo en pastas dentales, enjuagues bucales y de algunos alimentos con alto aporte natural de F. Sin embargo, es el agua de consumo habitual la principal fuente de ingesta de este elemento (*Valdez et al. 2011*).

En nuestro país es común encontrar concentraciones de fluoruro por encima del mismo, por ejemplo, en el agua subterránea de la cuenca de San Luis Potosí y en muchas de las cuencas existentes en los estados adyacentes como lo son Aguascalientes, Querétaro, Zacatecas, Guanajuato; y en otros estados como Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, Jalisco y Tamaulipas. Esto es resultado de la interacción natural que tiene el agua subterránea con algunas de las rocas volcánicas que se encuentran ampliamente diseminadas en la Sierra Madre Occidental y que constituyen algunos de los principales acuíferos que se captan para abastecer de agua a la población. (*Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades de la Secretaría de Salud, 1999*).

En septiembre de 1998 se inició por parte de Facultad de Medicina de la UASLP el monitoreo de la concentración de flúor en agua de las embotelladoras registradas ante la Secretaría de Salud. Los resultados mostraron que de 19 marcas que contaban con un registro ante la Secretaría de Salud, el 64% de las marcas presentaban cifras por arriba de la norma oficial mexicana 041. El 47% de ellas presentaba cifras arriba de 3.0 mg/L y tan solo el 36% cumplía con la NOM. Estos resultados fueron entregados a Servicios de Salud de San Luis Potosí y gracias a su intervención para el año 2002 se logró bajar a un 15 % las embotelladoras que presentaban concentraciones por arriba de 0.7 mg/L. (*Bocanegra, 2011*).

La ingesta de fluoruro por periodos prolongados, durante la formación del esmalte dental produce una serie de cambios clínicos, que van desde la aparición de líneas blancas muy delgadas, hasta efectos graves, apareciendo una entidad patológica conocida como fluorosis dental. (*Hidalgo et al. 2007*)

Un estudio, realizado en la ciudad de San Luis Potosí, señala que el 78% en dentición temporal, está relacionado con el alto consumo de bebidas carbonatadas elaboradas con agua de la región. Así mismo, para el año 1990, en el estado de Guanajuato se encontró un índice general de riesgo de padecer fluorosis de 36.2% en la población escolar urbana de 38 municipios. (*Loyola, et al. 2000*).

Aproximadamente el 98% de la población de San Luis Potosí está expuesta a concentraciones mayores a 2 miligramos de fluoruro por litro de agua de consumo humano (mg F- /L), por lo que se presenta una prevalencia de fluorosis dental cercana al 91% de sus habitantes. La Unidad Universitaria de Investigación de Cariología (UUIIC) en el año de 2010, analizó la ingesta potencial de fluoruro por medio de la dieta suministrada en estancias infantiles de San Luis Potosí. El análisis se determinó mediante el uso de potenciometría con electrodo de ion selectivo, en muestras del duplicado de la dieta de ocho días por estación (primavera y otoño). Los resultados mostraron que la

ingesta de flúor en otoño (frío) es mayor que la ingesta en primavera (cálido). Esto debido a que el 92% de la población prepara sus alimentos con agua hervida de la llave y el 91% utiliza esta agua en la preparación de leche de fórmula para niños. Hervir el agua de consumo constituye un riesgo debido a que se incrementa en cerca de 66% la concentración inicial de fluoruro por la pérdida de volumen durante el proceso de ebullición. Principalmente los menores de 8 años de edad presentan mayor riesgo para el desarrollo de fluorosis en dientes permanentes debido a que en este periodo tiene lugar su formación. (De la Cruz et al. 2010).

Debido a que la mayoría de las bebidas típicamente consumido por niños no presentan información sobre la concentración de fluoruro en sus etiquetas; en este estudio se evaluó la concentración de fluoruro en algunas marcas de bebidas infantiles comerciales.

METODOLOGÍA

Se muestrearon en diferentes zonas de la ciudad de San Luis Potosí bebidas saborizadas y leches. Para el muestreo se tomó en cuenta el lugar de procedencia o envasado del mismo, siendo de los lugares en donde se ha reportado altas concentraciones de flúor en los acuíferos. Las muestras se obtuvieron por duplicado, de diferentes lotes y fechas de caducidad. El muestreo se realizó en tiendas contiguas a primarias con alta población estudiantil, en mercados populares de la ciudad y tiendas comerciales (*tabla 1 y 2*). Las muestras se etiquetaron y se conservaron en refrigeración a una temperatura de 4°C hasta el día de su análisis. Para la cuantificación de iones de fluoruro se utilizó el método potenciométrico con electrodo ion selectivo. Para la medición de los F⁻ en las bebidas, se realizó en base a una curva de calibración a partir de una serie de estándares con concentraciones conocidas. Los estándares se prepararon a partir de una solución stock de 100 mg/l de F⁻. Para las muestras de leche, yoguth y malteadas se tomaron 40 ml en un tubo fálcon y se le adiciono 0.8 gr de EDTA a cada muestra. Para las muestras de jugos y bolis; se vaciaron 5 ml de la muestra en vasos de plástico de 40 ml. Posteriormente se añadieron 5 ml de solución TISAB; teniendo así una relación 1:1, se agitaron para su medición. Los resultados obtenidos mediante potenciómetro de ion selectivo fueron en ppm.

Tabla 1. Muestras de bebidas infantiles y entera.

Marca	Lugar de procedencia
Jugo Maambo	San Luis Potosí
Leche Hacienda del Valle	Jalisco
Jugo Poky	San Luis Potosí
Leche de soya GÜD	Celaya, Guanajuato
Chamyto	Gómez Palacio, Dgo.
Danonino	Irapuato, Gto.
Leche Coro	San Luis Potosí
Jugo Con-fruta	Aguascalientes
Jugo Sonrisa	Aguascalientes
Jugo Xtreme	Tequisquiapan, Qro.
Bolis Tréboli	San Luis Potosí
Bolis Poky-tynes	San Luis Potosí
Bolis s/ marca, dulcería dulcería 1	s/lugar
Bolis s/ marca, dulcería el bombón	s/lugar
Bolis "Paty"	San Luis Potosí

Tabla 2. Muestras de bebidas infantiles y Leche Leche entera.

Marca	Lugar de procedencia
Leche Aguascalientes	Aguascalientes
Bolis s/marca. mercadito 2	s/lugar
Nutrileche	Gómez Palacio, Dgo.
Bolis: s/marca dulcería 2	s/lugar
Bolis: s/marca mercadito 3	s/lugar
Bolis s/marca dulcería 2	Jalisco
Yoplait	San Luis Potosí
Caballitos	San Luis Potosí
Yomi Lala	Gómez Palacio, Dgo.
Bolis Ávila	s/lugar
Heinz Yogurth	Jalisco
Bolis Kitoos	León, Gto.
Bolis Kitoos	San Luis Potosí
Jugo Freskidd	Jalisco
Bolis s/ marca, mercadito 1	s/lugar

RESULTADOS

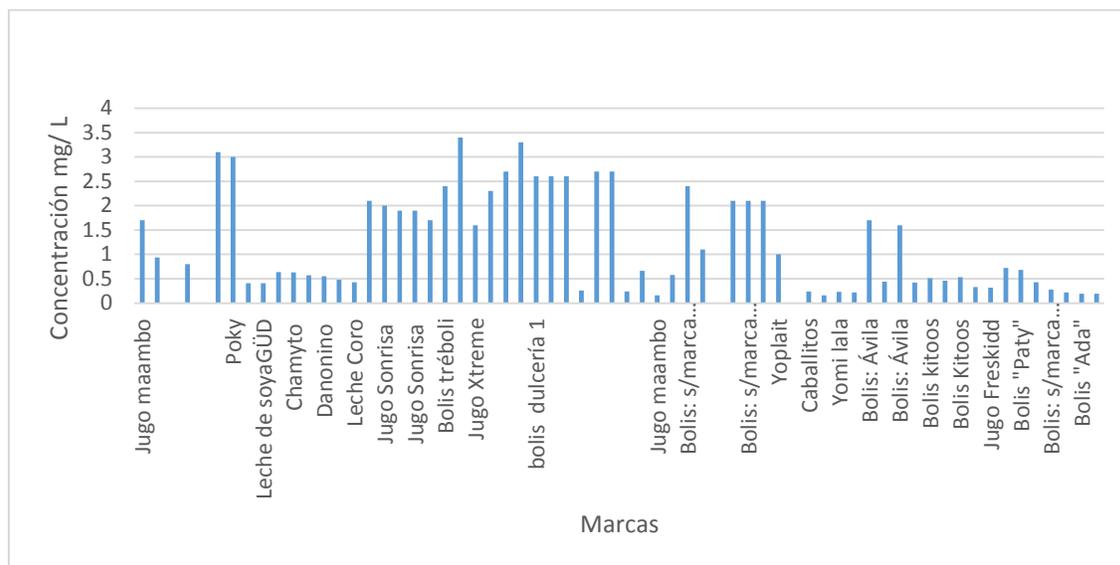


Figura 1. Concentración de flúor en bebidas y leches enteras.

DISCUSIÓN

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Nos indica un límite máximo permisible de 0.70 mg/L. Mientras que la OMS (2012) recomienda el valor de referencia para el fluoruro en el agua potable de 1.5 mg/L. Para la prevención de la caries dental, el Servicio de Salud Pública ha recomendado, desde 1962, que los suministros públicos de agua contienen fluoruro en concentraciones de 0.7 y 1.2 mg/L. En los resultados mostrados en la **figura 1** nos indican que 16 de las 30 marcas analizadas (53.33%), se encuentran por encima de la norma oficial mexicana, obteniendo como concentración máxima de 3.4 mg/L el cual corresponde a una bebida saborizada la cual es elaborada en la ciudad de San Luis Potosí. Cabe resaltar que de las muestras obtenidas, solo el 26.6 % de estas provenían de la ciudad de San Luis Potosí, mientras que un 20% lo ocupan bebidas que se muestrearon en la misma ciudad de San Luis Potosí, pero que no contaban etiquetado del producto.

CONCLUSIÓN

De acuerdo la Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Nos indica un límite máximo permisible de 0.70 mg/L. Por lo que el jugo que presenta una concentración de 1.7 mg/L, la leche entera con una concentración de 0.94 mg/L, la bebida saborizada con una concentración de 0.75 mg/L y la bebida de soya con una concentración 0.72 mg/L; son las bebidas que se encontraron fuera de la Norma Oficial Mexicana; 13.3% de las muestras analizadas. Los datos anteriores nos indican las altas concentraciones de flúor presentes en las bebidas comúnmente consumidas por los niños. Es fundamental tomar medidas acerca del consumo de las mismas ya que si su consumo es frecuente y/o constante puede llegar a provocar problemas en la salud. La problemática del flúor en el agua, representa un factor grave para la salud de quienes se encuentran expuestos. La supervisión de consumo de estas bebidas es importante ya que muchas de ellas se encuentran fuera de la norma.

BIBLIOGRAFIA

- Bocanegra, S. M. (2006). Evaluación de riesgo en salud por la exposición a fluoruro y arsénico en agua de pozo para consumo de las zonas altiplano, centro y media del estado de San Luis Potosí. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades de la Secretaría de Salud. 1999.
- De la Cruz, C. D., Sánchez, B. I., Hernández, C. M., Cervantes, S. A., Pinelo, B. P. (2010). Potential dietary fluoride intake through food provided at childcare facilities in the Mexican city of San Luis Potosí. A seasonal study. *Revista ADM*, 67(3),121-126.
- Galicia, C.L., Gaona, E., Juárez, L., Molina, F. N., Oropeza, O. A. (2011). Análisis de la concentración de fluoruro en agua potable de la delegación Tláhuac, ciudad de México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(4), 283-289.
- Gutiérrez, C. L., Miranda, B. M. L., Pérez V. M. I., Soria, F. C., Valdez, J. L. (2011). Efectos del flúor sobre el sistema nervioso central. *Revista Elsevier Doyma*, 26 (5), 297-300.
- Hidalgo, G. F. I., Duque de Estrada, R. J., Mayor, H. F., Zamora, D. J. D. (2007). Dental fluorosis: not only an aesthetic problem. *Revista cubana de estomatología*, 44 (4),1-12.
- Ilizaliturri, H. C. González, M. D., Pelallo, N. A., Domínguez, G., Mejía, S.J., Torres, D. A., Pérez, M. I., Batres, L., Díaz, B. F., Espinosa, R. G. (2009). Revisión de las metodologías sobre evaluación de riesgos en salud para el estudio de comunidades vulnerables en América Latina. *Interciencia*, 34 (10),710-717.
- Montiel, C. A., Balcázar, M. M., Fernández, R. M. V., Morales, M. J. C., & Varela, S. J. (2012). Eliminación de flúor en agua potable utilizando zeolita natural (clinoptilolita). *Biotecnia*, 15 (2), 10-14.
- <http://www.senado.gob.mx/index.php?ver=sp&mn=2&sm=2&id=3616>
- OMS (2012), Abastecimiento de agua y monitoreo del saneamiento informe [www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/es/index.html, octubre].
- NORMA Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. [http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5420977&fecha=22/12/2015]

OBTENCIÓN DE LÁTEX HÍBRIDOS DE HULE DE GUAYULE PARA DIFERENTES APLICACIONES

Martha Edith Moreno Valencia¹, Beatriz Elvira Reyes Vielma² y María Esther Treviño Martínez²

RESUMEN

En el presente estudio se utilizó la técnica de polimerización en miniemulsión para la obtención de elastómeros termoplásticos (TPEs) de poliestireno (PS) con hule de guayule. Las miniemulsiones se prepararon utilizando hule de alto y bajo peso molecular, en concentraciones de 10 y 20 % en peso con respecto al estireno. Como estabilizador se utilizó el surfactante aniónico dodecilsulfato de sodio (SDS) y como iniciador térmico el peróxido de benzoilo (BPO). Las polimerizaciones se llevaron a cabo a 70 °C bajo atmósfera de argón. Como resultado se obtuvieron látex estables y, una vez eliminada el agua se obtuvo un polvo fino y homogéneo que puede ser procesado por técnicas de extrusión o inyección.

ABSTRACT

In this study the miniemulsion polymerization technique was employed to obtain thermoplastic elastomers (TPEs) of polystyrene (PS) with guayule rubber. Rubber of high and low molecular weight, in concentrations of 10 and 20% by weight with respect to styrene, were used to prepared the miniemulsions. Other components in the formulations were the sodium dodecylsulfate (SDS), used as a anionic surfactant, and the benzoyl peroxide (BPO), used as thermal initiator. The polymerizations were carried out at 70 °C under argon atmosphere. As a result, stable latexes were obtained and, once the water was eliminated, a fine and homogeneous powder that can be processed by extrusion or injection techniques was obtained.

Palabras Clave: Guayule, Poliestireno, Polimerización en Miniemulsión, Látex Híbridos

INTRODUCCIÓN

El guayule se obtiene de un arbusto (*Parthenium argentatum*) nativo de la región centro-norte de México. Particularmente se encuentra en los estados de Coahuila, Chihuahua, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Nuevo León y el sur de Texas en los Estados Unidos. La planta es de tamaño variable (0.3 a 1.5 m de altura) pero de rápido crecimiento; puede sobrevivir de 30 a 40 años; se adapta a condiciones severas de sequía y soporta temperaturas que superan los 40°C. Cada arbusto puede producir al menos 10 % de hule (con respecto a su peso en seco). No obstante, el hule de guayule tiene la desventaja de que no puede ser extraído de la planta en forma de látex como el hule hevea. Las ramas de la planta deben ser trituradas por algún medio mecánico y después el hule se extrae con el uso de solventes orgánicos. Esto hace que el hule no pueda ser utilizado en aplicaciones de alto valor agregado donde se requiere en forma de látex (partículas de hule dispersas en agua).¹

El mezclado de dos o más polímeros o copolímeros es una práctica ampliamente aceptada para lograr propiedades intermedias necesarias para determinadas aplicaciones. Los elastómeros termoplásticos (TPEs) son polímeros que presentan propiedades similares a las de los materiales elastoméricos. A pesar de que muchos TPEs son preparados con base en polímeros provenientes de fuentes no renovables, ha ido creciendo el interés por utilizar al hule natural como material elastomérico. De esta manera, existen reportes donde se han preparado mezclas de PS con hule natural.²

El proceso de mezclado puede llevarse a cabo de dos formas: a) en mezcladores mecánicos a una temperatura donde el polímero termoplástico se encuentra en estado fundido o b) disolviendo ambos polímeros (termoplástico y elastómero) en solventes orgánicos que posteriormente deben ser evaporados para recuperar al TPE.³

¹ ¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Sede Mutualismo; Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060 Celaya, Guanajuato, México, edithmv@outlook.com

² Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna 140, C.P. 25294, Saltillo, Coah., esther.trevino@ciqa.edu.mx

Las miniemulsiones son dispersiones de aceite en agua que se mantienen estables por largos periodos (desde horas hasta meses). A diferencia de otras técnicas de polimerización en heterofase (emulsión, microemulsión), la polimerización en miniemulsión permite la obtención de nanopartículas con una enorme diversidad de morfologías y composiciones.⁴ Por ejemplo, es posible la obtención de partículas híbridas donde un polímero puede ser encapsulado por otro.⁵

Con base en lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente proyecto de investigación fue la obtención de látex híbridos de hule de guayule con PS. Los látex así obtenidos pueden ser utilizados directamente para formar películas o recubrimientos, o bien, el agua puede ser evaporada y el sólido obtenido ser procesado por extrusión o inyección. La ventaja en la forma de obtención de estos materiales es que se elimina la necesidad de utilizar solventes orgánicos para el mezclado del polímero termoplástico con el guayule.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los reactivos fueron adquiridos de Aldrich, a excepción del guayule que se extrajo de arbustos recolectados en Coahuila y Zacatecas. El estireno (St) se pasó por una columna empacada para eliminar el inhibidor, después de lo cual se almacenó protegido de la luz a 4°C. El iniciador térmico, peróxido de benzoilo (BPO), se recristalizó dos veces en etanol y después se mantuvo protegido de la luz a -20°C. El surfactante de tipo aniónico, dodecil sulfato de sodio (SDS), se utilizó tal y fue adquirido. El agua fue desionizada en un sistema de purificación Milli-Q®. Todas las polimerizaciones se llevaron a cabo a 70 °C en un reactor de vidrio enchaquetado provisto de un sistema de reflujo y agitación mecánica. El guayule y el estireno se pesaban en un vaso de precipitado y se ponía sobre una parrilla de agitación hasta obtener una solución homogénea. Posteriormente, se añadió el BPO (al 1% en peso con respecto al St) y se continuó con la agitación hasta que el iniciador se hubiera disuelto. En otro vaso de precipitado se disolvió el SDS (al 2% en peso con respecto a la mezcla de guayule y St) en el agua. La mezcla de a solución orgánica y la solución acuosa fue sonicada en un equipo Qsonica para formar una miniemulsión, la cual se cargó al reactor y se llevó a la temperatura de reacción. La formulación contenía un 30% de la mezcla de hule con estireno y 1% en peso de Durante la reacción se mantuvo un flujo de argón para eliminar trazas de oxígeno que pudieran inhibir la polimerización. Asimismo, se tomaron muestras para determinar la conversión del monómero por gravimetría y la evolución del diámetro de partícula por dispersión cuasielástica de luz (DLS) en un equipo Microtrac Wave II.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presenta la composición y resultados obtenidos para las polimerizaciones realizadas. Por tratarse de un estudio preliminar, se utilizó una formulación para la obtención de látex con un contenido de sólidos final del 30% en peso. Las variables estudiadas fueron la concentración de hule de guayule (0, 10 y 20 %), el peso molecular del guayule (bajo peso molecular = BPM y alto peso molecular = APM) y la cantidad de mezcla de reacción preparada (80 y 240 g).

Tabla 1. Principales resultados obtenidos en la polimerización en miniemulsión para la obtención de látex híbridos de PS-hule de guayule.

Prueba	Guayule (%)	Tipo de Guayule	Mezcla de reacción (g)	Tiempo de reacción (h)	Sólidos (%)	Conversión (%)	Dp (nm)
R1	0	-	80	6.5	19	64	159
R2	0	-	80	6	22	71	150
R3	10	BPM	80	9	28	91	200
R4	10	BPM	80	7	27	89	190
R5	10	APM	80	7	26	85	200
R6	20	BPM	80	7	23	69	214
R7	10	BPM	80	7	25	89	225
R8	10	BPM	240	6	29	96	232
R9	20	BPM	240	7	29	96	232

Al principio se prepararon miniemulsiones donde no se agregó hule y se tuvieron problemas de estabilidad en el látex, por lo que el contenido de sólidos fuera menor al esperado. Esto se atribuye a que no se incluyó un componente fundamental en la preparación de las miniemulsiones: el agente superhidrófobo que elimina la difusión de monómero entre partículas durante la polimerización. Normalmente, se utiliza un hidrocarburo de alto peso molecular como el hexadecano para cumplir con esta función.⁵

En las reacciones donde se utilizó al hule de guayule como parte de la formulación se obtuvieron mayores conversiones y esto se atribuye a que el elastómero fungió como agente superhidrófobo. Las polimerizaciones en miniemulsión suelen ser rápidas y dependen de la constante de propagación del monómero.

En la Figura 1 se presenta un ejemplo del avance de la conversión con el tiempo de reacción. En nuestro caso de estudio se encontró que un periodo de 6 a 7 h fue suficiente para lograr una alta conversión del monómero. Sin embargo, se pudo ver que había una especie de conversión límite y este comportamiento fue similar en todos los casos. Por el momento no se tiene un argumento para aseverar que el guayule fue la causa de este comportamiento. En cuanto a la evolución del tamaño de partícula, en la Figura 2 se presenta un ejemplo de lo observado en la mayoría de las reacciones. Este comportamiento es típico de este tipo de polimerizaciones.

En la reacción 6 se obtuvo una baja conversión y se atribuyó a que se había utilizado una mayor concentración de hule, sin embargo, esto quedó descartado con los resultados de la reacción 9 donde también se utilizó la misma concentración de hule, pero la conversión fue muy alta. En general se tuvieron mejores resultados cuando se incrementó la cantidad utilizada para preparar la mezcla de reacción y se trabajó un reactor de mayor capacidad. Este resultado es común y se atribuye a que al utilizarse una mayor cantidad de iniciador (porque es relativa a la cantidad de monómero) se minimiza el riesgo de inhibición por presencia de oxígeno en el medio de reacción.

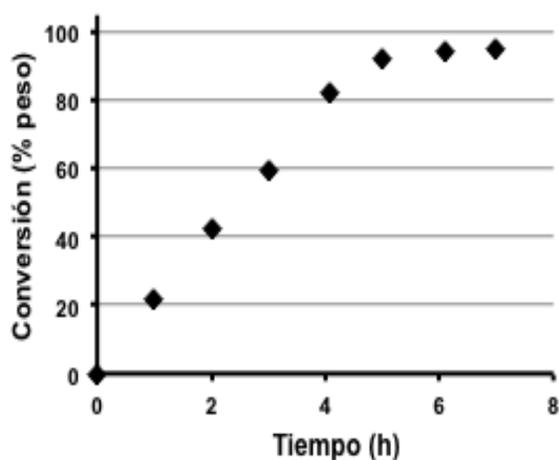


Figura 1. Conversión del estireno con el avance de la reacción.

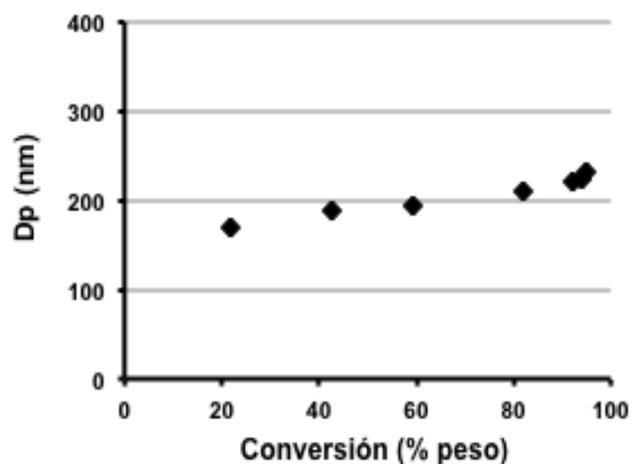


Figura 2. Evolución del tamaño de partícula con el avance de la reacción.

Los resultados obtenidos fueron muy alentadores y serán tomados como base para un estudio posterior donde se planea estudiar el efecto del tipo y concentración de surfactante, así como otras variables que permitan obtener una mayor cantidad de producto.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que es factible la preparación de los látex híbridos donde se polimeriza estireno en presencia del hule de guayule, el cual funcionó como un agente superhidrófobo que evitó la difusión de monómero entre partículas durante la polimerización. El polímero obtenido después del secado de los látex tuvo una apariencia homogénea sin separación evidente de las fases elastomérica y termoplástica.

REFERENCIAS

1. CORNISH, K., BRICHTA, J. L. (2002). "Purification of hipoallergenic latex from guayule" en Janick J. Y Whipkey A. (coords.) Trends in new crops and new uses, ASHS Press.
2. ASALETHAA, R., KUMARANA, M. G., THOMAS, S. (1999). "Thermoplastic elastomers from blends of polystyrene and natural rubber: morphology and mechanical properties" en European Polymer Journal, Vol. 35, [253-271].
3. RAMOS-DE VALLE, L. F., RAMIREZ, R. R. (1982). "Thermoplastic-guayule rubber blends – Compositions and mechanical properties" en Rubber Chemistry and Technology, Vol. 55 [1328-1340].
4. CRESPIY, D., LANDFESTER, K. (2010). "Miniemulsion polymerization as a versatile tool for the synthesis of functionalized polymers" en Beilstein Journal of Organic Chemistry, Vol. 6 [1132-1148].
5. LANDFESTER, K. (2001). "Polyreactions in miniemulsions" en Macromolecular Rapid Communications, Vol. 22 [896-936].

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD EN EMBRIONES DE PEZ CEBRA EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA CASIOPEÍNA® IIIa

Vitela Ramos Mayra Lizbeth¹ y María del Carmen Mejía Vázquez²

RESUMEN

La toxicidad por sus efectos adversos debe ser detectada, evaluada y clasificada, para minimizar riesgos. En la investigación se realizan pruebas de toxicidad de diferentes compuestos, algunos con interés farmacéutico. Las Casiopeínas® son compuestos con potencial para ser una alternativa en el tratamiento de diversos tipos de cáncer. Para evaluar el efecto de estos compuestos se emplean modelos de estudio como el pez cebra. En el presente trabajo experimental se utilizaron los embriones de pez cebra sometidos a concentraciones de 1-300µg/mL durante 24 y 48 horas, determinando un $LC_{50} = 1.77 \mu\text{g/mL}$ y logrando clasificar a la Casiopeína® IIIa como categoría 2 en grado de toxicidad de GHS bajo estos parámetros.

ABSTRACT

The toxicity due to its adverse effects must be detected, evaluated and classified to minimize risks. In the research toxicity test of different compounds are carried out, some with pharmaceutical interest. As the compound casiopeinas with potential to be an alternative in the treatment of various types of cancer. To study the effect of these compounds, study models such a zebrafish. In the present experimental work, zebrafish embryos subjected to concentrations of 1-300µg/mL for 24 and 48 hours were used determining an $LC_{50} = 1.77 \mu\text{g/mL}$ and achieving classifying Casiopeína® IIIa as category 2 in the degree of toxicity of GHS under these parameters.

Palabras Clave: Toxicidad, pez cebra, Casiopeína® IIIa, LC_{50} .

INTRODUCCIÓN

La toxicidad puede definirse como la capacidad que poseen algunas sustancias o compuestos de causar efectos negativos sobre seres vivos y el ambiente. Para poder evaluar los niveles de toxicidad se emplean tres estrategias: observación y evaluación de exposiciones accidentales, realizando experimentos con organismos exponiéndolos al compuesto a evaluar o realizar los experimentos directamente sobre células (Díaz, Bustos & Espinosa, 2004). Una gran parte de las pruebas de toxicidad aguda son llevados a cabo sobre organismos modelo in vivo. Estas pruebas se basan en determinar efectos, como inmovilización o mortalidad, de una intoxicación provocada por la exposición del organismo a distintas concentraciones de un compuesto problema en diferentes periodos de tiempo (Díaz, Bustos & Espinosa, 2004).

Aunque los organismos mamíferos son el estándar cuando se trata de evaluar toxicidad en el desarrollo, actualmente otro modelo que está ganando gran aceptación, es el pez cebra (*Dario rerio*). En Europa su uso es generalizado para realizar evaluaciones del ambiente. El pez cebra posee características que lo hacen muy atractivo para pruebas de toxicidad y teratogénesis (McGrath, 2012).

Los procesos de desarrollo en esta especie están muy conservados, tiene una alta capacidad de detección, el cultivo de embriones de pez cebra es relativamente fácil, su reproducción se da en gran cantidad hasta 200 embriones huevos por puesta, comparte aproximadamente el 70% del genoma con el ser humano y es permeable a moléculas pequeñas.

Al trabajar con ellos su tamaño reducido también representa es una ventaja al igual que su desarrollo rápido y externo, y uno de los aspectos de mayor utilidad en la experimentación es la transparencia que presentan estos peces en las etapas de desarrollo temprano, permitiendo observar la formación de órganos y anomalías presentes durante el desarrollo (Lieschke & Currie, 2007).

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de química; Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Qro, mayralizbethvitela62@gmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales; Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla; delegación Santa Rosa Jáuregui; Querétaro, México. C.P. 76230 Maria.C..Mejia@uv.es

El pez cebra es utilizado en la investigación para evaluar la toxicidad de compuestos con potencial farmacéutico. Como lo son las Casiopeínas® un grupo que comprende más de 100 compuestos, en su estructura presenta un centro metálico de cobre (II), un ligante bidentado del tipo diimina (N-N) y otro que puede ser aminoacidoato (N-O) o donador (O-O) (Figura 1). Están divididos por familias, por ejemplo, la familia III están divididas en dos subfamilias, la III-a y la IIIs, en función del donador O-O, que es acetilacetato o salicilaldehído, respectivamente (Bravo, Camper, García, Serment & Ruiz, 2015).

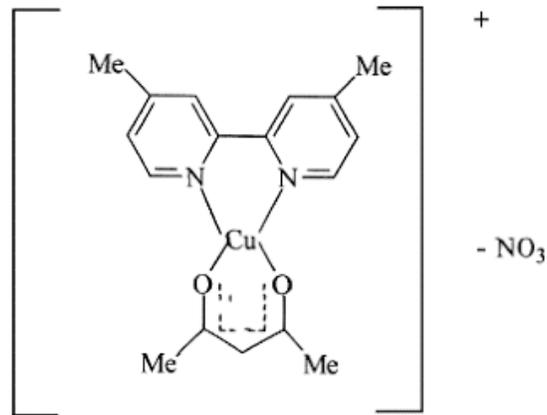


Figura 1. Estructura de las Casiopeínas

Las Casiopeínas® presentan una actividad antitumoral superior a otros antineoplásicos como el cisplatino La Casiopeína® IIIa, se encuentra en etapa preclínica con alto potencial antineoplásico en líneas de carcinoma cérvico-uterino (SiHa y HeLa). El potencial que tienen como una alternativa en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer como el neuroblastoma, vuelve importante determinar su toxicidad (Fuentes, Rodríguez, Ruiz, & Portilla, 2004) En el proyecto se evaluará la toxicidad de Casiopeína® IIIa sobre embriones de pez cebra en concentraciones de 1-300 µg/mL a 24 y 48 horas, para obtener el grado de toxicidad en esas condiciones. Además de determinar posibles malformaciones causadas por este compuesto.

MÉTODOS Y MATERIALES

Obtención de embriones

La fertilización se realizó en una pecera pequeña, en el fondo estaba una red de plástico con aberturas suficientes para dejar pasar a los huevos al fondo de la pecera. Para evitar un choque osmótico, una cuarta parte del agua usada provenía de las peceras donde estaban anteriormente esos peces y el resto fue agua potable. Se colocaron canicas de vidrio para elevar la superficie de contacto e intentar evitar el consumo de los huevos por los peces adultos. Se usaron peces cebra (*Danio rerio*) del acuario de la facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Fueron elegidos dos machos y una hembra robusta con abdomen prominente, se colocaron en la pecera. Posteriormente, la pecera se colocó en una caja misma que fue tapada, se programó un temporizador para que la mañana siguiente se encendiera la luz de la caja y promover la fertilización. Horas después se procedió a la recolección y limpieza de los embriones luego se colocaron en una caja Petri, dejándolos a temperatura ambiente.

Preparación de soluciones

Se preparó una solución stock de la Casiopeína® IIIa de 1 mg/mL. Para facilitar su dilución se agitó con ayuda del vortex. Partiendo de la solución stock se prepararon las siguientes concentraciones para el ensayo de toxicidad: 1 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL y 300 µg/mL, como control se utilizó agua destilada sin ningún compuesto.

Ensayo de toxicidad

Las concentraciones indicadas fueron preparadas directamente en una placa con 24 pozos. Se usó 2 ml en cada pozo. Cada concentración se llevó a cabo por duplicado. Luego, con ayuda de una pipeta Pasteur de plástico se colocaron

de 8-14 embriones en cada pozo, la cantidad exacta fue registrada. Se procedió a observar a los embriones con un estereoscopio marca ZEISS.

Se realizaron observaciones a las 24 horas y 48 horas siguientes, en busca de malformaciones, cambios en los embriones y el registro de la mortalidad en cada pozo. Se obtuvieron fotografías a lo largo del ensayo.

Análisis de datos

Con los datos de mortalidad obtenidos se realizó una curva usando las concentraciones y % de letalidad, con ayuda del software GraphPad Prisma. Con ayuda de un análisis Probit en el software STATGRAPHICS Centurion se obtuvo la concentración letal media LC_{50} . Para la clasificación de grado de toxicidad se usó de base las tablas de Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS).

RESULTADOS

Ensayo de toxicidad

Se sometieron a tratamiento a embriones de pez cebra con diferentes concentraciones de Casiopeína® IIIia a 1 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$ y 300 $\mu\text{g/mL}$ y el control de agua destilada. Fueron observados al inicio del tratamiento a las 24 y 48 horas con el uso del estereoscopio.

Para observar el desarrollo normal del embrión fue usado un control que no contenía el compuesto, en la figura 2 el estadio de se muestra el estadio a las 4 horas, 24 horas y 48 horas, correspondientes a 2A, 2B y 2C, respectivamente.

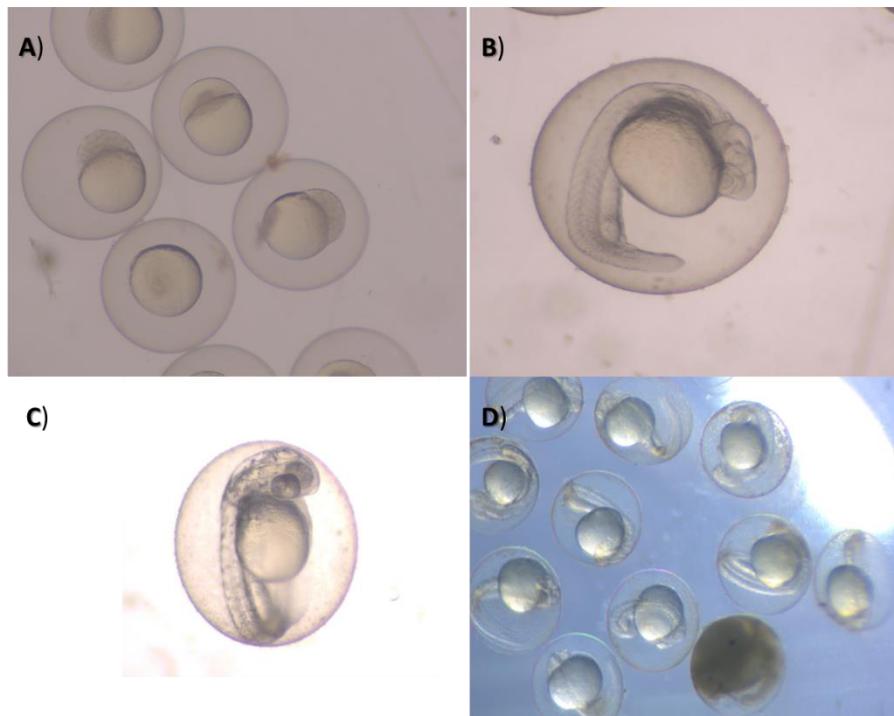


Figura 2. Estadios de embriones de pez cebra observados y evaluados

En la figura 2D se muestra a embriones sometidos a tratamiento a las 24 horas, los cuales presentan un desarrollo adecuado para su estadio. En la parte inferior derecha se observa un embrión que no se desarrolló, presenta un cambio morfológico evidente y un cambio de color a uno oscuro y opaco. Los embriones con estos cambios no sobreviven, por lo que, fueron utilizados para el conteo de mortalidad. Al presentarse esta interrupción en el desarrollo del embrión indica que el compuesto evaluado Casiopeínas® IIIia es absorbido causándoles un efecto

tóxico, este atraviesa la barrera de protección natural en estos estadios, el corión (McGrath, 2012). En futuros estudios se deben enfocar a explicar cómo actúa la Casiopeína® IIIa en el embrión para detener su desarrollo.

Malformaciones por Casiopeína® IIIa.

Durante el tratamiento a la par del conteo de mortalidad se observó en la integridad de embrión y el desarrollo esperado según el tiempo de vida (Figura 2). No se detectó ninguna malformación en órganos o alguna anomalía de este tipo, es posible evaluar alguna anomalía por la transparencia que presentan los peces cebras en estadios tempranos de vida. La Casiopeína® IIIa no es causante de malformaciones bajo esas concentraciones y esos tiempos.

Curva Dosis- Respuesta

Empleando el software GraphPad Prisma y con los datos obtenidos, se realizó una curva dosis-respuesta para evaluar el efecto tóxico de la Casiopeína® IIIa.

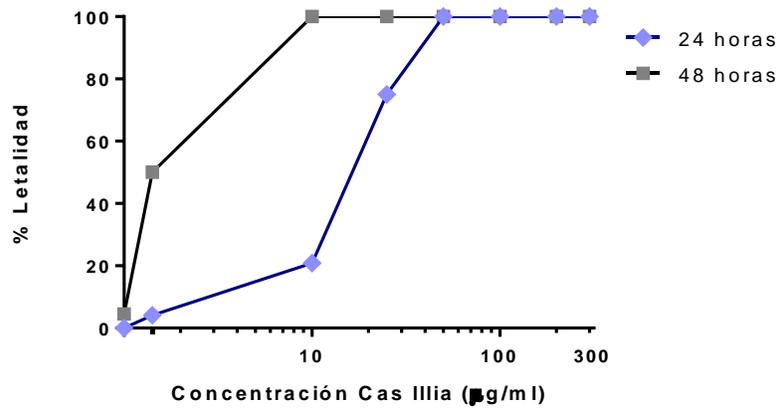


Figura 3. Curva dosis- respuesta de la Casiopeína® IIIa

El porcentaje de letalidad fue obtenido al dividir el número de embriones muertos entre el total de embriones iniciales en el respectivo pozo. Se puede observar que, a las 24 horas, en concentraciones de 1 µg/mL el efecto es mínimo al obtener un porcentaje de letalidad del 4.2%. A partir de concentraciones de 50 µg/mL todos los embriones murieron. En cambio, a las 48 horas desde la concentración de 1 µg/mL se muestra un efecto tóxico del 50%, al llegar a concentraciones de 10 µg/mL todos los embriones fueron observados muertos. Según el comportamiento mostrado en ambos casos, al incrementar la concentración y el tiempo de exposición, la toxicidad de Casiopeína® IIIa aumenta (Figura 3).

Determinación de LC₅₀

Para la concentración letal media (LC₅₀) se realizó un análisis Probit en el software STATGRAPHICS Centurion. Se hizo el análisis para las 48 horas, el valor correspondiente a p=50% (LD₅₀) es igual a 1.77099 µg/mL. Esa es la concentración necesaria para provocar la muerte del 50% de los embriones de pez cebras a las 48 horas de exposición. Con esto podemos comprobar que la Casiopeína® IIIa no necesita de concentraciones muy altas para actuar en ese tiempo (USEPA, 1996).

Grado de toxicidad

Para clasificar el grado de toxicidad de la Casiopeína® IIIa se hizo utilizando el valor previamente calculado de LC₅₀ y las tablas de Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Con un valor estimado de LC₅₀= 1.7709 µg/mL, se encuentra dentro del siguiente rango LC₅₀(fish) >1 ≤ 10 mg/L que ubica a la Casiopeína® IIIa en la categoría 2. Bajo este sistema de clasificación de la toxicidad se establecen cuatro posibles categorías siendo el número uno la que presenta mayor toxicidad. Al presentarse una menor LC₅₀ la toxicidad es mayor (United Nations, 2005).

CONCLUSIONES

Se comprobó que el modelo de embriones pez cebra es eficaz para poder evaluar la toxicidad de las Casiopeínas®. Se determinó que bajo las condiciones evaluadas la Casiopeína® IIIa se encuentra en la categoría 2 en grado de toxicidad según lo descrito por el GHS. Al utilizar este modelo se observó que este compuesto no genera malformaciones en esas concentraciones y esos tiempos.

Es necesario realizar más pruebas en diferentes estadios del pez, usar diferentes concentraciones, hacer experimentos a tiempos cortos y también a más prolongados. Se debe evaluar la toxicidad de las otras Casiopeínas® con las que se trabaja en el grupo de investigación.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Díaz, M., Bustos, M., & Espinosa, A. (2004). Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- [2] McGrath, P. (2012). Zebrafish Methods for Assessing Drug Safety and Toxicity. United States: John Wiley & Sons, Inc.
- [3] Lieschke G & Currie P. (2007). Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nat Rev Genet* 8(5): 353–367.
- [4] Bravo, M., Camper0o, C., García, D., Serment, J., & Ruiz, L. (2015). DNA-binding mode of antitumoral copper compounds (Casiopeinas®) and analysis of its biological meaning. *Polyhedron Elsevier*, 102, 530-538.
- [5] Fuentes, N.I., Rodríguez, R., Ruiz, L. & Portilla, M. (2004). Evaluación fisicoquímica de nuevos compuestos con actividad antineoplásica (Casiopeína IIgly y Casiopeína III-I). Primer Congreso Nacional de Química Médica (Memorias). Universidad Nacional Autónoma de México y la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca.
- [6] United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1996. Fish acute toxicity test, freshwater and marine. Ecological effects test guidelines. OPPTS 850.1075. EPA 712–C–96–118.
- [7] United Nations. 2005. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Primera ed. revisada, ST/SG/AC.10/30/Rev.1. New York y Geneva. 526 pp

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al comité del Verano de la Ciencia Región Centro por el estímulo económico otorgado, a la Dra. Carmen Mejía por abrir las puertas de su equipo de trabajo y a Laura Hernández por el asesoramiento y constante apoyo para llevar a cabo este proyecto.

METODOS NUMERICOS PARA EL PROBLEMA INVERSO EN PRUEBAS NO DESTIVAS TERMICAS

Miguel Angel Tovar Rodríguez y Dra. Lili Guadarrama Bustos

RESUMEN

Los problemas inversos están relacionados con la determinación de causas de un efecto observado o deseado, sin embargo, existen distintas dificultades en el estudio de estos, una de ellas es que generalmente no satisfacen un buen planteamiento, es decir, puede suceder que no tenga solución o que las soluciones no sean únicas. Los problemas mal planteados ofrecen dificultades numéricas, debidas la mayoría de las veces a la dependencia discontinua de las soluciones respecto de los datos. Para abordar el mal planteamiento de los problemas inversos se utilizan los métodos de regularización, los cuales buscan restaurar la estabilidad de las soluciones con relación a los datos. Los modelos matemáticos son ampliamente usados para la descripción e investigación de diferentes procesos y fenómenos. Una clase importante de problemas son los modelos matemáticos con características desconocidas las cuales deben ser obtenidas de datos observados; a este proceso se le llama problema inverso. Dichos problemas surgen en los casos en que el proceso en si es inaccesible para la observación de los datos o bien es demasiado caro acceder a tal observación. En otras palabras, los problemas inversos deben determinar las causas si se conocen los resultados de las observaciones.

Problemas Bien y Mal Planteados

Los problemas inversos generalmente no satisfacen los postulados del buen planteamiento en el sentido de Hadamard. Estos postulados los introdujo Hadamard en el contexto de estudio de los problemas de la física matemática. A continuación, reescribimos los postulados de Hadamard de manera formal en el contexto de espacios métricos:

Sea X, Y espacios métricos, $T: X \rightarrow Y$ un operador lineal y $x \in X$ el dato inicial, tal que

$$Tx = y, \quad y \in Y$$

El problema es llamado bien-planteado en los espacios Y, X , si satisface las siguientes condiciones:

- (i) Para cada $x \in X$ la solución del problema existe.
- (ii) Para cada $x \in X$ la solución del problema es única.
- (iii) La solución y del problema depende continuamente de los datos, es decir, hay estabilidad respecto de los datos.

Un problema se denomina mal-planteado si al menos no cumple una de las condiciones anteriores. No obstante, el buen y mal planteamiento de los problemas no dependen únicamente del operador, también puede depender del espacio X donde el dato inicial es dado.

ABSTRACT

The inverse problems are related to the determination of causes of an observed or desired effect, however, there are different difficulties in the study of these, one of them is that they generally do not satisfy a good approach, that is, it can happen that there is no solution or that the solutions are not unique. Poorly posed problems offer numerical difficulties, most of the time due to the discontinuous dependence of the solutions on the data. To address the wrong approach of the inverse problems are used regularization methods, which Instituto Tecnológico de Celaya, Ingeniería Mecánica; Antonio García Cubas #600, col. Fovisste, Celaya, Guanajuato, 14031022@itcelaya.edu.mx

Laboratorio de Alta Especialidad en Ingeniería Estadística (CIMAT-AGS), Calzada de la plenitud No. 103 Fracc. José Vasconcelos, Ags., Dra. Lili Guadarrama Bustos C.P: 20200, lili.guadarrama@ciamat.mx

seek to restore the stability of the solutions in relation to the data. Mathematical models are widely used for the description and investigation of different processes and phenomena. An important class of problems are the mathematical models with unknown characteristics, which must be obtained based on the observed data; This process is called an inverse problem. These problems arise in cases where the process itself is inaccessible for observation or it is too expensive to access such an observation. In other words, inverse problems must determine the causes if the results of the observations are known.

Good and Bad Problems

The inverse problems generally do not satisfy the postulates of the good approach in the Hadamard sense. These postulates were introduced by Hadamard in the context of the study of the problems of mathematical physics. Next, we rewrite Hadamard's postulates formally in the context of metric spaces:

Let X, Y be metric spaces, $T: X \rightarrow Y$ a linear operator and $x \in X$ the initial data, such that

$$Tx = y, y \in Y$$

The problem is called well-posed in spaces Y, X , if it satisfies the following conditions:

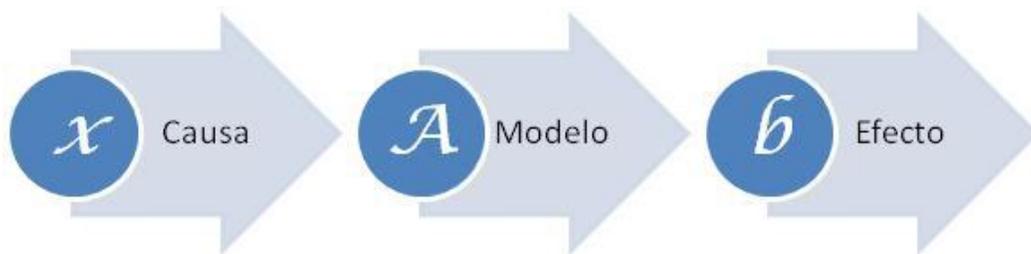
- (i) For each $x \in X$ the solution to the problem exists.
- (ii) For each $x \in X$ the solution to the problem is unique.
- (iii) The solution and the problem continually depends on the data, that is, there is stability with respect to the data.

A problem is called badly-posed if at least it does not meet one of the above conditions. However, the good and bad approach of the problems do not only depend on the operator, it can also depend on the space X where the initial data is given.

Palabras Clave: Problemas inversos, análisis de grupo de ecuaciones diferenciales, pruebas no destructivas, ensayo térmico, termo-grama.

INTRODUCCIÓN

El presente proyecto tiene como propósito estudiar la teoría general existente sobre regularización de problemas mal planteados. Asimismo, se pretende hacer una revisión de los principales métodos de regularización. Por último, se realizarán los códigos computacionales de dichos métodos y se aplicarán a la ecuación de calor. Normalmente en matemáticas pensaríamos que los problemas se presentan de forma directa, es decir, tenemos una ecuación y deseamos encontrar la solución, o bien dada una causa, y un modelo asociado, deseamos conocer el efecto. Sin embargo, los problemas no siempre se presentan de esta manera, ya que en ocasiones tenemos la solución o efecto de un modelo, pero no sabemos que es lo que está causando que el modelo nos de tal efecto. Otro problema que se puede presentar es que, dada la causa y el efecto, queremos idéntica el modelo. A estos dos problemas se les conocen como problemas inversos.



Los problemas inversos siempre han estado presentes en la ciencia, por ejemplo, Aristóteles decía que la Tierra es redonda basándose en un razonamiento inverso. El observo que las formas que la luna presentaba cada mes son del tipo recto, cóncavo y convexo, y además noto que, durante los eclipses lunares, cuando la sombra de la Tierra se proyecta sobre la Luna, la línea del cono de sombra es siempre curva, lo cual es debido a la forma de la Tierra.



MÉTODOS Y MATERIALES

Método de Regularización Variacional

Para sistemas muy grandes que son mal condicionados usualmente es impráctico implementar regularización por filtrado directamente, dado que la factorización Descomposición en Valores Singulares (SVD) puede resultar muy costoso y no muy preciso. Por ello es necesario notar que el método de regularización de Tijonov

$$f_{\alpha} = \sum_{i=1}^n \frac{\sigma_i}{\sigma_i^2 + \alpha} (u_i^T d) v_i = (K^T K + \alpha I)^{-1} K^T d$$

tiene una representación variacional

$$f_{\alpha} = \arg \min_{f \in \mathbb{R}^n} \{ \|Kf - d\|^2 + \alpha \|f\|^2 \}.$$

Ahora, si definimos la función $\varphi(f)$ como

$$\begin{aligned} \varphi(f) &= \|Kf - d\|^2 + \alpha \|f\|^2 \\ &= (Kf - d)^T (Kf - d) + \alpha f^T f \\ &= f^T K^T K f - 2f^T K^T d + d^T d + \alpha f^T f, \end{aligned}$$

entonces f se resuelve

$$\begin{aligned}
\varphi'(f) &= 2K^T K f - 2K^T d + 2\alpha f \\
&= 2(K^T K + \alpha I) f - 2K^T d \\
&= 0,
\end{aligned}$$

$$(K^T K + \alpha I) f_\alpha = K^T d.$$

Esta última ecuación proporciona un método diferente para calcular fa . Si $\alpha > 0$, entonces la matriz $K^T K + \alpha I$ es simétrica y definida positiva, por lo que se pueden utilizar métodos eficientes, directos o iterativos, para calcular fa . Estos métodos generalmente son mucho menos costosos que calcular la descomposición SVD de K , especialmente cuando K es una matriz grande.

Para generar datos sintéticos se realizó la desratización de la ecuación de calor en un esquema en diferencias finitas y así poder estudiar el método de regularización antes descrito.

RESULTADOS

Método de diferencias progresivas para la ecuación de calor en **MATLAB**.

```

function U = forwdif (f,c1,c2,a,b,c,n,m)
% Datos
% -f=u(x,0) almacenada como una cadena de caracteres 'f'
% -c1=u(0,t) y c2=u(a,t)
% -a y b son los extremos de [0,a] y [0,b]
% -c es la constante de la ecuacion del calor
% -n y m son el numero de nodos en [0,a] y [0,b]
% Resultado
% -U es la matriz de aproximaciones
% inicialización de los parámetros y de
h=a/(n-1);
k=b/(m-1);
r=c^2*k/h^2;
s=1-2*r
U=zeros(n,m);
% condiciones de contorno
U(1,1:m)=c1;
U(1,1:m)=c2;
% construcción de la primera fila de U
U(2:n-1,1)=feval(f,h:h:(n-2)*h)';
% construcción de las demás filas de U
for j=2:m
    for i=2:n-1
        U(i,j)=s*U(i,j-1)+r(U(i-1,j-1)+U(i+1,j-1));
    end
end
U=U';

```

CONCLUSIONES

Los problemas inversos son de suma importancia en las aplicaciones, con operadores tanto lineales como no lineales, por ejemplo, la ecuación integral de calor. En el presente trabajo se definió el mal planteamiento de estos problemas, y se construyeron ejemplos que ilustran el mal planteamiento de los problemas inversos. mismo, hemos revisado métodos de regularización iterativos los cuales tienen como parámetro de regularización el número de iteraciones k , donde a menor k mayor regularización y viceversa. No obstante, debemos tener cuidado de no utilizar un k demasiado pequeño, ya que podríamos estar lejos de la solución exacta. Y se ha presentado una revisión de las técnicas de TIR (la termografía infrarroja en ensayo no destructivo) y algunos ejemplos de sus soluciones matemáticas. Los buenos resultados obtenidos con la TIR en materiales metálicos y compuestos utilizados en la industria automotriz nos llevan a pensar que estas técnicas pueden ser aplicadas con gran éxito en este sector. Las inspecciones de mantenimiento pueden beneficiarse de las características de estas técnicas como son su rapidez, la no necesidad de contacto, la capacidad de inspeccionar áreas relativamente grandes en un único ensayo, la portabilidad de equipos y sencillez de interpretación de los resultados. Del mismo modo, las técnicas de TIR pueden ser implementadas de forma efectiva en control de calidad en línea de procesos de producción.

BIBLIOGRAFIA

Libros

<https://es.slideshare.net/sandyludy/metodos-numericos-con-matlab>

<http://mtm.ufsc.br/~aleitao/public/reprints/book2015-bl-9788524404108.pdf>

<http://math.tut.fi/matematiikanpaivat06/presentation/hamarik.pdf>

Artículos en línea

<http://www.interempresas.net/MetalMecanica/Articulos/11149-Termografia-infrarroja-ensayo-no-destructivo-deteccion-defectos-componentes-aerospaciales.html>

ESTRUCTURA PROPIEDAD DE SUSTITUYENTES ALQUILO SOBRE UN POLIÉSTER BIODEGRADABLE Y SUS POLI (ÉSTER-URETANOS). SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y DEGRADACIÓN.

Mónica Orozco López¹ y José Eduardo Báez García²

RESUMEN

En este trabajo se realizó una síntesis, caracterización y degradación de sustituyentes de alquilo sobre la poli(ϵ -caprolactona), utilizando como iniciadores 1,3-propanediol, 2,2-dimetil-1,3-propanediol, 2,2-diethyl-1,3-propanediol, de estos se obtendrán tres diferentes tipos de macrodioles. Con un Grado de Polimerización (DP) de 10 a una temperatura de 150 °C. Al obtenerse los macrodioles, se obtendrá el peso molecular por RMN H^1 y a partir del Mn se harán los poli(éster-uretanos) (PEU) de cada uno se le adicionara 1,6-hexametileno diisocianato (HDI), la caracterización de los macrodioles y PEU serán por medio de FT-IR, RMN H^1 , UV y DSC, de las películas obtenidas se proseguirá a realizar la degradación en tres medios: ácido, base, neutro y composta.

ABSTRACT

In this work, a synthesis, characterization and degradation of alkyl substituents on poly (ϵ -caprolactone) will be performed, using 1,3-propanediol, 2,2-dimethyl-1,3-propanediol, 2,2-diethyl as initiators., three different types of macrodioles were obtained, also using ammonium decamolybdate as a catalyst. With a Dp of 10 and 5 at a temperature of 150 °C. After one hour the Mn of the macrodioles was obtained by NMR H^1 , the molecular weight will be obtained by NMR H^1 and from the Mn the poly (urethane-ester) (PEU) of each of the macrodial types of poly (ϵ -) will be obtained. caprolactone) adding 1,6-hexamethylene diisocyanate (HDI) in a single step, the characterization of macrodioles and PEU will be by means of FT-IR, H^1 , UV and DSC RMN, of the obtained films will be continued to perform the degradation in three media: acid, base, neutral and a compost

Palabras clave :Poli(ϵ –caprolactona), biodegradable, polímeros, ROP.

INTRODUCCIÓN

Los materiales que están hechos con polímeros a lo largo del tiempo han formado una parte fundamental en la vida del ser humano, es tan grande la cantidad de productos que contienen polímeros y nos hemos hecho tan dependientes de estos que su consumo va aumentando considerablemente un 8% anual hasta el 2020 Conde, N., A la altura de los súper-plásticos, Revista Ambiente Plástico, (28), 60–80, 2008.

Los severos problemas medioambientales, incluidas las crecientes dificultades de eliminación de residuos y la amenaza cada vez mayor del calentamiento global (debido al dióxido de carbono liberado durante la incineración) causado por la no biodegradabilidad de varios polímeros como el polietileno (utilizado en el campo del envasado y la agricultura) concierne a todos sobre el mundo. (Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives Gisha E. Luckachan • C. K. S.)

Pero ¿Qué es un polímero? Etimológicamente proviene de las palabras griegas πολυς [polys] "mucho" y μέρος [meros] "parte"(Raymond B. Seymour. Introducción a la química de los polímeros. 1995). Son macromoléculas o moléculas gigantes que están constituidas de enlaces covalentes y una gran multitud de unidades repetitivas. El grado de polimerización (DP, por sus siglas en inglés) es una medida de la longitud de las cadenas poliméricas, ya que es el número promedio de unidades monoméricas por molécula de polímero y es, por tanto, directamente proporcional al peso molecular promedio en número, Mn. (Juan Coreño-Alonso y María Teresa Méndez-Bautista* Relación estructura-propiedades de polímeros

Por razones económicas, prácticas, incluso para la salud y razones de seguridad, los productos plásticos biodegradables se han establecido como alternativas viables en un número de nichos de mercado importantes. Algunos de estos se encuentran en los campos de medicina, textiles (ropa y tejidos), higiene y agricultura, así como algunas aplicaciones específicas de embalaje. Debido a su naturaleza especializada y mayor unidad valor,

¹ Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Av. Adolfo López Mateos #1801 ote. Fracc. Bonagens C.P. 20256 Aguascalientes, Ags. Correo: monicaorozco121@gmail.com

² Universidad de Guanajuato (UG), Departamento de Química, Noria Alta S/N, C.P.36050 Guanajuato, Gto. México, correo: jebaez@ugto.mx

las aplicaciones de dispositivos médicos se han desarrollado más rápido que los otros. Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview V.R. Sinha*, K. Bansal, R. Kaushik, R. Kumria, A. Trehan Los poliésteres alifáticos, debido a sus características favorables de biodegradabilidad y biocompatibilidad, constituyen una de las clases más importantes de polímeros sintéticos biodegradables. La ventaja de estos poliésteres es su biocompatibilidad y una mayor hidrolizabilidad en el cuerpo humano (Bikiaris D N, Papageorgiou G Z, Achilias D S, Pavlidou E and Stergiou A. "Miscibility and enzymatic degradation studies of poly(ϵ -caprolactone) /poly(propylene succinate) blends". *European Polymer Journal*, Vol 43, 2007, pp. 2491–2503). Con respecto a las lactonas, se ha llamado la atención sobre la ϵ -caprolactona (CL), que está disponible fácilmente de fuentes petroquímicas y se convierte fácilmente en cadenas de alto peso molecular por catalizadores organometálicos. Brode, G. L.; Koleske, J. V. J. *Macromol. Sci., Chem.* 1972, A6 (6), 1109. La poli(ϵ -caprolactona) (PCL) pertenecen a la primera generación de poliésteres alifáticos sintéticos. Su biodegradabilidad motivó su extensa exploración como materiales reabsorbibles, particularmente en aplicaciones controladas de liberación de fármacos ya que son polímeros respetuosos con el medio ambiente. (The contemporary role of ϵ -caprolactone chemistry to create advanced polymer architectures Adam L. Sisson, Duygu Ekinci, Andreas Lendlein).

Los poliésteres como la (PCL) se obtienen de reacciones para síntesis de polímeros comúnmente llamadas reacciones de polimerización, existen dos mecanismos de reacción la poli condensación y ROP (sus siglas en ingles Ring Opening Polimerization). Fue en la década de 1930 cuando se estudió la polimerización con apertura de anillo (ROP) de PCL (Van Natta, F.J., Hill, J.W., Carruthers, W.H., 1934. Polymerization and ring formation, ϵ -caprolactone and its polymers. *J. Am. Chem. Soc.* 56, 455–459). La poli condensación (o también llamada polimerización por pasos o etapas), definiéndose esta como la reacción de una o dos moléculas con grupos reactivos en los dos extremos y con la eliminación de una molécula pequeña que suele ser agua o alcohol (Yurkanis-Bruice Paula , 2008, Química Orgánica) ; Y ROP la adición (o también llamada polimerización en cadena), definiéndose esta como la adición de monómeros al extremo de una cadena en crecimiento, en donde el extremo de la cadena es reactivo porque es un radical, un catión o un anión (Yurkanis-Bruice Paula , 2008, Química Orgánica). La propiedad biodegradable de este polímero sintético se identificó por primera vez en 1973 siendo adecuado para el suministro controlado de fármacos debido a su alta permeabilidad y la no toxicidad (Murthy, R.S.R., 1997. Biodegradable polymers. In: Jain, N.K. (Eds.), *Controlled and Novel Drug Delivery*. CBS Publisher, New Delhi, pp. 27–51).

Este trabajo tiene como objetivo analizar el efecto de los sustituyentes alifáticos sobre los macrodiol y los poli(éster uretanos) obtenidos.

METODOLOGIA

MATERIALES

ϵ -caprolactona (CL), iniciadores 1,3-Propanodiol, 2,2-Dimetil-1,3 Propanodiol, 2,2-Dietil-1,3-Propanodiol catalizador decamolibdato de Amonio, 1,6-Hexametileno-diisocianato (HDI), estaño (II) 2-etilhexanoato Sn(Oct)₂ Diicloroetano (DCE) Comprados en Sigma Aldrich.

SÍNTESIS DE ϵ -CAPROLACTONA (CL) CON INICIADOR 1,3 PROPANODIOL, 2,2-DIMETIL-1,3-PROPANODIOL, 2,2-DIETIL-1,3-PROPANODIOL, CON CATALIZADOR DECAMOLIBDATO DE AMONIO. (OBTENCIÓN DE MACRODIOL)

Se utilizó ϵ -caprolactona y se sintetizó en tres tipos diferentes de iniciador el primero es 1,3- propanodiol, el segundo 2,2-Dimetil-1,3-Propanodiol y el tercero 2,2-Dietil-1,3-Propanodiol.

Con 50 mmol (5.7 gr) de ϵ -caprolactona, de iniciador 5 mmol, y se utilizó entre 3 mg a 5 mg de Decamolibdato de amonio como catalizador. Todo se fue agregando a un matraz de 50 ml y se prosiguió a calentar en la parrilla en un baño de aceite de silicón a 150°C durante una hora; esto se realizó para cada uno de los iniciadores se obtuvo un macrodiol de Poli ϵ -caprolactona (Poliéster α, ω hidroxí telequelico)

Se analizó cada macrodiol en RMN H^1 para obtener el unidades repetitivas (Dp) y en base a esto sacar el peso molecular (Mn) de cada macrodiol y se consideró un 10% de iniciador sin reaccionar.

SINTESIS DE POLI (ESTER URETANO) DERIVADO DE POLI(ϵ -CAPROLACTONA)

Se pesó entre 1.8 grs. y 1.9 grs. de Macrodiol en base a la cantidad pesada y el peso molecular obtenido por RMN 1H se agregó 1,6-Hexametileno-diisocianato (HDI), entre dos a tres gotas de catalizador estaño (II) 2-etilhexanoato $Sn(Oct)_2$ y 8.5 ml de Diicloroetano todo se agregó a un matraz de 50 ml a una Temperatura de 80 C y el tiempo de reacción de 3 horas cuidando la viscosidad de la reacción, el producto película y el disolvente se evaporara por completo; Lo anterior se realizó para cada uno de los diferentes macrodioles.

RESULTADOS

A partir de los tres macrodioles α,Ω hidroxilo telequelico poli (ϵ -caprolactona) que se obtuvieron de los diferentes iniciadores 1,3- propanodiol, 2,2-Dimetil-1,3-Propanodiol y 2,2-Dietil-1,3-Propanodiol. Por RMN 1H se obtuvo un espectro en donde hay dos señales muy importantes una de ellas, son los hidrógenos que están unidos al carbono del hidroxilo terminal (señal del grupo terminal) y la segunda señal corresponde a los hidrógenos que están unidos al carbono adyacente del grupo éster (señal del polímero) a partir de las cuales se obtuvo el Dp (grado de polimerización) y Mn (peso molecular promedio).El espectro se obtuvo en $CDCl_3$ (cloroformo deuterado) y en un equipo a 500 MHz:

El macrodiol del 1,3-propanodiol obtuvo una señal por RMN 1H del grupo terminal (el grupo terminal está asignado con la letra **a**) a 1 ppm y señal del polímero (asignado con el numero **4**) a 5.68ppm, se obtuvo un Dp de 11.36 con respecto al Dp un Mn de 1174, considerando un 10% de iniciador sin reaccionar y el grado de conversión es mayor a 99%.

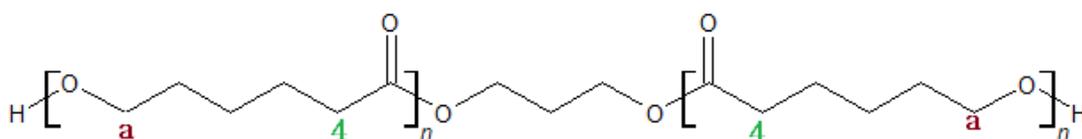


Figura 1. Estructura macrodiol 1,3-Propanodiol

Macrodiol del 2,2-Dimetil-1,3-Propanodiol por RMN 1H obtuvo una señal del grupo terminal (asignado con la letra **D**) a 1 ppm, señal del polímero (asignado con la letra **H**) a 7.15 ppm y la señal de los metilos (asignada con la letra **F**) a 1.92 ppm, se obtuvo un Dp de 11.17, con respecto al Dp un Mn de 1251, se consideró un 10% sin reaccionar y el grado de conversión es mayor a 99% .

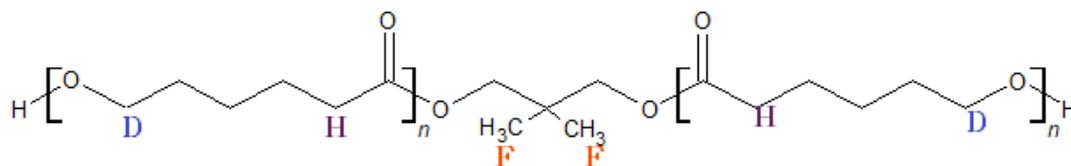


Figura 2. Estructura macrodiol 2,2-Dietil-1,3-Propanodiol

Macrodiol 2,2-Dietil-1,3-Propanodiol por RMN 1H obtuvo una señal del grupo terminal (asignado con la letra **X**) a 1 ppm, del polímero (asignado con la letra **Z**) a 7.23 ppm y la señal de los metilos (asignada con la letra **Y**) a 2.27 ppm, se obtuvo un Dp de 9.55 y con respecto a este un Mn de 1113 considerando un 10% de iniciador sin reaccionar y un grado de conversión del 99%

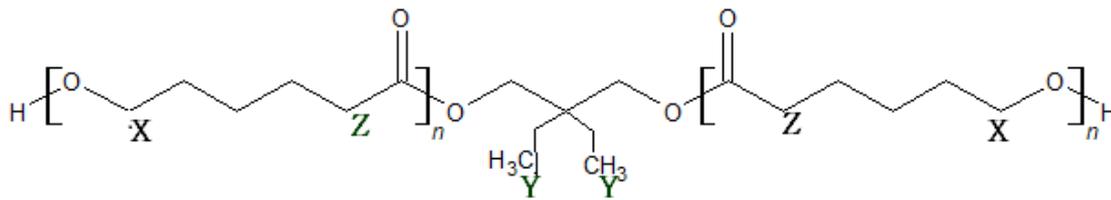


Figura 3. Estructura macrodiol 2,2-dietil-1,3-Propanodiol

Las propiedades térmicas se determinaron por DSC (Calorimetría diferencial de barrido) se analizaron dos macrodioles el 2,2 dimetil-1,3-propanodiol y el 1,5-pentanodiol y el método que se utilizó fue una rampa de 25°C a 100° C a 10° C por minuto. Después una rampa de 100°C a -35 ° C a -10°C por minuto y un isoterma a 1 minuto, por último una rampa de -35° C a 100° C a 10° C por minuto.

Se obtuvo un termograma donde se observa la temperatura de fusión del macrodiol y la entalpia de cristalización.

El termograma de 2,2- dimetil-1,3-propanodiol se registró una temperatura de fusión de 33.05 ° C y una entalpia de 62.42 J/g.

Para el 1,5-Pentanodiol se registró una temperatura de 28.59 ° C y una entalpia de 79.36 J/g

CONCLUSIÓN

Se sintetizaron tres tipos de iniciadores con ϵ -caprolactona, de los macrodioles que se obtuvieron se observó que el % alquilo fue en aumento en base al número de metilenos que se fueron aumentando en la estructura de los iniciadores que se utilizaron, el porcentaje fue 6.48% del macrodiol utilizado con 1,3-Propanodiol, del 2,2-Dimetil-1,3-Propanodiol de 9.12% y del 2,2 Dietil-1,3-Propanodiol 11.87 % por lo tanto se comprobó que el peso molecular es más grande si existe aumento de metilenos en la estructura, y este aumento puede ocasionar cambios en la cristalinidad, el punto de fusión y las propiedades físicas del poliuretano.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Instituto Tecnológico de Aguascalientes por ser parte del verano de la ciencia Región Centro y darme la oportunidad de formar parte de este proyecto tan interesante, al CONACYT, al Dr. José Eduardo García Báez por haber creído en mí, aceptarme en su laboratorio y brindarme grandes conocimientos, A la Universidad de Guanajuato (UG) por abrirme las puertas de sus instalaciones. Por último agradezco mucho el apoyo que obtuve por el Químico Jaime Maldonado Estudillo ya que él me acompañó a lo largo de la estancia, me compartió muy buenos conocimientos, siempre estuvo muy atento y con muy buena actitud.

BIBLIOGRAFÍA

ARTICULOS

Bikiaris D N, Papageorgiou G Z, Achilias D S, Pavlidou E and Stergiou A. (2007). Miscibility and enzymatic degradation studies of poly(ϵ -caprolactone)/poly(propylene succinate) blends. *European Polymer Journal*, vol.43 no.6, 2491-2503.

Arcana, Bunbun Bundjali, Iyan Yudistira, Budiati Jariah & Lenggana Sukria. (2007). Study on Properties of Polymer Blends from Polypropylene with Polycaprolactone and Their Biodegradability. *Polymer Journal*, 39, 1109.

Conde, N, (2008). A la altura de los súper-plásticos. *Revista Ambiente Plástico*, 28, 60-80.

Gisha E. Luckachan • C. K. S. (2011). Biodegradable polymers - a review on recent trends and emerging perspectives. *Journal of Polymers and the Environment*, 19, 637-676.

José E. Báez, Ángel Marcos-Fernández, Antonio Martínez-Richa, Plácido Galindo-Iranzo. (2016). Poly(ϵ -caprolactone) Diols (HOPCLOH) and Their Poly(ester-urethanes) (PEUs): The Effect of Linear Aliphatic Diols [HO-(CH₂)_m-OH] as Initiators. Taylor & Francis Group, 56, 889-898.

José E. Báez. (2009). Una ruta para sintetizar macromoléculas: polimerización por apertura de anillo (rop). AlephZero-Comprendamos, 52, 5-10.

Murthy, R.S.R., 1997. Biodegradable polymers. In: Jain, N.K. (Eds.), Controlled and Novel Drug Delivery. CBS Publisher, .New Delhi, pp. 27-51

Sinha VR1, Bansal K, Kaushik R, Kumria R, Trehan A. (2004). Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview.. ELSEVIER, 278, 1-23.

Adam L.SissonDuyguEkinciAndreasLendlein. (2013). The contemporary role of ϵ -caprolactone chemistry to create advanced polymer architectures. ELSEVIER, 54, 4333-4350.

Van Natta, F.J., Hill, J.W., Carruthers, W.H., 1934. Polymerization and ring formation, ϵ -caprolactone and its polymers. J. Am. Chem. Soc. 56, 455-459.

PAULA YURKANIS BRUCE (2008). Química orgánica Editorial: PRENTICE HALL/PEARSON. Edición: 5,

LIBROS

Raymond B. Seymour (1995). Introducción a la química de los polímeros. REVERTE

"SINTESIS DE MONOMEROS EPOXICOS A PARTIR DE NOPOL" 20° VCRC

Nadia Pérez Alvaro¹ y Dr. Ricardo Acosta Ortiz²

RESUMEN

Se sintetizaron dos monómeros epóxicos, con los que se propone el desarrollo de monómeros de menor toxicidad que los monómeros convencionales (derivados del petróleo). A diferencia de los monómeros de origen de natural actualmente desarrollados, este trabajo pretende sintetizar monómeros que aporten propiedades mecánicas y térmicas adecuadas a sus correspondientes polímeros. Tomando como materia prima un alcohol bicíclico primario, comúnmente llamado nopol. Se realizaron dos rutas de síntesis, en la primera, el nopol se alquiló usando bromuro de alilo seguido de la epoxidación del doble enlace presente en el anillo aromático. Para la segunda ruta, el nopol fue alquilado con epichlorhidrina y al igual que en la ruta anterior se epóxido el doble enlace del anillo aromático.

ABSTRACT

Two epoxy monomers were synthesized, with the purpose of developing lower-toxicity monomers than conventional petroleum derivatives. Unlike monomers of natural origin currently developed, this work aims to synthesize monomers that could provide adequate mechanical and thermal properties to their corresponding polymers. Taking as raw material a primary bicyclic alcohol, commonly called nopol. Two synthesis routes were performed, in the first one, nopol was alkylated using allyl bromide followed by the epoxidation of the double bond present in the aromatic ring. For the second route, nopol was alkylated with epichlorohydrin; as in the previous route, the double bond of the aromatic ring was epoxide.

Palabras clave: baja toxicidad, monómeros, nopol, rutas de síntesis.

INTRODUCCION

El nopol (Fig. 1) es un alcohol bicíclico primario, ópticamente activo, que se sintetiza a partir del β -pineno (Fig. 2), el cual es uno de los principales componentes de la trementina, que es obtenida por la destilación de la resina de los pinos (Opanasenko, 2013). El β -pineno es un bioterpeno económicamente accesible y renovable. El nopol por consecuencia, es una materia prima barata y atractiva para desarrollar monómeros que puedan sustituir a los

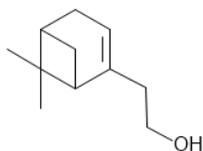


Figura 1. Estructura molecular del nopol.

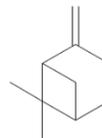


Figura 2. Estructura molecular del β -pineno.

derivados del petróleo asegurando una menor toxicidad.

Anteriormente se ha tratado de sustituir a los derivados del petróleo con opciones de orígenes naturales, por ejemplo, aceites vegetales epoxidados, sin embargo, las propiedades mecánicas de estos no son adecuadas, ya que presentan baja Tg, bajo modulo y pobres propiedades térmicas. Debido a su estructura cicloalifatica se considera que el nopol brindaría excelentes propiedades a los polímeros sintetizados, además, su doble enlace presente en el ciclo y el grupo

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Ing. Cárdenas Valdez S/N, Republica, C.P: 25080 Saltillo, Coah.
nadiaperezalvaro@uadec.edu.mx

² Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna # 140, San José de los cerritos, C.P: 25294, Saltillo, Coah.
ricardo.acosta@ciqa.edu.mx

hidroxilo son potencialmente útiles para funcionalizar con grupos polimerizables. (Crivello, J.V. Liu, S.S.; Synthesis and Cationic Photopolymerization of Monomers Based on Nopol). Nuestro objetivo principal es sintetizar un monómero epóxico capaz de sustituir los monómeros convencionales con una menor toxicidad y conseguir propiedades térmicas y mecánicas idóneas para la sinterización de polímeros.

METODOLOGÍA



Figura 3. Sistema de reacción para la alquilación del nopol con bromuro de alilo.



Figura 4. Sistema de reacción montado para la epoxidación del doble enlace en el anillo.

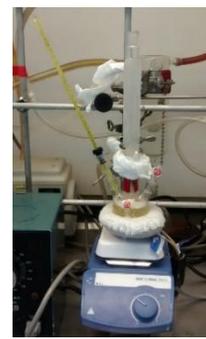


Figura 5. Sistema de reacción montado para la alquilación del nopol con epiclorhidrina.

Alquilación del nopol con bromuro de alilo (ex1.rx1).

En un matraz bola de tres bocas de 100 mL (Fig. 3), provisto con un condensador, agitación magnética y un termómetro, se añadieron 20 g de nopol (0.12 mol) también se agregaron, en cantidades de un equivalente; bromuro de alilo e hidróxido de potasio. Como catalizador se agregó TBAI en 5 % respecto al nopol y como solvente se añadieron 30 mL de tolueno. Posterior a añadir los reactivos se inició el calentamiento hasta una temperatura de 85 °C durante 19 horas.

Al finalizar la reacción, el contenido del matraz se lavó usando 30 mL de agua tres veces, se separaron las fases, la fase orgánica se secó usando sulfato de sodio anhidro. Para la purificación de nuestro producto de interés se usó el método de cromatografía en columna (CC), como fase estacionaria se usó sílica gel y como eluyente hexano. Posteriormente se usó un rotavapor para eliminar parcialmente el hexano y finalmente se usó una bomba de alto vacío equipada con una trampa de nitrógeno, para remover por completo el hexano.



Figura 6. Reacción de alquilación del nopol con bromuro de alilo.

Epoxidación del doble enlace en el anillo presente en el producto de la alquilación con el bromuro de alilo (ex1.rx2)

Una vez se obtuvo el éter alil nopol purificado se prosiguió a la formación del grupo epoxy. En un matraz de 2 L (Fig. 4) de tres bocas equipado con agitación magnética y dos embudos de alimentación, se añadieron los reactivos: el producto purificado de la reacción anterior disuelto en 50 mL de cloroformo, 40 mL de acetona, 0.5 g de 18-crown-6 éter y 200 mL de solución buffer con una molaridad de 0.5 (KH₂PO₄). En embudos de alimentación se añadieron al mismo tiempo y gota a gota, 300 mL de una solución de OXONE (2KHSO₅ KHSO₄ K₂SO₄) en una concentración de 0.3866 molar y 300 mL de una solución de NaOH con concentración de 1 N. La última con el

propósito de regular el pH en 6.5-7. Acabando de añadir por completo la solución de OXONE, se reguló el pH hasta 7 y se dejó en agitación durante 88 horas.

Posteriormente se separaron las fases, se lavó la fase acuosa con porciones de 30 mL de cloroformo, las fases orgánicas fueron mezcladas, para ser lavadas con porciones de 30 mL de agua. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, finalmente el cloroformo fue eliminado usando un rotavapor.

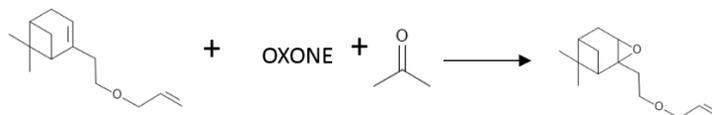


Figura 7. Reacción de epoxidación del doble enlace en el anillo presente en el éter nopol alilo.

Alquilación del nopol con epiclohidrina (ex2.rxA.)

En un matraz bola de tres bocas de 100 mL (Fig.5), provisto con un condensador, agitación magnética, baño de hielo y un termómetro, se añadió nopol (25 g, 0.15 mol); en cantidades de 2.5 equivalentes respecto al nopol, se añadieron epiclohidrina e hidróxido de potasio, el catalizador usado fue TBAI (2.77 g). Después de las dos horas de agitación se cambia el baño de hielo por una manta de calefacción, se mantiene en 50°C durante 5 horas.

Después de la reacción se decantaron los líquidos de los sólidos formados. El método de purificación, en este caso, fue la destilación debido a que, en las placas de cromatografía de capa delgada, el nopol y el producto corrían a la misma altura, lo que descarta la posibilidad de una purificación por columna. La destilación fue llevada a cabo usando una columna vigreux, un condensador, un termómetro, un receptor “vaca” y cuatro matraces de 25 mL en los que serían recolectadas las fracciones. La destilación tardó aproximadamente 3 horas, se recolectaron 3 fracciones.

En la primera fracción se encontró presencia de reactivo como de producto, estando en mayor cantidad el reactivo, en cuanto a la segunda fracción, se tuvo mayor concentración de producto y en la tercera se recolectaron monómeros de mayor peso molecular. Se hizo una rectificación de la destilación, únicamente de la segunda fracción, se recolectaron 4 fracciones en las primeras dos había mayor concentración de reactivo, mientras que en las otras dos se concentraba mayormente el producto.



Figura 8. Reacción de alquilación del nopol con epiclohidrina.

Epoxidación del doble enlace en el anillo presente en el producto de la alquilación con epiclohidrina (ex2.rxB).

El procedimiento es igual que en la epoxidación anterior a excepción de que inicialmente se usó el OXONE de menor peso molecular ($\text{KHSO}_5 \cdot 0.5\text{KHSO}_4 \cdot 0.5\text{K}_2\text{SO}_4$) pero debido a que la reacción no estaba ocurriendo, se retiró la fase acuosa y se agregó el OXONE de mayor peso molecular ($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$) junto con los demás reactivos, en las mismas cantidades.

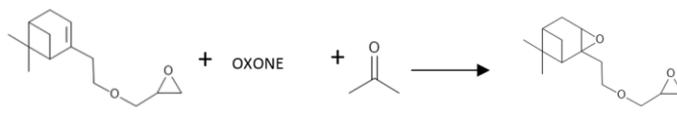


Figura 9. Reacción de epoxidación del doble enlace en el anillo presente en el producto de la alquilación con epiclohidrina.

RESULTADOS

Alquilación del nopol con bromuro de alilo (ex1.rx1).

Para asegurarnos de que el método de cromatografía por columna (CC) había sido satisfactorio, se realizó un análisis IR. Comparamos el espectro del nopol con la fracción resultante de la CC, se observa la desaparición de la banda centrada en 3300 cm^{-1} y de la banda en 1050 cm^{-1} que corresponden a los alcoholes primarios (wade, 2012). Además, se puede notar la aparición de las bandas en ~ 3100 , 1000 y 915 cm^{-1} que corresponden a los dobles enlaces de tipo vinilo, que se adjudican al doble enlace aportado por el bromuro de alilo. Por último, la frecuencia en 1100 que corresponde a éteres está presente en el análisis IR del éter alil-nopol. Todas las comparaciones anteriores nos confirman que la reacción y la purificación fueron efectivas, obteniendo el compuesto deseado. El rendimiento final fue de 32% en base al nopol.

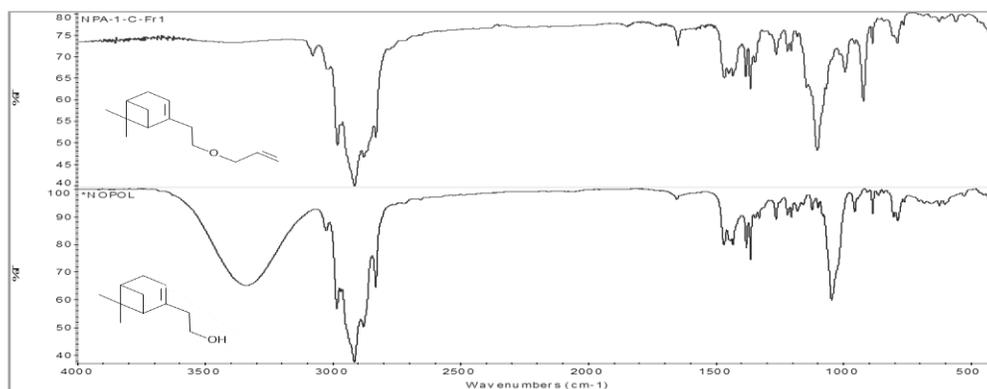


Figura 10. Espectro IR para el producto de la reacción ex.rx1

Epoxidación del doble enlace en el anillo presente en el producto de la alquilación con el bromuro de alilo (ex1.rx2).

Al comparar el éter nopol alil con el producto de su correspondiente epoxidación, podemos observar la banda en 915 cm^{-1} que corresponde al grupo epoxy (Gonzalez G., 2012). Otras bandas también se presentan en el espectro, aunque, estas no corresponden al producto deseado. El análisis realizado para este compuesto nos dio resultados no muy satisfactorios, ya que, se esperaba la epoxidación de ambos dobles enlaces, sin embargo, únicamente se formó un grupo epoxy. A partir de la observación de este espectro se decidió iniciar la segunda ruta de síntesis.

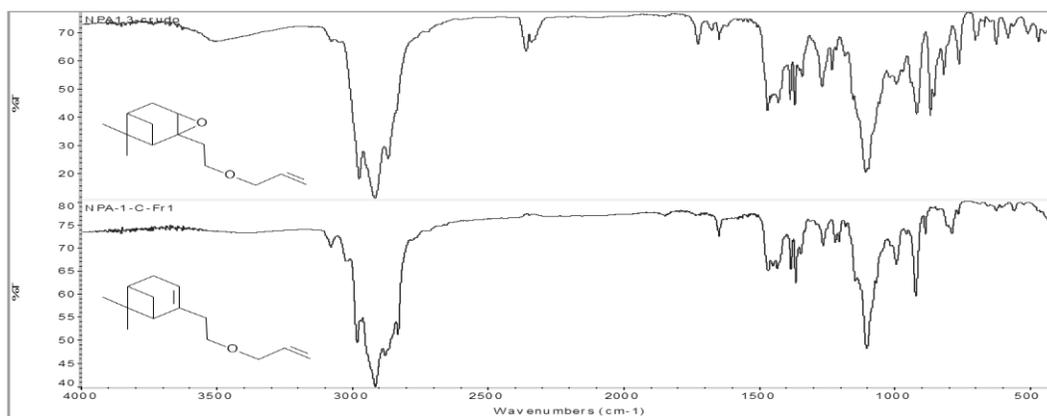


Figura 11. Espectro IR para el producto de la reacción ex.rx2

Alquilación del nopol con epíclorhidrina (ex2.rxA).

De la misma manera que se analizó el IR del nopol alilado, se analizará la alquilación del nopol con la epíclorhidrina. Se puede observar la desaparición de las bandas en 3300 cm^{-1} y en 1050 cm^{-1} correspondientes a alcoholes primarios para el espectro del producto. La banda en 1100 cm^{-1} aparece en el espectro del producto, esta banda es característica de los éteres, grupo presente en la molécula deseada. Finalmente se destaca la banda en 915 cm^{-1} correspondiente al grupo epoxy aportado por la epíclorhidrina. Obtuvimos un rendimiento final del 47 % respecto al nopol.

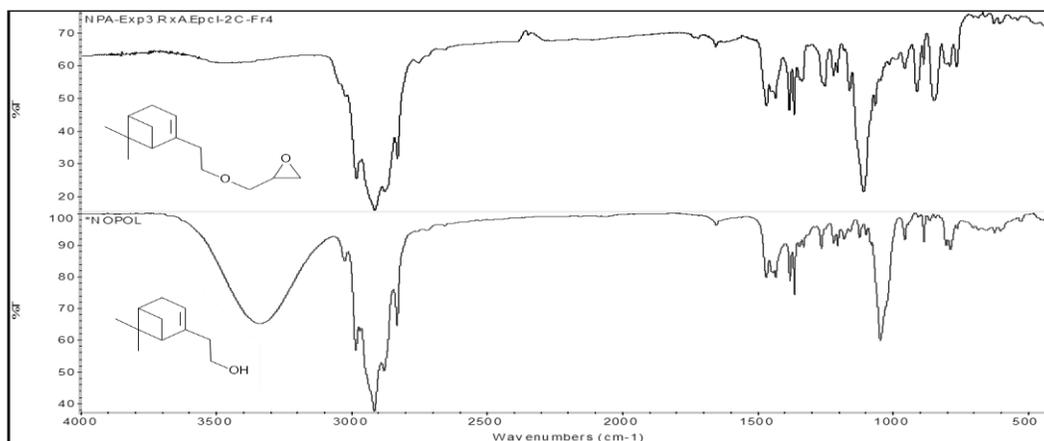


Figura 12. Espectro IR para el producto de la reacción ex.rx2

Epoxidación del doble enlace en el anillo presente en el producto de la alquilación con epíclorhidrina (ex2.rxB).

Debido a la duración de la estancia, los resultados de esta reacción se vieron limitados al análisis de cromatografía en capa delgada. En la placa realizada se colocaron las gotas de la reacción ex2.rxA y de la reacción ex2.rxB se utilizó un eluyente 7:3 y se reveló usando yodo. Las manchas obtenidas eran idénticas por lo que se concluyó que la reacción no estaba ocurriendo de manera correcta y se regresó al uso del OXONE ($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$).

Las oportunidades de desarrollo de este trabajo son: la síntesis de agentes de curado, determinación de las cinéticas de fotopolimerización, análisis de propiedades, etc.; para la continuación de este trabajo que cumple con la etapa inicial, que es la síntesis de monómeros monofuncionales y difuncionales.

CONCLUSIONES

En base a los resultados podemos concluir que la ruta más favorecedora para la síntesis del compuesto objetivo es iniciar la alquilación del nopol con epíclorhidrina y posteriormente la epoxidación del doble enlace en el anillo aromático, esperando así obtener dos grupos epoxy. Por otro lado, si se alquila el nopol usando bromuro de alilo y se prosigue con la epoxidación, el doble enlace alílico no reaccionará y se obtendrá únicamente un grupo epoxy en la molécula (monómero monofuncional). En nuestro trabajo logramos la síntesis de un monómero monofuncional y un monómero difuncional.

El OXONE de mayor peso molecular favorece la reacción de epoxidación por lo que tendría que ser el reactivo inicial en las próximas síntesis de grupos epoxy para este tipo de grupos alquenos.

BIBLIOGRAFIA

Opanasenko, M. (2015). Superior Performance of Metal–Organic Frameworks over Zeolites as Solid Acid Catalysts in the Prins Reaction: Green Synthesis of Nopol, No 6, pp. 865-871.

Crivello, J.V. Liu, S.S.; (1999) Synthesis and Cationic Photopolymerization of Monomers Based on Nopol, J,Polym Sci: Part A: Polym Chem., No 37, pp. 1199-1209

L.G. Wade, Jr. (2012). Química orgánica. Whitman College: PEARSON

María González González, Juan Carlos Cabanelas and Juan Baselga (2012). Applications of FTIR on Epoxy Resins – Identification, Monitoring the Curing Process, Phase Separation and Water Uptake. Consultada en http://cdn.intechopen.com/pdfs/36178/InTech_Aplications_of_ftir_on_epoxy_resins_identification_monitoring_the_curing_process_phase_separation_and_water_uptake.pdf (fecha de consulta 02-07-2018).

CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTO DE BIZNAGA.

Pérez Chávez Nalleli¹ y Feregrino Pérez Ana Angélica²

RESUMEN

México es el país con mayor riqueza de cactáceas, donde la biznaga (*Ferocactus spp*), es utilizada en la confección del tradicional dulce acitronado; los botones florales jóvenes de la biznaga llamados “cabuches” son consumidos en guisados o en escabeche; la fruta de la biznaga también es comestible, aunque es ácida y su pulpa es utilizada para hacer jaleas y dulces.

Los frutos de las cactáceas tiene alta actividad antioxidante como consecuencia de su elevada concentración de betalaínas, polifenoles y vitamina C. Estos fitoquímicos evidencian su rol protector sobre la salud humana. Diferentes estudios han mostrado que los radicales libres presentes en el organismo humano causan daño oxidativo a diferentes moléculas,

En el presente trabajo se realizó la cuantificación del contenido polifenólico y capacidad antioxidante en la pulpa del fruto de la biznaga (*Ferocactus spp*), con el fin de mantener el creciente interés en estos frutos como alimentos nutraceuticos potenciales.

ABSTRACT

Mexico is the country with the richest cacti, where the biznaga (*Ferocactus spp.*) Is used in the confection of the traditional sweet citronate; the young floral buttons of the biznaga called "cabuches" are consumed in stews or pickles; the fruit of the biznaga is also edible, although it is acidic and its pulp is used to make jellies and sweets.

The fruits of cacti have high antioxidant activity as a result of their high concentration of betalains, polyphenols and vitamin C. These phytochemicals show their protective role on human health. Different studies have shown that free radicals present in the human organism cause oxidative damage to different molecules,

In the present work, the quantification of the polyphenolic content and antioxidant capacity in the pulp of the fruit of the biznaga (*Ferocactus spp*) was carried out, in order to maintain the growing interest in these fruits as potential nutraceuticals

Palabras Clave: Fruto de la biznaga, polifenoles, capacidad antioxidante.

INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae agrupa a una gran diversidad de plantas, entre las que destacan los cactus columnares (viejitos y ttechos); los cactus candelabrifformes (cardones, órganos y pitayas); las biznagas y biznaguillas (chilitos); algunas trepadoras como los nopalillos (*Heliocereus spp.*); las pitahayas (*Hylocereus spp.*), y una gran variedad de nopales. (Jiménez C. L., 2011)

México es el más importante centro de concentración de cactáceas, con un alto índice de endemismo a nivel genérico (73 %) y específico (78 %), con un total de 48 géneros y 563 especies reconocidas. La mayor parte

¹Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra, Lic. En Nutrición; Av. Mutualismo esq. Prol. Río Lerma S/N C.P. 38060, Celaya, Guanajuato, nelly_1794@hotmail.com

²Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería., C.A. de Bioingeniería Aplicada., Lab de Metabolitos y Nanocompositos, Campus Aeropuerto. Carretera a Chichimequillas s/n, Ejido Bolaños, C.P. 76140, Santiago de Querétaro, Qro, feregrino.angge@hotmail.com

de las especies habitan en las regiones áridas y semi-áridas del país, particularmente en la porción sureste del Desierto Chihuahuense, incluyendo la Zona Arida Queretano-Hidalguense. (Hernández, 1994)

En los ambientes más áridos, con precipitaciones anuales menores a 600 mm (Coahuila, Nuevo León, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Aguascalientes, Estado de México e Hidalgo), abundan biznagas (*Ferocactus spp.*, y *Echinocactus platyacanthus*) (Jiménez, 2011)

Las biznagas son cactus de tallos de forma globosa de los géneros *Echinocactus* y *ferocactus* (figura 1), de los cuales se usan en la confección del tradicional dulce acitronado de biznaga, este dulce se obtiene principalmente de la planta completa de la biznaga verde (*Echinocactus platyacanthus*) y de la biznaga colorada (*Ferocactus pilosus*); de esta última se colectan los “cabuches”, siendo estos botones florales jóvenes, los cuales son consumidos en guisados o en escabeche. (Alanís, 2008)

Asimismo, la fruta de la biznaga (Figura 2) también es comestible, aunque es ácida y no es muy succulenta, es decir, dulce como una tuna o una pithaya. (Cosío, 2018)

Los frutos de las cactáceas forma parte importante del grupo de alimentos funcionales puesto que tiene alta actividad antioxidante como consecuencia de su elevada concentración de betalaínas, polifenoles y vitamina C. (Jiménez J. , 2014)

Los antioxidantes de las frutas y verduras funcionan como supresores del oxígeno singlete y triplete, depuradores de radicales libres, descomponedores de peróxido e inhibidores enzimáticos. (Orozco, 2009)

Estos fitoquímicos evidencian su rol protector sobre la salud humana. Diferentes estudios han mostrado que los radicales libres presentes en el organismo humano causan daño oxidativo a diferentes moléculas, tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos y tiene que ver en la iniciación en algunas enfermedades degenerativas. (Jáuregui, 2007)

En el presente trabajo se realizó la cuantificación del contenido polifenólico y capacidad antioxidante en la pulpa del fruto de la biznaga (*Ferocactus spp*), con el fin de mantener el creciente interés en estos frutos como alimentos nutraceuticos potenciales.



Figura 1. Biznaga (*Ferocactus spp*)



Figura 2. Fruto de la biznaga (*Ferocactus spp*)

MATERIALES Y MÉTODOS

Material.

El registro de las medidas de absorbancia, a longitud de onda fija, se lleva a cabo con un Espectrofotómetro marca Thermo scientific modelo MULTISKAN GO 1510.

Recolección de la muestra.

Se recolectaron los frutos de la biznaga del genero *Ferocactus spp* los cuales se congelaron con nitrógeno líquido para subsiguientemente llevarse a una cámara de congelación y ser almacenados para su uso posterior.

Preparación de la muestra.

Se colocaron en un tubo de reacción 1 gramo de la muestra fresca y se mezcló con 2.5 ml de metanol; se mantuvieron en agitación continua durante 24 horas para posteriormente centrifugarse a 5000 rpm en 4°C durante 10 minutos.

Contenido de fenoles totales.

El análisis de fenoles totales se realizó por espectrofotometría, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. A 40 µL de extracto se le agregaron 460 µL de agua destilada, 250 µL de reactivo Folin-Ciocalteu, 1250 µL de Na₂CO₃ al 20%. Se midió a una longitud de onda de 760 nm después de 2 horas a temperatura ambiente y en ausencia de la luz. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico entre 0 a 1000 mg/L. El contenido de polifenoles totales se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de materia fresca.

Contenido flavonoides totales.

El contenido de flavonoides totales en los extractos metanolicos fue determinado al colocar 50 µL del extracto metanolicos más 180 µL de metanol, posteriormente se adiciono 20 µL de solución 2-aminoetil-di-fenilborato al 1%. La absorbancia fue medida a 404nm. Se usaron soluciones de 2 – 200 mg/mL, para construir la curva de calibración ($r^2 = 0,994$). El contenido de flavonoides totales fue calculado como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra fresca. Este procedimiento se efectuó con cada uno de las especias objeto de estudio por triplicado.

Determinación de taninos totales.

Para el contenido de taninos totales se tomó 50 µL del extracto metanolicos y se colocó en la placa de 96 pozos más 200 µL de solución 1:1 (vainillina 1% - HCl 8%), para el blanco se le adicionó 50 µL de metanol más 200 µL de HCl al 4%. La absorbancia fue medida a 492nm. Se usaron soluciones de (+) catequina entre 0.1 – 0.8 mg/mL, para construir la curva de calibración. El contenido de taninos totales fue calculado como mg equivalentes de (+) catequin-vainillina por gramo de muestra fresca.

Determinación de capacidad antioxidante.

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).

Este método se basa en la reducción de la absorbancia medida a 520 nm del radical DPPH, por antioxidantes. 20 µL de la muestra se le añadió 200 µL DPPH, las medidas de absorbancia a 520 nm se realizarón al minuto 0 y pasados los 10 y 30 minutos. La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en actividad equivalente a Trolox.

Método ABTS

Según la metodología desarrollada el radical ABTS se obtiene tras la reacción de ABTS con persulfato potásico incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.70 (± 0.1) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción).

FRAP.

El reactivo FRAP se preparara diariamente, y se mantendrá a 37°C, mediante la mezcla de tampón acetato con una solución 10 mM de TPTZ (2, 4, 6 tripiridil-striazina) en HCl 40 mM, y una solución 20 mM de FeCl₃ 6

H₂O. Las soluciones del ensayo se prepararan mezclando 230 µL del reactivo de FRAP con 20 µL de muestra. La absorbancia se midieron a 595 nm, al minuto 0, minuto 4 y minuto 30.

RESULTADOS

En la tabla 1, se presentan los resultados del contenido de fenoles, flavonoides y taninos; en la cual se puede apreciar que son los fenoles presentes en el fruto de la biznaga los de mayor cantidad.

Tabla. 1. Contenido de polifenoles en el fruto de la biznaga

Compuestos polifenolicos.	mg/gr
Fenoles	496mg EAG/gr (± 15.4)
Flavonoides	1.5498 mg rutina/gr (± 6)
Taninos	0.2905 mg catequin/gr (± 0.0016)

EAG= Equivalente de Ácido Gálico

En la tabla 2 se plasma el contenido de capacidad antioxidante en el fruto de la biznaga por tres métodos de determinación: DPPH, ABTS y FRAP. De estos tres el método FRAP muestra una mayor respuesta.

Tabla. 2. Capacidad antioxidante en el fruto de la biznaga

Determinación de capacidad antioxidante	mgTrolox/gr
DPPH	1272.5(± 28.5)
ABTS	4432.5 (±235)
FRAP	5255.8(±31)

Carrasco R. y Encina C. (2008) reportan el contenido de fenoles en tuna roja (520 mg EAG/gr) el cual es similar al obtenido para el fruto de la biznaga (496mg EAG/gr).

Beltrán M. y cols. (2009) obtuvieron la capacidad antioxidante en cuatro variedades de pithaya (roja 2763.2 mg Trolox/g, cereza 3047.1 mg Trolox/g, amarilla 4202.1 mg Trolox/g, y blanca 4336.8 mg Trolox/g) estos resultados se muestran semejantes a los conseguidos en el fruto de la biznaga (*Ferocactus* spp)

CONCLUSIÓN

Estudios científicos demuestran que los frutos de las cactáceas son fuentes ricas de fitoquímicos de gran potencialidad por sus propiedades funcionales y medicinales. Sin embargo poca es la información que se tiene del fruto de la biznaga, el cual constituyen una fuente importante de compuestos polifenolicos, principalmente por la presencia de fenoles; siendo estos compuestos lo que le brinda una capacidad antioxidante similar a la de la pithaya.

BIBLIOGRAFIA

Alanís, G. (2008). Importancia de las cactáceas como recurso natural en el Noroeste de México. Ciencia UANL, No. 001, pp 9-10. Consultado en <http://www.redalyc.org/pdf/402/40211102.pdf> (Fecha de consulta 28/07/2018).

Cosío, J. (2018). Al rescate de las biznagas en Baja California Sur. Conacyt agencia informativa.

Hernández, H. (1994). Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. Acta Botánica Mexicana, No. 26, pp 35-36. Consultado en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57402606> (Fecha de consulta 29/07/2018).

Jáuregui, A. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista Soc. Quím*, No. 3, pp 144. Consultado en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2007000300003&lng=es&tlng=es (Fecha de consulta 29/07/2018).

Jiménez, C. (2011). Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Revista Digital Universitaria*, No. 1, pp 4-5. Consultado en <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num1/art04/index.html> (Fecha de consulta 28/07/2018).

Jiménez, J. (2014). Betaínas, polifenoles y actividad antioxidante en tuna roja mínimamente procesada, almacenada en atmósferas controladas. *Gayana. Botánica*, No. 72, pp 222-223. Consultado en <https://scielo.conicyt.cl/pdf/gbot/v71n2/05.pdf> (Fecha de consulta 29/07/2018).

Beltrán, M. (2009). Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus* Riccobono). *Agrociencia*, No. 2, pp 154. Consultado en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30211278007> (Fecha de consulta 29/07/2018).

Carrasco R. y Encina C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, No 2, pp 114-116. Consultado en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937609004> (Fecha de consulta 04/08/2018)

ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO DE PESTICIDAS MEDIANTE QUÍMICA COMPUTACIONAL

Omar Flores Delgado¹ y Gabriel Herrera Pérez²

RESUMEN

En años recientes el uso de la química computacional se ha extendido significativamente, esto ha sido en parte, a causa del desarrollo de software cada vez más sencillo de utilizar. La química computacional es usada para modelar moléculas y estudiar aspectos geométricos, espectroscópicos, reactivos, entre otras cuestiones. Existen diferentes clases de métodos para llevar a cabo estudios computacionales sobre sistemas químicos. Para este trabajo se optimizó la geometría y calcularon las frecuencias de vibración de moléculas aisladas de dos pesticidas (2,4-D y Metomilo), a través de los métodos RHF y DFT (B3LYP) con una base 6-31G (2d,p). El objetivo principal fue reproducir el espectro FTIR de ambos pesticidas mediante los métodos computacionales ya mencionados.

ABSTRACT

In recent years the use of computational chemistry has expanded significantly, this has been partly due to development of software easier to use. The computational chemistry is used for model molecules and study their geometry features, IR, Raman, NMR and UV spectra, reactivity, among other matters. There are different kinds of methods to perform computational studies on chemical systems. For this work, vibrational frequencies of isolated molecules of two pesticides (2,4-D and Methomyl) were calculated by RHF and DFT (B3LYP) methods using a basis set 6-31G (2d,p). The foremost objective was to reproduce the FTIR spectra of both pesticides through the computational methods aforementioned.

Palabras Clave: DFT, IR, Pesticidas, RHF.

INTRODUCCIÓN

Los pesticidas son sustancias que matan o controlan el crecimiento o la reproducción de cualquier organismo no deseado para el ser humano, es decir, los pesticidas tienen la propiedad de bloquear un proceso metabólico vital de los organismos para los cuales son tóxicos (Cabildo Miranda *et al.*, 2013). Se pueden clasificar en insecticidas, herbicidas, fungicidas, bactericidas, etc. La hierbamina ($C_8H_6Cl_2O_3$) cuyo nombre de acuerdo a la *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) es ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). El insecticida estudiado es el Metomilo ($C_5H_{10}N_2O_2S$), su nombre de acuerdo a la IUPAC es S-metil-(EZ)-N-(metilcarbamoiloxi) tioacetamido, el cual pertenece a la familia de los carbamatos. La fórmula estructural del 2,4-D, Metomilo se observan en las Figuras 1) y 2) respectivamente.

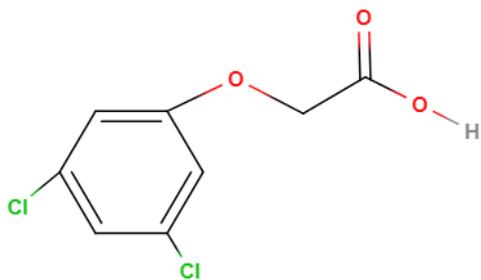


Figura 1. Fórmula estructural del 2,4-D.

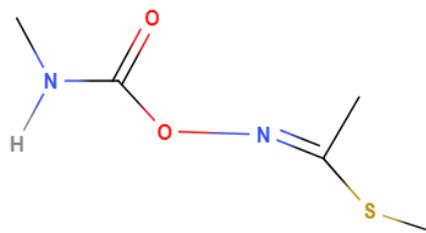


Figura 2. Fórmula estructural del Metomilo

La química computacional es una rama de la química que ha ido evolucionado constantemente gracias a las contribuciones de procesamiento y almacenamiento de datos, matemáticas y, físico y químico teóricas. Esta

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Departamento de Ingeniería en Materiales, Carretera Irapuato-Silao Km 12.5, Colonia El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. ofloresdelgado@hotmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Departamento de Ingeniería en Materiales, Carretera Irapuato-Silao Km 12.5, Colonia El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato. gaherrera@itesi.edu.mx

disciplina es utilizada de maneras distintas, una forma particularmente importante es modelar un sistema molecular antes de sintetizar esa molécula.

El objeto de la química computacional es modelar la química real, pero cada nivel de aproximación tiene sus limitaciones inherentes. A pesar de que los métodos no son perfectos, a menudo son los suficientemente buenos como para descartar el 90% de los posibles compuestos no sean adecuados para su uso previsto. Esto es de gran utilidad debido a la creciente demanda de instrumentos para apoyar las racionalizaciones e hipótesis emanadas de los experimentos con resultados de tipo teórico para evitar, especulaciones inherentes al desarrollo de la química.

MARCO TEÓRICO

Un conjunto base permite obtener una representación de los orbitales de un sistema químico (átomos y moléculas), siendo parte del modelo químico junto con el método teórico (Cuevas & Cortés, 2003). Lewars (2011), lo define como “un conjunto de funciones matemáticas (funciones base), combinaciones lineales de las cuales se producen orbitales moleculares”. Los dos tipos de funciones de base más utilizados, aun cuando no son soluciones a la ecuación de Schrödinger de un átomo, son los orbitales de Slater (STO) y los de tipo Gaussiano (GTO) (Cuevas & Cortés, 2003). Sin embargo, existen otro tipo de bases, las cuales sirven para resolver problemas determinados como lo son las bases con funciones difusas que son útiles para representar la densidad electrónica en aniones, complejos débiles y estados excitados de moléculas (Cuevas & Cortés, 2003). Las ecuaciones de Hartree-Fock (HF) se obtienen al sustituir un determinante de Slater en la ecuación de Schrödinger, seguida por algunas transformaciones algebraicas. La función de onda de Hartree-Fock está escrita como un producto antisimétrico de espín-orbitales ϕ_i y el método HF consiste en buscar los orbitales que minimizan la energía del sistema según la ecuación 1):

$$\hat{F}(1)\phi_i(1) = \varepsilon_i\phi_i(1) \quad (1)$$

El operador de Fock depende de funciones propias que no son conocidas inicialmente, por lo que las ecuaciones de Hartree-Fock deber ser resueltas en procesos iterativos. La clave que hizo factible el cálculo de orbitales moleculares, propuesta por Roothaan en 1951, es la expansión de orbitales ϕ_i como una combinación lineal de un conjunto de funciones base χ_s de un electrón. Las ecuaciones Hartree-Fock-Roothaan deben ser resueltas en un proceso iterativo, este procedimiento es conocido con el nombre de “método de campo autoconsistente” o bien *selfconsistent field* (SCF) (Cuevas & Cortés, 2003). Por otra parte, la teoría de funcionales de densidad (DFT por sus siglas en inglés) está basada en los dos teoremas de Hohenberg-Kohn. El primer teorema de Hohenberg-Kohn dice que todas las propiedades de una molécula en estado estacionario (e.g. E_0) son determinadas por la función de densidad electrónica estacionaria. El segundo teorema de Hohenberg-Kohn dice que cualquier función de densidad electrónica dará una energía mayor que la energía del estado estacionario. La energía electrónica en estado estacionario de una molécula real es la suma de la energía cinética de los electrones, energía potencial de atracción entre núcleo-electrones, y la energía de repulsión entre electrones (Levine N. I., 2014), definido en la ecuación 2):

$$E_0 = \langle \bar{T}[\rho_0] \rangle + \langle \bar{V}_{ne}[\rho_0] \rangle + \langle \bar{V}_{ee}[\rho_0] \rangle \quad (2)$$

Sin embargo, \bar{T} y \bar{V}_{ee} no se conocen por lo cual, no proveen una manera sencilla de cálculo, con la finalidad de resolver este problema, Kohn y Sham propusieron un método para encontrar la densidad ρ_0 y, a partir de ella, la energía E_0 (Cuevas & Cortés, 2003). Ambos consideran un sistema de referencia ficticio, de tal forma que es posible definir un $\Delta\bar{T}[\rho]$ y $\Delta\bar{V}_{ee}[\rho]$. Estos últimos funcionales son desconocidos, sin embargo, estas cantidades pueden incluirse en la definición de un nuevo funcional, el funcional de energía de intercambio y correlación de la manera siguiente, expresado en la ecuación 3):

$$E_{XC}[\rho] = \Delta\bar{T}[\rho] + \Delta\bar{V}_{ee}[\rho] \quad (3)$$

Esto implica que la gran diferencia entre un método *ab initio* (e.g. UHF/RHF) y DFT (e.g. B3LYP) radica en la energía de correlación implicada en el cálculo computacional, por lo que es de esperar un cambio evidente en los cálculos. Lo siguiente aborda el proceso de optimización, el cual permite localizar los puntos estacionarios en una función, por ejemplo, aquellos puntos donde la primera derivada es cero. Se buscan puntos estacionarios de mínima energía, que se caracterizan porque todas sus segundas derivadas son positivas. En la aproximación de Born-Oppenheimer es posible tener una superficie de energía potencial (*PES* por sus siglas en inglés) obteniendo la energía electrónica para cada conjunto de arreglos nucleares (Cuevas & Cortés, 2003). La espectroscopía

vibracional es una herramienta valiosa para la elucidación de estructuras moleculares. Provee información importante sobre las fuerzas intramoleculares que actúan entre los átomos en una molécula, las fuerzas intermoleculares en fase condensada y la naturaleza de los enlaces químicos (Sathyanarayana, 2004).

Los espectros de absorción, emisión y reflexión en el infrarrojo, de especies moleculares, se pueden explicar que asumiendo que todos son el resultado de los distintos cambios energéticos producidos en los estados vibracionales y rotacionales a otro. Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar cuando vibra o gira, además, para lograr la absorción, la frecuencia de la radiación debe ser igual a la de vibración de la molécula (Skoog, Hooler, & Crouch, 2008). Sólo en estas circunstancias el campo eléctrico alternante de la radiación puede interactuar con la molécula y modificar la amplitud de alguno de sus movimientos (Skoog, Hooler, & Crouch, 2008). El momento dipolar de una molécula está determinado por la magnitud de las cargas atómicas y la distancia entre los dos centros de carga, tal como se observa en la ecuación 4):

$$\mu = \sum Z_i r_i \quad (4)$$

MÉTODOS Y MATERIALES

El programa de cómputo usado fue *Gaussian 03* (Frisch, M. J. *et al.*, 2004), mediante el cual se creó un archivo de entrada (*input*) dónde se establecieron las geometrías iniciales para cada una de las moléculas, y con ello la matriz *Z*. En este mismo archivo se configuraron los parámetros siguientes: tipo de cálculo, método, conjunto base, paridad y carga eléctrica. Con la finalidad de determinar la estructura molecular más estable para cada pesticida se realizó la optimización geométrica se utilizaron los métodos RHF y DFT (ver Tabla 1), de tal manera que una vez obtenidos los resultados se hizo una comparación entre ellos.

Tabla 1. Configuración del método RHF para la optimización geométrica.

Tipo de cálculo	Opt	Opt
Método	RHF	DFT (B3LYP)
Conjunto base	6-31G (2d,p)	6-31G (2d,p)
Paridad	1	1
Carga	0	0

Una vez optimizada la geometría, se generó un archivo de salida (*output*), el cual fue utilizado para calcular las frecuencias vibracionales (ver Tabla 2) de ambas moléculas y con esto, obtener su respectivo espectro FTIR.

Tabla 2. Configuración del método RHF para el cálculo de frecuencias.

Tipo de cálculo	Opt Freq	Opt Freq
Método	RHF	DFT (B3LYP)
Conjunto base	6-31G (2d,p)	6-31G (2d,p)
Paridad	1	1
Carga	0	0

Como paso siguiente, haciendo uso de espectros de referencia obtenidos experimentalmente de ambos compuestos, se determinaron las bandas principales de vibración con el objetivo de comparar las bandas obtenidas teóricamente, cabe señalar que únicamente se aceptaron aquellas que fueran lo suficientemente próximas a los valores experimentales y con la condición adicional de que correspondieran al mismo modo vibracional. Es importante destacar que el espectro de referencia del 2,4-D fue obtenido en fase gas por el *National Institute of Standards and Technology* (NIST), de esta forma se asegura una mejor comparativa entre los espectros. Así mismo, se compararon ambos los valores teóricos de ambos casos con la finalidad de determinar los desplazamientos en las bandas vibracionales.

RESULTADOS

Se efectuaron cálculos del tipo *ab initio*, utilizando el método de Hartree-Fock Restringido (RHF por sus siglas en inglés), así como DFT mediante el método B3LYP para la obtención de los espectros IR de las moléculas de

cada uno de los pesticidas. Como primer caso se tiene el 2,4-D, cuyas bandas principales de estiramiento para el enlace O-H son 3500 y 3580 cm^{-1} ; para el benceno insaturado son 3090 y 1490 cm^{-1} , relacionadas con su estiramiento y flexión de los enlaces C-H, y 1060 cm^{-1} que corresponde al tijeo fuera del plano de los enlaces C-H.

En cuanto al grupo R-CO-OH se tienen bandas de 1250, 1300, 1340, 1580 y 1800 cm^{-1} de las cuales, las primeras tres son modos vibracionales de flexión del grupo O-H mientras que el par restante corresponde a modos vibracionales de estiramiento del carbonilo; por otra parte, para el éster presente las bandas son de 1300 y 1250 cm^{-1} que corresponden a vibraciones de estiramiento y por último, la banda de absorción del enlace C-Cl es de 680 y 780 cm^{-1} (NIST, 2009). Para este herbicida (ver Tabla 3) se muestran los valores de las bandas principales experimentales y los obtenidos por ambos métodos, aquellas más próximas y correspondientes al modo vibracional indicado anteriormente.

Tabla 3. Comparación entre las bandas obtenidas experimental y teóricamente para el 2,4-D.

Valor Experimental	RHF	B3LYP	Modo de Vibración
3500	3394	0	Estiramiento O-H
3090	3185	3048	Estiramiento; benceno
1800	1784	1876	Estiramiento C=O
1580	1594	1614	Estiramiento C=O
1490	1453	1488	Estiramiento; benceno
1340	1386	1338	Flexión O-H del RCOOH
1300	1299	1303	Flexión O-H del RCOOH
1250	1236	1254	Flexión O-H del RCOOH
1060	1055	1070	Flexión C-H del benceno
780	806	762	Estiramiento C-Cl
680	680	670	Estiramiento C-Cl

En la Tabla 3 se observa que la mayor diferencia entre ambos cálculos es la ausencia de la banda correspondiente al estiramiento del enlace O-H. Utilizando el método RHF se obtienen mayores valores energéticos puesto que, en su mayoría, los números de onda son más bajos en comparación con los valores resultantes usando el método B3LYP, un ejemplo de esto es el cambio en el número de onda de 1236 cm^{-1} , que se ve desplazado a 1254 cm^{-1} y pertenece a una vibración de estiramiento del O-H correspondiente al grupo carboxilo. Continuando, ahora con el Metomilo, su espectro presenta bandas de 861 y 3288 cm^{-1} para el enlace N-H que corresponden a los modos de vibración de balanceo y estiramiento respectivamente; mientras que para el enlace C=N se tiene una sola banda en 1500 cm^{-1} correspondiente a su estiramiento; en cuanto al grupo N-CO-R, están las bandas de 1028, 1111, 1250 y 1740 cm^{-1} de las cuales, las tres primeras pertenecen a un modo de estiramiento del enlace C-N, aunque la última indica un modo de estiramiento del C=O; otro de los enlaces es el N-O, el cual tiene dos bandas en 1333 y 1388 cm^{-1} que implican vibraciones de estiramiento simétrico; para el enlace C-S únicamente se tiene la banda de 722 cm^{-1} , finalmente, son tres números de onda que pertenecen al enlace C-CH₃, los cuales son 1388 y 1463 cm^{-1} , y corresponden a un modo de vibración de flexión (RSC, 2014). En la Tabla 4 se presenta una comparativa entre las bandas obtenidas experimentalmente y las calculadas mediante los métodos ya mencionados; los valores corresponden a este insecticida.

Tabla 4. Comparación entre las bandas obtenidas experimental y teóricamente para el Metomilo.

Valor Experimental	RHF	B3LYP	Modo de Vibración
3288	3263	3156	Estiramiento N-H
1740	1701	1668	Estiramiento C=O
1500	1494	1503	Estiramiento C=N
1463	0	1472	Flexión C-CH ₃
1388	1397	1415	Flexión N-O
1333	1309	1360	Estiramiento N-O
1250	1257	1248	Estiramiento C-N del NCOR
1111	1115	1119	Estiramiento C-N del NCOR
1028	1058	1052	Estiramiento C-Cl del NCOR
861	873	0	Flexión N-H
722	721	728	Estiramiento C-S

Al igual que en el caso del herbicida anterior, existe un desplazamiento de bandas en el espectro calculado con B3LYP con respecto al calculado por RHF. Sin embargo, es importante resaltar que, en este caso, poco más de la mitad los números de onda calculados por el método *ab initio* usado son mayores en comparación con los números de onda determinados por DFT esto implica un menor valor energético calculado utilizando el primer método.

Es de suma importancia añadir, que de acuerdo a la Tabla 4, uno de los cambios más perceptibles es el desplazamiento de la banda de 3263 cm^{-1} a 3156 cm^{-1} correspondientes al modo de vibración de estiramiento del enlace C-O. Adicionalmente, otra gran diferencia con respecto al caso anterior es la ausencia de dos señales, una en los datos recolectados por el método RHF en 1463 cm^{-1} , y otra en los datos obtenidos por el método B3LYP en 861 cm^{-1} .

CONCLUSIONES

En base a los cálculos realizados, únicamente se consiguió realizar una aproximación al espectro FITR de ambas moléculas debido a que existe una diferencia en un rango de 0 a 4% entre los valores teóricos y experimentales para las bandas de absorción de los compuestos, e incluso existe una falta de bandas asociadas a diferentes modos vibracionales de ciertos enlaces. Es por ello que en trabajos futuros se continuará buscando arduamente identificar factores teóricos que permitan reproducir los resultados espectroscópicos experimentales con un mayor grado de exactitud, estos pueden incluir la geometría molecular inicial para el proceso de optimización, el método y el conjunto base utilizado para los cálculos de frecuencias y geometrías.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Dra. Julia Aguilar Pliego del Área de Química de Materiales de la Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco por su colaboración y apoyo en la infraestructura de software.

BIBLIOGRAFÍA

Libros

Cabildo Miranda, M. d., Ramírez Cornago, M. d., Escolástico Leon, C., Esteban Santos, S., López García, C., & Sanz del Castillo, S. (2013). *Bases Químicas del Medio Ambiente*. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia.

Cuevas, G., & Cortés, F. (2003). *Introducción a la química computacional*. D.F.: Fondo de Cultura Económica.

Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.

Levine, N. I. (2014). *Quantum Chemistry* (Seventh ed.). New Jersey: Pearson Education.

Lewars, G. E. (2011). *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics* (Second ed.). Netherlands: Springer Science & Business Media.

Sathyanarayana, D. N. (2004). *Vibrational Spectroscopy*. New Delhi: New Age International.

Skoog, A. D., Hooler, J. F., & Crouch, R. S. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (Sexta ed.). México: Cengage Learning.

Páginas web

NIST, M.S. (2009). *2,4-D*. Obtenido de NIST Chemistry WebBook:
<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C94757&Type=IR-SPEC&Index=0#IR-SPEC>

Documentos de sitio web

RSC (Royal Society of Chemistry). (2014). Obtenido de Electronic Supplementary Material (ESI) for Analytical Methods: www.rsc.org/suppdata/ay/c4/c4ay00766b/c4ay00766b1.pdf

CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO MURINO DE ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE

Oscar de Jesús Reyes Delgado¹ y Bibiana Moreno Carranza²

RESUMEN

Introducción: La enterocolitis necrotizante (ECN) es la patología gastrointestinal de las más comunes y devastadoras en recién nacido con muy bajo peso al nacer (rango entre 500-1500g) y se caracteriza por inflamación y necrosis intestinal. Los objetivos de este estudio fueron desarrollar un modelo murino de ECN así como un modelo de sobreexpresión de proteínas en el intestino mediante la administración enteral mediante sonda de vectores lentivirales.

Métodos: Para el modelo de ECN se utilizaron cepas de ratón C57BL6 y CD1 a los cuales se les trató por 6 veces cada dos horas con una dosis de anoxia con CO₂ al 100% durante 10 o 7.5 minutos seguida una reoxigenación mediante hiperoxia al 95% por 5 minutos. Además, para activar el sistema inmune se administró LPS en las primeras dos dosis. Para la sobreexpresión de prolactina (PRL) en el intestino se administraron vectores lentivirales que sobreexpresan GFP (como control) o PRL por vía enteral a ratones CD1 en edades postnatales P2 y P3. Posteriormente se analizó la presencia de GFP y prolactina de las muestras de intestino mediante visualización por microscopia de fluorescencia y Western blot, respectivamente.

Resultados: Se obtuvo una mortalidad del 45% y una eficiencia de desarrollo de ECN entre los animales vivos del 100% en ratones CD1 de edad postnatal P1, en contraste con la mortalidad de 85% y la eficiencia de desarrollo de ECN entre los animales vivos del 0% en ratones C57Bl6 de P1. En relación al modelo de sobreexpresión de proteínas en el intestino, se detectó GFP en el intestino de ratones administrados con 10⁶ TU/ml vectores lentivirales para la sobreexpresión de GFP en el día P2 y evaluados 24 horas después. No se observó la sobreexpresión de PRL en el intestino de ratones administrados con 10⁶ y 10⁸ TU/ml vectores lentivirales para la sobreexpresión de PRL en los días P2 y P3 y evaluados 48 horas después.

Conclusión: El modelo de ECN en ratones CD1 de P1 tuvo una efectividad del 100% a pesar de una mortalidad elevada. Además, se logró estandarizar el método para la sobreexpresión de proteínas en el intestino de ratones en P2 24 horas después de la administración de vectores lentivirales por la vía enteral. La determinación de sobreexpresión de PRL en el intestino no fue conclusiva.

ABSTRACT

Background: Necrotizing enterocolitis (NEC) is one of the most common and devastating gastrointestinal disease in newborns with very low weight birth (range among 500 -1500 g). NEC is characterized by intestinal inflammation and necrosis. Our aims of this study were to develop a NEC murine model and a intestinal protein expression model by means of enteral administration of lentiviral vectors.

Method: For the NEC model were used C57BL6 and CD1 mice which were treated with anoxia with 100% CO₂ for 10 or 7.5 minutes followed by 95% O₂ for 5 minutes. This treatment was repeated six times with a 2 hours interval. Moreover, to activate the immune system, LPS was administrated orally in the first two doses. For the overexpression of prolactin (PRL) in the intestine, lentiviral vectors that overexpress GFP (as a control) or PRL were administered by orally to CD1 mice at postnatal ages P2 and P3. Then, the presence of GFP and prolactin in the intestine samples was analyzed by fluorescence microscopy and Western blot, respectively.

Result: Mortality of 45% and a NEC development efficiency of 100% was obtained among live animals in CD1 mice of P1 postnatal age, in contrast to the mortality of 85% and development efficiency of 0% among live animals in C57BL6 mice of P1 age. In relation to the protein overexpression model in the intestine, GFP was detected in the mice gut administrated with 10⁶ lentiviral vectors for the GFP overexpression on P2 evaluated 24 hours later. PRL overexpression was not observed in mice that received on day P1 postnatal 10⁶ and 10⁸ TU/ml of lentiviral vectors for the overexpression of PRL and evaluated on days P2 and P3.

¹Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de Ciencias de la Salud; Av. Universidad #940, C.P. 20131, Aguascalientes Ags, México, oscar_pxndx12@hotmail.com.

²Instituto de Neurobiología, UNAM, Neuroendocrinología Molecular, laboratorio A-15; Boulevard Juriquilla 3001, C.P. 76230, Juriquilla, Querétaro, bibiana.moreno@yahoo.es.

Conclusion: NEC model had an effectiveness of 100% in CD1 mice of 1 day of life, despite the high mortality. Moreover, a method for protein overexpression in the intestine was standardized. Lenviral vectors were orally administered 24 hours after birth and the expression of the protein was detected 24 hours later. Prolactin overexpression determination was not conclusive.

Palabras clave: enterocolitis necrotizante, prolactina, inflamación, intestino delgado.

INTRODUCCIÓN

La enterocolitis necrotizante (ECN) se caracteriza por una inflamación y necrosis isquémica de la mucosa intestinal, e invasión de microorganismos formadores de gas dentro de la pared intestinal. (1) La ECN está entre una de las patologías gastrointestinales más comunes y devastadoras en neonatos. La incidencia de ECN está relacionada con partos prematuros, función intestinal inmadura, isquemia e hipoxia intestinal, colonización bacteriana anormal y factores genéticos. (2) Ha sido también una de las patologías más difíciles de erradicar, motivo por el cual es prioridad para investigación. El excesivo proceso inflamatorio iniciado por la alta inmunoreactividad intestinal extiende sistémicamente los efectos de la enfermedad, afectando principalmente a cerebro, con un riesgo del 25% para desarrollar microcefalia y retraso en el neurodesarrollo. La prevalencia de esta entidad es del 7% entre los infantes con un peso al nacer entre los 500 y 1500 g y tiene un rango estimado de mortalidad de entre el 20 y 30%. Los signos y síntomas iniciales más típicos en la enterocolitis necrotizante “clásica” son intolerancia a la vía oral, distensión abdominal y sangre en heces después del día 8 y 10 de edad. Los hallazgos patognomónicos en la radiografía abdominal son pneumatosis intestinal, presencia de gas en el sistema porta hepático o ambos. (3)

Existen tres áreas de descubrimiento científico las cuales son las más aceptadas para el avance del conocimiento de ECN en infantes prematuros. La primera habla de un mecanismo de isquemia e inflamación intestinal y el sistema gastrointestinal prematuro. En el intestino inmaduro ante una agresión como hipoxia, hipoperfusión, alimentación enteral con fórmula y la eventual colonización aberrante hacen más probable que un proceso isquémico ocurra acompañado de una respuesta inflamatoria temprana y exagerada. Todo ello lleva a una lesión epitelial, generando un mecanismo de retroalimentación positiva inflamatorio, liberando mediadores inflamatorios que exacerban la respuesta por el intestino inmaduro. Estas características del sistema gastrointestinal pretérmino lo hacen vulnerable a la isquemia intestinal, lesión hiperosmolar, invasión bacteriana y la subsecuente inflamación, las cuales están más probablemente implicadas en el desarrollo de NEC.

La segunda se relaciona con la alimentación por vía oral. Está identificado que la alimentación enteral que llega al lumen intestinal de los neonatos causa disrupción de la integridad de la mucosa, disminución del flujo sanguíneo y de la motilidad. Los nutrientes que no son absorbidos en el intestino delgado y grueso favorecen la proliferación bacteriana, la cual puede producir distensión, neumatosis intestinal y aumento de la presión intraabdominal que lleva a una mayor disminución del flujo sanguíneo. Por otra parte, la alimentación enteral con leche materna ha mostrado ser protectora contra NEC en aspectos nutricionales e inmunológicos.

Como tercera área se habla de una colonización aberrante. Antes del nacimiento el intestino es esencialmente estéril. Al nacer este es colonizado y bajo circunstancias ideales un sistema inmune de defensa intestinal se desarrolla. Los infantes alimentados con leche materna tienen una menor incidencia de NEC que aquellos alimentados con fórmula. Esto se explica porque la lactancia facilita la colonización de una balanceada y no patológica microbiota en el intestino que ayuda a prevenir sobrecrecimiento bacteriano. La colonización aberrante produce una inducción tóxica-alimentaria por patrones moleculares microbianos que alteran la barrera epitelial y desencadenan una cascada inflamatoria intestinal innata del sistema inmune. (4)

A nivel molecular también se han hecho avances en el conocimiento de la patología de la ECN. Se conoce que en la lámina propia del intestino de ratones y neonatos prematuros con NEC existe un descenso en la producción de células T reguladoras y un incremento en la producción células Th17 CD4+. La liberación de IL-17 por los Th17 CD4+ resulta en una lesión de la mucosa intestinal, demostrada por una alteración en las uniones estrechas, un aumento en la apoptosis y una reducción de la proliferación de los enterocitos. (5) Se observó que, en un modelo de artritis inflamatoria, la prolactina reduce niveles de proteína C reactiva y TNF- α , así como factores de transcripción y citocinas asociadas con las células Th17. (6) Estos datos indican el papel importante que podría estar jugando la prolactina en la maduración intestinal mediante la modulación de la respuesta inmune lo cual conllevaría a una reducción del riesgo de desarrollar NEC.

Los objetivos de este estudio son:

- establecer un modelo de NEC en ratones recién nacido basándonos en el protocolo reportado por Kyuwhan Jung et al con modificaciones, a saber, administración oral de LPS
- establecer el método de transducción intestinal a través de la inoculación enteral de vectores lentivirales para la sobreexpresión de prolactina (LV-PRL) o GFP como control (LV-GFP)

MATERIALES Y MÉTODOS.

Modelo de ECN. Se utilizaron dos cepas de ratones: C57BL6 y CD1 en diferentes edades postnatales (P1, P2 y P3). Se les indujo hipoxia con 100% de CO₂ durante 10 o 7.5 minutos, seguido de una reoxigenación con 95% de O₂ por 5 min. Este proceso se repitió seis veces con un intervalo de 2 horas entre cada dosis de anoxia-reoxigenación. Posterior a la dosis se colocaron a las crías con su respectiva madre durante todo el intervalo de tiempo. Antes de las primeras dos dosis de anoxia-reoxigenación se administraron por vía enteral un volumen determinado de LPS en una concentración 2 µg/ µl (Lipopolysaccharides, from Escheerichia coli, 055:B5, SIGMA). Posteriormente se extrajeron todos los tractos gastrointestinales de las crías, se aisló el íleon donde el tercio proximal se preparó para una ulterior extracción de RNA y los dos tercios distales se consignaron para su procesamiento histológico.

Transducción de células intestinales tras la administración enteral mediante sonda de vectores lentivirales. Como control de la transducción de las células intestinales con los vectores lentivirales, iniciamos con la administración enteral mediante sonda de distintas concentraciones de LV-GFP (10⁴, 10⁶ y 10⁸ TU/ml de vectores lentivirales y un grupo control tratados con PBS) a 8 ratones CD1 de P2. De dichos ratones se extrajeron muestras de tractos gastrointestinales para su posteriormente visualizaron mediante microscopia de fluorescencia. Se utilizaron 12 ratones CD1 en dos grupos de 6 ratones. En el primero la administración del vector lentiviral se realizó en P2 de los cuales dos se usaron como controles, a dos se administró una dosis via enteral 1x10⁶ TU/ml de LV-PRL, y a los últimos dos se administró 1x10⁸ TU/ml de LV-PRL. Para el segundo grupo se realizó el mismo procedimiento pero en P3. Posteriormente se realizó un análisis con Western blot (acrilamida 13%, 10 pozos de 1.5 mm) con 100 ng de cada una de las muestras de intestino tratadas con LV-PRL y de muestras control sin tratamiento. Mediante anticuerpo anti-prolactina se determinó la presencia de ella y con el anticuerpo anti-tubulina se estandarizó nuestro método.

RESULTADOS

Modelo ECN con cepa CD1. Seis crías (de 11 iniciales) de edad postnatal P1 sobrevivieron al procedimiento de inducción de ECN y presentaron signos macroscópicos de ECN (**figura 1A y 2B**). Por otra parte, de la inducción de ECN en edad postnatal P2, un 50% de las crías murieron (3 de 6) y de las que sobrevivieron solo 1 presentó características indeterminadas y el resto no mostraron ningún dato anormal en el tracto GI. Finalmente, 6 crías de P3 fueron tratadas con el procedimiento de inducción de NEC sin mostrar mortalidad ni signos de NEC (**tabla 1**). Estos datos parecen indicar que el porcentaje de animales que desarrolla signos de ECN disminuye con la edad. Sin embargo, queda por evaluar si dosis de LPS administrada (que fue en todos la misma) pudiera enmascarar estos resultados y hacer necesario ajustarla en relación al peso en cada edad postnatal.

Modelo de ECN con la cepa C57BL6. Es de notar que en las crías de esta cepa se ajustó la dosis de LPS por peso del animal a 2 ug/kg de peso corporal. En los animales de P1 no se visualizó macroscópicamente ningún caso de ECN en ninguna de las edades utilizadas (**tabla 1**). Sin embargo, dos crías de esta edad postnatal mostraron datos de distensión de asas intestinales, hemorragias petequiales en todo el tracto gastrointestinal (GI) y marcada vascularización de peritoneo, por lo que se incluyeron en el grupo de indeterminados. El resto de las crías no mostraron cambios u anormalidades en el tracto GI. Cabe mencionar que solo un ratón de esta edad soportó hasta sexta dosis de anoxia-reoxigenación. Dado estos resultados de elevada mortalidad en la edad postnatal P1 se decidió disminuir el tiempo de anoxia a 7.5 min para las siguientes camadas. En las edades postnatales P2 y P3 con 7.5 minutos de anoxia y dosis de LPS de 2 ug/kg de peso corporal, no se logró obtener ECN la mortalidad fue aún muy elevada, del 83%. Estos datos indican que la cepa C57BL6 es más sensible al protocolo de inducción de ECN mostrando una mortalidad más elevada que los animales CD1 en todas las edades.

Sobreexpresión de proteínas en el intestino. Tras la administración enteral de LV-GFP se logró detectar a la proteína GFP mediante visualización de la fluorescencia en las microvellosidades intestinales (**figura 3B**) de ratones de edad

postnatal P2 administrados con 10^6 TU/ml de virus de GFP . Para aquellas crías tratadas con el LV-PRL no se logró determinar la presencia de prolactina en ninguna de las concentraciones utilizadas (**figura 2A y B**).

Tabla 1. Modelo de ECN con las cepas CD1 y C57.

Cepa	CD1			C57		
	1	2		1	2	
Camada	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Edad	11	6	6	7	6	6
# Crías	6	1	0	0	0	0
ECN	0	1	0	2	0	0
Indeterminado	5	3	0	6	5	5
Muertos	5	4	6	5	6	6
Normal	10	10	10	10	7,5	7,5
Min de CO ₂	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl	7 µl	11.4 µl
Dosis de LPS						

A

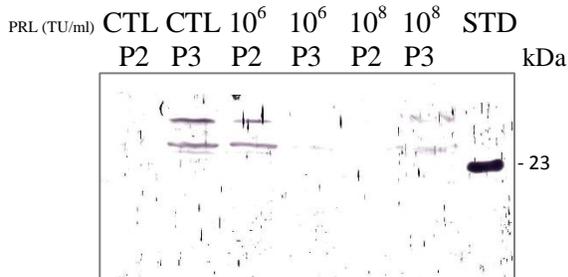


B



Figura 1. Muestras de tractos gastrointestinales (desde estómago hasta íleon) con ECN de la primera camada de ratones CD1 (A) y muestra de tracto GI con ECN de la segunda camada de CD1 (B).

A



B

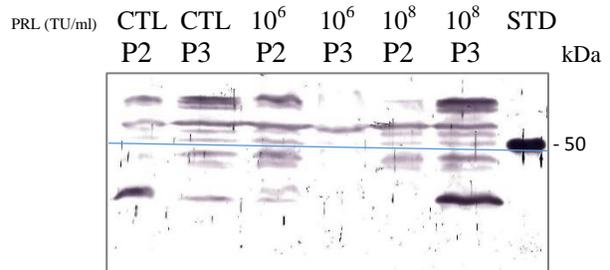


Figura 2. Blot de muestras de intestino tratadas a diferentes concentraciones (10^6 y 10^8 TU/ml) de virus de prolactina (A) en distintos días postnatales (P2 y P3) y un segundo blot para estandarización (B), con muestras de intestinos a las mismas concentraciones de prolactina, mediante un anticuerpo anti-tubulina. PRL: prolactina.

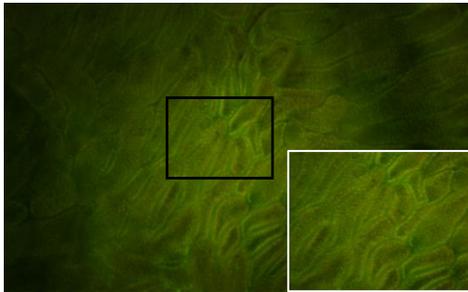
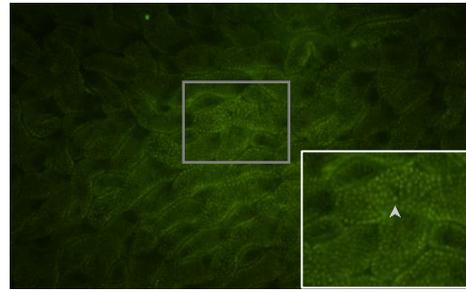
A**B**

Figura 3. Imágenes de microscopía de fluorescencia de especímenes de intestinos, una control tratada con PBS (A), donde el recuadro de la parte inferior derecha indica un aumento de la parte central de la imagen que señala las vellosidades intestinales, Y en la otra imagen se muestra un fragmento de intestino tratado con 106 TU/ml de virus GFP (green fluorescent protein) (B), en la esquina inferior derecha se observa un aumento de la parte central de la imagen que señala una microvellosidad intestinal con expresión de GFP detectable a microscopía de fluorescencia (punta de flecha).

CONCLUSIÓN.

El modelo de ECN modificado de Kyuwhan Jung et al. tuvo una efectividad del 100%, al menos, en la primera camada tratada con este modelo. Se conoce que la administración de LPS activa la respuesta inflamatoria ya esta molécula es reconocida por los PRRs (receptores de reconocimiento de patrones) de tipo TLR4 y se activa la casada de señalización que lleva a incrementar los niveles de factor activador de plaquetas y por lo tanto, agravar la respuesta inflamatoria misma de la anoxia-reoxigenación (8).

Se logró estandarizar el método de transducción de células intestinales tras la administración enteral de vectores lentivirales que codifican para GFP pero de aquellos que codifican para PRL. Este método es conveniente ya que es una herramienta de asegurar una generación y liberación continua de proteínas en la luz intestinal aunada a un riesgo minimizado de activación de respuesta T citotóxica-virus específica (9), con lo que se evita un daño en el tejido en estudio.

BIBLIOGRAFÍA.

Chariton Moschopoulos, Panagiotis Kratimenos, Ioannis Koutroulis, Bhairav V. Shah, Anja Mowes, and Vineet Bhandari, "The Neurodevelopmental Perspective of Surgical Necrotizing Enterocolitis: The Role of the Gut-Brain Axis," *Mediators of Inflammation*, vol. 2018, Article ID 7456857, 8 pages, 2018.

Hou, Y., Lu, X., & Zhang, Y. (2018). "IRAK Inhibitor Protects the Intestinal Tract of Necrotizing Enterocolitis by Inhibiting the Toll-Like Receptor (TLR) Inflammatory Signaling Pathway in Rats." *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 24, 3366–3373.

Josef Neu, M.D., and W. Allan Walker, M.D. (2011). "Necrotizing Enterocolitis." *N Engl J Med* 2011;364:255-64.

Katherine E. Gregory, Christine E. DeForge, Kristan M. Natale, Michele Phillips, Linda J. Van Marter. "Necrotizing Enterocolitis in the Premature Infant. Neonatal Nursing Assessment, Disease Pathogenesis, and Clinical Presentation." *Advances in Neonatal Care*. Vol. 11, No. 3, pp. 155-164

Hodzic Z, Bolock AM and Good M (2017) The Role of Mucosal Immunity in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Front. Pediatr.* 5:40.

Ledesma-Colunga, M. G., Adán, N., Ortiz, G., Solís-Gutiérrez, M., López-Barrera, F., Martínez de la Escalera, G., & Clapp, C. (2017). Prolactin blocks the expression of receptor activator of nuclear factor κ B ligand and reduces osteoclastogenesis and bone loss in murine inflammatory arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, pp. 19, 93.

Kyuwhan Jung, Jeong-Hyun Kim, Hyun Sub Cheong, Eun Shin, Seong-Ho Kim, Ji-Yeon Hwang, Eunyoung Lee, Mi-Ok Yoon, Seong-Hee Kim, Cherry Ann Sio, Hyoung Doo Shin, Sung-Eun Jung. (2015) "Gene expression profile of necrotizing enterocolitis model in neonatal mice." *International Journal of Surgery*, 23, pp. 28-34.

Scott M. Tanner, Taylor F. Berryhill, James L. Ellenburg, Tamas Jilling, Dava S. Cleveland, Robin G. Lorenz, Colin A. Martin. (2015). "Pathogenesis of necrotizing Enterocolitis Modeling the Innate Immune Response." *The American Journal of Pathology*. Vol. 185, No. 1

Van Vollenstee, F. A., Jackson, C., Hoffmann, D., Potgieter, M., Durandt, C., & Pepper, M. S. (2016). Human adipose derived mesenchymal stromal cells transduced with GFP lentiviral vectors: assessment of immunophenotype and differentiation capacity in vitro. *Cytotechnology*, 68(5), pp. 2049–2060.

PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA FORMACIÓN DE LA CURVATURA DE LOS BRAZOS DE *Myrtillocactus geometrizans* UNA CACTÁCEA ARBORESCENTE

Suárez Rubio, P.¹; Escoto Rodríguez, M.²

RESUMEN

Algunas cactáceas arborescentes curvan sus brazos del punto de ramificación para dirigir el crecimiento en forma vertical. No se ha descrito un mecanismo que explique esta curvatura. En el presente documento se estudió a la especie *Myrtillocactus geometrizans* tomando 10 individuos de un Jardín Botánico ubicado en San Luis Potosí. Se tomaron distintos datos para comparar entre los lados izquierdo/derecho y externo/interno el índice y densidad estomática, el número de estomas, distancia entre espinas y el ancho y largo de los estomas. Los resultados mostraron que hay diferencias en la densidad estomática y las distancia entre espinas entre los lados interno y externo mientras que no lo hay entre el lado derecho e izquierdo. Estos resultados sugieren que las diferencias en crecimiento celular entre el lado interno y externo del brazo causan la curvatura.

ABSTRACT

Some arborescent columnar cacti curve their branches from the insertion point in order to get the stem growth upwards. There has not been a proposed mechanism that explains how this curve is made. In the present document we studied 10 individuals of *Myrtillocactus geometrizans* from a Botanical Garden, located in San Luis Potosí. Different data were taken to compare between the left and right sides and external and internal sides of a curved branch: stomatal density and index, distance between spines and the width and length of the stomata. The results showed that there were differences in stomatal density and distance between spines between the internal and external sides whereas there were no differences between right and left sides. These results suggest that a differential cell growth between the internal and external side of the branch causes the curve.

INTRODUCCIÓN.

Algunas cactáceas columnares y globosas inclinan su tallo principal hacia áreas de mayor radiación lumínica (Nobel 1981; Ehleringer and House 1984), México (Zavala Hurtado et al 1998; Palomino, 2014; Herce et al 2014), Argentina (Mendez 2015) y Chile (Nobel 1981). Se ha sugerido que un crecimiento celular asimétrico podría causar esa inclinación en los tallos (Macdougal and Spalding 1910, Vázquez Sánchez et al 2007), esto es, que las células de un lado del tallo crecen más que las células del lado opuesto lo cual ocasiona una curvatura en el tallo. Esta diferencia en crecimiento causa a su vez una serie de diferencias en las características morfológicas y anatómicas de esos lados opuestos.

Las cactáceas columnares ramificadas tienen curvaturas en la parte inferior de los brazos que hacen cambiar una dirección más horizontal a una más vertical. Es probable que el crecimiento celular asimétrico también sea responsable de esta curvatura en los brazos de las cactáceas ramificadas. Si este es el caso se tendrían diferencias morfológicas y anatómicas entre el lado cóncavo y convexo del tallo. Por ejemplo, en la cantidad de estomas que se pueden encontrar en una determinada área de una muestra. Hasta lo que conocemos, no hay algún estudio sobre este tema en los brazos de cactáceas ramificadas.

Myrtillocactus geometrizans se reconoce por tener plantas arborescentes de 2 a 4 m de altura, con un tronco corto, bien definido; ramas verde azuladas cuando jóvenes, de 5 a 6 costillas con 2 a 3 cm de alto y margen redondeado, aréolas orbiculares a obovadas con 4 a 5 espinas radiales y, a veces, con una espina central aplanada lateralmente, rígida, porreta y gris; flores de 3 cm de largo y 3.5 cm de ancho, de color verde amarillento; frutos pequeños, de 1 a 2 cm de largo y menos de 2 cm de ancho, comúnmente globosos, de color púrpuro, desnudos; semillas pequeñas, de 1 a 1.2 mm de longitud, de color negro opaco y rugosas, la testa con células convexas y con pocas estrías gruesas (Hernández et al 2007).

El objetivo de este trabajo es comparar diferentes parámetros del lado convexo y cóncavo de los brazos de *Myrtillocactus geometrizans* que es una cactácea arborescente (Hernández et al 2007).

METODOLOGÍA

Las muestras fueron tomadas en el parque Tangamanga dentro del Jardín Botánico en el estado San Luis Potosí. Se tomaron muestras de estomas de los lados derecho, izquierdo, interior y exterior del brazo (fig 1) de la especie *Myrtillocactus geometrizans*, de 10 individuos diferentes con el procedimiento siguiente: en el brazo del cactus se pintaba un rectángulo de 1 cm de ancho por largo aproximadamente, con barniz transparente, se dejaba secar durante algunos minutos y después se colocaba una cinta adhesiva sobre el barniz para colocarla en un portaobjetos. Las muestras fueron observadas en un microscopio óptico con cámara fotográfica (Zeiss) con los objetivos de 40x y 10x (figs 2 y 3). Se contaron el número de estomas en el campo 10x y 40x y el número de células epidérmicas en el campo 40x. Además, se midió el ancho y largo promedio de células epidérmicas con ayuda del software ImageJ.

El índice estomático se calculó con la siguiente fórmula:

$IE = [NE / (NE + NCE)] \times 10$ donde NE = número de estomas, y NCE = número de células epidérmicas.

Para comparar por pares el lado interno con el externo y el lado derecho con el izquierdo en un mismo individuo se utilizó la prueba de t-Student pareada de dos colas con $\alpha = 0.05$.

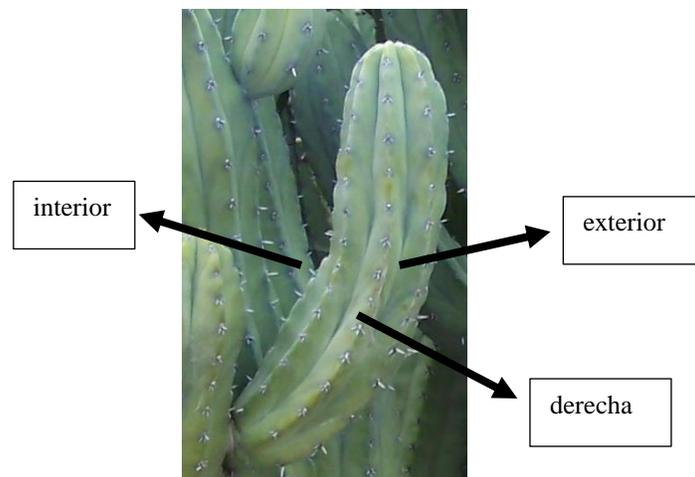


Figura 1. Brazo de la especie *Myrtillocactus geometrizans* señalando los lados en donde se contabilizaron los estomas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron diferencias significativas en la densidad estomática ($p = 0.0076$) entre los lados interno y externo pero no en los lados izquierdo y derecho ($p < 0.54$). La densidad estomática se relaciona con el tamaño de las células epidérmicas, es decir si crecen más esas células la densidad estomática disminuye. Esto es similar a lo encontrado por Sánchez Méndez y Escoto Rodríguez (2017) quienes estudiaron la inclinación del tallo de *Echinocactus platyacanthus*.

También se encontraron diferencias entre la distancia de las espinas entre los lados interno y externo ($p < 0.001$) pero no entre los lados izquierdo y derecho ($p = 0.16$). Esto también sugiere mayor crecimiento de células en el lado largo en comparación con el lado corto. Sánchez Méndez y Escoto Rodríguez (2017) también encontraron diferencias en las distancias entre areolas entre el lado corto y largo en una

cactácea globosa mientras que Vázquez Sánchez et al 2007 encontraron similares resultados en una cactácea columnar.

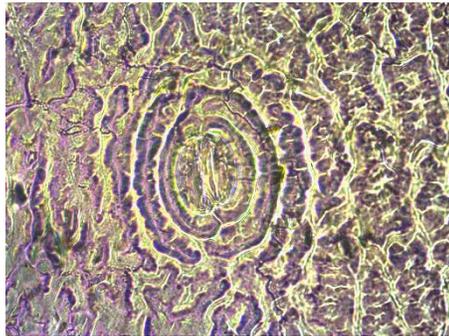


Figura 2. Estoma de *Myrtillocactus geometrizans* vista en el microscopio 40x

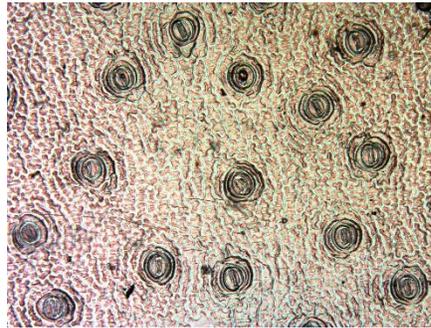


Figura 3. Estomas de *Myrtillocactus geometrizans* vista en el microscopio 10x

CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que el crecimiento celular diferenciado entre el lado interno y el externo de los brazos de *Myrtillocactus geometrizans* se relacionan con la formación de la curvatura del brazo. Células más largas en el lado externo ocasionarían mayor distancia entre espinas y estomas lo cual coincide con los resultados encontrados en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

CANO-SANTANA, Z., CORDERO, C. AND EZCURRA, E. (1992). Termorregulación y eficiencia de intercepción de luz en *Opuntia pilifera* Weber (Cactaceae). *Acta Botanica Mexicana*, (19), p.63.

EHLERINGER, J., AND HOUSE, D. (1984). Orientation and slope preference in barrel cactus (*Ferocactus acanthodes*) at its northern distribution limit. *The Great Basin Naturalist*, 133-139.

HERCE, M. F., MARTORELL, C., ALONSO-FERNANDEZ, C., BOULLOSA, L. F. V. V., AND MEAVE, J. A. (2014). Stem tilting in the inter-tropical cactus *Echinocactus platyacanthus*: an adaptive solution to the trade-off between radiation acquisition and temperature control. *Plant Biology*, 16(3), 571-577.

HERNÁNDEZ, M., & TERRAZAS, T., & DELGADO ALVARADO, A., & LUNA CAVAZOS, M. (2007). Los estomas de *myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex Pfeiff.) Console (Cactaceae): variación en su área de distribución. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30 (3), 235-240.

MACDOUGAL, D. T., AND SPALDING, E. S. (1910). *The water-balance of succulent plants* (No. 141). Carnegie Institution of Washington.

MÉNDEZ, E. (2015) Inclinación de *Denmoza rhodacantha* (cactaceae) en el w árido de Mendoza, Argentina. Efecto nurse. *Boletín de Estudios Geográficos*, 104, 15-23.

NOBEL, P. S. (1981). Influences of photosynthetically active radiation on cladode orientation, stem tilting, and height of cacti. *Ecology*, 62(4), 982-990.

PALOMINO. A. G. (2014). Caracterización de relaciones espaciales y aclimataciones morfológicas de *Ferocactus viridescens* como base técnica para programas de rescate y reubicación de individuos. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad de Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, México.

SÁNCHEZ-MÉNDEZ, M.K.; ESCOTO-RODRÍGUEZ, M. (2017). Mecanismo de inclinación del tallo en la biznaga burra (*Echinocactus platyacanthus*). Memorias del Verano de la Ciencia de la UASLP Edición 2017; Área de Ciencias Agropecuarias.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS NATIVOS DE SUELOS TRATADOS CON AGROQUÍMICOS EN DIFERENTES SITIOS DE LA ZONA MEDIA

Paulina Lira Rangel¹ y Juan Fernando Cárdenas González²

RESUMEN

Se realizó un muestreo de suelos de cultivo en la zona media de San Luis potosí, con el motivo de aislar e identificar los microorganismos endémicos de la zona media, a diferentes profundidades, posteriormente se suspendieron las muestras de suelo en agua y se sembró en medio enriquecido a temperatura ambiente durante 7-12 días. De los cuales se identificaron diferentes hongos: *A. Níger*, *A. Flavus*, *Mocur* sp. *Cladosporium* sp. y *Rhizopus* sp. Los cuales son de gran interés por su capacidad de desarrollarse en suelos tratados con agroquímicos.

Palabras Clave: Contaminación ambiental, Agroquímicos, Microorganismos, Biorremediación.

ABSTRACT

We take samples of soil in the middle area from San Luis Potosi; the main was to identify the growth of microorganisms on contaminated soil, to different depths, after we adjourned the samples on water and seeded in PAD medium at room temperature per five days. Were identified a different fungi: *A. Níger*, *A. Flavus*, *Mocur* sp., *Cladosporium* sp. y *Rhizopus* sp. Which are important because of their great growth skills on contaminated soil with Agrochemicals.

Key words: Environmental contamination, Agrochemicals, Microorganisms, Bioremediation.

INTRODUCCIÓN

Debido a la creciente demanda de alimentos ocasionado por el crecimiento demográfico, el hombre ha incurrido en el uso extensivo e irracional de productos agroquímicos tales como: pesticidas, herbicidas y plaguicidas para obtener un mayor rendimiento en la cosecha (Albert, 1991). El uso irresponsable de productos agroquímicos ha provocado la contaminación de suelos y mantos acuíferos, lo que deja a la población en una exposición directa a diversos residuos peligrosos. Dichos residuos pueden ocasionar diversas enfermedades graves como: afectaciones respiratorias, enfermedades en la piel, mutaciones, malformaciones, cáncer, etc. También afecta el rendimiento en los cultivos (Bejarano et al. 2017) y señala que los compuestos tóxicos más utilizados son los plaguicidas, debido al contenido de sales y micronutrientes; dichos compuestos afectan la funciones de las plantas e incluso provocan la pérdida del cultivo, ya sea porque el contaminante es asimilado por las raíces de la planta, ya que no tiene un sistema de reconocimiento específico, y comparten ciertas propiedades químicas por lo que no es capaz de distinguir los nutrientes que necesita o por el alto contenido del compuesto en el suelo. Existe relación directa entre ciertas enfermedades y la contaminación y como ejemplo, encontramos el caso del accidente de Bhopal, India, en 1984 donde se describen múltiples enfermedades y la alta contaminación del agua y el suelo que sufrió el pueblo a causa de la liberación de grandes cantidades de isocianato de metilo, un pesticida comercial que se fabricaba en la región (Pérez et al. 2013).

Con base en esto, es necesaria la aplicación de medidas prácticas, efectivas y de bajo costo para controlar adecuadamente estos contaminantes. Una opción novedosa es la implementación de microorganismos para la degradación de compuestos que se forman de manera secundaria como los metales pesados, los cuales pueden captar sus electrones mediante su biomasa viva y/o muerta, lo que provoca la reducción química del compuesto, de manera

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Avenida de las Campanas # 7, C.P: 76006, Querétaro, Querétaro, pau_63@live.com.mx

²Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Media, Carretera Rioverde-San Ciro de Acosta Km 4, Ejido Puente del Carmen, C.P: 79617, Rioverde, San Luis Potosí, juan.cardenas@uaslp.mx

que inactiva o transforma el compuesto a una forma menos toxica. Como se observó en estudios previos, donde se aislaron distintas especies de hongos de suelos contaminados con pesticidas de Argelia en las que destacaron 53 especies de hongos con capacidad de degradación del herbicida metribuzin en medio líquido. Se logró demostrar que los hongos podían eliminar el 50% del compuesto después de 5 días. Dentro de esas especies se encontraban: *Aspergillus Fumigatus*, *A. Níger*, *A terreus*, *Absidia corymberifera* y *Rhizopus microsporus* var *microsporis*. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar diferentes géneros y especies de hongos nativos de suelos tratados con agroquímicos y los cuales tienen la capacidad de reducir los compuestos tóxicos.

MÉTODOS Y MATERIALES

Aislamiento e identificación de los microorganismos

Se tomaron entre 30 y 40 g de suelo a diferentes profundidades (5,10 y 15 cm). Se pesaron 5g de cada muestra, posteriormente se diluyó en agua y se tomaron 100 µL de la dilución para sembrar en medio PDA (Agar Papa Dextrosa). La muestra se incubó a temperatura ambiente durante 7 días en una incubadora marca FELISA. De los microorganismos que crecieron en ese periodo de tiempo, se aislaron los hongos filamentosos y se incubaron a temperatura ambiente durante 7 días. Este procedimiento se repite para cada muestra de suelo. Se identificaron los hongos primariamente por las características macromorfológicas y después por las características micromorfológicas con ayuda de la técnica de cinta adhesiva, se analizaron en el microscopio y posteriormente se describieron e identificaron su género y especie.

Determinación de la concentración de elementos químicos

Las muestras de suelo se tamizaron con tamaño de malla de 100 µm, fueron analizados 20g de cada muestra y analizados mediante la técnica de ICP-OES (Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente) en el IPICYT.

RESULTADOS

Aislamiento e identificación de microorganismos

De las muestras de tierra y agua tomadas, fueron aisladas e identificadas 5 cepas de hongos: *A. Níger*, *A. Flavus*, *Mucor* sp. *Cladosporium* sp. y *Rhizopus* sp (Figura 1), resultados que son similares a los realizados por Cárdenas et al. 2010 en su estudio realizado en aguas de diferentes ríos de la huasteca potosina, donde fueron aislados los mismos géneros de hongos, los cuales son de gran interés por su capacidad de desarrollarse en suelos y aguas contaminadas con agroquímicos y metales pesados.



Resultados

A. Niger
Citado en la literatura



A. Niger
Obtenido



El cultivo presenta inicialmente una colonia blanca que puede volverse amarilla, con colonias negras en la superficie.

Microscópicamente las hifas son tabicada y los conidióforos son largos y lisos.

Vesícula esférica
Conidias negras y rugosas.

Resultados

Cladosporium citado en la literatura



Cladosporium Obtenido



Las colonias son aterciopeladas y de color oscuro.

Microscópicamente, tiene hifas marrón oscuro que se ramifican libremente.

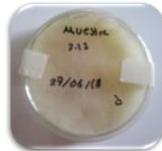
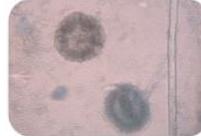
Las hifas sostienen largas cadenas de conidios unicelulares ovales y elongados.

Resultados

Mocur spp.
Citado en la literatura



Mocur spp.
Obtenido



El cultivo presenta un color gris o gris amarillenta.

Microscópicamente se observa ausencia de estolones y rizoides bien diferenciados.

Tiene una columnela ovoide, lisa u ornamentada con espiculas. Órganos suspendidos sin apéndices circidados.



Figura 1.- Microorganismos aislados de los diferentes suelos de cultivo en distintos sitios de la zona media de San Luis Potosí. Microscopia óptica 40x, técnica de cinta adhesiva con azul algodón lactofenol.

Análisis de la concentración de diferentes elementos en suelo y agua

En los análisis de suelo que se realizaron mediante la técnica de ICP-OES, se encontraron algunos elementos en grandes cantidades como: Aluminio, Calcio, Cobre, Hierro, Magnesio y Manganeseo (Figura 2), lo que puede ocasionar toxicidad en las plantas, bajo desarrollo en las raíces, deficiencias de otros nutrientes, entre otros factores que disminuyen la calidad y sanidad del producto. Por otro lado se encontró la presencia de algunos metales tóxicos como Arsénico, Plomo y Vanadio en pequeñas concentraciones (Figura 3), mas sin embargo estos se encuentran por debajo de las normas de calidad del suelo (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-20004), por lo que no deberían presentar problema alguno en la salud de los trabajadores, o consumidores, lo que formula una nueva hipótesis acerca del trabajo que realizan los microorganismos y plantas endógenas como metal-reductores, pues al momento de formar una simbiosis con la raíz de la planta, se podría decir que en cada barchecho y cosecha se biotransforman estos metales.

ANALITO	UNIDADES	ID DE LA MUESTRA	
		Muestra 1	Muestra 3
Ag	mg/Kg	0.00	0.00
Al	mg/Kg	3605.38	3429.41
As	mg/Kg	5.32	4.94
B	mg/Kg	14.17	14.13
Ba	mg/Kg	47.46	40.51
Be	mg/Kg	0.00	0.00
Ca	mg/Kg	3085.23	2907.71
Cd	mg/Kg	0.00	0.00
Co	mg/Kg	0.00	0.00
Cr	mg/Kg	9.07	14.93
Cu	mg/Kg	87.69	13.76
Fe	mg/Kg	5131.94	5258.24
K	mg/Kg	447.27	612.14
Li	mg/Kg	4.43	4.17
Mg	mg/Kg	1086.60	1121.02
Mn	mg/Kg	256.07	218.04
Mo	mg/Kg	0.15	0.12

ANALITO	UNIDADES	ID DE LA MUESTRA	
		Muestra 1	Muestra 3
Na	mg/Kg	141.49	149.32
Ni	mg/Kg	4.80	4.01
P	mg/Kg	422.25	610.02
Pb	mg/Kg	18.24	10.96
Sb	mg/Kg	0.00	0.00
Se	mg/Kg	0.00	0.00
Si	mg/Kg	116.41	105.98
Sn	mg/Kg	2.31	0.00
Sr	mg/Kg	60.22	58.57
Tl	mg/Kg	0.00	0.00
V	mg/Kg	6.09	6.28
Zn	mg/Kg	20.46	15.57

Figura 2.- Determinación de elementos en suelo de cultivo mediante la técnica de Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente.

ANALITO	UNIDADES	ID DE LA MUESTRA		
		ML1 5/07/18	ML2 5/JUL/18	CML1 6/JUL/18
Ag	mg/L	0.00	0.00	0.00
Al	mg/L	0.09	0.07	0.08
As	mg/L	0.00	0.00	0.00
B	mg/L	0.18	0.12	0.08
Ba	mg/L	0.00	0.00	0.00
Be	mg/L	0.00	0.00	0.00
Ca	mg/L	217.94	213.92	216.41
Cd	mg/L	0.00	0.00	0.00
Co	mg/L	0.00	0.00	0.00
Cr	mg/L	0.00	0.00	0.00
Cu	mg/L	0.00	0.00	0.00
Fe	mg/L	0.00	0.00	0.00
K	mg/L	4.45	4.46	4.70
Li	mg/L	0.21	0.21	0.21
Mg	mg/L	63.52	62.94	63.77
Mn	mg/L	0.00	0.00	0.00
Mo	mg/L	0.00	0.00	0.00

ANALITO	UNIDADES	ID DE LA MUESTRA		
		ML1 5/07/18	ML2 5/JUL/18	CML1 6/JUL/18
Na	mg/L	15.66	15.48	15.73
Ni	mg/L	0.00	0.00	0.00
P	mg/L	0.00	0.00	0.00
Pb	mg/L	0.00	0.00	0.00
Sb	mg/L	0.00	0.00	0.00
Se	mg/L	0.00	0.00	0.00
Si	mg/L	16.44	16.95	16.94
Sn	mg/L	0.00	0.00	0.00
Sr	mg/L	4.58	4.46	4.53
Tl	mg/L	0.00	0.00	0.00
V	mg/L	0.00	0.00	0.00
Zn	mg/L	0.00	0.00	0.00

Figura 3.- Determinación de elementos en agua de cultivo mediante la técnica de Espectrometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente.

CONCLUSIONES

Hasta el momento solo fue posible muestrear muy pocas tierras de cultivo y mantos acuíferos, donde fueron encontrados numerosos elementos minerales que proporcionan la dureza al agua; de igual manera, en tierra de cultivo fueron encontradas altas concentraciones de minerales y también fueron encontrados metales pesados, mas sin embargo las concentraciones de estos no sobrepasan los límites máximos permisibles propuestas por las normas oficiales mexicanas. Los microorganismos encontrados podrán servir por su capacidad de vivir en condiciones de estrés ambiental.

BIBLIOGRAFIA

ALBERT, J.L. (1991). "Food for the future" en Food, nutrition and agriculture. Consultada en <http://www.fao.org/docrep/U3550t/u3550t00.htm#Contents.consulta>.

BEJARANO GONZÁLEZ, F. (2017). "Los plaguicidas altamente peligrosos: Nuevo tema normativo internacional y su perfil nacional en México". En: Los plaguicidas altamente peligrosos en México. F. Bejarano González Ed. 1a. ed. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM), Cap. 1, [pp. 13-138].

PÉREZ M.A., NAVARRO H., MIRANDA E. (2013). "Residuos de plaguicidas en hortalizas: problemática y riesgo en México" en Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 29, [pp. 45-64].

CÁRDENAS GONZÁLEZ J. F., MOCTEZUMA ZARATE M.G., ACOSTA RODRÍGUEZ I. (2010). "Aislamiento de hongos resistentes a metales pesados a partir de agua de diferentes ríos de la huasteca potosina" en Tlatemoani, 37(6), [pp. 1-6].

ASTROQUÍMICA: LA QUÍMICA DEL ESPACIO

¹Ramiro Girón García y ²Miguel Ángel Trinidad Hernández

RESUMEN

El propósito de este trabajo es estudiar la cinética de formación y de destrucción de algunas moléculas presentes en el medio interestelar. La importancia de estudiar estas moléculas se ha intensificado en estos años y gracias a las nuevas herramientas como códigos de computadora se ha facilitado enormemente el trabajo. En el trabajo se analizó la región formadora de estrellas masivas IRAS 23139-5939, se obtuvieron los datos necesarios para la modelación y posteriormente se calcularon las tasas de formación y destrucción de moléculas ya reportadas en la región mencionada, todo esto se realizó con ayuda del código de computadora Nahoon_kida.uva.2014.

Palabras clave: medio interestelar, nubes moleculares, moléculas prebióticas

ABSTRACT

The intention of this work is to study the kinetic of formation and destruction of some present molecules in the interstellar medium. The importance of studying these molecules has been intensified in these years and thanks to the new tools like codes of computer the work has been facilitated enormously. In the work there was analyzed the forming region of massive stars IRAS 23139-5939, the information necessary for the modeling was obtained and later there were calculated the rates of formation and destruction of molecules already brought in the mentioned region, all that was realized by help of the code of computer Nahoon_kida.uva.2014.

Key words: interstellar meidum, molecular clouds, prebiotic molecules

INTRODUCCIÓN

La química más compleja observada en el medio interestelar se ha reportado en los objetos llamados “núcleos calientes”, regiones formadoras de estrellas donde la química es de alta importancia, ya que, debido a la presencia o ausencia de ciertas moléculas, se pueden determinar parámetros de la nube interestelar, como temperatura o densidad, y entender mejor el proceso de formación de una estrella.¹

Debido a la gran diferencia de condiciones presentes en el medio interestelar respecto a la tierra, como densidad, temperatura, presión y escalas de tiempo, la simulación por computadora se ha vuelto una gran herramienta para poder estudiar la riqueza molecular de estas regiones.¹

El propósito de este proyecto fue determinar la cinética de formación y de destrucción, así como los posibles productos, de moléculas presentes en una región H II ubicada en las coordenadas IRAS 23139-5939.

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerros de las Campanas S/N, Colonia las Campanas, C.P: 76010 Querétaro, Qro. ramirogirongarcia@gmail.com

²Universidad de Guanajuato, Departamento de Astronomía, Callejón de Jalisco S/N, Colonia Valenciana, C.P: 36023 Guanajuato, Gto. trinidad@astro.ugto.mx

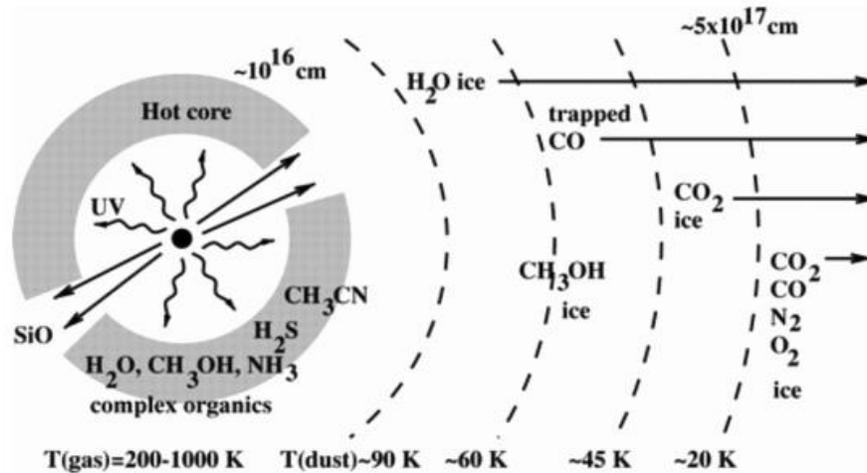


Figura 1. Esquema de una región de núcleo caliente.¹

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Las abundancias en el medio interestelar son usualmente descritas por un sistema de ecuaciones cinéticas. Por ejemplo, para la abundancia del ion HCO^+ formado por la reacción:



Con un grado de reacción k_1 (en $\text{n/cm}^3\text{s}$) y destruido este compuesto principalmente por la reacción:



Con un grado de reacción k_2 , la ecuación cinética que describiría la abundancia del ion sería la siguiente:

$$\frac{dn(\text{HCO}^+)}{dt} = k_1 n(\text{H}_3^+) n(\text{CO}) - k_2 n(\text{HCO}^+) n(e^-) \quad (3)$$

Ecuaciones similares son descritas para todas las especies, para resolver la abundancia de cada una de las especies presentes en el medio, necesitamos el mismo número de ecuaciones, las cuales tendrían que ser resueltas una a una, o ser resueltas con códigos de computadora.

El código usado en este proyecto “kida.uva.2014” maneja diferentes procesos en los cálculos de las abundancias. Como:

Reacciones en fase gaseosa.

La mayoría de las reacciones en fase gaseosa pueden ser descritas con la ecuación modificada de Arrhenius.

$$k = \alpha \left(\frac{T}{300}\right)^\beta \exp\left(-\frac{\gamma}{T}\right) \quad (4)$$

Donde T es la temperatura del gas, α , β y γ son constantes, usualmente γ corresponde a la energía de barrera de la reacción.

Reacciones de ionización por rayos cósmicos.

Los rayos cósmicos pueden ionizar átomos o partículas, ya sea directamente o indirectamente. La tasa de ionización se describe con la ecuación:

$$k = \alpha \zeta \quad (5)$$

El valor de ζ tiene el valor de 10^{-17} s^{-1} que indica la tasa de ionización del medio interestelar.

Reacciones de foto-ionización y foto-disociación.

Los rayos UV provenientes de las estrellas pueden ionizar o disociar moléculas o átomos. La tasa de ionización o disociación queda descrita con la ecuación:

$$k = \alpha \exp(-\gamma A_V) \quad (6)$$

Donde A_V es la extinción visual del medio.

Reacciones de sistemas ion-polar.

Son las reacciones que se dan entre especies neutras y iones presentes en el medio. Actualmente se cree que son las reacciones más favorecidas debido a su baja energía de activación, las reacciones quedan descritas con las fórmulas.

RESULTADOS

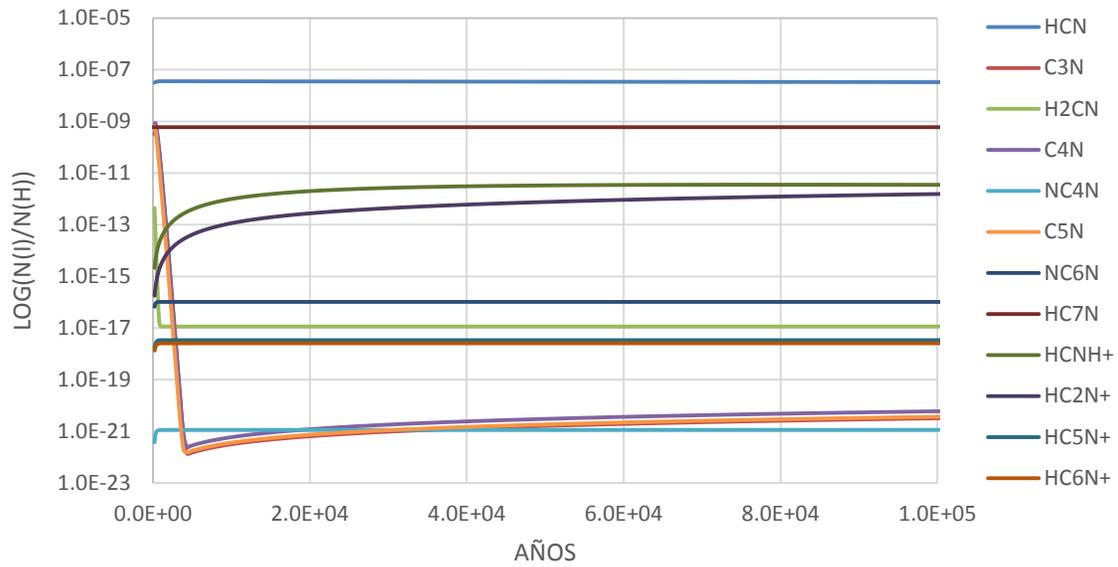


Figura 3. Abundancia de cianopolinas VS Tiempo

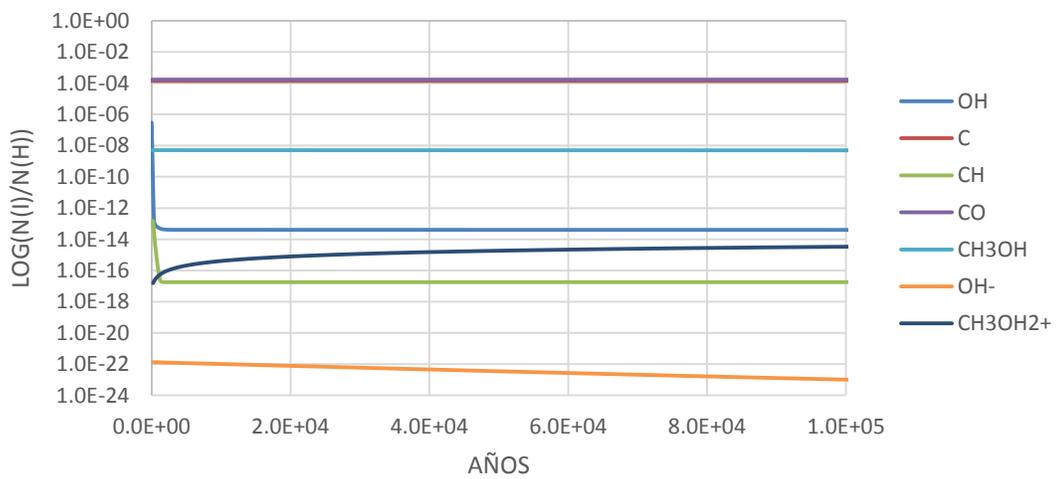


Figura 4. Abundancia de CO VS Tiempo

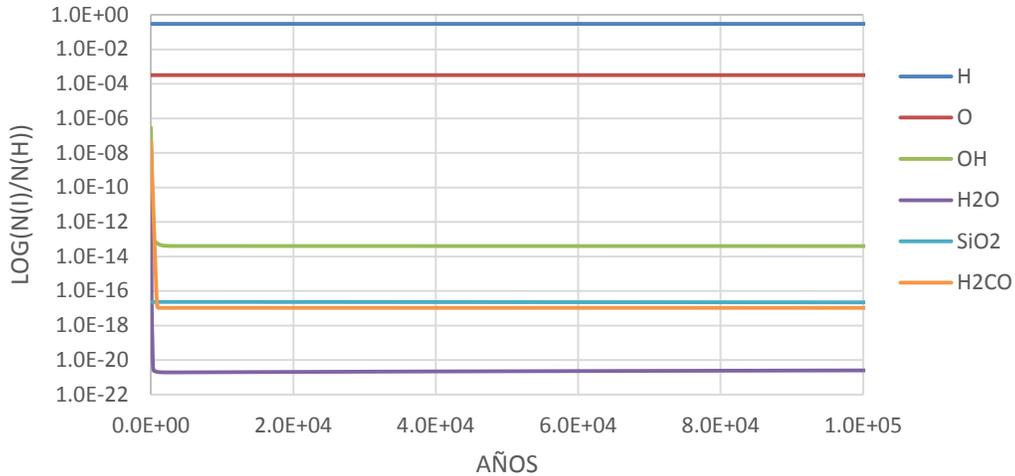


Figura 5. Abundancia de H₂O y OH VS Tiempo

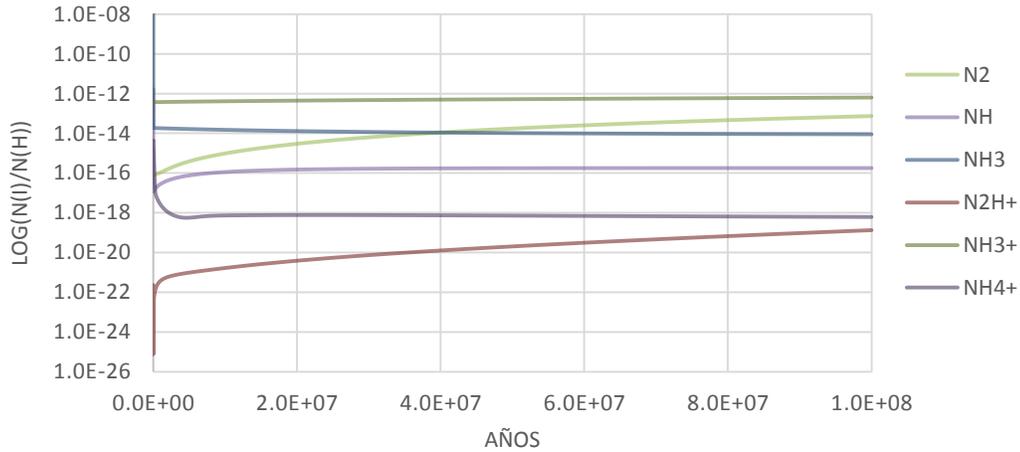


Figura 6. Abundancia de amoníaco VS Tiempo

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En los resultados se puede observar un equilibrio en las abundancias de elementos, esto debido a que no hay diferencias en la formación o transformación de estos, ya que la escala de tiempo es relativamente baja, los cambios solo son presentes durante los primeros años, cuando la actividad en el núcleo caliente es mayor, hasta que alcanza el equilibrio. En el caso de las cianopolinas se observa una tasa de disociación alta en las moléculas con mayor cantidad de carbonos, mientras que en las cianopolinas de 3 C e intermedios se observa un aumento en su abundancia, esto se debe a la disociación de las moléculas más complejas a las más simples por acción de la radiación. En el caso de los compuestos de Si, H y O, se observa disminución de su abundancia en los primeros años, debido a que son predecesores para moléculas más complejas, pero con el transcurso del tiempo alcanzan el equilibrio. Los compuestos más comunes como el CO, NH₃, OH, etc. Mantienen su abundancia con el transcurso del tiempo, ya que la transformación de estas moléculas se da en una proporción bastante baja, con respecto a su abundancia total.

CONCLUSIONES

Las abundancias de los elementos se mantienen en equilibrio debido a su poco cambio con respecto a su abundancia total.

Las cianopolinas más estables son aquellas que tienen una menor cantidad de carbonos.

Las moléculas simples se observan en decremento y luego en equilibrio debido a su uso para formar nuevas moléculas más complejas.

Se necesita más investigación acerca de la región IRAS 23139-5939 para conocer más a profundidad su química.

BIBLIOGRAFÍA

Garrod, R. T., & Weaver, S. L. (2013). Simulations of Hot-Core Chemistry. *Chemical Reviews*, 113(12), 8939-8960. doi:10.1021/cr400147g

Trinidad, M. A., Curiel, S., Torrelles, J. M., Rodríguez, L. F., Migenes, V., & Patel, N. (2006). Interferometric Observations toward the High-Mass Young Stellar Object IRAS 23139 5939: Radio Continuum and Water Maser Emission. *The Astronomical Journal*, 132(5), 1918-1922. doi:10.1086/507127

Rodríguez-Garza, C. B., Kurtz, S. E., Gómez-Ruiz, A. I., Hofner, P., Araya, E. D., & Kalenskii, S. V. (2017). A Catalog of 44 GHz Methanol Masers in Massive Star-forming Regions. IV. The High-mass Protostellar Object Sample. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, 233(1), 4. doi:10.3847/1538-4365/aa8f4e

Wu, Y. W., Xu, Y., Pandian, J. D., Yang, J., Henkel, C., Menten, K. M., & Zhang, S. B. (2010). AMMONIA AND CO OBSERVATIONS TOWARD LOW-LUMINOSITY 6.7 GHz METHANOL MASERS. *The Astrophysical Journal*, 720(1), 392-408. doi:10.1088/0004-637x/720/1/392

Araya, E., Hofner, P., Goss, W. M., Linz, H., Kurtz, S., & Olmi, L. (2007). A Search for Formaldehyde 6 cm Emission toward Young Stellar Objects. II. H₂CO and H₁₁₀ α Observations. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, 170(1), 152-174. doi:10.1086/513702

Vallance, C., & Ritchie, G. (2015). *Astrochemistry and Atmospheric Chemistry*. doi:10.1142/p1043

Mitchell, G. F., Kuntz, P. J., & Ginsburg, J. L. (1978). A steady-state calculation of molecule abundances in interstellar clouds. *The Astrophysical Journal Supplement Series*, 38, 39. doi:10.1086/190545

CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE MICORRIZAS ASOCIADAS A AGAVES DE GUANAJUATO

Raúl Morales Meléndez¹ y Juan Gualberto Colli Mull²

RESUMEN

México es considerado el centro de origen del Agave, con más 163 especies conocidas para el territorio mexicano, en su mayoría son endémicas. El objetivo de esta investigación es conocer las micorrizas asociadas a agaves pertenecientes al estado de Guanajuato. La colecta se realizó en la reserva de la biosfera de la sierra Gorda de Guanajuato, Perteneciente al municipio de Xichú, Gto. En el área de laboratorio se realizó diferentes métodos para la caracterización e identificación de los diferentes morfotipos de hongos asociados a las raíces de los agaves, utilizando las técnicas de separación de esporas en el suelo con el gradiente de sacarosa al 70% y el procedimiento de clareo y tinción de raíces.

ABSTRACT

Mexico is considered the center of origin of the Agave, with more than 163 known species for the Mexican territory, most of them are endemic. The objective of this research is to know the mycorrhizae associated with agaves belonging to the state of Guanajuato. The collection was made in the biosphere reserve of the Sierra Gorda of Guanajuato, belonging to the municipality of Xichú, Gto. In the laboratory area, different methods for the characterization and identification of the different fungal morphotypes associated to the roots of the agaves were carried out, using the spore separation techniques in the soil with the 70% sucrose gradient and the procedure of clearing and staining of roots.

Palabras Clave: micorrizas, morfotipos, esporas.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Guanajuato, por su posición geográfica forma parte de tres provincias fisiográficas y geológicas de México: en el norte y noroeste la Mesa del Centro, en el extremo noreste una pequeña porción de la Sierra Madre Oriental y toda la parte sur el Eje Neovolcánico, Estas condiciones provocan una alta diversidad biológica en el estado, su climatología y edafología permite efecto positivo en el desarrollo de este tipo de plantas y la asociación simbiótica microbial con las raíces de los maguey. (Zamudio, 2014).

La subfamilia Agavoideae de la familia Agavaceae incluye especies nativas de América su actual distribución va desde Estados Unidos hasta Bolivia pasando por las Antillas caribeñas. El género más diversificado de la subfamilia es *Agave*, incluye 204 especies. Un total de 163 especies de agave se encuentran en México de las cuales 123 son endémicas del territorio nacional. Los agaves son componentes muy importantes de las zonas áridas y semiáridas formando parte del paisaje que predomina en mayor cantidad en el territorio mexicano (Delgado *et al*, 2014).

Según García *et al*, (2017) los agaves es uno de los grupos más importantes de plantas desde el punto de vista cultural y económico, pues han sido aprovechados por el hombre americano durante miles de años, para la obtención de numerosos beneficios. Este género presenta un metabolismo tipo mac (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas) y posee otras adaptaciones fisiológicas y morfológicas, tales como: hojas suculentas, un sistema de raíces superficial, cutículas gruesas en la epidermis de la hoja y acumulación de ceras en la superficie; estas adaptaciones les ha permitido presentar una amplia dispersión en diferentes zonas geográficas con climas estresantes.

Carabias *et al*, (2009), mencionan que el mutualismo tiene lugar entre organismos de diferentes especies, los cuales se benefician mutuamente al interactuar. Por esta razón se trata de una interacción de tipo (+, +).

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Saltillo. Departamento de Botánica. Clzd. Antonio Narro # 1923 Col. Buenavista, C.P. 25315. Saltillo, Coah. CFRMM-@hotmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Departamento de biología. Carretera Irapuato-Silao km 12.5 Col. el Copal. C.P. 36821. Irapuato, Gto. jcolli@itesi.edu.mx

Muchos mutualismos son facultativos, es decir, los organismos participantes pueden vivir en ausencia uno del otro.

Sin embargo, otros mutualismos son obligados, lo que significa que los dos organismos necesitan por fuerza de la presencia del otro para subsistir.

Las micorrizas son un proceso ecológico –resultado de una historia evolutiva–caracterizado por una interacción en la que las hifas de al menos una especie de hongo y las raíces secundarias de una o más plantas conforman una estructura a través de la cual se realiza un intercambio de agua, nutrientes y reguladores del crecimiento”. De manera general, durante este proceso las hifas del hongo actúan como una extensión de la raíz, aumentando su superficie de exploración en el sustrato, lo que concede a la planta mayor oportunidad de absorber agua y minerales esenciales. Por otro lado, la planta proporciona al hongo carbohidratos (nutrientes) resultado de su actividad fotosintética, y un ambiente estable para las hifas (Trinidad *et al*, 2017, Andrade, 2010 y Schüller *et al*, 2001). Las micorrizas requieren un desarrollo planta (raíz)- hongo (micelio) sincronizado, pues las hifas fúngicas solo colonizan raíces jóvenes, excepto en orquídeas, en las que el hongo puede infectar células del tallo. La planta, en cualquier caso, es quien realmente controla la intensidad de la simbiosis, por el crecimiento de su raíz, pero también por la digestión de la interfase de intercambio, en las endomicorrizas, o por la formación de un singular tipo de raíz (secundaria y de crecimiento limitado), en el caso de las llamadas ectomicorrizas. La raíz constituye en realidad un nicho ecológico donde se desarrolla el hongo, que éste aprovecha (Honrubia, 2009 y Brundrett, 2002).

Con este trabajo de investigación se pretende identificar diferentes tipos de morfotipos de esporas asociadas a dos diferentes tipos de agaves en el estado de Guanajuato y la comprensión de su asociación simbiótica a los distintos tipos de agaves que existen en la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fase en campo. Se realizó una colecta de raíces en dos tipos de *Agave* sobre la carretera hacia Xichú en el municipio de Xichú perteneciente a la reserva de la biosfera de la sierra gorda sobre las coordenadas 21.312661. -100.237389 a 2,5 km de la comunidad llamada Romerillos, a 29 km de victoria, Gto, los *Agaves* encontrados fueron *Agave parryi*, y *Agave americana*.

Fase en el laboratorio. En el laboratorio de bioquímica y microbiología ubicado en el Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) se realizó una serie de técnicas para la extracción de esporas del suelo utilizando el gradiente de sacarosa (Sieverding 1991) de igual modo se empleó una técnica llamada clareo y tinción de raíces (Phillips y Hoyman, 1970).

Tinción de raíz (Phillips y Hoyman, 1970). 1). Lavar las raíces con agua destilada para eliminación de suelo adherido. 2). Cortar las raíces con ayuda de un bisturí estéril en una caja de Petri de vidrio en fragmentos de 1 cm, colocarlas en tubos de ensaye. 3). Añadir solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir las raíces, colocarlas en olla de presión durante 10 minutos a 121° por 15 libras de presión se repite tres veces 4). Decantar la solución de hidróxido de potasio (KOH), lavar las raíces. 5). Añadir ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N colocarlas en olla de presión durante 10 minutos a 121° por 15 libras de presión se repite tres veces. 6). Decantar el ácido clorhídrico (HCl), y sin enjuagar agregar el colorante azul de tripano al 0.05 % diluido en solución de lactoglicerol, colocarse en autoclave durante 1 minuto. 7). En caso de presentar las raíces demasiada tinción se coloca en solución de lactoglicerol para desteñir. 8). Las raíces clareadas y teñidas se colocan en un portaobjetos y utilizando agujas de disección se colocaron 12 segmentos de aproximadamente 1 cm de largo, paralelamente unos a otros. Sobre las raíces se adicionaron gotas de lactoglicerol, colocando posteriormente el cubreobjetos. 9). Para determinar el porcentaje de colonización se utiliza la escala: presencia de hifa, arbusculo, vesícula o esporas dentro del segmento = 1; ausencia de hifa arbusculo, vesícula o esporas en el segmento = 0. El porcentaje de colonización se calcula con la fórmula: $Y=(X/12) * 100$, donde X=número de segmentos de raíz colonizados.

Aislamiento de esporas (Sieverding, 1991). Las muestras de suelo se pasan por una serie de tamices de 2 mm., 1mm, 150 μ m y 45 μ m. 2). Del material obtenido en el tamiz de 150 μ m del paso anterior se pesan 100 g

[Escriba aquí]

el cual se suspende en 90 ml de agua destilada en un matraz y se coloca en el agitador por 30 minutos. 3). La suspensión obtenida se decanta en el tamiz de 150 μm el material retenido en el tamiz se vierte en un tubo de centrifuga de 50 ml, se le agrega agua destilada para recuperar la muestra tamizada con ayuda de una pipeta Pasteur o piseta y se llena a 25 ml y se agita en vortex durante unos segundos. 4). Se agrega desde el fondo del tubo hasta completar 50 ml solución de sacarosa pura al 60 % con una pipeta de vidrio. 5). Se centrifuga a 2000 rpm. Durante 1 minuto. 6). Se extrae la fase inferior (de sacarosa) del tubo decantar en el tamiz de 150 μm y 45 μm y se lava con agua destilada para eliminar el exceso de sacarosa. 7). Para la muestra del tamiz de 45 μm se sigue el mismo procedimiento. 8). El material retenido de los tamices de 150 μm y 45 μm se colocan en una caja Petri o portaobjetos para observar al microscopio óptico o estereoscopio.

Determinación de los mofortipos. Se pasa a buscar en las diferentes bases de datos que son ZUT, Micopedia y INVAM para la indentificación de las esporas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.El *Agave parryi*. Según expone González *et al* (2009) y Villareal (2013), presenta una Inflorescencia paniculada (con ramas evidentes) o en racimo (con ramas cortas no evidentes); hojas con dientes que sobresalen sobre el margen, este ondulado, mamelado o casi entero, la espina terminal fuerte. Hojas de color, tamaño y forma diversos; brácteas de la inflorescencia escariosas, papiráceas o cartáceas (carnosas y gruesas solamente en *A. parrasana* pero en ese caso las hojas son de menos de 15 cm de ancho); flores, hábitats y fenología diversos. Rosetas compactas, a veces subglobosas, 0.3 a 0.6 m de diámetro; hojas densamente imbricadas, 0.1-0.4 (-0.6) m de largo, anchas, subtruncadas, cortamente acuminadas o agudas, glaucas a grisáceas o verde pálido. Plantas con 90 a 160 hojas, éstas de 25-40(-60) cm de largo; flores 6-7.5 cm de largo; brácteas de la inflorescencia papiráceas; en la Sierra Madre Occidental y serranías del occidente.

El *Agave americana*. Según menciona Guitllet *et al* (2009), presenta un Tallo corto, rosetas de 1-2 x 2-3⁷ m; hojas estrechas sobre la base engrosada, en general acuminadas, algunas hojas reflexas sobre la mitad de la lámina, planas o acanaladas, lisas o ligeramente ásperas, la mayor parte de 1-2 m x 15-25 cm, verde claro-glaucos, márgenes ondulados o crenados; dientes marginales variables, los mayores de 5-10 mm, de color marrón a pruinoso-gris, distanciados 2-6 cm, de base ancha, con ápice alargados rectos, flexuosos o curvados, espina terminal cónica a subulada, la mayor parte de 3-5 cm, marrón brillante a gris pruinoso; inflorescencias de 5-9 m, alargadas, rectas, largamente ovales, abiertas, inflorescencias parciales 15-35, en el 1/3-1/2 superior de la inflorescencia, flores alargadas, 7-10 cm, ovario de 3-4⁵ cm, verdoso, cuello excavado, sobre la base más estrecha; tépalos amarillos, tubo infundibiliforme, de 8-20 mm y lóbulos desiguales de 25-35 mm.

Se realizó una comparación entre *Agave parryi* y *Agave americana* en el cual se presenta el porcentaje de colonización, para obtener este porcentaje se llevó acabo la técnica de clareo y tinción.

Para obtener el número de esporas en 100 gr de suelo se utilizó la técnica de obtención de esporas por medio del gradiente de sacarosa al 70%.En la siguiente tabla se muestra una comparación entre los dos tipos de agave y su relación con las micorrizas.

Tabla 1: Porcentaje de colonización y numero de esporas.

Especie	<i>Agave Americana</i>	<i>Agave parryi</i>
Numero de esporas en 100gr de suelo	622 esporas	733 esporas
Porcentaje de colonización	94-95% de colonización	90-91% de colonización en raíces

[Escriba aquí]

Se presenta los diferentes tipos de aumentos de una raíz de *Agave parryi* en la cual hay presencia de vesículas.

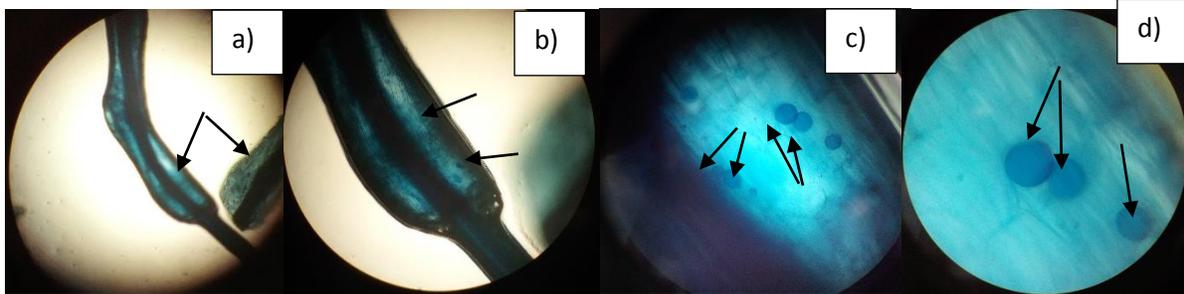


Figura 1: En estas raíces se observa las vesículas: a) 4x se observa el fragmento de la raíz analizada, b) 10x se observa el contorno de la raíz y algunas vesículas, c) 40x se puede observar las estructuras de la raíz y como están asociadas las vesículas dentro de la raíz, d) 100x se puede observar con mayor precisión y tamaño las vesículas.

En las siguientes imágenes se presentan las dos especies de *Agave* y algunas esporas indentificadas asociadas a estas plantas.

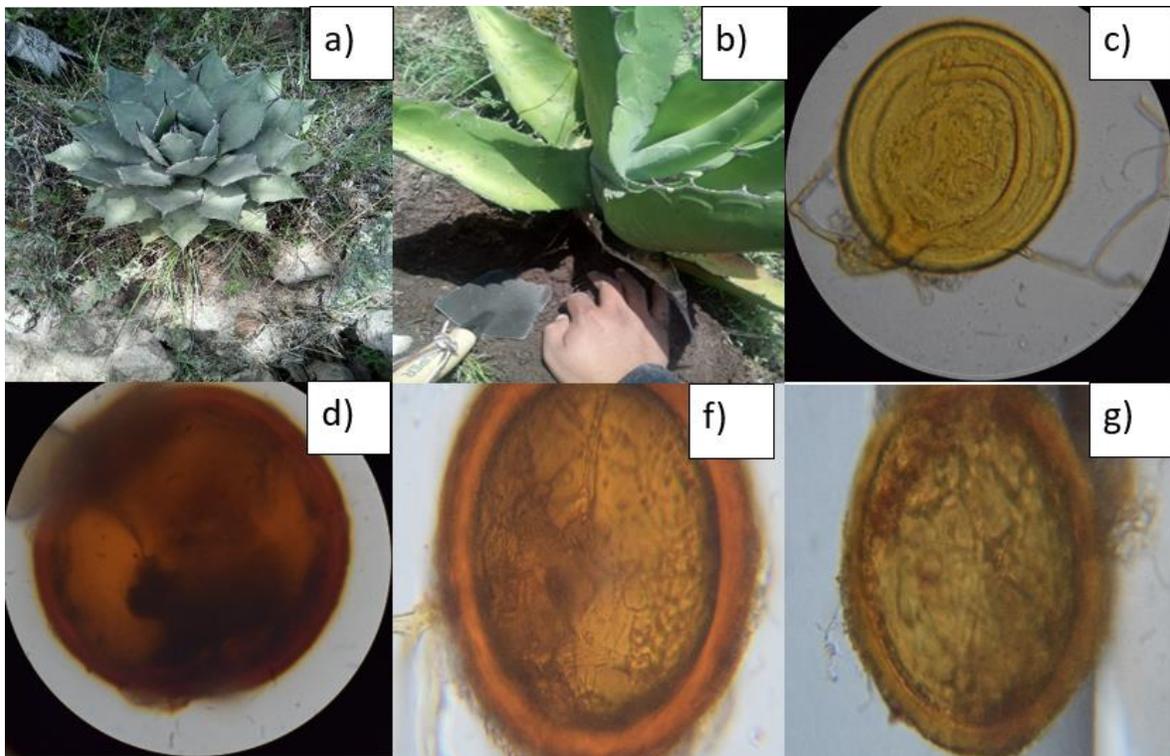


Figura 2: a) *Agave parryi* en condición natural, b) *Agave americana*, colecta del suelo para tamizar
c) *Diversispora ssp.*, encontrado en *Agave parryi* d) *Glomus ssp.*, *A. americana*. f) *Gigaspora ssp.*, encontrado en suelo de *A. parryi*, g) *Gigaspora ssp.*, encontrado en suelos de *A. americana*.

En esta tabla 2 se exponen los diferentes géneros encontrados en las dos especies de agaves.

[Escriba aquí]

Tabla 2: se muestra los géneros de esporas identificados y una comparación de la presencia de estos individuos.

Genero esporas	<i>Agave americana</i>	<i>Agave parryi</i>
Acaulospora ssp	X	X
Centraspora ssp	X	
Denticutata ssp	X	X
Diversispora ssp	X	X
Funneliformis ssp	X	
Gigaespora ssp	X	X
Rococentra ssp		X
Scutellospora ssp	X	
Spetogloimus ssp	X	X

Cabe mencionar que en el en la tinción de raíces no hubo una colonización del 100% ya que un factor importante sobre esto fue que las raíces teñidas tenían edades diferentes esto da como resultado que en raíces jóvenes no había colonización ya que por ser jóvenes aun no presentaban una colonización, en raíces viejas tampoco había colonización ya que estas raíces estaban en proceso de lignificación. En caso de las raíces de edad mediana si hubo un buen porcentaje de colonización.

Se encontraron 9 genero de micorrizas en las muestras de suelo muestreadas en el área, fue el resultado obtenido por las técnicas de separación de esporas por el gradiente de sacarosa al 70%.

CONCLUSIÓN

Se encontraron 9 morfotipos de esporas asociados a las dos especies de Agaves, no se observaron diferencias entre los porcentajes de colonización.

BIBLIOGRAFÍA

Andrade, T. A. (2010). Micorrizas antigua interpretación entre plantas y hongos. Revista Ciencia pp 84-90.

Błaszczkowski, J. & Furrázola, E. & Chwat, G & Góral ska, A & Lukács, A. F. & Kovács, G. M. (2015). Three new arbuscular mycorrhizal Diversispora species in Glomeromycota. Mycol Progress 14:105

Brundrett, MC. 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154: 275-304.

Carabias, J. Cano S, Z. Valverde, T. Meave, J. A. (2009). Ecología y medio ambiente en el siglo XXI . Editorial: PRENTICE HALL. pp37.

Clacification Zut. (2018). www.zor.zut.pl/Glomerimycota/definitions%20of%20spore%20charaters.html

Delgado, L. A. Torres, I. Blancas, J. & Casas, A. (2014). Vulnerability and risk management of *Agave* species in Tehuacán Valley, México. *Journal Ethnobiology and Ethnomedicine* 10:(1):53

Guillot, O. D. Van, D. M. P. Laguna, I. E. & Rosselló, P. J. A. (2009). El género *Agave* L. en la flora Alóctona valenciana. *Revista Bouteloua*, 3:22

González, E. M. Galván, V. R. López E. I. L, Lorenzo, R. R. & González E. M. S. (2009). Agaves -magueyes, lechuguillas y noas - del Estado de Durango y sus alrededores. 1° Edición. CIIDIRIPN Unidad Durango. Durango, Dgo. Mex. Pp 33-34.

[Escriba aquí]

Honrubia, M (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dure mas de 400 millones de años. Departamento de Biología Vegetal (Botánica), Facultad de Biología, Campus de Espinardo Universidad de Murcia, E-30100 Murcia, España. Anales del Jardín Botánico de Madrid Vol. 66S1: 133-144, 2009.

INVAM. (2018). International culture collection of West Virginia University (vesículas) arbuscular micorrhizal fungi. West Virginia University. <http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions.html>

Schüler, A., Schwarzott, D. y C. Walker (2001), "A new fungal phylum, the Glomeromycota phylogeny and evolution", *Mycological Research*, 105, 1413-1421.

Schüßler, A., C. Walker, 2010. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University.

Siervending, E. (1991) Vesicular-arbuscular mycorrhizae management in tropical agrosystem. Technical cooperation, Federal Republic Germany. Eschborn, Alemania.

Trinidad, C. J. R, Quiñones, T. E. E, Hernández, C. L. V, Lopez, P. L. & Rincón, E. G. (2017). Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. *Revista Scientia Fungorum*. 45:13-15 <https://www.researchgate.net/publication/320163857>.

Villareal, Q. J. A. (2013). Introducción a la botánica forestal. 2da Ediccion, Editorial Trillas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila, Mexico. Pp 44.

Zambudio. R. S. (2014). Diversidad de ecosistemas del estado de Guanajuato. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad / Instituto de Ecología del estado de Guanajuato, pp.19-55(PDF) Diversidad de ecosistemas del estado de Guanajuato.

ABF1 ESTÁ IMPLICADO EN EL CICLO CELULAR Y SU SOBREENPRESIÓN AFECTA EL SILENCIAMIENTO EN *Candida glabrata*

Loredo-Puerta Raúl Eduardo¹ y Castaño Navarro Irene Beatriz²

RESUMEN

Candida glabrata es un comensal capaz de causar infecciones graves en individuos inmunocomprometidos, uno de los factores de virulencia en esta levadura es la adhesión al epitelio, capacidad mediada por adhesinas, el gen *EPA1* que codifica para una de estas proteínas se encuentra localizado en una región subtelomérica del cromosoma E sujeto al silenciamiento subtelomérico regulado por el complejo SIR, Rap1, Rif1 y otros elementos, como el protosilenciador Sil2126 con posibles sitios de unión con Abf1, una proteína importante en el silenciamiento, donde es requerido el dominio C-terminal. Se demostró que Abf1 se encuentra implicada diferentes funciones, al agregar una copia del gen *ABF1* a una cepa que contiene la versión trunca a la que se removieron los últimos 43 aminoácidos del dominio C-terminal de *ABF1* se afectó el silenciamiento en algunos telómeros a diferentes distancias del telómero y afecto al ciclo celular comparado con una cepa sin alguna alteración genética.

ABSTRACT

Candida glabrata is a commensal capable of causing serious infections in immunocompromised individuals, one of the virulence factors in this yeast is adhesion to the epithelium, capacity mediated by adhesins, gene *EPA1* that codes for one of these proteins is located in a region subtelomeric of chromosome E subject to subtelomeric silencing regulated by the SIR complex, Rap1, Rif1 and other elements, such as Sil2126 protosilencer with possible binding sites with Abf1, an important protein in the silencing, where the C-terminal domain is required. It was demonstrated that Abf1 is involved in different functions, when adding a copy of the *ABF1* gene to a strain that contains the truncated version to which the last 43 amino acids were removed from the C-terminal domain of *ABF1*, the silencing was affected in some telomeres at different distances of the telomere and affect to the cell cycle compared with a strain without any genetic alteration.

Palabras clave: *Candida glabrata*, silenciamiento subtelomérico, Abf1, ciclo celular.

INTRODUCCIÓN

Candida glabrata es considerada como un saprofito no patógeno del microbiota normal de individuos sanos, pero en individuos en los que se encuentra atenuado su sistema inmune. Esta levadura tiene la capacidad de causar infecciones graves, una vez que invade los órganos internos. La principal manifestación clínica es la candidemia, de la que se han reportado como factores de riesgo más frecuentes para su desarrollo el uso de catéter, estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y el tratamiento con antibióticos previamente. En los últimos años ha aumentado la incidencia de infecciones asociadas a la atención médica de microorganismos resistentes al tratamiento de primera elección, como los son el grupo de fármacos antimicóticos azoles para el tratamiento de infecciones fúngicas, se conoce que *C. glabrata* es resistente dependiente de la dosis a Fluconazol y en un 50% resistente a Itraconazol, esta levadura comparte una relación filogenética más con *Saccharomyces cerevisiae* que con *Candida albicans*. (Fidel *et al.*, 1999; Marín *et al.*, 2016). En México ha aumentado la incidencia de infecciones por hongos oportunistas, *Candida* es la principal causa de este tipo de infecciones, *C. glabrata* se encuentra como la segunda causa de candidiasis oral, onicomycosis y candidiasis invasiva, así como la tercera causa de la variedad clínica cutánea en los casos reportados durante el periodo 2005 – 2015. Sin embargo, se han reportados casos de pruebas de susceptibilidad con antifúngicos para *C. glabrata* cuyos resultados mostraron resistencia a la Anfotericina B además de la resistencia conocida a Fluconazol e itraconazol. (Reyes-Montes *et al.*, 2017) Uno de los factores de virulencia importantes de *C. glabrata* es la adhesión a células epiteliales, tal capacidad se encuentra

¹ ¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Dr. Manuel Nava No.6 Zona Universitaria, C.P. 78210. San Luis Potosí, S.L.P. loredop.re@outlook.com

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, División de Biología Molecular, Camino a la Presa San José No. 2055, Lomas 4a sección, C.P. 78216. San Luis Potosí, S.L.P. icastano@ipicyt.edu.mx

mediada por proteínas de pared celular conocidas como adhesinas, el gen *EPA1* que codifica para una de estas proteínas se encuentra localizado en la región subtelo mérica derecha del cromosoma E, que se encuentra sujeto al silenciamiento subtelo mérico regulado por el complejo SIR (Sir2, Sir3 y Sir4), Rap1, Rif1 y diferentes elementos de regulación *cis* y *trans* de silenciamiento (Fig. 1). Existen 20 genes parálogos de *EPA1*, los cuales se encuentran silenciados debido a su localización en regiones subtelo méricas, más del 90% de la adhesión es debido a *Epa1* (Castaño *et al.*, 2005; De Las P³eñas *et al.*, 2003).

ABF1 es un gen esencial en *S. cerevisiae* que se encuentra relacionado con la replicación y reparación de ADN, reorganización de cromatina y la activación o represión de transcripción por la biogénesis de ribosomas. Además, tiene un papel importante en el silenciamiento de genes, para esta función es requerido el dominio C-terminal de esta proteína de 731 residuos de aminoácidos, el gen ortólogo de *C. glabrata* es *ABF1*, que codifica para una proteína de 479 residuos de aminoácidos, el cual también es esencial y los últimos 43 aminoácidos en el C-terminal son requeridos para el silenciamiento mediado por el protosilenciador Sil2126 y el elemento negativo (NE) debido a que estos elementos de regulación *cis* propagan el silenciamiento. Ensayos *in silico* han demostrado sitios de unión con Abf1 para el NE y Sil2126 (Hernández *et al.*, 2017) .

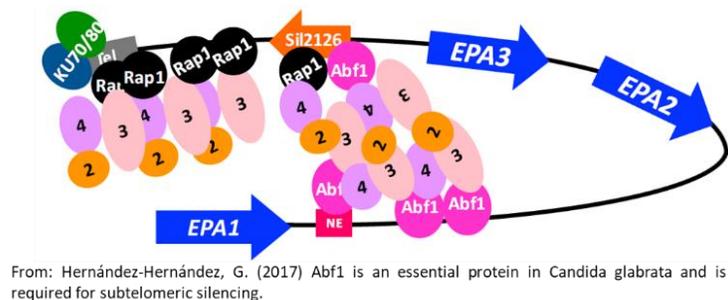


Figura 1. Regulación del silenciamiento subtelo mérico en el telómero derecho del cromosoma E.

MARCO TEORICO

En *C. glabrata* se requieren los últimos 43 residuos de aminoácidos de la proteína Abf1 para el silenciamiento en regiones subtelo méricas mediado por Sil2126 y NE, la falta de estos 43 residuos de aminoácidos afecta el silenciamiento y otras funciones celulares. Al agregar una copia del gen *ABF1* a la cepa que contiene la versión trunca a la que se le removieron los últimos 43 aminoácidos de *ABF1* (*abf1-43*) se espera restablecer el silenciamiento en estas células. En células de *S. cerevisiae*, la sobreexpresión de Abf1 causa que las células contengan el doble de cantidad de ADN, lo cual es indicativo de arresto en la fase G2-M del ciclo celular (Stevenson *et al.*, 2001). Al ser un gen ortólogo *CgABF1* el resultado de la sobreexpresión de Abf1 se esperaría el mismo fenómeno en el ciclo celular debido su posible función en el ciclo celular.

METODOLOGIA

Extracción de plásmido. La extracción fue realizada de los plásmidos pGH8 y pGH9 (Fig. 2) usando el protocolo del kit comercial GeneJET Plasmid Miniprep de Thermo Scientific™ en cepas de *Escherichia coli* que previamente fueron introducidos a la cepa DH10 por electroporación con cada uno de los plásmidos usados.



Figura 2. Construcción de plásmidos pGH8 Y pGH9. A) conformado de un alelo ABF1 con promotor de metalotionina 1(P_{MT1}) y un epítipo de proteína MieloCitomatosis de proto-oncogen (Myc) que funciona como epítipo para detectar la presencia de la proteína en la célula, terminador de Histidina3 (T_{HIS3}), Secuencia de centrómero en *Candida glabrata* (CgCEN), pGH9 codifica para una Flipasa (FLP) con promotor de EPA1 (P_{EPA1}) y un cassette de resistencia a higromicina (HYG).

Medios. Para las células bacterias que contienen el plásmido fue necesario medio LB que contiene 5 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de triptona y 5 g/L de NaCl, para la cepa con el plásmido pGH8 fue necesario suplementar con Carbenicilina debido a la estructura del plásmido que genera resistencia para la selección de colonias. El medio Yeast extract-Peptone-Dextrose (YPD) contiene 10 g/L de extracto de levadura, 20 g/L peptona, y suplementado a 2% de dextrosa, fue requerido placas de medio YPD para selección de colonias las cuales fueron suplementadas con Nourseotricina (YPD-Nat) y Higromicina (YPD-Hyg) a concentración final de 100 µg/mL. Medio completamente sintético contiene 1.7 g/L de base de nutrientes de levadura (no contienen sulfato de amonio y aminoácidos), 5 g/L NH₂SO₄ y suplementado con 0.6% de casaminoácidos (CAA) y 2 % de dextrosa. Para preparar el medio ácido 5-fluorotico (5-FOA), 0.9 g/L de 5-FOA, siendo un compuesto tóxico para las células cuando expresan el gen URA3 y 35 mg/L de uracilo fueron agregados al medio completamente sintético.

Transformación de levadura. Las transformaciones de levadura con plásmidos se realizaron como se describió previamente usando el método ADN/PEG transportador con Acetato de Litio y ADNss de esperma de salmón (Castaño *et al.*, 2003; Gietz, 2014) con los plásmidos pGH8 y pGH9.

Remoción del cassette NAT. Al realizar la mutante *abf1-43* en trabajos anteriores fue necesario insertar un cassette que le confiere resistencia a Nourseotricina para seleccionar las colonias que contienen la mutación en medio YPD-Nat. Para introducir la copia adicional de *ABF1* del plásmido pGH8 que contiene también un cassette que confiere resistencia a Nourseotricina fue necesario eliminar *NAT* presente en la mutante, se logró usando el plásmido pGH9 que codifica para un flipasa (FLP) que corta las secuencias de recombinación de Flp1 en las regiones 5' UTR y 3'UTR de *abf1-43*. Se realizó transformando cepas con la mutante *abf1-43* con diferentes posiciones del gen reportero *URA3* (Fig. 3), se plataron en medio YPD-Hyg hasta 48 h de crecimiento para seleccionar colonias con el plásmido transformado, se purificaron colonias con resistencia a Higromicina, debido a que el P_{EPA1} es inducido por medio fresco fue necesario realizar 3 diluciones en medio YPD fresco para la transcripción de FLP y remover el cassette NAT, se ajustó la densidad óptica para obtener 2000 células/mL y platear en medio YPD así para obtener 200 y 100 colonias por placa 48 h después fue realizado replicación de la placa en diferentes medios YPD-Nat, YPD-Hyg y YPD para obtener cepas que sean Nourseotricina sensibles y Higromicina sensibles las cuales hayan perdido el plásmido transformado.

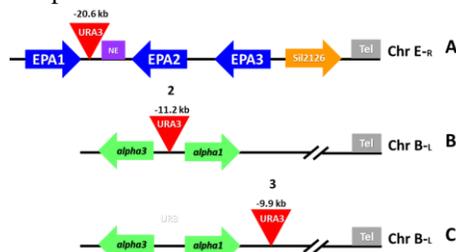


Figura 3. Posiciones del gen reportero URA3 ubicado en el cromosoma B y E. Telomero, Tel.

Genotipo
BG14
<i>abf1-43</i>
<i>abf1-43/pABF1.URA3</i>
<i>abf1-43/pP_{MT1}-Myc-ABF1.NAT</i>
<i>abf1Δ/pABF1.URA3</i>
<i>abf1Δ/pP_{MT1}-Myc-ABF1.NAT</i>

Figura 4. Genotipos de *C. glabrata* usadas para la determinación de DNA. BG14 cepa parenteral; *abf1-43*, cepa mutante; *abf1Δ*, cepa trunca.

Diagnóstico del corte FRT. Se realizó extracción de ADN genómico de la levadura con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico para la detección de remoción del cassette NAT de la mutante *abf1-43*, fue verificado por una PCR usando oligonucleótidos alineados en las fracciones para la región 5' de *ABF1* y el fragmento 3' FRT de *NAT*

usando los oligonucleótidos #1558, #1559 y #1590 la tabla 1, muestra las características de los oligonucleótidos empleados esperando diferentes tamaños de amplicon de acuerdo al par de cebadores usados (Tab. 2) calculados con software MacVector y finalmente se realizó una electroforesis con gel al 0.8% de agarosa en TBE.

Tabla 1. Oligonucleótidos usados en el diagnóstico del corte FRT.

Primer (No.)	Sequence (5'-3')	Sitio de hibridación de <i>ABF1</i>
1558	GCTACTGCGATTTGCCACTG	@-91 Fw
1559	GTTGAGCTCTTGTGCAGACGATCCGCAGGTCACCGC	@385 Fw
1590	CTTGGATCCCCGAACATTTGGTCAGATCACTG	@+712 Rv

Determinación de contenido de ADN. Cepas que contienen los genotipos *abf1Δ* y *abf1-43* (Fig 4.) con diferentes fondos genéticos se determinó la fase logarítmica y estacionaria de su vida cronológica estuvieron en crecimiento por 4 h para la fase logarítmica esperando de 2 a 3 duplicaciones y la fase estacionaria por 48 h en medio CAA, con un medio inoculado en común para obtener 6×10^7 células con lavados de agua estéril miliQ y Tris 50 mM, se usó de etanol al 100% frío como agente de fijación, después fue tratada la muestra con RNase cocktail y proteinase K para eliminar interferencia con el fluorocromo Sytox Green debido a su afinidad a los ácidos nucleicos. Fue analizado con citometría de fluorescencia en el equipo BD FACSCalibur y el análisis de datos para estimar el porcentaje de fase del ciclo celular se realizó con ayuda del software FlowJo, LCC. se realizó de dos maneras 1) manual colocando intervalos en FL2-H de acuerdo a los esperado para cada fase del ciclo celular; para G1/G0: 200 ± 50 , S: 300 ± 50 y G2/M: 400 ± 50 2) utilizamos la función de ciclo celular que estima las proporciones entre cada fase usando el modelo matemático de Watson (Prigmatic).

Análisis de expresión del gen reportero *URA3*. Diseñado para las mutantes que contienen el gen reportero en diferentes posiciones del telómero con el fin de medir la distancia de silenciamiento. El experimento fue realizado en placas de análisis de crecimiento descrito previamente (De Las Peñas *et al.*, 2003; Castaño *et al.*, 2005). Las cepas crecieron en medio YPD por 48 a fase estacionaria y fueron ajustada a una densidad óptica de 1.0 con agua estéril, y se realizaron diluciones seriadas en placas de 96 pozos, subsecuente, se tomó 5 μ L de la dilución se punteo en medios YOD, CAA y 5-FOA con el replica-plating tool. Las placas fueron incubadas por 48 h a 30°C, y fotografiadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CgAbf1 está implicado en el ciclo celular

El gen *ABF1* se demuestra implicado posiblemente en las funciones relacionadas con la replicación del ADN durante el ciclo celular, la cepa parental BG14 como control ya que no contiene alguna alteración genética. La fase logarítmica se caracteriza por la duplicación de células, la mayoría de de estas se encontraran en fase S o G2, hay diferencia entre la cepa parental y una cepa *abf1-43* con pérdida de funciones, al insertar una copia con el alelo *ABF1* para restablecer las funciones aumenta el número de células en la fase S mostrando posible implicación con la replicación o síntesis de ADN, y aumenta el número en fase G2 cuando *ABF1* es inducido por su propio promotor (*pABF1.URA3*), entre las cepas BG14 y *abf1-43* no hay diferencia por lo que los últimos 43 aminoácidos posiblemente no son necesarios para las funciones relacionadas con la replicación de ADN durante la fase logarítmica de crecimiento. En cambio, cuando se agrega una copia extra de *ABF1* con el resultado anterior afecta la fase G2 amentado su porcentaje cuando el alelo extra este inducido bajo su promotor, pero con el promotor *MT1*, el cual es inducido por cobre, aumenta la fase S. En la fase estacionaria aumenta la tasa de crecimiento como consecuencia del agotamiento de nutrientes y la acumulación de productos tóxicos por lo que se espera la fase G1 del ciclo celular, en la BG14 el porcentaje de G2 disminuye con lo establecido en la fase logarítmica., en las cepas con *abf1-43* con la copia extra de *ABF1* aumenta la fase S y cuando está regulado bajo su promotor aumenta G2. En la mutante *abf1-43* la fase de síntesis se encuentra aumentada de acuerdo con la cepa BG14, está implicado con la síntesis de ADN y aumenta esta fase con la copia extra de *ABF1*, pero cuando se encuentra el alelo bajo el promotor propio disminuye G2. En algunos casos la función de ciclo celular de FlowJo con el modelo Watson no fue capaz de determinar las fases por lecturas menores a los esperado con el ajuste ya que se encuentra desbalanceado por que se esperan pocos datos antes de G1.

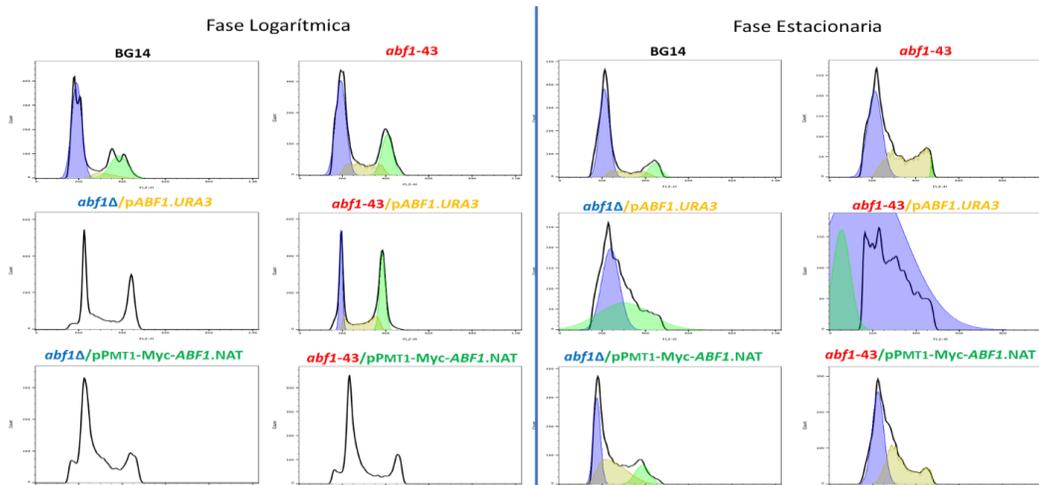


Figura 5. Resultados de citometría de fluorescencia, Histogramas “Células vs FL2H”.

Tabla 4. Porcentaje de células en fases del ciclo celular de acuerdo a la fase de crecimiento y *C. glabrata*

Genotipo	Fase logarítmica						Fase estacionaria					
	Fx Cell Cycle			Manual			Fx Cell Cycle			Manual		
	G1	S	G2	G1	S	G2	G1	S	G2	G1	S	G2
BG14	67.9	6.55	28.4	61.8	12.6	24.3	71.9	15.0	13.8	69.5	12.6	12.8
<i>abf1Δ/pABF1.URA3</i>	ND	ND	ND	39.2	19.3	28.9	60.1	-9.1	59.3	43.0	38.8	14.7
<i>abf1Δ/pPMT1-Myc-ABF1.NAT</i>	ND	ND	ND	43.0	31.4	17.7	39.1	43.3	17.7	59.4	21.0	18.0
<i>abf1-43</i>	57.0	20.3	25.5	57.4	11.3	28.7	59.0	40.9	1.3	49.8	27.1	16.1
<i>abf1-43/pABF1.URA3</i>	28.0	24.4	38.5	39.5	10.9	48.8	ND	ND	ND	40.5	33.9	20.3
<i>abf1-43/pPMT1-Myc-ABF1.NAT</i>	ND	ND	ND	43.4	32.4	12.7	53.2	42.5	0.0	43.0	41.1	12.1

Una copia adicional de *ABF1* restablece el silenciamiento subtelomérico en la mutante *abf1-43* en el telómero derecho del cromosoma E.

La mutante *abf1-43* disminuye el silenciamiento proveniente del telómero de acuerdo al gen reportero *URA3* que en medio 5-FOA genera un producto tóxico para la célula si se expresa este gen. Cuando hay silenciamiento de *URA3*, la célula puede crecer en presencia de 5-FOA. Los últimos 43 aminoácidos son esenciales para el silenciamiento subtelomérico y en especial el silenciamiento mediado por el protosilenciador Sil2126 y el elemento negativo debido a la unión de Abf1 a estos elementos. Cuando hay una copia extra de *ABF1* existe una sobreexpresión de Abf1 y restablece el silenciamiento aumentando la distancia de silenciamiento (Fig. 6A). En el telómero derecho del cromosoma E se encuentra el gen *EPA1* que regula más del 90% de la adhesión. En el telómero izquierdo del cromosoma B se encuentran los genes de apareamiento del locus *MTL3*, y la proteína Abf1 se requiere para el silenciamiento a una distancia de 11 Kb del telómero. En la cepa que lleva la mutación *abf1-43* este silenciamiento se pierde mientras que a 10 kb aún se presenta el silenciamiento. Al sobreexpresar *ABF1* en la cepa *abf1-43* el silenciamiento subtelomérico se recupera a 12 kb del telómero, pero se pierde a 10 kb.

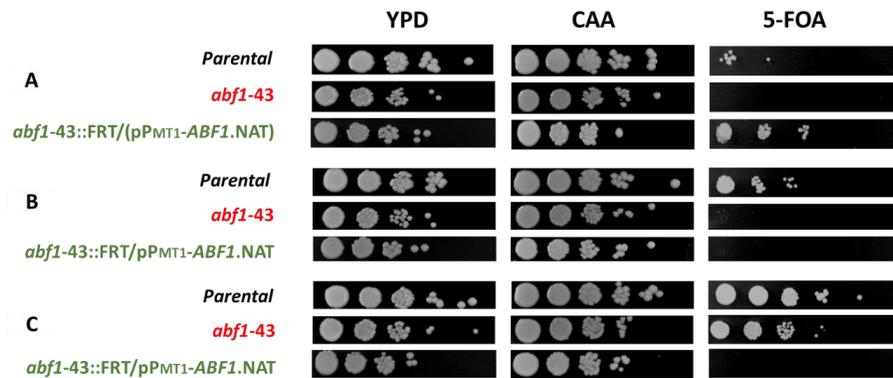


Figura 6. Ensayos de dilución en gota para análisis de expresión de URA3 y viabilidad celular de acuerdo a diferentes posiciones del gen reportero de la fig. 3.

CONCLUSIONES

Abf1-43 no es completamente funcional para sus diversas funciones debido a que presenta un tiempo de duplicación más elevado que la parental en diferentes medios. Cuando se complementa con una copia adicional de *ABF1*, el crecimiento se restablece y aumenta el silenciamiento en algunas regiones subtelméricas como el telómero derecho del cromosoma E, donde se encuentra *EPA1* y los elementos en *cis* NE y Sil2126. En el cromosoma B donde no se encuentran estos elementos regulatorios y se localiza el locus *MTL3* de apareamiento, no hay silenciamiento. Abf1 se encuentra implicada en el ciclo celular similar a la función en *S. cerevisiae* en la replicación y reparación de DNA. En *C. glabrata* observamos un aumento considerable en la fase S con una copia extra de *ABF1* y conforme avanza el crecimiento hay modificaciones en la fase G2 donde probablemente quedan arrestadas. Los últimos 43 aminoácidos del dominio C-terminal de Abf1 probablemente también son necesarios para regular el tránsito por el ciclo celular, aunque el efecto es más sutil.

BIBLIOGRAFIA

- CASTAÑO, I, KAUR, R, PAN, S, CREGG, R., DE LAS PEÑAS, A., GUO, N., BIERY, MC, CRAIG, NL, CORMACK, BP.(2003) Tn7-based genome-wide random insertional mutagenesis of *Candida glabrata*. *Genome Res.*13: 905–915.
- CASTAÑO, I, PAN, SJ, ZUPANCIC, M, HENNEQUIN, C, DUJON, B, CORMACK, BP. (2005). Telomere length control and transcriptional regulation of subtelomeric adhesins in *Candida glabrata*. *Mol. Microbiol.* 55: 1246–1258.
- DE LAS PEÑAS, A, PAN, SJ, CASTAÑO, I, ALDER, J, CREGG, R, CORMACK, BP. (2003). Virulence-related surface glycoproteins in the yeast pathogen *Candida glabrata* are encoded in subtelomeric clusters and subject to RAP1- and SIR-dependent transcriptional silencing. *Genes Dev.* 17: 2245–2258.
- FIDEL, P. L., VAZQUEZ, J. A., & SOBEL, J. D. (1999). *Candida glabrata*: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to *C. albicans*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 80–96.
- GIETZ, RD. (2014) Yeast transformation by the LiAc/SS carrier DNA/PEG method. *Methods Mol. Biol.* 1205: 1–12
- HERNÁNDEZ, G., CASTAÑEDO-IBARRA, L., LOPEZ-FUENTES, E., DE LAS PEÑAS, A., CASTAÑO, I. (2017) Abf1 is required for subtelomeric silencing in *Candida glabrata*.
- MARÍN MARTÍNEZ, E. M., ALLER GARCÍA, A. I., & MARTÍN-MAZUELOS, E. (2016). Epidemiología, factores de riesgo y sensibilidad in vitro en candidemias por especies diferentes de *Candida albicans*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 33(4), 248–252
- REYES-MONTES, M. DEL R., DUARTE-ESCALANTE, E., MARTÍNEZ-HERRERA, E., ACOSTA-ALTAMIRANO, G., & FRÍAS-DE LEÓN, M. G. (2017). Current status of the etiology of candidiasis in Mexico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(4), 203–210.
- STEVENSON, LF, KENNEDY, BK, HARLOW, E. (2001). A large-scale overexpression screen in *Saccharomyces cerevisiae* identifies previously uncharacterized cell cycle genes.

ABSORCIÓN DE COLORANTE EMPLEANDO CARBÓN ACTIVADO A BASE DE FLAMBOYÁN: MODELAJE DE ISOTERMA

Ricardo Martínez Álvarez¹ y Didilia Ileana Mendoza Castillo²

RESUMEN

En el presente estudio, el carbón activado a base de Flamboyán (*Delonix Regia*) fue investigado como un potencial bioabsorbente de colorantes como es el Azul Ácido 29. La curva de calibración y las isotermas se llevaron a cabo en un proceso por lotes, condiciones como la temperatura, la concentración inicial del colorante y la velocidad de agitación tuvieron efecto sobre el experimento.

Los datos de isotermas de equilibrio pueden ser descritos por los modelos de Langmuir y Freundlich, sin embargo la expresión de Langmuir se acopla mejor a los datos de equilibrio, las cinco ecuaciones lineales de Langmuir fueron probadas.

ABSTRACT

In the present study, Flamboyán-based activated carbon (*Delonix Regia*) was investigated as a potential bioabsorbent of dyes such as Acid Blue 29. The calibration curve and the isotherms were carried out in a batch process, conditions such as the temperature, the initial concentration of the dye and the speed of agitation had an effect on the experiment.

The equilibrium isotherm data can be described by the Langmuir and Freundlich models, however the Langmuir expression is better coupled to the equilibrium data, the five linear Langmuir equations were tested.

Palabras Clave: Absortion; Dye; Isotherm; Flamboyant; Modeling

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la contaminación representa uno de los principales problemas que afectan al planeta y a su población, existen diversos factores que pueden contribuir al aumento de esta, tales como las actividades industriales, el desecho indebido de químicos que pueden contaminar el agua, por lo anterior en los últimos años han surgido nuevas alternativas para combatir la contaminación, el objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de absorción de diversos materiales para la remoción de contaminantes en el agua, materiales tales como el carbón activado a base de Flamboyán, que pueden ser obtenidos de manera que esto no afecte al medio ambiente.

Durante la estancia de investigación se realizaron diversas pruebas para determinar si este material presentaba características de absorción ante un contaminante como lo es el colorante, específicamente en estas pruebas se utilizó el colorantes Azul Ácido 29 (AB29) el cual es altamente contaminante para el agua y el subsuelo.

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Departamento de Biotecnología Ambiental, Blvd. Venustiano Carranza s/n, Col. República, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, r.martinez@uadec.edu.mx

² Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Departamento de Química y Bioquímica, Av. Adolfo López Mateos #1801 Ote. Fracc. Bona Gens, C.P. 20256, Aguascalientes, Ags, didi_men@hotmail.com

MATERIALES Y METODOLOGÍA

El absorbente corresponde al fruto del árbol Flamboyán (*Delonix Regia*), este fruto más específico, vaina, corresponde a un material lignocelulósico, el cual contiene celulosa, hemicelulosa y lignina, estos componentes son favorables para la remoción de ciertos contaminantes, el fruto es previamente molido y lavado, para posteriormente realizar una pirólisis del material, este en ausencia de oxígeno, se trabajó a una temperatura de 600°C, una atmósfera de Nitrógeno y dos horas de tiempo de carbonización, para finalmente ser lavado nuevamente para evitar la presencia de contaminantes.

El colorante Azul Ácido (C.I. Azul Ácido 29, C.I.20460), de fórmula molecular ($C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$), obtenido del laboratorio. Las soluciones de Azul Ácido 29 se prepararon disolviendo la cantidad requerida de colorante en agua des-ionizada.

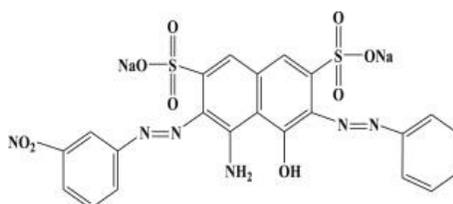


Figura 1. Estructura química de Azul Ácido 29

Para poder modelar la isoterma del proceso fue necesario realizar una curva de calibración que representara el comportamiento de absorbancia del colorante, por lo cual se realizó una dilución en un matraz aforado de 25 mL para obtener una concentración de 500 mg L⁻¹ y posteriormente a 100 mg L⁻¹, una vez realizado esto se diluyó nuevamente de la solución de 100 a 5, 10, 15, 20 y 25 mg L⁻¹ (por triplicado). Después se leyó su absorbancia en un espectrómetro visible (Thermo Spectronic Genesys 20) ajustado a una longitud de onda de 602 nm, seguido de esto se ajustó su pH a 7 y se leyó nuevamente, una vez obtenido los resultados se pudo concluir que a partir de una concentración de 20 mg L⁻¹ su absorbancia se hacía constante, y con estos datos se elaboró la curva de calibración (Figura 2).

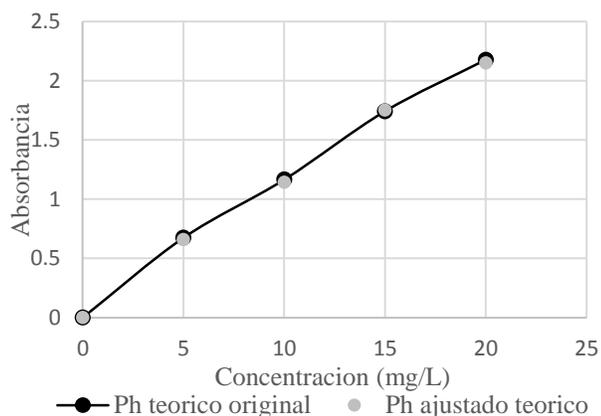


Figura 2. Curva de calibración, pH original y ajustado

Al obtener la ecuación de la recta (Ecuación 1.) arrojada por la curva de calibración y el factor de dilución (Ecuación 2.) se pudo conocer la ecuación de la concentración real (Ecuación 3) despejando de la ecuación 1, donde y es la absorbancia y x es la concentración teórica.

$$y = mx + b \quad (1)$$

$$F = V_f/V_i \quad (2)$$

$$x = \frac{y - b}{m} \quad (3)$$

Para realizar la isoterma se utilizó la técnica por lotes debido a su simplicidad, se preparó una solución de 1000 mgL^{-1} , de la cual se prepararon soluciones a una concentración de $750, 500, 400, 300, 200$ y 100 mgL^{-1} , una vez preparadas las diluciones se diluyeron nuevamente a 20 mgL^{-1} para leerse en el espectro visible, indicando así la concentración inicial teórica, y al multiplicarla por el factor obtenido de la Ecuación 2, se determina la concentración inicial real, una vez obtenido esto se utilizó $0,05 \text{ g}$ de carbón F900-5 con 10 ml de una disolución del colorante a las diferentes concentraciones ya mencionadas por duplicado, agitando en un baño de agua (*Daihan Labtech*) mantenido a una temperatura constante de $30 \text{ }^\circ\text{C}$. La velocidad de agitación se mantuvo constante a 120 rpm . En un intervalo predeterminado de 24 h .

Nomenclatura	
Q_{abs}	Capacidad de absorción del absorbente con respecto al absorbato
C_0	Concentración inicial
C_f	Concentración final
g	Masa del absorbente
b	Constante de Langmuir relacionada con la energía libre de absorción (L mg^{-1})
C_e	Concentración en equilibrio del colorante en la solución (mg L^{-1})
K_F	Constante de Freundlich que indica la capacidad de absorción relativa ($\text{mg}^{1-\frac{1}{n}} \text{L}^{\frac{1}{n}} \text{g}^{-1}$)
n	Constante de Freundlich que indica la intensidad de la absorción
q_e	Cantidad de colorante absorbido en equilibrio
q_m	Capacidad máxima de absorción en el modelo de Langmuir

Tabla 1. Nomenclatura

Al terminar la agitación se midió la absorbancia de la muestra y determinando la concentración final real se pudo obtener la capacidad de absorción experimental determinada por la Ecuación 4.

$$Q_{abs} = \frac{(C_0 - C_f)V}{W} \quad (4)$$

En consiguiente se utilizaron diversos modelos (Tabla 2.) para realizar una isoterma que modele el comportamiento de la reacción.

Isoterma		Forma lineal	Gráfico
Freundlich	$q_e = K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$	$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$	$\ln q_e$ vs. $\ln C_e$
Langmuir-1		$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{b q_m C_e} + \frac{1}{q_m}$	$\frac{1}{q_e}$ vs. $\frac{1}{C_e}$
Langmuir-2		$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m} C_e + \frac{1}{q_m b}$	$\frac{C_e}{q_e}$ vs. C_e
Langmuir-3	$q_e = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e}$	$q_e = -\frac{1}{b} \frac{q_e}{C_e} + q_m$	q_e vs. $\frac{q_e}{C_e}$
Langmuir-4		$\frac{q_e}{C_e} = -b q_e + b q_m$	$\frac{q_e}{C_e}$ vs. q_e
Langmuir-5		$\frac{1}{C_e} = b q_m \frac{1}{q_e} - b$	$\frac{1}{C_e}$ vs. $\frac{1}{q_e}$

Tabla 2. Isotermas de Freundlich y Langmuir en sus formas lineales

Modelo de Langmuir

El modelo de Langmuir supone energías uniformes de absorción en la superficie y no transmigración de adsorbato en el plano de la superficie, la ecuación de Langmuir (Ecuación 5) puede ser escrita como:

$$q_e = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e} \quad (5)$$

Esta ecuación se puede ser linealizar en cinco formas lineales diferentes como se muestra en la tabla 2.

Modelo de Freundlich

El modelo de Freundlich (Ecuación 6) es una ecuación exponencial y por la tanto, se supone que a medida que aumenta la concentración de adsorbato en la superficie del adsorbente también aumenta, se muestra la forma lineal de la isoterma de Freundlich en la tabla 2.

$$q_e = K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (6)$$

RESULTADOS

Los datos de absorción se analizaron para ajustarse a la ecuación de Freundlich y las cinco expresiones linealizadas del modelo de isoterma Langmuir para estimar las constantes de Langmuir q_m y b .

Isoterma	b (L mg ⁻¹) x 10 ³	q_m (mg g ⁻¹)
Langmuir-1	0.001029914	16.18122977
Langmuir-2	0.0000507964	200
Langmuir-3	0.042108809	5.818
Langmuir-4	0.000009	1388.888889
Langmuir-5	-0.0009	-17.8888889
Isoterma	n	K_F (mg ^{1-$\frac{1}{n}$} L ^{$\frac{1}{n}$} g ⁻¹)
Freundlich	1.134687394	0.024487316

Tabla 3. Parámetros de las isotermas de Freundlich y Langmuir

El modelo que mejor simuló la isoterma fue el modelo de Langmuir-5, mostrado en la figura

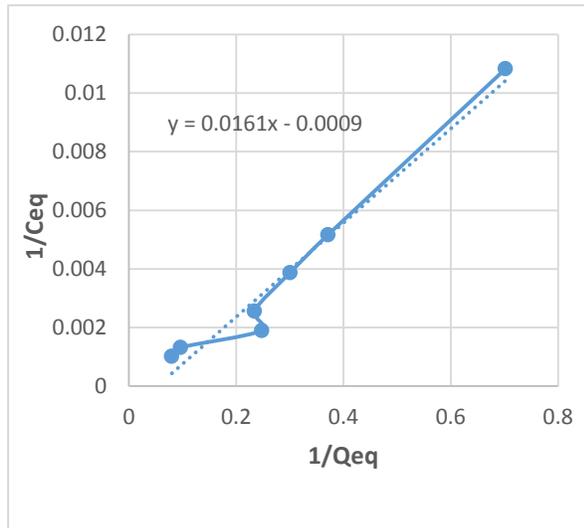


Figura 3. Modelaje de Langmuir-5 de absorción

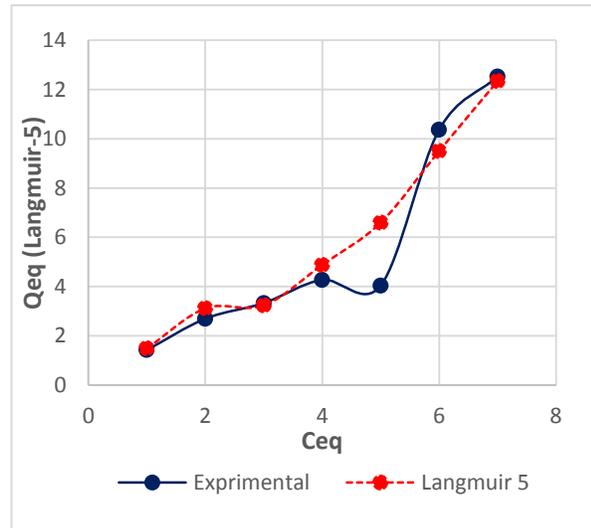


Figura 4. Comparación entre isoterma Langmuir-5 y la experimental

Existe un error considerable en la isoterma experimental tal como se puede ver en la figura 4, esto puede ser a consecuencia del error experimental, en conjunto con el error humano a la hora de la experimentación, por lo cual no se obtiene un resultado tal como se esperaba.

CONCLUSIONES

Aunque el periodo de investigación fue corto, se lograron avances significativos, aunque todos los modelos fueron comparados con la isoterma experimental, solamente uno presentó comportamiento similar a este, y será necesario realizar más experimentos para comprobar que efectivamente se da este comportamiento.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el carbón a base de Flamboyán puede ser utilizado con éxito para la absorción de colorantes como el Azul Ácido 29.

REFERENCIAS

Oualid Hamdaoui, Fethi Saoudi, Mahdi Chiha, Emmanuel Naffrechoux, 2008
Sorption of malachite green by a novel sorbent, dead leaves of plane tree: Equilibrium and kinetic modeling, Chemical Engineering Journal, Volume 143, Issues 1–3, Pages 73-84, ISSN 1385-8947, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.12.018>.

EXTRACCIÓN DE CARACTERÍSTICAS PARA IDENTIFICAR ENFERMEDADES Y PLAGAS EN HOJAS DE CUCURBITA PEPO L.

Ricardo Martínez Velázquez¹ y Elvia Ruth Palacios Hernández²

RESUMEN

Existe un problema bastante común en los cultivos de cucurbitáceas, la cenicilla polvorienta. Dicha enfermedad minimiza el periodo de cosecha, el rendimiento de las plantas y reduce la fotosíntesis lo cual ocasiona senescencia en las hojas de las plantas. Fueron identificados 4 niveles distintos de daño de la cenicilla polvorienta en las hojas de cucurbita (T1-Hoja sana, T2-Hoja en tiempo de germinación, T3-Hoja con primeros síntomas, T4-Hoja enferma). Por medio de imágenes RGB se realizó un estudio a partir de características obtenidas a partir de histogramas en distintos espacios de color. Posteriormente con los datos recopilados se realizó un análisis exploratorio simple, utilizando los componentes principales de las características obtenidas utilizando el método propuesto por Karl Pearson.

Palabras clave: Cenicilla polvorienta, Cucurbita pepo L., histograma de características, análisis de componentes principales

ABSTRACT

A common problem in cucurbits field-crops is the powdery mildew disease. Harvest periods, plant yield, photosynthesis reduction, and premature senescence on leaves are some causes from the infection. Particularly, 4 powdery mildew damage levels were identified on Cucurbita pepo L. leaves: T1 – healthy leaves, T2 – leaves in germination time, T3 – leaves with the first symptoms, and T4 – diseased leaves. An analysis was proposed through RGB images features in order to identify the powdery damage levels. These features were extracted from histograms in different color spaces (HSV, YCbCr and L*a*b*). Then, a principal component analysis (PCA) was executed to obtain the features that best describe each damage level.

Keywords: Powdery mildew, Cucurbita pepo L., histograms features, principal component analysis.

INTRODUCCIÓN

La cenicilla polvorienta es una enfermedad común que se presenta en la mayoría de los cultivos de cucurbitáceas. Particularmente, la planta de Cucurbita pepo L. es muy susceptible a los hongos *Peodphaera xanthii* y *Erysiphe cichoracearum*. En las superficies de las hojas, pecíolos y tallos se desarrolla el crecimiento fúngico blanco y polvoriento. Generalmente las esporas aparecen primero en las hojas de la corona, posteriormente, en las hojas inferiores sombreadas y en la superficie inferior de las plantas causando marchitez. En una planta infectada por la cenicilla polvorienta, disminuye el periodo de cosecha y se reduce la fotosíntesis causando senescencia prematura en las hojas y en el fruto. Además, en un cultivo, el daño de la cenicilla polvorienta hace a las demás plantas débiles a otras enfermedades. Después del día 16 del despliegue de la hoja, se pueden comenzar a observar los primeros síntomas de esta enfermedad.

Actualmente, se realizan prácticas tal como el uso de sustancias químicas que ponen en riesgo la producción del campo a un costo elevado. Otras propuestas para evitar las enfermedades en los cultivos consisten en pruebas destructivas de laboratorio a fin de identificar el daño. Por lo tanto, es importante contar con herramientas de detección automática tomando en cuenta los diferentes niveles de daño en las hojas.

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias, Lateral Av. Salvador Nava s/n, Col. Lomas, C.P. 78290, San Luis Potosí, San Luis Potosí (e-mail: ricardo.mzvz@gmail.com)

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias, Lateral Av. Salvador Nava s/n, Col. Lomas, C.P. 78290, San Luis Potosí, San Luis Potosí (e-mail: epalacios@ciencias.uaslp.mx)

Con este estudio se pretende identificar los distintos niveles de daño por medio de la extracción de características a través de los histogramas de imágenes de las hojas en distintos espacios de color, posteriormente identificar ciertos patrones en las características obtenidas, por medio del análisis exploratorio de datos multivariados.

METODOLOGÍA

La base de datos utilizada para este estudio contiene un aproximado de 4,000 imágenes RGB de hojas de cucurbita pepo L. de las cuales se seleccionaron manualmente un aproximado de 400 imágenes. En las cuales fueron previamente identificados 4 niveles de daño: T1-Hoja sana, T2-Hoja en tiempo de germinación, T3-Hojas con primeros síntomas y T4-hojas enfermas (figura 1). Estos niveles fueron revisados por agricultores que cuentan con experiencia en cultivo de cucurbitáceas.

La planta de cucurbita presenta diferentes características en las hojas cuando un agente fúngico se presenta. Cuando las hojas son jóvenes los primeros síntomas aun no son visibles. La cenicilla polvorienta aparece generalmente en la etapa de floración y del desarrollo del fruto. Una vez que la espora se establece en la hoja existe un periodo de 3 a 7 días de tiempo de germinación. Después de estos días se hace visible los primeros síntomas en pequeñas manchas blancas circulares con esporas. A partir de este momento la enfermedad comienza a visualizarse en la mayoría de la planta, cubriendo tallos flores y frutos, sin embargo, a estas alturas el nivel de daño ya es muy alto. Por lo tanto, el problema parte de identificar las diferentes características de cada nivel de daño que sirvan para la detección temprana y automática de estos.

El estudio realizado consta de 4 etapas: selección de zonas de interés, cambio de espacios de color, extracción de características de los histogramas y análisis exploratorio multivariado. Para la primera etapa se consideraron 3 zonas de interés por cada imagen tomada, las zonas seleccionadas se encuentran en la parte central de la hoja y en los laterales, cada zona de interés fue seleccionada manualmente y cada una tiene un tamaño de 200 x 200 píxeles (figura 2).

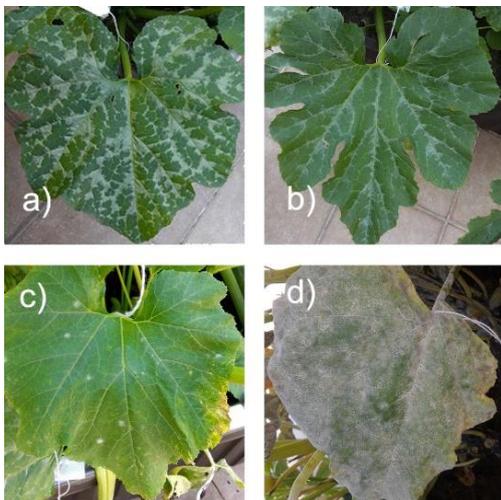


Figura 1. Niveles de daño identificados en las hojas: a) hoja sana, b) hoja en tiempo de germinación, c) hojas con primeros síntomas, d) hoja enferma

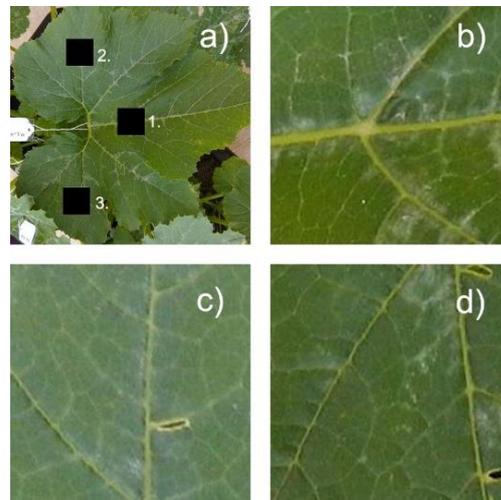


Figura 2. Zonas de interés en una hoja: a) imagen completa, b) primer zona de interés, c) segundo zona de interés, d) tercer zona de interés.

En la segunda etapa, se aplicó contraste en las zonas de interés para resaltar todos los colores junto con las diferencias que pueda haber entre cada nivel de daño. Posteriormente, manejando las imágenes como matrices de 200 x 200 x 3 en MATLAB, se aplicaron 3 distintos espacios de color a cada una de las zonas de interés: HSV, YCbCr y L*a*b* (figura 3). El primer espacio de color (HSV) basado en la tonalidad, saturación y brillo, el segundo (YCbCr) basado en la luminosidad, la diferencia de azul y la diferencia de rojo, y el tercero (L*a*b*) basado en luminosidad, tonalidad verde/rojo y tonalidad azul/amarillo, a continuación, se obtuvieron los histogramas de las imágenes basados en la tonalidad de los distintos componentes de cada espacio de color, de esta forma se generaron nueve histogramas por cada imagen a analizar (figura 4).

En la tercera etapa se generó la base de datos que posteriormente fue usada para realizar el análisis exploratorio. A partir de cada histograma se calcularon las estadísticas sumarias (media, moda, mediana, varianza, energía y entropía) de cada una de las imágenes en los nueve componentes, también se consideró como una variable el nivel de daño que presenta la hoja de la cual se obtuvieron las características mencionadas, finalmente se generó una base de datos que consta de 300 casos y 55 variables. En la última etapa se trabajó con la base de datos generada en la tercera etapa, el análisis exploratorio se realizó con apoyo del software R [Verzani, 2014].

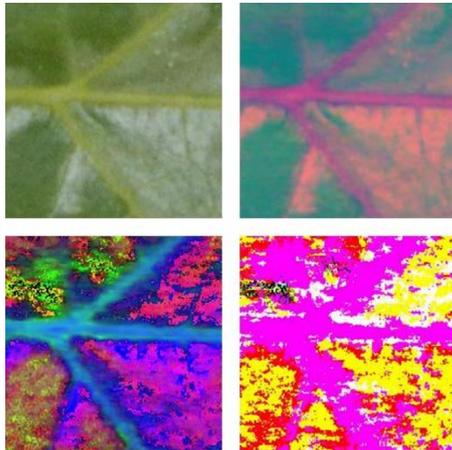


Figura 3. Zona de interés en distintos espacios de color: a) imagen original, b) YCbCr, c) HSV, d) $L^*a^*b^*$

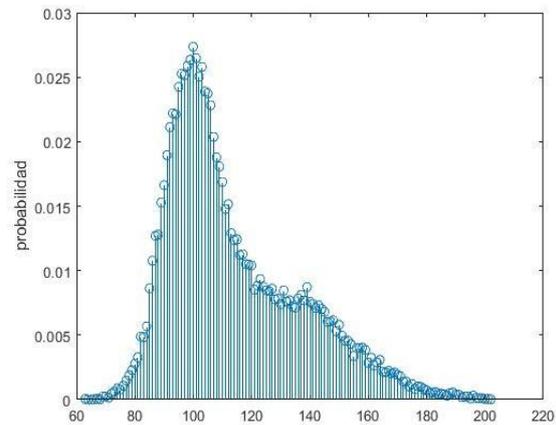


Figura 4. Ejemplo de un histograma utilizado para la obtención de las características sumarias

Debido a la complejidad que se tiene del manejo de 55 variables, se decidió reducir el número de estas por medio del cálculo de los componentes principales utilizando el método introducido por Karl Pearson e implementado de forma práctica por Harold Hotelling [Everitt & Hothorn, 2011], cada componente principal fue realizado por medio de una combinación lineal de cada una de las variables, este método permitió reducir el número de variables a cinco (PC1, PC2, PC3, PC4, PC5) conservando un 99.98 % de la información siendo PC1 el componente principal que conserva la mayor cantidad de información. Con las nuevas variables se hizo la comparación de la distribución de los datos explicado por el nivel de daño de las plantas, mediante este análisis se pudieron detectar ciertos patrones que podrían servir para la detección automática del nivel de daño de la planta.

RESULTADOS

La comparación de los datos en cada uno de los componentes principales se realizó mediante el uso de graficas de dispersión para cada par de variables explicados por el nivel de daño (figura 5), este tipo de grafica facilitó la observación de la correlación existente entre los componentes principales calculados. La correlación más alta se presentó en los componentes principales PC3 y PC4 mientras que la correlación mas baja se encuentra en los componentes principales PC1 y PC5, esto nos permite saber que PC3 y PC4 aportan información muy similar, caso contrario para los componentes PC1 y PC5.

En la comparación de distribución de datos se utilizaron cuatro tipos de graficas distintas (figura 6): diagrama de caja, densidad empírica, diagramas de bandas y diagramas cuantil – cuantil, cada una de las gráficas explicadas según el nivel de daño, los datos muestran una distribución normal, simétrica y unimodal en cada uno de los componentes principales.

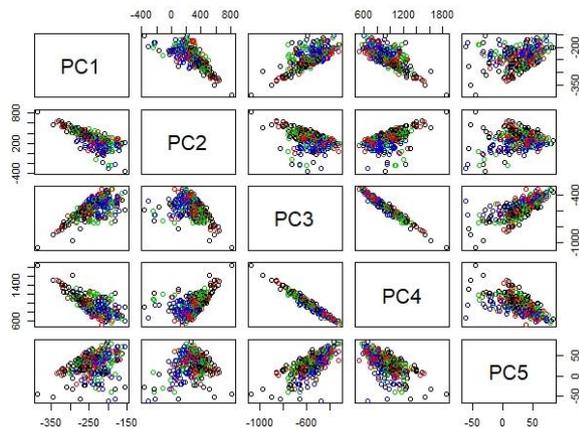


Figura 5. Diagramas de dispersión de cada par de componentes principales

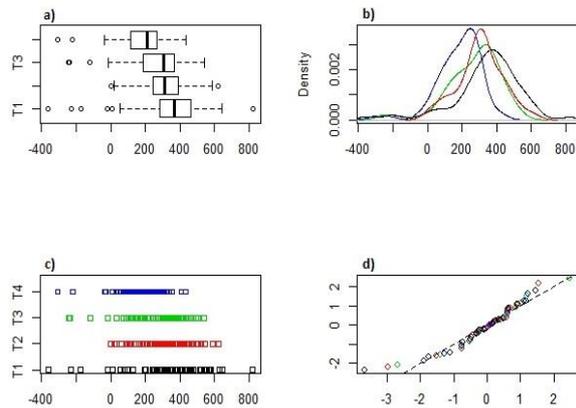


Figura 6. Gráficos aplicados en PC2: a) diagrama de caja, b) densidad empírica, c) diagrama de bandas, d) diagrama cuantil - cuantil

Comparando la distribución que muestran los datos se puede observar que, dependiendo de el nivel de daño presentado en la planta, la distribución de los variables se ve afectada, esto es más evidente analizando los diagramas de caja, por lo que se compararon dichos gráficos en cada una de las cinco variables (figura 7), principalmente se destaca que las distribuciones para todos los componentes principales tienden a ser desplazadas mientras el nivel de daño es más grande, también se observa para algunas variables (PC1, PC3 y PC4) la distribución de los datos tiende a ser más amplia entre menor sea el nivel de daño. Se intuye que las observaciones podrían ser más notorias al ampliar el número de casos analizados.

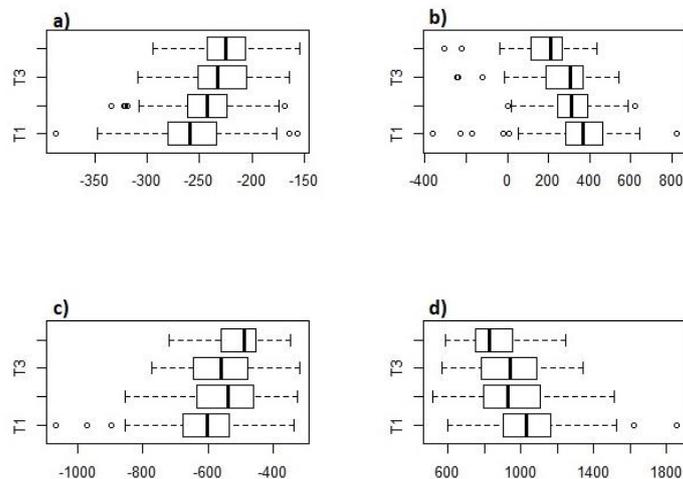


Figura 7. Diagrama de cajas aplicado para cada componente principal: a) PC1, b) PC2, c) PC3, d) PC4

CONCLUSIONES

Este estudio abre las puertas para desarrollar la detección automática del nivel de daño en las plantas de cucurbitáceas, se pudieron observar distintos patrones que podrían servir para esto. Los patrones observados podrían ser más notorios utilizando herramientas más complejas, ampliando el número de muestras, seleccionando rigurosamente las características extraídas de las muestras que serían estudiadas o analizando zonas más amplias de cada hoja. Esto podría brindar a mediano/ largo plazo una solución viable para el problema presentado en las cosechas de cucurbitáceas, sin implicar el uso de químicos que dañen las plantas, ni equipos avanzados que impliquen un gasto muy alto por parte de los agricultores. Las ideas aplicadas en este estudio pueden ser aplicadas en múltiples áreas. En conclusión, los resultados en este estudio demuestran la posibilidad

llegar a la detección automática con un error bajo, sin embargo, es necesario un estudio mas profundo que posiblemente implique el uso de herramientas distintas, sin perder la esencia de lo que realizó en este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- Verzani, J. (2014). Using R for introductory statistics. Chapman & Hall
- Everitt, B. & Hothorn, T. (2011). An introduction to Applied Multivariate Analysis with R. Springer
- Cuevas, E. (2010). Procesamiento digital de imágenes usando MatLAB & Simulink. Alfaomega
- Cunha-Carneiro, P., Nunes-Franco M.L., Lima Thomaz R., Patrocinio A. (2017). "Breast density pattern characterization by histogram features and texture descriptors" en Research Biomedical Engineering, num. 1, vol. 33, [pp 69-77]

FORMULACIÓN DE UNA LOCIÓN ANTI-ACNÉ CON EXTRACTO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) Y EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA

Roque González Razo, María Rico Martínez

RESUMEN

El ajo (*Allium sativum*) es una planta de la familia Liliaceae. La raíz es un ingrediente tradicional en la gastronomía mexicana y en algunas culturas del mundo. Debido a sus propiedades observadas desde la antigüedad, ha sido utilizado con fines curativos entre las que se destaca su actividad antimicrobiana. Aquí se describe la segunda parte del proyecto “Formulación y evaluación de una loción anti-acné con extracto de ajo (*Allium sativum*) y su evaluación antimicrobiana”, para ello se realizó un análisis FODA para analizar y conocer de forma sencilla los aspectos más sobresalientes acerca de esta loción. Se realizó un modelo de negocios mediante canvas para analizar la viabilidad de comercializar el producto en un futuro, teniendo en cuenta que existe un mercado competitivo. Este proyecto tiene la finalidad de promover la generación de conocimiento que puede ser útil a la sociedad, mediante la formulación de una idea y su posterior aplicación como producto.

INTRODUCCIÓN

El acné común es una enfermedad de la piel que afecta a personas entre 11-30 años, es causada por la obstrucción de los poros de la piel, causando un microambiente idóneo para bacterias como *Propionibacterium acnes* (James, 1997). El acné afecta principalmente el rostro y cuello, dejando cicatrices en una parte de la población afectada, lo que conlleva a problemas de autoestima afectando la calidad de vida de las personas (Piquero, Koves, Alió , & Bohorquez, 2000). Los tratamientos para eliminar o disminuir los efectos del acné son diversos e incluye el uso de antibióticos (Williams , Dellavalle, & Garner, 2012), el uso de compuestos naturales con actividad antimicrobiana (Domingo & López-Brea, 2003), uso de productos de higiene y más tratamientos diversos.

El modelo CANVAS ayuda a gestionar y generar ideas de negocio innovadoras, factibles y sustentables, que impacten en el entorno social, económico y ambiental. Tiene los siguientes puntos a desarrollar:

- **SEGMENTO DE MERCADO.** Se define el segmento de mercado al cual está dirigido el producto, mediante un análisis de la problemática que se desea resolver de un grupo de personas.
- **PROPUESTA DE VALOR.** Son aquellas características que tiene el producto y se posiciona por encima de otros productos similares o marcas.
- **CANALES DE DISTRIBUCION.** Canales de comunicación, distribución y venta del producto, medio a través del cual la empresa está en contacto con el cliente, de forma que el primero proporciona el producto comercial al consumidor final.
- **RELACIONES DE LOS CLIENTES.** Relación que tiene la empresa con el cliente, su finalidad es mantener los clientes actuales, mejorar la imagen de la empresa y posicionar la marca.
- **FUENTES DE INGRESOS.** Medio por el cual se obtienen las ganancias de la venta del producto o servicio.
- **RECURSOS CLAVE.** Aquellos recursos que le generan valor al producto, permiten que llegue al mercado y percibir ingresos.
- **ACTIVIDADES CLAVE.** Actividades que permiten que la empresa desarrolle y comercialice el producto o servicio, sin estas actividades, no se puede tener éxito.
- **SOCIOS CLAVE.** Red de socios y proveedores que contribuyen al funcionamiento de la empresa, con el fin de reducir riesgos, adquirir recursos, o llegar a acuerdos comerciales.
- **ESTRUCTURA DE COSTOS.** Involucra un análisis de los costos totales que involucra producir y comercializar el producto o servicio.

METODOLOGIA

Establecer los APV (Valores corporativos), análisis FODA de la loción anti-acné y finalmente se realizó un modelo de negocio mediante CANVAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

Establecer los APV (Valores corporativos)

- Honestidad
- Eficiencia
- Responsabilidad
- Cuidado de la salud
- Bienestar social y emocional

FASE I. IDENTIFICACIÓN Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA (ANÁLISIS FODA)

Fortalezas:

- Cuenta con una formula propia la cual está diseñada para combatir el problema de acné a través de plantas naturales.
- Ingredientes naturales.
- Investigación científica y técnica del producto.
- Efectos exfoliantes, antioxidantes, cicatrizantes, limpiadores, propiedades anti-fúngicas y efecto antibacteriano.

Oportunidades:

- Aprovechar los recursos que nos ofrece la naturaleza y plasmarlos en una loción para controlar problemas causados por acné.
- Aumento de la población que desea utilizar productos naturales.

Debilidades:

- Estandarización del método.
- Esta en fase de prototipo.
- Sin patente.

Amenazas:

- Competencia en el mercado con marcas altamente reconocidas y con aprobación científica.
- Alergia a algunos de los componentes de la formula, ejemplo azufre y difamación del producto.

FASE II. ELABORACIÓN DE UN MODELO DE NEGOCIOS MEDIANTE CANVAS

1.SEGMENTO DE MERCADO. ADOLECENTES, ADULTOS, ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS. El acné es un problema que se presenta en casi todas las personas, pero a diferentes edades según su metabolismo.

2.PROPOSTA DE VALOR. AUTOESTIMA, CONFIANZA, SEGURIDAD. Inculcar valores personales en las personas.

3.CANALES DE DISTRIBUCION. TIENDAS DEPARTAMENTALES, TIENDAS ONLINE.

4.RELACIONES DE LOS CLIENTES. INDIRECTA. Debido a que no hay una comunicación directa entre el productor y el consumidor final, para la distribución de la loción se realizará mediante empresas como las tiendas departamentales.

5.FUENTES DE INGRESOS. VENTAS de la loción.

6.RECURSOS CLAVE. PATENTE DE LA FORMULACION.

7.ACTIVIDADES CLAVE: DESARROLLO TECNICO, PATENTE DE LA FORMULACIÓN E INVESTIGACIÓN CONSTANTE.

8.SOCIOS CLAVE. TIENDAS RETAIL. Empresas dedicadas a la comercialización de productos de forma masiva.

9.ESTRUCTURA DE COSTOS. ADQUISICION DE PATENTES, EQUIPO INDUSTRIAL Y COSTO DEL PROCESO.

CONCLUSIONES

El uso de la herramienta CANVAS permite realizar un primer análisis sobre la viabilidad de desarrollar y comercializar una loción anti-acné, también es un buen parámetro para decidir las investigaciones científicas futuras y que sean acordes a las necesidades de la población.

BIBLIOGRAFIA

Domingo, D., & López-Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Rev Esp Quimioterap* , 385-393.

James, J. (1997). Therapy for acne vulgaris. *Drug Therapy* .

Pigneur, A. O. (2011). *Generacion de modelo de negocios*. Barcelona: Grupo planeta.

Piquero, J., Koves, E., Alió , A. B., & Bohorquez, O. (2000). Un ejemplo de acné conglobata: sus implicaciones Bio-Psico-Sociales. *DERMATOLOGÍA VENEZOLANA*.

Williams , H. C., Dellavalle, R. P., & Garner, S. (2012). Acne vulgaris. *The lancet*, 361-372.

POLINOMIO DE EHRHART DEL POLITOPO DE BASES DE UN MATROIDE *LATTICE PATH*.

Rubén Abraham Moreno Segura¹ y César Israel Hernández Vélez²

RESUMEN

Un Norte-Este *lattice path* L es una sucesión $v_0, \dots, v_k \in \mathbb{Z}^2$ tal que cada paso $s_i = v_i - v_{i-1}$, $i \in \{1, \dots, k\}$, pertenece a $S = \{(0,1), (1,0)\}$. El paso $(0,1)$ es llamado Este y el paso $(1,0)$ es llamado Norte. Dados dos Norte-Este *lattice path* P y Q , de $(0,0)$ a (m,r) , donde P nunca pasa encima de Q , los *lattice paths* que van desde $(0,0)$ hasta (m,r) y que siempre están entre P y Q es el conjunto de bases de un matroide, al que denominamos *Matroide Lattice Path*. En este trabajo presentamos los polinomios de Ehrhart asociados al politopo de bases de algunos Matroides Lattice Path.

ABSTRACT

A North-East lattice path L is a sequence $v_0, \dots, v_k \in \mathbb{Z}^2$ such that each step $s_i = v_i - v_{i-1}$, $i \in \{1, \dots, k\}$, belongs to $S = \{(0,1), (1,0)\}$. The step $(0,1)$ is called East and the step $(1,0)$ is called North. Given two North-East lattice path, say P and Q , from $(0,0)$ to (m,r) , where P do not go above Q , the set of all the lattice paths from $(0,0)$ to (m,r) and between P and Q is the basis set of a matroid, which is called Lattice Path Matroid. In this paper we obtain the Ehrhart polynomial of the basis polytope of some Lattice Path Matroids.

Palabras Clave: Matroide; politopo; polinomio de Ehrhart; lattice path matroid.

INTRODUCCIÓN

Un *matroide* M es una pareja (E, \mathcal{J}) , donde E es un conjunto finito llamado *conjunto base* e $\mathcal{J} \subseteq \mathcal{P}(E)$ satisface las siguientes condiciones:

- I. $\emptyset \in \mathcal{J}$
- II. Si $I \in \mathcal{J}$ e $I' \subseteq I$, entonces $I' \in \mathcal{J}$.
- III. Si $I, I' \in \mathcal{J}$ y $|I'| < |I|$, entonces existe $x \in I \setminus I'$ tal que $I' \cup \{x\} \in \mathcal{J}$.

Al conjunto \mathcal{J} le llamamos *conjunto de independientes*.

Un matroide puede ser definido, de forma equivalente, como un par ordenado (E, \mathcal{B}) , donde E es un conjunto finito y $\mathcal{B} \subseteq \mathcal{P}(E)$ cumple las siguientes propiedades:

- I. $\mathcal{B} \neq \emptyset$.
- II. Sean $B_1, B_2 \in \mathcal{B}$. Si $x \in B_1 \setminus B_2$, entonces existe $y \in B_2 \setminus B_1$ tal que $B_1 - x + y \in \mathcal{B}$.

Al conjunto \mathcal{B} le denominamos *conjunto de bases* y a los elementos de \mathcal{B} se llaman *bases*.

Sea $M = (E, \mathcal{B})$ un matroide, donde $E = \{1, \dots, n\}$. Dada una base $B \subseteq \{1, \dots, n\}$, el *vector de incidencia* e_B de B se define como

$$e_B := \sum_{i \in B} e_i,$$

donde e_i es el i -ésimo vector estándar en \mathbb{R}^n .

¹Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Lateral Av. Salvador Nava s/n, Zona Universitaria, San Luis Potosí, SLP, México 78290. abram.moreno@alumnos.uaslp.edu.mx;

²Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Lateral Av. Salvador Nava s/n, Zona Universitaria, San Luis Potosí, SLP, México 78290. cesar.velez@uaslp.mx

Para un matroide $M = (E, \mathcal{B})$, el politopo de bases P_M de M se define como la envolvente convexa de los vectores de incidencia e_B de las bases de M ; es decir,

$$P_M := \text{conv} \{e_B : B \in \mathcal{B}\}$$

Dado un politopo P en \mathbb{R}^n y un entero positivo k , la k -ésima expansión de P , denotada kP , es el politopo formado al multiplicar cada coordenada de un vértice de P por el factor k . Definimos la función

$$\mathcal{L}(P, k) := (kP \cap \mathbb{Z}^n),$$

es decir, el número de puntos enteros (o sea, puntos cuyas coordenadas son todas números enteros) en la k -ésima expansión de P .

Para un politopo entero P (los vértices de P son puntos enteros), la función $\mathcal{L}(P, k)$ está determinada por un polinomio

$$\mathcal{L}(P, k) = c_d k^d + \dots + c_1 k + c_0 \in \mathbb{Q}[k]$$

de grado $d = \dim(P)$, llamado el polinomio de Ehrhart (Ehrhart, 1962).

Una forma de codificar un *lattice path* P es con el vector $st(P) = (s_1, \dots, s_{r+m})$, donde $s_i = 0$ si el i -ésimo paso es Este o $s_i = 1$ si el i -ésimo paso es Norte, para $1 \leq i \leq r+m$. (Bonin, de Mier, & Noy, 2003) probaron que, dados dos *lattice paths* U, L que van de $(0,0)$ a (m,r) y con L siempre debajo de U , el conjunto \mathcal{P} de los *lattice paths* P que nunca están debajo que L o encima de U forman el conjunto de bases de una matroide, al cual llamamos *Matroide Lattice Path* (LPM) y se denota como $M[L, U]$.

Un LPM es llamado *serpiente* si tiene al menos dos elementos, está conectado y su diagrama no tiene puntos interiores (Figura 1) (Knauer, Martínez-Sandoval, & Ramírez-Alfonsín, 2018). Se representa una serpiente como $S(a_1, \dots, a_n)$ si empieza en el origen, su diagrama contiene $a_1 \geq 1$ cuadros hacia la derecha, luego $a_2 \geq 2$ hacia arriba, después $a_3 \geq 2$ cuadros hacia la derecha, y así sucesivamente hasta un $a_n \geq 2$, donde el último cuadro contado para cada a_i coincide con el primer cuadro contado por a_{i+1} para todo $i \leq n-1$.

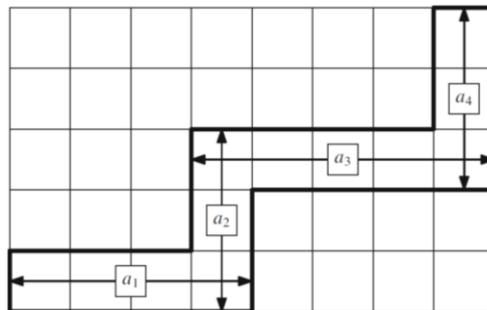


Figura 1. Diagrama de la Serpiente $S(a_1, a_2, a_3, a_4)$.

Fuente: Knauer, Martínez-Sandoval, Ramírez-Alfonsín, 2018, p. 5

El politopo de bases de un LPM serpiente se denomina *politopo serpiente* (*snake polytope*).

MÉTODOS Y MATERIALES

La búsqueda de la información se realizó en la página Creativa de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, principalmente en las bases de datos EBSCO Publishing, American Mathematical Society, Scopus y SpringerLink. Se usaron las palabras clave “polytopes”; “Ehrhart polinomial”; “lattice path matroid”; “matroid theory”. También se realizó la búsqueda de sitios web a través de Google, así como en revistas especializadas matemática y documentos de universidades sobre la materia.

Con la lectura de varios artículos de investigación relacionados a la temática, se obtuvieron ideas para encontrar la respuesta a nuestro objetivo de investigación «Determinar el polinomio de Ehrhart del politopo de bases de una matroide lattice path, para una familia de LTM».

RESULTADOS

Se obtuvieron los polinomios de Ehrhart de cuatro familias de politopos serpientes, del politopo de bases de una familia de LPM que se denominó “cobras” y del politopo de bases de una tercer familia de LPM distinta a las serpientes y cobras. La idea general de la estrategia que se empleó para obtener los resultados se muestra a continuación.

Cuadro 1. Lista de polinomios de Ehrhart obtenidos

LPM	Polinomio de Ehrhart
$S_{a,1}$	$\mathcal{L}(P(S_{a,1}), k) = \frac{(k+a) \dots (k+1)}{a!} \quad (1)$
$S_{a,2}$	$\mathcal{L}(P(S_{a,2}), k) = \frac{(k+a) \dots (k+1)}{(a+1)!} [ak + (a+1)] \quad (2)$
$S_{a,3}$	$\mathcal{L}(P(S_{a,3}), k) = \frac{(k+a) \dots (k+1)}{(a+2)!} \left[\frac{1}{2}a(a+1)k^2 + \frac{1}{2}a(3a+7)k + (a+1)(a+2) \right] \quad (3)$
$S_{a,2,2}$	$\mathcal{L}(P(S_{a,2,2}), k) = \frac{(k+a) \dots (k+1)}{(a+2)!} \left[\frac{1}{2}a(a+3)k^2 + \frac{1}{2}(a+1)(3a+4)k + (a+1)(a+2) \right] \quad (4)$
$C_{a,2}$	$\mathcal{L}(P(C_{a,2}), k) = \frac{(k+a-1) \dots (k+1)}{(a+1)!} \left[\frac{1}{2}(a^2+3a-2)k^2 + (3a^2+a+2)k + a(a+1) \right] \quad (5)$
$\mathcal{U}_{2,2}$	$\mathcal{L}(P(\mathcal{U}_{2,2}), k) = \frac{2}{3}k^3 + 2k^2 + \frac{7}{3}k + 1 \quad (6)$

Para contar el número de puntos enteros de la k -ésima expansión del politopo serpiente se utilizó el siguiente resultado.

Corolario [Corollary 3.6, (Knauer, Martínez-Sandoval, & Ramírez-Alfonsín, 2018)]

Sea M un LPM con un conjunto base de n elementos y $k \in \mathbb{N}$. Entonces, un punto $p \in \mathbb{R}^n$ está en $kP_M \cap \mathbb{Z}^n$ si y sólo si p corresponde a un *lattice path* generalizado. (Figura 2)

El corolario anterior nos permite reducir nuestro problema a un problema combinatorio de conteo.

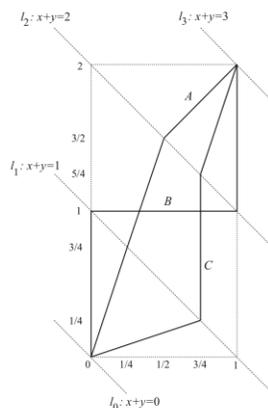


Figura 2. Tres lattice path generalizados, A, B, C en la serpiente $S_{1,2}$
Fuente: Knauer, Martínez-Sandoval, Ramírez-Alfonsín (2018), p. 6

El número de puntos enteros en la 2-expansión del polítopo serpiente $P(S_{a,1})$ está dado por el polinomio (1) del Cuadro 2, que se obtiene al contar los caminos generalizados al tomar una 1-división en la *lattice*. De manera general, el número de puntos enteros en la k -ésima expansión del polítopo serpiente $P(S_{a,1})$ se obtiene al contar los caminos generalizados al tomar una $(k - 1)$ -división en la *lattice*.

Cuadro 2. Relación de la Serpiente $S_{a,1}$ con el Triángulo de Pascal

División	Total de caminos	Tipo de número	Polinomio de Ehrhart
1-división	$\binom{a+2}{2}$	Triangular	$\mathcal{L}(P(S_{a,1}), 2) = \frac{(a+2)(a+1)}{2}$ (7)
2-división	$\binom{a+3}{3}$	Tetraédrico	$\mathcal{L}(P(S_{a,1}), 3) = \frac{(a+3)(a+2)(a+1)}{6}$ (8)
3-división	$\binom{a+4}{4}$	Pentagonal	$\mathcal{L}(P(S_{a,1}), 4) = \frac{(a+4)(a+3)(a+2)(a+1)}{24}$ (9)
4-división	$\binom{a+5}{5}$	Pentagonal centrado	$\mathcal{L}(P(S_{a,1}), 5) = \frac{(a+5)(a+4)(a+3)(a+2)(a+1)}{120}$ (10)
$(k-1)$ -división	$\binom{k+a}{a}$		$\mathcal{L}(P(S_{a,1}), k) = \binom{k+a}{a}$

Para el polinomio (2) en el Cuadro 1, se consideró una $(k - 1)$ -división de la *lattice*. Partiendo del i -ésimo punto de la división en el a -ésimo cuadro de la primera fila, podemos calcular el número de caminos generalizados que llegan al i -ésimo punto en el cuadro de la posición $(a, 2)$ como se muestra en la Figura 3. Las líneas rojas que se muestran en la Figura 3 delimitan los puntos de los cuales puede provenir un camino que llega al i -ésimo punto en el cuadro $(a, 2)$.

Entonces, el número de caminos generalizados que llegan al i -ésimo punto del cuadro $(a, 2)$ va a ser

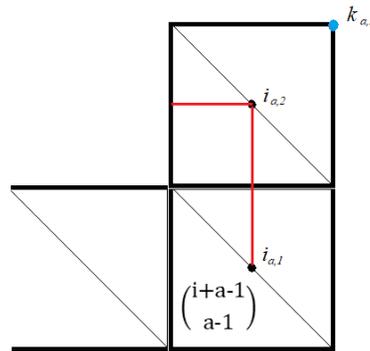


Figura 3. Diagrama de los i -ésimos puntos en la Serpiente $S_{a,1}$

$$\begin{aligned} \sum_{j=i}^k \binom{i+a-1}{a-1} &= \sum_{j=0}^k \binom{j+a-1}{a-1} - \sum_{j=0}^{i-1} \binom{j+a-1}{a-1} \\ &= \binom{k+a}{a} - \binom{i+a-1}{a} \end{aligned}$$

Luego para obtener el total de caminos generalizados que llegan al punto azul de la Figura 3 se realiza la suma

$$\sum_{j=0}^k \left(\binom{k+a}{a} - \binom{i+a-1}{a} \right) = (k+1) \binom{k+a}{a} - \binom{k+a}{a+1},$$

de lo cual se obtiene el polinomio (2) del Cuadro 1. De manera similar se obtuvieron los polinomios (3) y (4) obtenidos en el Cuadro 1. Para el polinomio (5) se realizó una «descomposición» del diagrama de la Cobra $C_{a,2}$ (Figura 4) a partir del vértice mostrado en rojo.

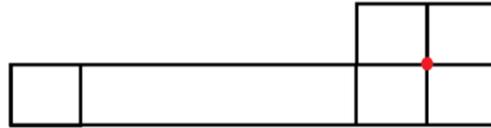


Figura 4. Diagrama donde se muestra el vértice para la descomposición de la Cobra $C_{a,2}$.

CONCLUSIONES

El polinomio de Ehrhart $\mathcal{L}(P, k)$ nos permite obtener varias informaciones sobre el politopo P ; por ejemplo, $\mathcal{L}(P, 1)$ establece el número de vértices que definen al politopo y por consiguiente el número de bases del matroide asociado al él. Otro hecho aún más relevante es que el coeficiente del término líder del polinomio de Ehrhart $\mathcal{L}(P, k)$ determina el volumen normalizado del politopo (Macdonal, 1963).

Cuadro 3. Volumen normalizado del politopo asociado a los LPM

LPM	Volumen
$S_{a,1}$	$V(P(S_{a,1})) = \frac{1}{a!}$
$S_{a,2}$	$V(P(S_{a,2})) = \frac{1}{(a+1)(a-1)!}$
$S_{a,3}$	$V(P(S_{a,3})) = \frac{1}{2(a+2)(a-1)!}$
$S_{a,2,2}$	$V(P(S_{a,2,2})) = \frac{(a+3)}{2(a+2)(a+1)(a-1)!}$
$C_{a,2}$	$V(P(C_{a,2})) = \frac{a(a+3)-2}{2(a+1)!}$
$u_{2,2}$	$V(P(S_{a,2})) = \frac{2}{3}$

BIBLIOGRAFÍA

Ardilla, F., Benedetti, C., y Doker, J. (2010). Matroid polytopes and their volumen. *Discrete Comput Geom.*, 43, 841-854.

Bonin, J., de Mier, A., Noy, M. (2003). Lattice path matroids: enumerative aspects and Tutte polynomials. *J. Combin. Theory Ser. A* 104(1), 63-94.

Ehrhart, Eugène (1962). Sur les polyèdres rationnels homothétiques à n dimensions, *C. R. Acad. Sci. Paris*, 254, 616-618

Hausmann, B. and Seidel, H.-P. (1994). Visualization of regular polytopes in three and four dimensions, *Computer Graphics Forum*, 13(3), 305-316.

Knauer, K.; Martínez-Sandoval, L.; Ramírez-Alfonsín, J. L. (2018). On lattice path matroid polytopes: integer points and Ehrhart polynomial. *Discrete Comput. Geom.* <https://doi.org/10.1007/s00454-018-9965-4>

Macdonald, I. G. (1963). The volume of a lattice polyhedron. *Proc. Cambridge Philos. Soc.*, 59, 719-726.

Oxley, J. (2011). *Matroid theory* (2ed). Oxford, UK: Oxford University Press.

Welsh, D. J. A. (1976). *Matroid theory*. London-New York: Academic Press.

RIQUEZA Y ABUNDANCIA DE PEQUEÑOS MAMÍFEROS NO VOLADORES EN VEGETACIÓN SECUNDARIA DE BOSQUE TROPICAL CADUCIFOLIO DEL BAJIO MEXICANO.

Benavides-García Samuel Eusebio¹ y Ávila Aguilar Daniel²

RESUMEN

La perturbación de los ecosistemas debido a las actividades antrópicas ha modificado el estado de las poblaciones de especies silvestres y ha reducido su diversidad en todo el mundo. A pesar de la transformación y fragmentación de los hábitats algunas especies llegan a ser más resistentes a estos cambios y logran mantener poblaciones en estos ambientes. Por ello nos dimos a la tarea de determinar la riqueza y abundancia de la comunidad de pequeños no voladores en un ambiente perturbado. Para esto se llevaron a cabo muestreos de tres transectos de diez trampas tipo Sherman durante dos noches en un parche de vegetación secundaria de bosque tropical caducifolio. Se logró identificar un total de seis especies del orden Rodentia. Lo que permitió reconocer que a pesar del alto nivel de perturbación aún se encuentran presentes algunas especies silvestres de pequeños mamíferos no voladores.

Palabras Clave: Captura, roedores, antropizada, Guanajuato.

ABSTRACT

The disruption of ecosystems due to human activities has changed the status of the populations of wild species has reduced diversity species around the world. Despite the transformation and fragmentation give them habitats some species become more resistant to these changes and manage to maintain populations in these environments. Therefore, we realized the task of determining the wealth and abundance of the community of non-flying small in a disturbed environment, for this were carried out samplings were made three different transects during ten traps Sherman type each two nights in a p Arche of secondary vegetation of tropical deciduous forest. It was able to identify a total of six species of the order Rodentia. What allowed to recognize that despite the high level of disturbance are still present some wild species of small non-flying mammals.

KEY Words: Capture, rodents, anthropized, Guanajuato.

INTRODUCCIÓN

Para México se registran 522 especies de mamíferos, representadas por 291 géneros, 47 familias y 12 órdenes, lo que coloca entre los primeros lugares en diversidad mundial acompañado por Brasil e Indonesia. La mayoría de los mamíferos terrestres son de tamaños pequeños con un porcentaje del 66% del total de las especies de mamíferos con un peso de hasta 500 g, además de presenta mayor presencia de especies endémicas, el 27% de los mamíferos son de tamaño mediano y presenta un peso de entre 501g y 10 kg, y solo el 7% son de tamaño grande y con peso mayor a los 10 kg.

En Guanajuato se conocen 87 especies de mamíferos de los que destaca con mayor número de especies el orden Rodentia (ratones, ardilla y tuza) con 32, y otros ordenes menos representativos como Lagomorpha (liebres y conejos) con solo 4 especies, el Soricomorpha (musarañas) con 2, Cingulata (armadillos) y Didelphimorphia (marsupiales) con una especie cada uno (Sánchez et al., 2012). El orden Rodentia es el de mayor número de especies con 235 lo que equivale a un aproximado de 45% de total de mamíferos en México, que están representados por ocho familias donde se incluyen aridillas, castores, tuzas, ratas canguros, ratas y ratones, seretes, pacas y puerco espines y presentan el nivel de endemismo más alto con 113 especies. Los roedores desarrollan un sinfín de formas, además de presentar un carácter distintico que es son sus incisivos de crecimiento continuo y no poseen caninos. Son cosmopolitas, y por lo general se adaptan habitar en regiones perturbadas y presentan una alta tasa de natalidad (Riecher Pérez y de la Cruz Ancheita, 2012).

En el caso del bosque tropical caducifolio en del Bajío se registran un total de 16 especies de roedores pequeños: *Lyomis irroratus*, *Perognatus flavus*, *Baoimys taylori*, *Neotoma mexicana*, *Oligomzomys fulvescens*, *Peromyscus*

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, CP: 36821 Irapuato, Guanajuato, samy04chevin96@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, Daniel Ávila Aguilar, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, daniel.avila@itesi.edu.mx

difficilis, *P. gratus*, *P. levipes*, *P. maniculatus*, *P. melanophrys*, *P. pectoralis*, *Reithrodontomys fulvescens*, *R. megalotis*, *Sigmodon hispidus*, *Spermophilus mexicanus* y *Sciurus oculatus* (Gutiérrez García, Luna Soria, López González, y Pineda López, 2007; Sánchez, y et al, 2012;).

Las actividades antrópicas provocan impactos negativos muy severos sobre los ambientes. Lo que ha generado una gran problemática en la fauna silvestre debido al deterioro o destrucción del hábitat. Muchos de los ecosistemas se han transformados en zonas urbanas lo que provoca la desaparición de muchos mamíferos silvestres; algunas especies logran coexistir con los humanos viviendo en parques y jardines. Algunos problemas que enfrentan estas especies sobrevivientes son la depredación y una competencia con especies introducidas, además de la constante perturbación por actividades antropicas (Chávez y Ceballos, 1995). Por lo que en el presente proyecto se tiene como objetivo conocer las especies y el estado actual de los pequeños mamíferos no voladores que aún están presentes en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) al ser un área altamente perturbada.

MÉTODOS Y MATERIALES

Área de estudio

Las Instalaciones de ITESI además del complejo de edificios y laboratorios presentan un parche de vegetación secundaria de bosque tropical caducifolio, matorral y pastizal inducido. Este parche de vegetación se caracteriza alta modificación antropogénica (Rzedowski, 2006). Presenta una altura aproximada de 1700 msnm y en las coordenadas N: 20°44'11.06" W: 101°19'55.58".

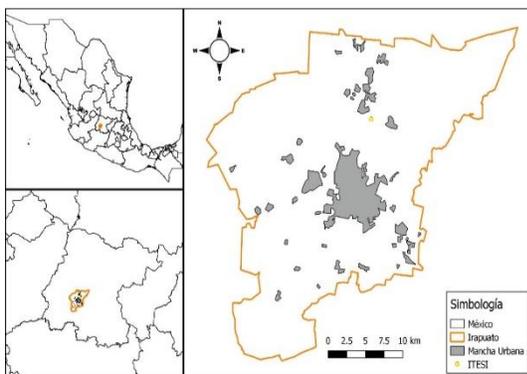


Fig. 1 Ubicación geográfica del área de estudio.



Fig. 2 Vegetación secundaria de bosque tropical caducifolio en la zona de muestreo

Captura de pequeños mamíferos no voladores

Para el muestreo de pequeños mamíferos se colocaron 30 trampas tipo Sherman, las cuales fueron distribuidas en tres transectos de diez trampas cada uno, la separación entre cada trampa fue de 20 m teniendo como longitud total de transecto de 200. Las trampas fueron cebadas con una mezcla de avena, crema de cacahuate y vainilla líquida con base a lo señalado por González Romero, (2011). Las trampas se colocaron al atardecer en el horario de 5 pm a 7 pm para evitar que estuvieran expuestas a altas temperaturas los ejemplares capturados y eran revisadas al amanecer para evitar mayor estrés. Al inicio y al final de cada transecto se tomaban las coordenadas del punto con un GPS. Los trampeos se realizaron de uno a dos días por semana durante cinco semanas. Al capturar algún organismo se le midieron las medidas morfométricas (establecida cola, cuerpo, oreja derecha, pata derecha). Cada ejemplar se fotografió y se identificó utilizando la guía de campo de Mamíferos de Norte América de Raymond Hall.

RESULTADOS

La riqueza fue de seis especies pertenecientes al Orden Rodentia. De las cuales tres especies pertenecen a la Familia Heteromyidae, (Fig. 3) de estas dos son de la Subfamilia Perognathinae (el Ratón de abazones sedoso (*Perognathus flavus*, Baird 1855) y el ratón de abazones crespo (*Chaetodipus hispidus*, Baird 1857)) y uno de la Subfamilia

Heteromyinae (el Ratón espinoso (*Heteromys irruratus*, Gray 1868)), para la familia Muridae (Fig.4) solo se registra una especie (Ratón casero (*Mus musculus*, Linnaeus 1758)), y dos especies de la familia Sciuridae (Fig. 4) y pertenecientes a la Subfamilia Sciurinaes (Motocle (*Ictidomys mexicanus*, Erxleben 1777) y el Ardillón de roca (*Otospermophilus variegatus*, Erxleben 1777)).



Fig. 3 Familia Heteromyidae: Subfamilia Heteromyinae (A. *Heteromys irruratus*) y Subfamilia (B *Perognathus flavus*. y C. *Chaetodipus hispidus*).



Fig. 4 Familia Muridae (A. *Mus musculus*) y la Familia Sciuridae (B. *Ictidomys mexicanus* y C. *Otospermophilus variegatus*)

En cuanto a la abundancia relativa las especies más abundantes fueron el ratón casero, el ratón de abazones y el ardillón de roca con tres individuos cada una, el ratón de abazones sedoso presento una abundancia relativa de dos y las especies menos abundantes fueron el ratón de abazones crespo y el motocle (figura 5).

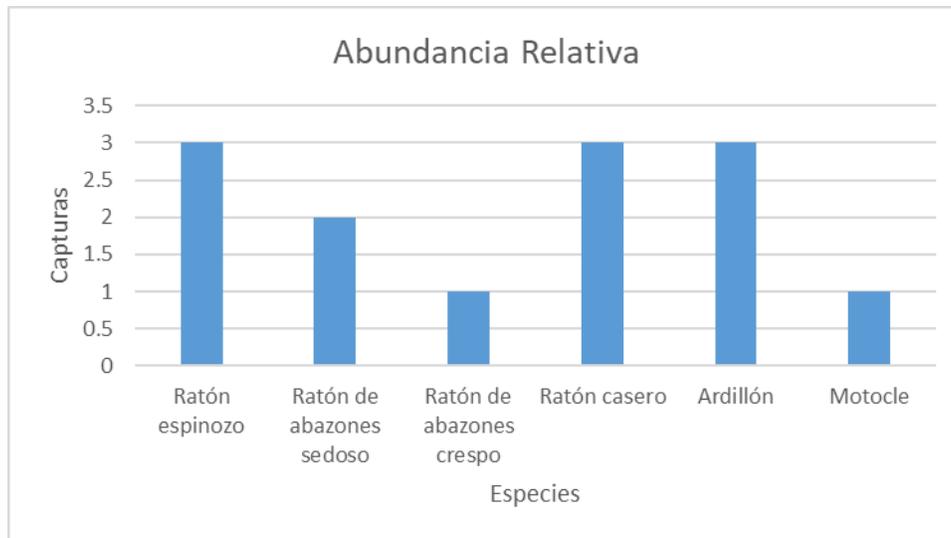


Fig. 5 Abundancia relativa del Orden Rodentia

DISCUSIÓN

Se registraron seis especies de roedores de las 16 que registran para el estado de Guanajuato en trabajos recientes como el de Magaña G. (2012) que reporta 11 especies y el trabajo de Sánchez O. (2012) que reporta 14. Además, en un trabajo reciente de Cruz-Torres (2014) reporta nueve especies del Orden Rodentia dentro del área natural protegida (ANP) de Sierra de Lobos en León Gto. por lo que pensamos que aún se conserva parte importante (50% aproximadamente) de la riqueza de Roedores silvestres.

Una de las especies más abundante fue *H. irroratus* y al igual en lo reportado por Magaña (2012) para diferentes estudios en el Estado. Esto podría deberse a la biología misma de la especie ya que se alimenta de semillas y se conoce por construir una gran número de madrigueras en troncos, arbustos y rocas, aunado a esto no presentan un periodo reproductivo estacional, sino que pueden reproducirse durante todo el año (Espinosa y Chávez 2005). Otra de las especies más abundantes fue el *O. variegatus*, la cual se reporta como común y abundante en zonas rocosas, laderas y cañones para todo el Estado de Guanajuato (Erleben, J.C.P., 1777). Para el caso del *M. musculus* la tercera especie que presentó alta abundancia es probable que se deba a la cercanía con el desarrollo de infraestructura del instituto, ya que es una especie exótica para México que está asociada fuertemente a las poblaciones humanas (Álvarez Romero y Medellín, 2005).

En cuanto a las especies menos abundantes fue el *I. mexicanus*, el *C. hispidus* y *P. flavus* que son especies reportadas para hábitats y ecología en zonas de pastizales y matorrales (Linzey et al., 2016a, Linzey et al., 2016b; Lacher et al., 2016) por lo que es probable que al no ser un pastizal natural propiamente estas especies no llegan a incrementar su abundancia.

CONCLUSIÓN

Consideramos de suma importancia que se comience a trabajar con fauna silvestre no solo en áreas conservadas como las áreas naturales protegidas, sino que debemos comenzar a trabajar también en las zonas que ya están perturbadas o fragmentadas, ya que en algunos casos como en el nuestro pueden presentar especies nativas importantes. Además, esto nos ayudaría a tener una mayor comprensión de las especies en ambientes antropizados, que como es la tendencia en el mundo seguiremos afectando todos los ecosistemas, por lo que debemos de dirigir las investigaciones a casos más realistas y que puedan ayudar a la conservación de especies a largo plazo mediante una coexistencia humano-vida silvestre.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos López González por su apoyo logístico y facilitar equipo para llevar a cabo el muestreo, además queremos agradecer a las autoridades de nuestro instituto el Director M. en F. José Ricardo Narváez Ramírez, Secretario Académico M en I. Oscar Omar Cuin Macedo, Departamento de Investigación, M. en C. Akira Torreblanca Ponce y a la Coordinadora de biología Dra. Claudia Isela González López por brindar siempre el apoyo en el proyecto

REFERENCIAS

- Álvarez Romero, J., & Medellín Legorreta, A. (2005). *Mus musculus. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales*, México, DF.
- Ceballos, G., & Simonetti, J. A. (2002). Mamíferos de México. En *Diversidad y Conservación de los Mamíferos Neotropicales*. Mexico, Df: CONABIO-Instituto de Ecología .
- Ceballos, G., List, R., & Valdez, R. (2013). *MAMÍFEROS DE MUNDO regiones biogeográficas* (Primera ed.). México, Df: Telefonos de México.
- Chávez, C. J., & Ceballos, G. (1995). Historia Natural Comparada de los Pequeños Mamíferos de la Reserva El Pedregal. *Ecología de Animales*.
- Cruz-Salazar, B., Ruíz-Montoya, L., Navarrete-Gutiérrez, D., Espinoza Medinilla, E. E., Vázquez Domínguez, E., & Vázquez, L. B. (2014). Diversidad genética y abundancia relativa de *Didelphis marsupialis* y *Didelphis virginiana* en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 251-261.
- Cruz-Torres, M. F. (2014). Distribución potencial de mamíferos dentro del Área Natural Protegida Sierra de Lobos, Guanajuato. Tesis de licenciatura.
- Espinosa, L. A., & Chávez Tapia, C. (2005). Ratón espinoso. En G. Ceballos, & G. Oliva, *Mamíferos silvestres de México* (págs. 628-630). México, DF: CONABIO.
- González Romero, A. (2011). Métodos de estimación, captura y contención de mamíferos. En S. Gallina Tessaro, & C. López González, *Manual de Técnicas para el estudio de la Fauna*. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro-Instituto de Ecología.
- Gutiérrez García, D., Luna Soria, H., López González, C. A., & Pineda López, R. F. (2007). *Guía de Mamíferos del Estado de Querétaro* (Primera ed.). Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro.
- Lacher, T., Timm, R. & Álvarez-Castañeda, S.T. (2016). *Perognathus flavus* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2016.
- Linzey, A.V., Timm, R., Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I. & Lacher, T. (2016). *Chaetodipus hispidus* (errata version published in 2017).
- Linzey, A.V., Timm, R., Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I. & Lacher, T. (2016). *Ictidomys mexicanus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016.
- López González, C. A., Gutiérrez González, C. E., & Lara Díaz, N. E. (2011). CARNIVOROS: INVENTARIOS Y MONITOREO. En S. Gallina Tessaro, & C. A. López González, *Manual de Técnicas para el estudio de la Fauna*. Querétaro, México: Universidad Autónoma de Querétaro-Instituto de Ecología.
- Magaña Cota, G. E., Botello, F., Iglesias Hernández, J., Portillo Vega, M. E., & Sánchez Cordero, V. (2012). Riqueza específica de roedores en el estado de Guanajuato, México. En F. A. Cervantes, & C. Ballesteros-Barrera, *Estudios sobre la Biología de Roedores Silvestres Mexicanos* (págs. 247-265). Ciudad de México: UNAM, UAM.
- Ramírez Pulido, J., González Ruiz, N., Gardner, A. L., & Arroyo Cabrales, J. (2014). *List of Recent Land Mammals of Mexico*. Lubbock, Tx, USA: Museum of Texas Tech University .

Riecher Pérez, A., & de la Cruz Ancheita, F. Y. (2012). Roedores en áreas naturales protegidas de Chiapas depositados en la colección Zoológica Regional Mammalia. En *Estudios sobre la Biología de Roedores Silvestres Mexicanos* (págs. 47-57). Ciudad de México: Instituto de Ecología.

Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Sánchez, Ó., Elizalde Arellano, C., López Vidal, J. C., Magaña Cota, G., Téllez Girón, G., Botello, F., & Sánchez Cordero, V. (2012). Mamíferos Silvestres. En C. N. (CONABIO), *La biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado* (págs. 263-274). México: CONABIO/ Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato.

Sánchez, Ó., Elizalde-Arellano, C., López-Vidal, J. C., Magaña-Cota, G., Téllez-Girón, G., Botello, F., & Sánchez-Cordero, V. (2012). Mamíferos Silvestres. En *Biodiversidad en Guanajuato* (págs. 263-273). Ciudad de México: CONABIO.

Sánchez-Cordero, V., Botello, F., Flores-Martínez, J. J., Gómez-Rodríguez, R. A., Guevara, L., Gutiérrez-Granados, G., & Rodríguez Moreno, Á. (2014). Biodiversidad de Chordata (Mammalia) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.

RIQUEZA Y ABUNDANCIA DE PEQUEÑOS MAMÍFEROS NO VOLADORES EN VEGETACIÓN SECUNDARIA DE BOSQUE TROPICAL CADUCIFOLIO DEL BAJIO MEXICANO.

Benavides-García Samuel Eusebio¹ y Ávila Aguilar Daniel²

RESUMEN

La perturbación de los ecosistemas debido a las actividades antrópicas ha modificado el estado de las poblaciones de especies silvestres y ha reducido su diversidad en todo el mundo. A pesar de la transformación y fragmentación de los hábitats algunas especies llegan a ser más resistentes a estos cambios y logran mantener poblaciones en estos ambientes. Por ello nos dimos a la tarea de determinar la riqueza y abundancia de la comunidad de pequeños no voladores en un ambiente perturbado. Para esto se llevaron a cabo muestreos de tres transectos de diez trampas tipo Sherman durante dos noches en un parche de vegetación secundaria de bosque tropical caducifolio. Se logró identificar un total de seis especies del orden Rodentia. Lo que permitió reconocer que a pesar del alto nivel de perturbación aún se encuentran presentes algunas especies silvestres de pequeños mamíferos no voladores.

PALABRAS CLAVE: Captura, roedores, antropizada, Guanajuato.

ABSTRACT

The disruption of ecosystems due to human activities has changed the status of the populations of wild species has reduced diversity species around the world. Despite the transformation and fragmentation give them habitats some species become more resistant to these changes and manage to maintain populations in these environments. Therefore, we realized the task of determining the wealth and abundance of the community of non-flying small in a disturbed environment, for this were carried out samplings were made three different transects during ten traps Sherman type each two nights in a p Arche of secondary vegetation of tropical deciduous forest. It was able to identify a total of six species of the order Rodentia. What allowed to recognize that despite the high level of disturbance are still present some wild species of small non-flying mammals.

KEY words: Capture, rodents, anthropized, Guanajuato.

INTRODUCCIÓN

Para México se registran 522 especies de mamíferos, representadas por 291 géneros, 47 familias y 12 órdenes, lo que coloca entre los primeros lugares en diversidad mundial acompañado por Brasil e Indonesia. La mayoría de los mamíferos terrestres son de tamaños pequeños con un porcentaje del 66% del total de las especies de mamíferos con un peso de hasta 500 g, además de presenta mayor presencia de especies endémicas, el 27% de los mamíferos son de tamaño mediano y presenta un peso de entre 501g y 10 kg, y solo el 7% son de tamaño grande y con peso mayor a los 10 kg.

En Guanajuato se conocen 87 especies de mamíferos de los que destaca con mayor número de especies el orden Rodentia (ratones, ardilla y tuza) con 32, y otros órdenes menos representativos como Lagomorpha (liebres y conejos) con solo 4 especies, el Soricomorpha (musarañas) con 2, Cingulata (armadillos) y Didelphimorphia (marsupiales) con una especie cada uno (Sánchez et al., 2012). El orden Rodentia es el de mayor número de especies con 235 lo que equivale a un aproximado de 45% de total de mamíferos en México, que están representados por ocho familias donde se incluyen aridillas, castores, tuzas, ratas canguros, ratas y ratones, seretes, pacas y puerco espines y presentan el nivel de endemismo más alto con 113 especies. Los roedores desarrollan un sinfín de formas, además de presentar un carácter distintivo que es son sus incisivos de crecimiento continuo y no poseen caninos. Son cosmopolitas, y por lo general se adaptan a habitar en regiones perturbadas y presentan una alta tasa de natalidad (Riecher Pérez y de la Cruz Ancheita, 2012).

En el caso del bosque tropical caducifolio en el Bajío se registran un total de 16 especies de roedores pequeños: *Lyomis irroratus*, *Perognatus flavus*, *Baomys taylori*, *Neotoma mexicana*, *Oligomzomys fulvescens*, *Peromyscus difficilis*, *P. gratus*, *P. levipes*, *P. maniculatus*, *P. melanophrys*, *P. pectoralis*, *Reithrodontomys fulvescens*, *R. megalotis*, *Sigmodon hispidus*, *Spermophilus mexicanus* y *Sciurus oculatus* (Gutiérrez García, Luna Soria, López González, y Pineda López, 2007; Sánchez, y et al, 2012;).

Las actividades antrópicas provocan impactos negativos muy severos sobre los ambientes. Lo que ha generado una gran problemática en la fauna silvestre debido al deterioro o destrucción del hábitat. Muchos de los ecosistemas se

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, CP: 36821 Irapuato, Guanajuato, samy04chevin96@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, Daniel Ávila Aguilar, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, daniel.avila@itesi.edu.mx

han transformados en zonas urbanas lo que provoca la desaparición de muchos mamíferos silvestres; algunas logran coexistir con los humanos viviendo en parques y jardines. Algunos problemas que enfrentan estas especies sobrevivientes son la depredación y una competencia con especies introducidas, además de la constante perturbación por actividades antropicas (Chávez y Ceballos, 1995). Por lo que en el presente proyecto se tiene como objetivo conocer las especies y el estado actual de los pequeños mamíferos no voladores que aún están presentes en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) al ser un área altamente perturbada.

MÉTODOS Y MATERIALES

Área de estudio

Las Instalaciones de ITESI además del complejo de edificios y laboratorios presentan un parche de vegetación secundaria de bosque tropical caducifolio, matorral y pastizal inducido. Este parche de vegetación se caracteriza alta modificación antropogénica (Rzedowski, 2006). Presenta una altura aproximada de 1700 msnm y en las coordenadas N: 20°44'11.06" W: 101°19'55.58".

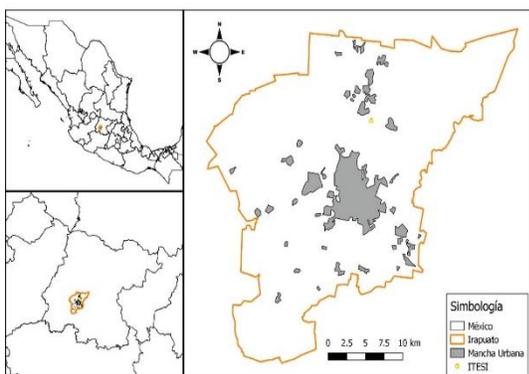


Fig. 1 Ubicación geográfica del área de estudio.



Fig. 2 Vegetación secundaria de bosque tropical caducifolio en la zona de muestreo

Captura de pequeños mamíferos no voladores

Para el muestreo de pequeños mamíferos se colocaron 30 trampas tipo Sherman, las cuales fueron distribuidas en tres transectos de diez trampas cada uno, la separación entre cada trampa fue de 20 m teniendo como longitud total de transecto de 200. Las trampas fueron cebadas con una mezcla de avena, crema de cacahuate y vainilla líquida con base a lo señalado por González Romero, (2011). Las trampas se colocaron al atardecer en el horario de 5 pm a 7 pm para evitar que estuvieran expuestas a altas temperaturas los ejemplares capturados y eran revisadas al amanecer para evitar mayor estrés. Al inicio y al final de cada transecto se tomaban las coordenadas del punto con un GPS. Los trampeos se realizaron de uno a dos días por semana durante cinco semanas. Al capturar algún organismo se le midieron las medidas morfométricas (establecidas cola, cuerpo, oreja derecha, pata derecha). Cada ejemplar se fotografió y se identificó utilizando la guía de campo de Mamíferos de Norte América de Raymond Hall.

RESULTADOS

La riqueza fue de seis especies pertenecientes al Orden Rodentia. De las cuales tres especies pertenecen a la Familia Heteromyidae, (Fig. 3) de estas dos son de la Subfamilia Perognathinae (el Ratón de abazones sedoso (*Perognathus flavus*, Baird 1855) y el ratón de abazones crespo (*Chaetodipus hispidus*, Baird 1857)) y uno de la Subfamilia Heteromyinae (el Ratón espinoso (*Heteromys irruratus*, Gray 1868)), para la familia Muridae (Fig.4) solo se registra una especie (Ratón casero (*Mus musculus*, Linnaeus 1758)), y dos especies de la familia Sciuridae (Fig. 4) y pertenecientes a la Subfamilia Sciurinae (Motocle (*Ictidomys mexicanus*, Erxleben 1777) y el Ardillón de roca (*Otospermophilus variegatus*, Erxleben 1777)).

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, CP: 36821 Irapuato, Guanajuato, samy04chevin96@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, Daniel Ávila Aguilar, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, daniel.avila@itesi.edu.mx



Fig. 3 Familia Heteromyidae: Subfamilia Heteromyinae (A. *Heteromys irruratus*) y Subfamilia (B *Perognathus flavus*. y C. *Chaetodipus hispidus*).



Fig. 4 Familia Muridae (A. *Mus musculus*) y la Familia Sciuridae (B. *Ictidomys mexicanus* y C. *Otospermophilus variegatus*)

En cuanto a la abundancia relativa las especies más abundantes fueron el ratón casero, el ratón de abazones y el ardillón de roca con tres individuos cada una, el ratón de abazones sedoso presento una abundancia relativa de dos y las especies menos abundantes fueron el ratón de abazones crespo y el motocle (figura 5).

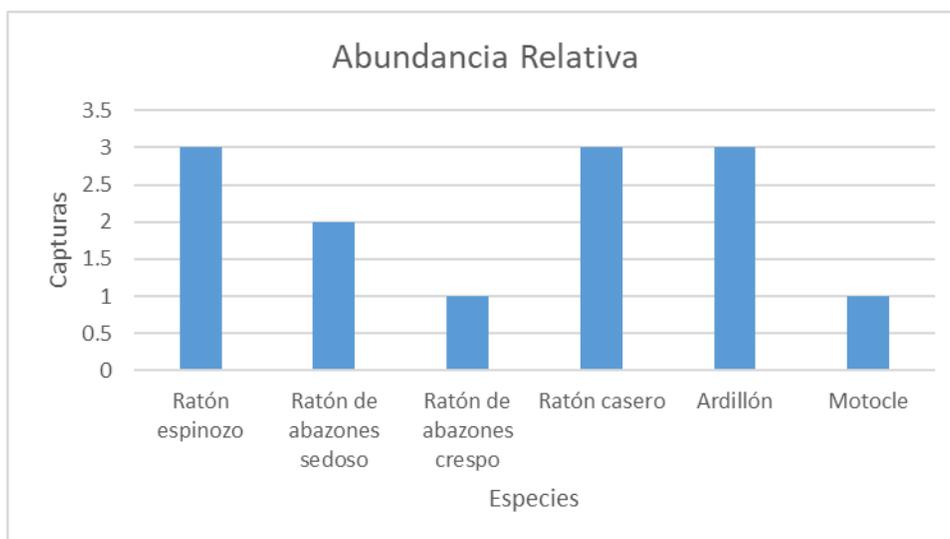


Fig. 5 Abundancia relativa del Orden Rodentia

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, CP: 36821 Irapuato, Guanajuato, samy04chevin96@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, Daniel Ávila Aguilar, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, daniel.avila@itesi.edu.mx

DISCUSIÓN

Se registraron seis especies de roedores de las 16 que registran para el estado de Guanajuato en trabajos recientes como el de Magaña G. (2012) que reporta 11 especies y el trabajo de Sánchez O. (2012) que reporta 14. Además en un trabajo reciente de Cruz-Torres (2014) reporta nueve especies del Orden Rodentia dentro del área natural protegida (ANP) de Sierra de Lobos en León Gto. por lo que pensamos que aún se conserva parte importante (50% aproximadamente) de la riqueza de Roedores silvestres.

Una de las especies más abundante fue *H. irroratus* y al igual en lo reportado por Magaña (2012) para diferentes estudios en el Estado. Esto podría deberse a la biología misma de la especie ya que se alimenta de semillas y se conoce por construir una gran número de madrigueras en troncos, arbustos y rocas, aunado a esto no presentan un periodo reproductivo estacional sino que pueden reproducirse durante todo el año (Espinosa y Chávez 2005). Otra de las especies más abundantes fue el *O. variegatus*, la cual se reporta como común y abundante en zonas rocosas, laderas y cañones para todo el Estado de Guanajuato (Erxleben, J.C.P., 1777). Para el caso del *M. musculus* la tercera especie que presentó alta abundancia es probable que se deba a la cercanía con el desarrollo de infraestructura del instituto, ya que es una especie exótica para México que está asociada fuertemente a las poblaciones humanas (Álvarez Romero y Medellín, 2005).

En cuanto a las especies menos abundantes fue el *I. mexicanus*, el *C. hispidus* y *P. flavus* que son especies reportadas para hábitats y ecología en zonas de pastizales y matorrales (Linzey et al., 2016a, Linzey et al., 2016b; Lacher et al., 2016) por lo que es probable que al no ser un pastizal natural propiamente estas especies no llegan a incrementar su abundancia.

CONCLUSIÓN

Consideramos de suma importancia que se comience a trabajar con fauna silvestre no solo en áreas conservadas como las áreas naturales protegidas sino que debemos comenzar a trabajar también en las zonas que ya están perturbadas o fragmentadas, ya que en algunos casos como en el nuestro pueden presentar especies nativas importantes. Además esto nos ayudaría a tener una mayor comprensión de las especies en ambientes antropizados, que como es la tendencia en el mundo seguiremos afectando todos los ecosistemas, por lo que debemos de dirigir las investigaciones a casos más realistas y que puedan ayudar a la conservación de especies a largo plazo mediante una coexistencia humano-vida silvestre.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos López González por su apoyo logístico y facilitar equipo para llevar a cabo el muestreo, además queremos agradecer a las autoridades de nuestro instituto el Director M. en F. José Ricardo Narváez Ramírez, Secretario Académico M en I. Oscar Omar Cuin Macedo, Departamento de Investigación, M. en C. Akira Torreblanca Ponce y a la Coordinadora de biología Dra. Claudia Isela González López por brindar siempre el apoyo en el proyecto

REFERENCIAS

Álvarez Romero, J., & Medellín Legorreta, A. (2005). *Mus musculus. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales*, México, DF.

Ceballos, G., & Simonetti, J. A. (2002). *Mamíferos de México. En Diversidad y Conservación de los Mamíferos Neotropicales*. Mexico, Df: CONABIO-Instituto de Ecología .

Ceballos, G., List, R., & Valdez, R. (2013). *MAMÍFEROS DE MUNDO regiones biogeográficas* (Primera ed.). México, Df: Telefonos de México.

Chávez, C. J., & Ceballos, G. (1995). *Historia Natural Comparada de los Pequeños Mamíferos de la Reserva El Pedregal. Ecología de Animales*.

Cruz-Salazar, B., Ruíz-Montoya, L., Navarrete-Gutiérrez, D., Espinoza Medinilla, E. E., Vázquez Domínguez, E., & Vázquez, L. B. (2014). *Diversidad genética y abundancia relativa de Didelphis marsupialis y Didelphis virginiana en Chiapas, México. Revista Mexicana de Biodiversidad, 251-261*.

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, CP: 36821 Irapuato, Guanajuato, samy04chevin96@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, Daniel Ávila Aguilar, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, daniel.avila@itesi.edu.mx

Cruz-Torres, M. F. (2014). Distribución potencial de mamíferos dentro del Área Natural Protegida Sierra de Lobos, Guanajuato. Tesis de licenciatura.

Espinosa, L. A., & Chávez Tapia, C. (2005). Ratón espinoso. En G. Ceballos, & G. Oliva, *Mamíferos silvestres de México* (págs. 628-630). México,DF: CONABIO.

González Romero, A. (2011). Metodos de estimación, captura y contención de mamíferos. En S. Gallina Tessaro, & C. López González, *Manual de Técnicas para el estudio de la Fauna*. Queretaro: Universidad Autonoma de Querétaro-Instituto de Ecología.

Gutiérrez García, D., Luna Soria, H., López González, C. A., & Pineda López, R. F. (2007). *Guía de Mamíferos del Estado de Querétaro* (Primera ed.). Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro.

Lacher, T., Timm, R. & Álvarez-Castañeda, S.T. (2016). *Perognathus flavus* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2016.

Linzey, A.V., Timm, R., Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I. & Lacher, T.(2016). *Chaetodipus hispidus* (errata version published in 2017).

Linzey, A.V., Timm, R., Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I. & Lacher, T. (2016). *Ictidomys mexicanus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016.

López González, C. A., Gutierrez González, C. E., & Lara Díaz, N. E. (2011). CARNIVOROS:INVENTARIOS Y MONITOREO. En S. Gallina Tessaro, & C. A. López González, *Manual de Técnicas para el estudio de la Fauna*. Queretaro, México: Universidad Autonoma de Queretaro-Instituto de Ecología.

Magaña Cota, G. E., Botello, F., Iglesias Hernández, J., Portillo Vega, M. E., & Sánchez Cordero, V. (2012). Riqueza específica de roedores en el estado de Guanajuato, México. En F. A. Cervantes, & C. Ballesteros-Barrera, *Estudios sobre la Biología de Roedores Silvestres Mexicanos* (págs. 247-265). Ciudad de México: UNAM, UAM.

Ramírez Pulido, J., González Ruiz, N., Gardner, A. L., & Arroyo Cabrales, J. (2014). *List of Recent Land Mammals of Mexico*. Lubbock, Tx, USA: Museum of Texas Tech University .

Riecher Pérez, A., & de la Cruz Ancheita, F. Y. (2012). Roedores en áreas naturales protegidas de Chiapas depositados en la colección Zoológica Regional Mammalia. En *Estudios sobre la Biología de Roedores Silvestres Mexicanos* (págs. 47-57). Ciudad de México: Instituto de Ecología.

Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Sánchez, Ó., Elizalde Arellano, C., López Vidal, J. C., Magaña Cota, G., Téllez Girón, G., Botello, F., & Sánchez Cordero, V. (2012). Mamíferos Silvestres. En C. N. (CONABIO), *La biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado* (págs. 263-274). México: CONABIO/ Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato.

Sánchez, Ó., Elizalde-Arellano, C., López-Vidal, J. C., Magaña-Cota, G., Téllez-Girón, G., Botello, F., & Sánchez-Cordero, V. (2012). Mamíferos Silvestres. En *Biodiversidad en Guanajuato* (págs. 263-273). Ciudad de México: CONABIO.

Sánchez-Cordero, V., Botello, F., Flores-Martínez, J. J., Gómez-Rodríguez, R. A., Guevara, L., Gutiérrez-Granados, G., & Rodríguez Moreno, Á. (2014). Biodiversidad de Chordata (Mammalia) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, CP: 36821 Irapuato, Guanajuato, samy04chevin96@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Laboratorio de Zoología; Carr. Irapuato- Silao Km. 2.5, Daniel Ávila Aguilar, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, daniel.avila@itesi.edu.mx

CÁLCULO DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE UN POTENCIAL TIPO ESCALÓN DOBLE CONSIDERANDO CAMPO ELÉCTRICO Y DISTINTAS ALTURAS.

Sara Elizabeth Solís Núñez¹ y Juan Carlos Martínez Orozco²

RESUMEN

En este trabajo nos dedicamos a reproducir un programa, por medio del lenguaje Fortran y con ayuda del software para graficar, para el estudio de un pozo cuántico de tal manera que se cumpliera con ciertos parámetros preestablecidos, aplicándole condiciones de potencial y campo eléctrico; con el objetivo de conocer de manera teórica las propiedades optoelectrónicas en heteroestructuras cuánticas semiconductoras, presentamos los resultados del estudio teórico del cálculo numérico del coeficiente de absorción de una heteroestructura en particular, formada por la unión de dos semiconductores con características muy novedosas e interesantes como los son GaAs/AlGaAs (Arseniuro de Galio/ Arseniuro de Galio - Aluminio).

Palabras clave: pozo cuántico, propiedades opto-electrónicas, heteroestructuras cuánticas, coeficiente de absorción.

ABSTRACT

In this work we dedicate ourselves to reproduce a program, through the Fortran language and with the help of the plot software, for the study of a quantum well in such a way that certain pre-established parameters were applied, applying potential conditions and electric field; With the aim of knowing theoretically the optoelectronic properties in quantum semiconductor heterostructures, we present the results of the theoretical study of the numerical calculation of the absorption coefficient of a particular heterostructure, formed by the union of two semiconductors with very novelty and interesting characteristics such as they are GaAs / AlGaAs (Gallium Arsenide / Gallium Arsenide - Aluminum).

Keywords: quantum well, optoelectronic properties, quantum heterostructures, absorption coefficient.

INTRODUCCIÓN

Cabe mencionar que el objetivo de este verano de investigación fue el involucrarse en la labor de un investigador, por lo que nuestra principal tarea fue introducirnos en el método de investigación en donde se leyeron algunos artículos relacionados con heteroestructuras de materiales novedosos, de esta manera se aclararon algunos conceptos y se analizó el método por el cual se realizarían los cálculos pertinentes.

Los materiales semiconductores se definen como un material cuyo gap energético para excitaciones electrónicas se encuentra entre cero y 4 eV. De aquí podemos precisar que los materiales con un bandgap cero son metales o semimetales; también podemos decir que los semiconductores son un material con resistividad eléctrica dentro del rango de 10^{-2} a $10^{-9} \Omega$. La estructura de bandas está compuesta por la banda de valencia, y la banda de conducción; el band-gap es la diferencia de energía entre ambas, que se refiere a un rango de energía prohibido, en el cual los estados permitidos no pueden existir. Los semiconductores se pueden clasificar en dos: de gap estrecho y de gap ancho. Existen elementos químicos que son semiconductores naturales y otros llamados compuestos, que son combinaciones de éstos, a los que nombramos binarios, ternarios, etc. Uno de los más importantes, en el que nos basaremos en éste trabajo, es el Arseniuro de Galio (GaAs) en unión con el Arseniuro de Galio-Aluminio (AlGaAs). El Arseniuro de Galio, es un compuesto

¹Unidad Académica de Física, Universidad Autónoma de Zacatecas, Calzada Solidaridad esquina con Paseo la Bufa S/N, Col. Progreso, 98060 Zacatecas, Zac., México. sara.solis@fisica.uaz.edu.mx

²Unidad Académica de Física, Universidad Autónoma de Zacatecas, Calzada Solidaridad esquina con Paseo la Bufa S/N, Col. Progreso, 98060 Zacatecas, Zac., México. jcmartinez@uaz.edu.mx

semiconductor muy importante por su uso para fabricar dispositivos como circuitos integrados a frecuencias de microondas, diodos de emisión infrarroja, diodos láser y celdas fotovoltaicas.

Una heteroestructura se compone por la deposición sucesiva de capas muy finas, de algunos cuantos nanómetros, de diferentes compuestos semiconductores, en donde al dopar el GaAs con cierta concentración de Al, expresada por x , cambia el gap del material y se da una alineación entre las bandas de conducción y la banda de valencia (band-offset), que producen pozos y barreras de potencial. La manera en la que se alinea la interfaz de las bandas de valencia nos permite hacer una clasificación de las heteroestructuras, en nuestro caso es una heteroestructura tipo I, que significa que tenemos pozos para electrones y para huecos.

Un pozo cuántico o pozo de potencial es la región del espacio que confina a la partícula a moverse en un plano; dicho pozo es parte de una heteroestructura, ya que puede formarse a partir de la diferencia de la estructura de banda que ya mencionamos. Ahora bien, vamos a considerar una partícula confiada a moverse en esta región, la función de onda describe la distribución de ésta en el espacio, así como las funciones de onda electromagnética describen la distribución de los campos eléctrico y magnético. Dicha función se representa por la letra Ψ , y tenemos que la probabilidad de que una partícula atraviese una barrera de potencial depende de su ancho y la comparación entre su energía cinética y potencial, así se originan los efectos del confinamiento cuántico y tunelaje; lo cual genera niveles de energías que son conocidas como sub-bandas energéticas. Para calcular los niveles de energía, es necesario resolver una ecuación diferencial de segundo orden, que se conoce como la ecuación de Schrödinger.

La solución de la ecuación de Schrödinger nos proporciona las energías desde el estado base, hasta los siguientes estados excitados de la partícula. Para efectuar dicha solución es necesario hacer el cálculo del hamiltoniano de nuestro sistema, lo que conlleva a considerar las energías cinéticas, potencial y el campo eléctrico de forma matricial, en nuestro método, con el objeto de calcular los elementos de matriz necesarios para conocer la relación que existe al variar nuestros parámetros y el coeficiente de absorción, que nos da una medida del porcentaje de fotones absorbidos por el sistema cuántico.

MÉTODOS Y MATERIALES

Nuestro objetivo en primer lugar, fue resolver la ecuación de Schrödinger, y encontrar la función de onda y los niveles de energía del sistema de estudio. Para abordar los cálculos que se pretendían obtener nos dimos a la tarea de hacer un programa en donde se generó un pozo doble con la característica de que fuera escalonado, en seguida se buscó construir la matriz del hamiltoniano. Para llegar a ella comenzamos resolviendo el problema de un pozo de potencial infinito, la cual es la base ortonormal en la que expandimos la solución de nuestro perfil de potencial, una vez calculada la matriz Hamiltoniana, en términos de nuestra base, con ayuda del método de Jacobi, esta fue diagonalizada lo cual implica que encontramos los autovalores y autovalores. Para ello llevamos nuestros parámetros a unidades efectivas que son el Rydberg efectivo y radio de Bohr efectivo para las energías y distancias, respectivamente. Posteriormente pasamos a calcular los elementos de matriz dipolar. La metodología de estudio para este tipo de cálculos es fundamentalmente la teoría de masa efectiva (Hamaguchi C., 2010), auxiliándonos de los parámetros reportados en la literatura especializada para los materiales de estudio (Yu Y. P. *et al.*, 2010). Para el AlGaAs/GaAs en específico la masa efectiva: $m_e = 0.07 m_0$, Band-offset: 0.2138 eV y constante dieléctrica estática: $\epsilon = 12.5$. Obviamente además de la literatura básica, como la mencionada, revisamos algunos de los artículos que salen de manera cotidiana en los materiales de interés.

La aproximación de masa efectiva se aplica a una amplia variedad de cálculos de estructura electrónica en semiconductores y sus heteroestructuras, como es este caso, la cual se puede expresar en términos generales como:

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m^*} \nabla^2 + H'(\vec{r}) \right] F(\vec{r}) = E \cdot F(\vec{r}) \quad (1)$$

Donde se asume, por simplicidad, que la banda de energía está dada por una banda parabólica esférica. La forma de resolver esta ecuación en el caso específico de una sola banda, que en este caso es la banda de

conducción de un pozo doble escalonado de AlGaAs/GaAs, es a través del método de diagonalización que está descrito con buen detalle en (Martínez-Orozco J. C. *et al.*, 2016). El pozo de potencial de confinamiento esta dado analíticamente por:

$$V_c(z) = \begin{cases} V_0, & z < -z_i \\ V_1, & -z_i \leq z < -z_2 \\ 0, & -z_2 \leq z < -z_1 \\ V_0, & -z_1 \leq z < z_1 \\ 0, & z_1 \leq z < z_2 \\ V_0, & z > z_3 \end{cases} \quad (2)$$

Una vez calculada la estructura electrónica y los correspondientes elementos de matriz asociados a la transición principal calculamos el coeficiente de absorción, donde su parte lineal está dada por:

$$\alpha^{(1)}(\omega) = \omega \sqrt{\frac{\mu_0}{\epsilon_0 \epsilon_r}} \left[\frac{\rho \hbar \Gamma_{10} |M_{10}|^2}{(E_{10} - \hbar\omega)^2 + (\hbar\Gamma_{10})^2} \right] \quad (3)$$

Y la correspondiente corrección a tercer orden, por efectos de laser intenso es:

$$\alpha^{(3)}(\omega, I) = -\omega \sqrt{\frac{\mu_0}{\epsilon_0 \epsilon_r}} \left(\frac{I}{2cn_r \epsilon_0} \right) \frac{\rho \hbar \Gamma_{10} |M_{10}|^2}{[(E_{10} - \hbar\omega)^2 + (\hbar\Gamma_{10})^2]^2} \times \left[4|M_{10}|^2 - \frac{|M_{11} - M_{00}|^2 [3E_{10}^2 - 4E_{10}\hbar\omega + \hbar^2(\omega^2 - \Gamma_{10}^2)]}{E_{10}^2 + (\hbar\Gamma_{10})^2} \right] \quad (4)$$

Tanto la explicación de la metodología de cálculo, lo cual se escapa del objetivo de este estudio, como los valores de todos los parámetros involucrados pueden ser obtenidos del artículo de (U. Yesilgul *et al.*, 2016).

El cálculo de la estructura electrónica lo realizamos por medio del método de diagonalización, verificamos que la función de onda estuviera normalizada y con estas funciones calculamos los elementos de matriz M_{11} y M_{00} y M_{10} .

RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos por nuestro código, en el que se variaron los parámetros de campo eléctrico y la altura del pozo de potencial escalonado.

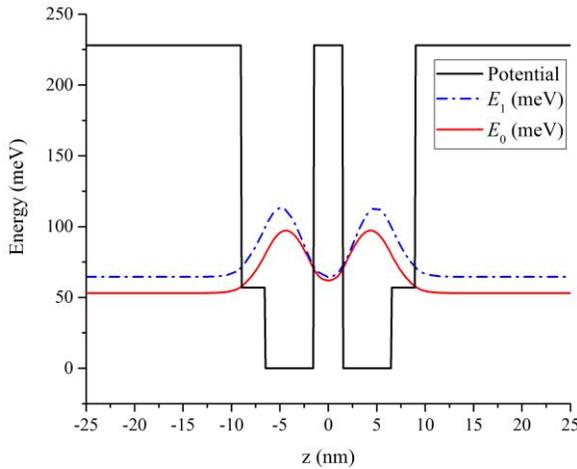


Figura 1. Pozo de potencial escalonado doble, con las densidades de probabilidad de los dos primeros estados, y campo eléctrico apagado ($F = 0$).

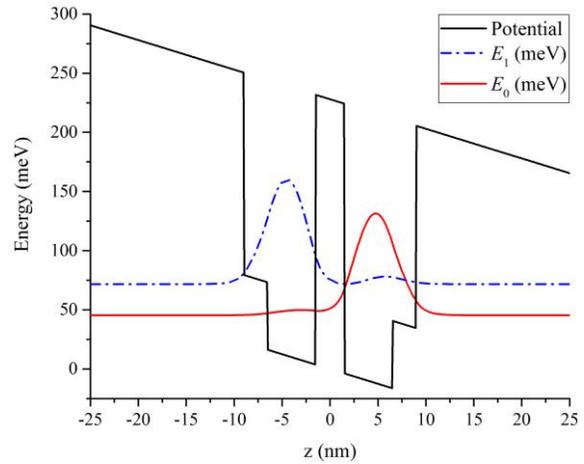


Figura 2. Pozo de potencial escalonado, con las densidades de probabilidad de los dos primeros estados, y campo eléctrico de $F = 25$ KV/cm.

De la *Figura 1* y la *Figura 2* podemos observar cómo es que al cambiar el campo eléctrico, nuestro potencial se modifica, desplazando a su vez de manera asimétrica el estado base y el primer estado excitado, esto nos indica que el campo eléctrico índice asimetría el perfil de potencial.

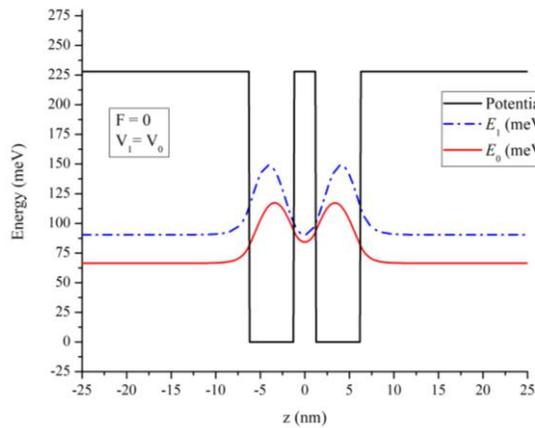


Figura 3. Pozo de potencial en donde el valor del potencial de la barrera izquierda y derecha es igual a $V_0=228$ meV.

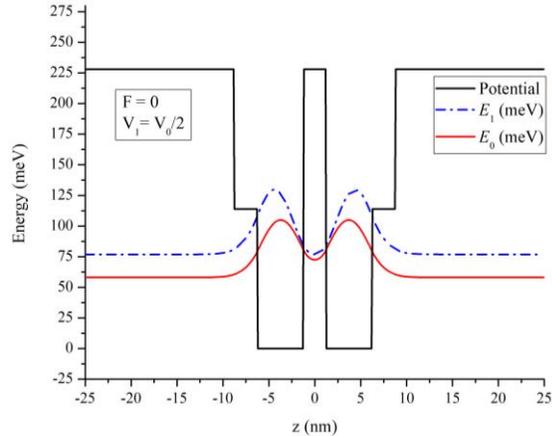


Figura 4. Pozo de potencial en donde el potencial se muestra escalonado a razón de la mitad de V_0 .

En las *Figuras 3, 4* y *5* vemos cómo es que cambia la condición de la *Figura 1* al variar los valores del parámetro añadido del potencial del escalón, dándole valores fraccionarios a V_1 como $V_0/4$, $V_0/2$, V_0 .

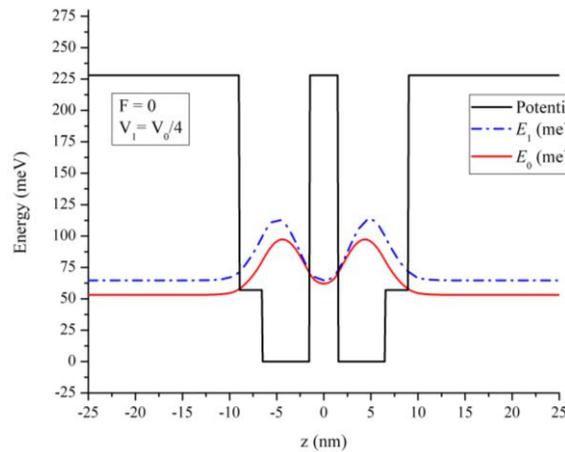


Figura 5. Pozo de potencial en donde el potencial se muestra escalonado a razón de un cuarto de V_0 .

También es importante considerar qué es lo que le ocurre al pozo de potencial si el campo eléctrico aumenta, para ello en la *Figura 5* presentamos este comportamiento. De esto podemos decir que al incremento del campo eléctrico le siguen el incremento en la escala del potencial, su deformación y el de los primeros dos estados, presentando cada uno características distintas de eficiencia, al momento de aplicarse a la tecnología.

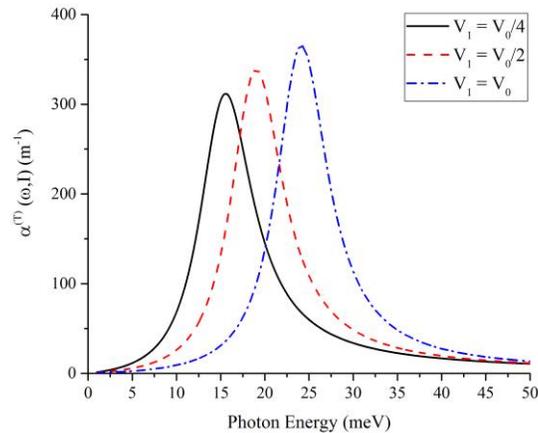


Figura 8. Coeficiente de absorción variando los escalones del potencial.

En la *Figura 8* se reporta el coeficiente de absorción como función de la concentración de aluminio del escalón y se observa un corrimiento hacia el azul, así como un aumento en el coeficiente de absorción.

CONCLUSIONES

El análisis computacional de este tipo de heteroestructuras es una forma muy completa de calcular las propiedades físicas de un sistema, y eso trae un gran ahorro de tiempo, ya que variando los parámetros podemos asimilar cualquier tipo de arreglo. A su vez, seguir con el fin de aplicaciones que estos sistemas tienen al desarrollo de tecnología, como en celdas solares y láseres, por mencionar un par de ejemplos. El método de cálculo es muy versátil porque se adapta, gracias a los distintos parámetros que podemos considerar, y así tener noción de que pasa si aumentamos el campo eléctrico, variamos la altura del potencial o el ancho de los pozos, de esta manera podemos registrar un sin fin de propiedades físicas y ópticas de nuestra heteroestructura cuántica. Hoy en día se han buscado medidas alternativas para suplir la demanda energética, de manera que no contaminen (en su mayoría) o que sean fuentes inagotables de energía. Nos referimos a un tipo de energía que aprovecha los rayos del sol para transformarlos en electricidad por medio de celdas solares, en donde se usa el principio mostrado en este trabajo.

Es necesario mencionar que la construcción de dichas celdas novedosas requiere de cuestiones muy especializadas, por lo que producirlas no es económicamente accesible, lo que hace que códigos como éste nos permitan ver la eficiencia de su estructura.

BIBLIOGRAFÍA

- Virgilio Acosta, Clyde L. Cowan Y B.J. Graham (1977), "Curso de Física Moderna", México: Harla Editorial.
- Arely Rodríguez (2011), "Transmitancia en una super-red con modulación lineal de la altura de las barreras", pp. 7-12, consultada en http://jmartinez.uaz.edu.mx/c/document_library/get_file?uuid=d7bcef38-1342-41a2-b053-566543777958&groupId=939544
- Hamaguchi, C. (2010). Basic Semiconductor Physics. Springer-verlag.
- J. C. Martínez Orozco, K. A. (2016). Absorption Coefficient and Relative Index Change for a Double Doped GaAs MIFET Like Structure: Electric and Magnetic Field Effects. Superlattices and Microstructures, 166-173.
- Peter Y. Yu, M. C. (2010). Fundamentals of Semiconductors. Springer. U. Yesilgul, E. B. (2016). Linear and nonlinear optical properties in an asymmetric double quantum well under intense laser field: Effects of applied electric and magnetic fields. Optical Materials, 107-112.

PROYECTO LUDE-RAum MÓDULO SIGRA PROJECT

¹Navarrete Arias Serafín y ²Laguna Estrada Martín

RESUMEN

Este proyecto aborda el uso de alternativas digitales a modelos físicos mediante tecnologías de Realidad aumentada (RA) a través del uso de una computadora y un sensor Kinect, además de incluir aplicaciones móviles para el uso interactivo de los estudiantes dentro y fuera de la escuela. La aplicación que se presenta lleva por nombre "LUDE RAum" a la cual se le ha adicionado un módulo de geografía denominado SIGRA programado en el lenguaje AS3. Esta aplicación permite al usuario poder entrar al área de Ciencias Naturales y de Geografía para poder manipular modelos en 3D mediante movimientos corporales tales como mover las manos o cruzar los brazos. El usuario tiene la posibilidad de mover y escoger un órgano humano o un planeta dependiendo del módulo seleccionado el cual le permitirá interactuar de una manera fácil y divertida por parte de los estudiantes. De igual manera, se podrá seleccionar el plano de la cámara, así como modificar sus dimensiones y girarlo, todo esto es posible mediante el uso de la tecnología que ofrece el sensor Kinect Xbox one. LUDE RAum desde su primera versión para ciencias naturales, ha tenido como objetivo, ya incluyendo esta segunda versión que aquí se muestra con el módulo SIGRA, la de servir de herramienta educativa para fomentar el interés por el estudio al utilizar elementos visuales atractivos y sencillos de operar.

ABSTRACT

This project addresses the use of digital alternatives to physical models through Augmented Reality (AR) technologies through the use of a computer and a Kinect sensor, as well as including mobile applications for the interactive use of students inside and outside the school. The application that is presented is called "LUDE RAum" which has been added a geography module called SIGRA programmed in the AS3 language. This application allows the user to enter the area of Natural Sciences and Geography to be able to manipulate 3D models through body movements such as moving the hands or crossing the arms. The user has the possibility to move and choose a human organ or a planet depending on the selected module which will allow him to interact in an easy and fun way by the students. In the same way, you can select the camera's plan, as well as modify its dimensions and rotate it, all this is possible through the use of the technology offered by the Kinect Xbox one sensor. LUDE RAUM from its first version for natural sciences, has had as objective, already including this second version that is shown here with the SIGRA module, to serve as an educational tool to promote interest in the study by using attractive and simple visual elements of operate.

Palabras clave: Lenguaje AS3, Kinect, Realidad Aumentada, educación.

INTRODUCCIÓN

A raíz de la nueva Reforma Educativa que se ha venido implementando en las escuelas de nivel básico, en donde el alumno es el actor principal del proceso enseñanza aprendizaje y en donde el sistema de evaluación es en base a competencias, no obstante y pesar del gran avance tecnológico que se ha desarrollado en los últimos años, los métodos de enseñanza dentro del aula han evolucionando lentamente en la mayoría de las escuelas públicas de nivel básico y más en aquellas que están ubicadas en zonas rurales. No se pretende exhibir que los métodos actuales de enseñanza sean o no obsoletos ya que este no es el objetivo del proyecto, sin embargo, sabemos que en las aulas de educación básica se sigue enseñando a la vieja usanza, es decir

1 Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Mecatrónica; Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. Celaya Gto. México, angel_max@hotmail.es

2 Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Celaya. Departamento de Mecatrónica; Antonio García Cubas Pte #600 esq. Av. Tecnológico. Celaya Gto. México, martin.laguna@itcelaya.edu.mx

mediante libros de texto y tomando notas o copiando ejercicios que el profesor apunta en el pizarrón. Algo que no es exclusivo de las nuevas generaciones es la notoria dificultad de aprender con los métodos clásicos, y es por ello que a través del proyecto que aquí se presenta, se busque disminuir las complicaciones que se presentan al enseñar por ejemplo anatomía humana, Geografía o Matemáticas. Utilizando la herramienta que aquí se propone, el estudiante tendrá la facilidad de escuchar la teoría en el aula y la de aprender interactuando.

En primera instancia y como objetivo principal, se aplicó esta tecnología solamente al campo de la anatomía humana, y lo que se pretende es incursionar en otros campos de la educación básica tales como geografía, matemáticas o historia donde se podrá disponer de una aplicación más completa en el que se integren dinámicas para poder aprender de una manera más ilustrativa.

En la actualidad existen diversas estrategias para la enseñanza en escuelas de educación básica que buscan aumentar el interés del alumno por las distintas materias que le son impartidas en el aula, el uso de tecnologías actuales como apoyo para el aprendizaje, se está convirtiendo en un tema al cual vale la pena invertir tiempo con la finalidad de fomentar nuevos métodos de enseñanza y que permita a los estudiantes a familiarizarse con distintos dispositivos que le serán útiles en un futuro para su desarrollo. La realidad aumentada (RA), es la combinación de un entorno físico con elementos virtuales en tiempo real, con el propósito de crear una aplicación capaz de interactuar con distintos modelos como son los órganos, planetas y números en tercera dimensión de manera dinámica para que el usuario pueda aprender, al mismo tiempo que interactúa, con la aplicación que adquiere la información a través de un sensor Kinect.

Hoy día el uso de medios digitales como apoyo didáctico para los estudiantes, ha tenido un crecimiento considerable, sin embargo, aún hace falta contribuir más en el desarrollo de material de apoyo y utilizar las bondades que nos ofrece la tecnología en la educación. El catedrático de la Universidad de Sevilla, Julio Cabero Almenara en su publicación titulada: “Las necesidades de las TIC en el ámbito educativo: oportunidades riesgos y necesidades”, y (Cabero J., 2007), describen ampliamente las oportunidades y ventajas de aplicar las tecnologías de la información en la educación.

El objetivo principal del proyecto es desarrollar una aplicación de RA que ayude al alumno de educación básica en su proceso de aprendizaje y aporte una herramienta educativa alterna que permita el uso de tecnologías digitales como lo es el sensor Kinect y dispositivos móviles.

MÉTODOS Y MATERIALES

La metodología seguida en el desarrollo de la aplicación realizada se muestra en el siguiente diagrama de bloques (figura 1).

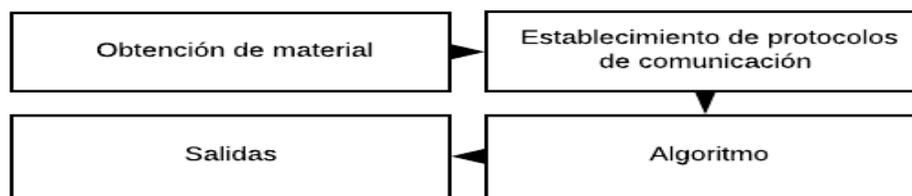


Figura1. Metodología de Desarrollo

Los modelos de los planetas como los que se ilustran en las figuras 2 y 3, se insertaron dentro del módulo LUDE-RAum para ser utilizadas por el Kinect y por las aplicaciones móviles, todos ellos fueron realizados con el software de Unity, el cual es un motor de videojuego multiplataforma creado por Unity Technologies y está disponible como plataforma de desarrollo para Microsoft Windows, OS X y Linux. La plataforma de

desarrollo usó se usó a su vez como soporte de compilación con diferentes tipos de plataformas. Una de las dificultades a resolver fue que a partir de su versión 5.4.0 ya no soporta el desarrollo de contenido para navegador a través de su plugin web, en su lugar se tuvo que cambiar para utilizar WebGL. Actualmente Unity tiene dos versiones: Unity Professional (pro) y Unity Personal.

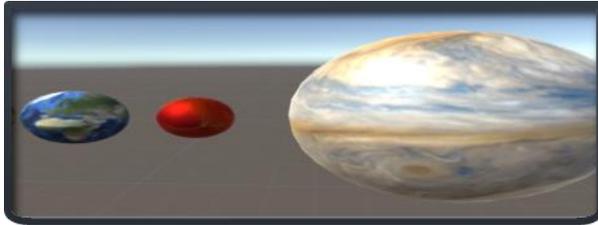


Figura 2. Modelado de los planetas



Figura 3. Modelado de los planetas con soporte informativo.

La ventajas de utilizar el lenguaje AS3, es que reconoce las animaciones y permite modificar propiedades de la misma porción en pantalla como tamaño (alto y ancho). Además de permitir reproducir la animación, en cualquier momento se puede hacer el llamado al método o detenerlo en cualquier momento. También existe la opción de modificar la velocidad (frames por segundo), que se le asigna a la animación desde Adobe Flash AS6, así como la posibilidad de mostrar un frame de animación determinado.

Dentro del entorno de programación se utilizaron las propiedades de los nodos de las manos para la manipulación de los modelos y tomar de esta manera la posición correcta del usuario en un rango de 2 a 2.5 metros. Se utilizó la distancia en el eje Z a partir del Kinect al nodo de la cabeza del usuario (figura 4) (Azuma, 2001).

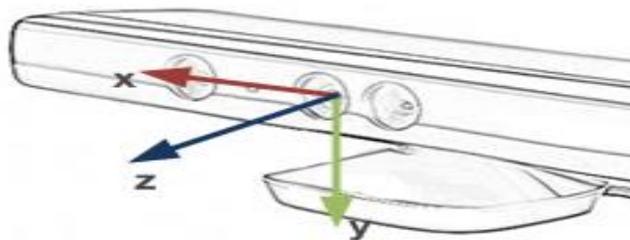


Figura 4. Sistema de coordenadas en modo world

Para la comunicación del Kinect con la PC, se usó el SDK de Windows 10 en la versión 1803, que proporciona los encabezados, las librerías, los metadatos y las herramientas más recientes para compilar aplicaciones de Windows 10. Esta aplicación contiene los drivers necesarios para poder usar el Kinect de forma correcta (Takahashi, 2009).

RESULTADOS

Una vez que se integraron todos los elementos mencionados en el desarrollo de la aplicación, fue posible crear una interface con diferentes modalidades seleccionadas desde la pantalla de inicio (figura 5), la cual fue pensada para que los alumnos desde un inicio muestren interés en ella y se mantengan motivados al poder

interactuar de manera lúdica. La aplicación también contiene dos botones que permiten iniciar la modalidad o ir a la sección de información de los desarrolladores e instrucciones de uso.



Figura 5. Interfaz de inicio

Uno de los logros obtenidos fue la creación de las aplicaciones móviles para Android (figura 6), con la finalidad de motivar a los alumnos a aprender de una forma mas divertida y así aprovechar las nuevas tecnologías que se tienen a la mano como son los celulares y las tabletas como las proporcionadas a los estudiantes de nivel primara por el gobierno del estado de Guanajuato (Ruiz, 2011).

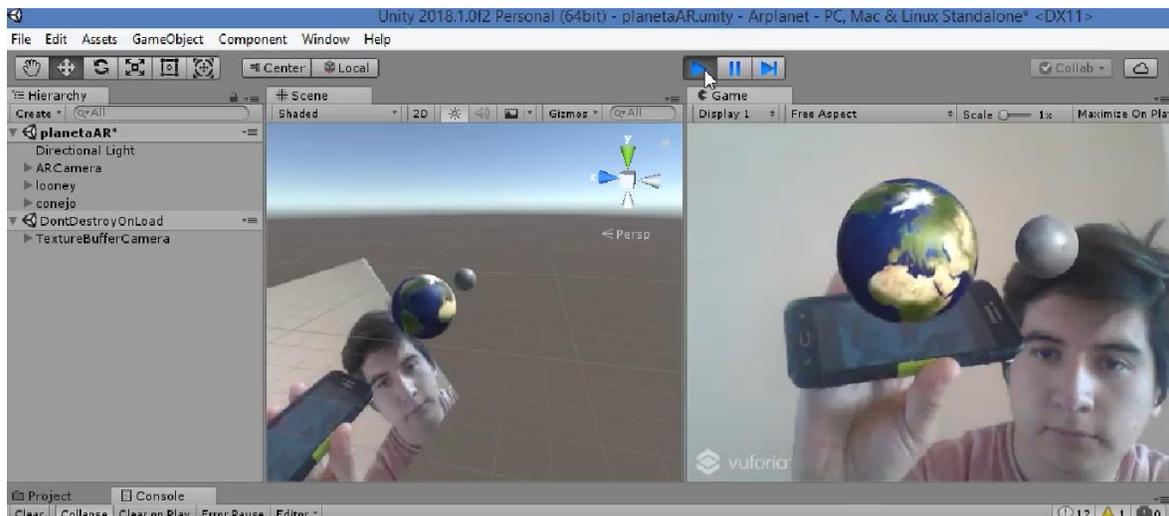


Figura 6. Aplicación móvil con planetas.

Las aplicaciones hechas con el Kinect y las realizadas para dispositivos móviles, fueron aplicadas como prueba piloto en varias primarias del estado con niños de 3er grado de primaria para así ver la factibilidad de uso y de alcance del objetivo de esta aplicación. En la figura 7 (Ver figura 7) se puede ver el comportamiento alegre e interactivo de los alumnos al participar en su demostración, sin olvidar los comentarios y experiencias positivas expresadas por los docentes (figura 8).



Figura 7 interacción con alumnos



Figura 8 entrevista a la maestra

CONCLUSIÓN

Al crear las aplicaciones en este proyecto, se encontró con una gran variedad de posibilidades que permitirán a los estudiantes de nivel básico poder interactuar con sus dispositivos móviles y utilizar a la par sus libros de texto, celular o tableta, lo cual les permitirá contar con una herramienta en la aula de clases que les permita aprender y divertirse de manera lúdica y dejar a un lado los métodos convencionales de enseñanza-aprendizaje y evitar que las clases se vuelvan tediosas para los estudiantes o en algunos casos hasta para los docentes. Se pretende continuar con el desarrollo de otros módulos en Matemáticas e inglés para seguir enriqueciendo las aplicaciones que esta modalidad ofrece.

BIBLIOGRAFÍA

Artículo **de** **Libros**
Azuma, R. T. (1997). *A Survey of Augmented Reality. Presence: Teleoperators and Virtual Environments*, Vol. 6, N. 4, pp. 355 – 385.

Azuma, R.T. (2001). *Augmented Reality: Approaches and Technical Challenges, Fundamentals of Wearable Computers and Augmented Reality*, W. Barfield, Th. Caudell (eds.), Mahwah, New Jersey, pp 27-63.

Ruiz, T. D. (2011). *Realidad Aumentada, educación y museos*. Revista ICONO14. Revista científica de Comunicación y Tecnologías emergentes., 9(2), 212- 226.

Artículo **en** **línea**
Basogain X. y otros, (2007), “*Realidad Aumentada en la Educación: una tecnología emergente*”, ONLINE EDUCA MADRID 2007: 7a Conferencia Internacional de la Educación y la Formación basada en las.

Cabero, J. (2007), *Las necesidades de las TIC en el ámbito educativo: oportunidades riesgos y necesidades*. Tecnología y Comunicación Educativas Año 21, No. 45.

Microsoft (2016). *Kinect for Windows*. Recuperado de <https://developer.microsoft.com/en-us/windows/kinect>

Takahashi, D. (2009), «*Microsoft games exec details how Project Natal was born*», URL <http://venturebeat.com/2009/06/02/microsoft-games-executive->.

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS PRODUCTORAS DE SIDERÓFOROS

Sergio Alejandro García Ávila¹ y Dra. Sandra Pérez Miranda²

RESUMEN

Las actinobacterias son un grupo muy variado de bacterias que se pueden encontrar principalmente en el suelo, este grupo de bacterias es importante debido a que producen una gran cantidad de metabolitos secundarios que pueden tener aplicaciones muy interesantes. Se aislaron e identificaron 30 cepas bacterianas de una muestra de suelo del municipio de Salina en San Luis Potosí. A dichas bacterias se les realizó un análisis bajo estereoscopio y microscopio para obtener sus características macroscópicas y microscópicas. Determinándose que de las 30 cepas aisladas solo 24 son actinobacterias. Por último, a estas cepas se les realizó un cultivo en medio CAS para identificar si producen sideróforos.

ABSTRACT

Actinobacteria are a very varied group of bacteria that can be found mainly in the soil, this group of bacteria is important because they produce a large number of secondary metabolites that can have very interesting applications. 30 bacterial strains were isolated and identified from a soil sample from the municipality of Salinas in San Luis Potosí. To these bacteria an analysis is applied under stereoscope and microscope to obtain their macroscopic and microscopic characteristics. It was determined that of the 30 isolated strains only 24 are actinobacteria. Finally, these strains are grown in CAS medium to identify if they produce siderophores.

Palabras Clave: Actinobacterias, Sideróforos, Hierro, CAS.

INTRODUCCIÓN

Las actinobacterias son un grupo muy diverso de bacterias Gram positivas y filamentosas que poseen un alto valor de guanina-citosina en su genoma. Se les considera excelentes productores de productos farmacéuticos, enzimas de uso industrial y es bien conocido que son una fuente destacada para encontrar metabolitos secundarios (Zothanpuia *et al.*, 2018). Uno de estos tantos metabolitos secundarios son los sideróforos, estas moléculas son producidas específicamente para unir y quelar iones Fe^{3+} . Estas moléculas se componen de cadenas laterales y grupos funcionales (catecolatos, hidroxamatos, carboxilatos) que le confieren al sideróforo una fuerte afinidad para unirse al ión férrico (Patel *et al.*, 2018). Sin embargo, los microorganismos no pueden disponer tan fácilmente del hierro en esta forma debido a su poca solubilidad, es por eso que recurren a la producción de los sideróforos que, al unirse con los iones férricos, estos son transformados de Fe^{3+} a Fe^{2+} y de esta manera son más aprovechables por las bacterias (Radzki *et al.*, 2013).

En este trabajo se busca aislar, identificar y caracterizar bacterias productoras de sideróforos con el objetivo de usar estos compuestos en futuras investigaciones que permitan conocer la viabilidad del posible uso de estos compuestos dentro de procesos de biorremediación para eliminar el arsénico del agua.

MÉTODOS Y MATERIALES

Para comenzar este estudio se inocularon distintos medios de cultivo para ver en cuál de ellos crecían mejor las bacterias, los medios que se probaron fueron MM, MMM, SFM, GA, CMM1. Una vez establecido en que medio se desarrollaban mejor las bacterias, se procedió a realizar el aislamiento de las actinobacterias presentes en la muestra

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas: Carretera Torreón – Matamoros Km 7.5, Ciudad Universitaria, Ejido el Águila, C.P: 27275, Torreón, Coahuila, s_garcia@uadec.edu.mx

²Instituto Potosino de Investigación, División de Biología Molecular: Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4ª sección, C.P:78216, San Luis Potosí, San Luis Potosí. sandra.perez@ipicyt.edu.mx

de suelo. Dicha muestra de suelo fue recolectada de los terrenos de una antigua fábrica de sal ubicada en el municipio de Salinas de Hidalgo en el estado de San Luis Potosí.

Posteriormente se procedió a caracterizar macroscópicamente las colonias aisladas, haciendo uso de un estereoscopio de la marca Nikón. Las características de la colonia de las que se tomó nota fueron: forma, borde, elevación, apariencia, textura, color, y espora. Luego se procedió a realizar tinción de gran a todas las colonias para poder observar las características microscópicas, gram y forma, con ayuda de un microscopio de la marca Leica.

Después las esporas presentadas por las bacterias se cosecharon y se inocularon en tubos falcón con medio nutritivo, estos tubos se incubaron a 100 RPM, 27°C hasta alcanzar un volumen de biomasa aproximado de 2 ml. Hecho esto se tomaron muestra de 1 microlitro para cuantificar las esporas usando cámaras de Neubauer, para tener soluciones de glicerol con la misma cantidad de esporas de cada muestra.

Una vez completado el paso anterior se realizan las pruebas in vitro para la identificación de cepas productoras de sideróforos. Para estos se utiliza la técnica desarrollada por Schwyn y Neilands, la cual consiste en el uso de un agar preparado con un tinte azul, cuyo ingrediente principal es el compuesto cromo azurol sulfonato y el medio mineral MM9 con los requerimientos nutricionales para las bacterias, (Schwyn & Neilands, 1987). En este ensayo se colocaron 10 microlitros de la solución de esporas en el agar usando la técnica de pozos, inoculadas todas las cepas se incubaron a 27°C por 8 días.

RESULTADOS

Tabla 1. Características macroscópicas y microscópicas de las cepas aisladas.

Cepa	Características de la colonia.								
	Forma	Borde	Elevación	Apariencia	Textura	Color	Color de espora	Forma Microscópica	Gram
SS4-6	irregular	ondulado	umbonada	opaco	dura	beige	gris	filamentoso	+
SS4-7	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-8	circular	continuo	convexo	brillante	suave	anaranjado	sin espora	cocos	-
SS4-9	circular	continuo	convexo	brillante	suave	anaranjado pálido	sin espora	cocos	-
SS4-10	puntiforme	continuo	convexo	brillante	suave	beige	sin espora	cocos	-
SS4-11	puntiforme	continuo	elevada	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-12	puntiforme	continuo	convexo	brillante	suave	amarillo	sin espora	cocos	-
SS4-13	circular	continuo	plano	opaco	dura	gris	blanca	filamentoso	+
SS4-14	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-15	circular	continuo	elevado	opaco	dura	anaranjado	ND	filamentoso	+
SS4-16	circular	continuo	pulvinada	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-16(1)	circular	continuo	umbonada	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-16(2)	circular	continuo	convexa	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-17	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	verde	ND	ND
SS4-17	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	gris	ND	ND
SS4-17(1)(1)	circular	continuo	elevado	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-17(1)(2)	circular	continuo	umbonada	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-17(1)(2)(1)	circular	continuo	umbilicada	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-17(1)(2)(2)	circular	continuo	umbonada	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-17(2)(2)(1)	circular	continuo	umbonada	opaca	dura	beige	amarillo tenue	filamentoso	+
SS4-17(2)(2)(2)	circular	continuo	umbilicada	opaca	dura	beige	blanca	filamentoso	+

SS4-18	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanco	filamentoso	+
SS4-19	circular	continuo	pulvinada	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-20	circular	ondulado	pulvinada	opaco	dura	beige	anaranjada	filamentoso	+
SS4-21	circular	rizoide	convexo	opaco	dura	beige	amarillo tenue	filamentoso	+
SS4-22	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	amarillo tenue	filamentoso	+
SS4-23	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	amarilla	filamentoso	+
SS4-24	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-25	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	filamentoso	+
SS4-26	circular	continuo	convexo	opaco	dura	beige	blanca	filamento	+

Los datos presentados en la tabla 1 se pueden observar con detalle las características de las 30 cepas aisladas de la muestra de suelo analizada. Como se puede observar se aislaron 30 cepas diferentes, sin embargo debido a las características encontradas se puede afirmar que solo 24 son actinobacterias, ya que cumplen con la característica de ser gram positivas.

Debido a problemas de falta de tiempo, la prueba en agar cromo azurol sulfonato, para identificación de cepas productoras de sideróforos no fue realizada. El objetivo de realizar este ensayo era para poner en evidencia cepas que produjeran sideróforos, ya que al ser positiva la prueba, el agar presenta círculos de color naranja alrededor de la colonia productora de dicho compuesto.

CONCLUSIONES

Las actinobacterias productoras de sideróforos pueden representar una fuente renovable de metabolitos para la remoción de compuestos indeseables en el agua como lo es el arsénico.

BIBLIOGRAFIA

ZOTHANPUIA, PASSARI, A.K. VINCENT VINEETH LEO, V. CHANDRA, P. BRIJESH KUMAR, B. NAYAK, C. HASHEM, A. ABD_ALLAH, E. ALQARAWI, A. SINGH, B. (2018). "Bioprospection of actinobacteria derived from freshwater sediments for their potential to produce antimicrobial compounds" en *Microbial Cell Factories*. Núm 17. Diciembre 2018, [pp 2-15].

PATEL, P.R. SHAIKH, S. SAYYED, R. Z. (2018). "Modified chrome azurol S method for detection and estimation of siderophores having affinity for metal ions other than iron" en *Environmental Sustainability*, Núm 1, Vol. 1, Marzo 2018, [pp 81-87].

RADZKIF, W. GUTIERREZ, F. J. ALGAR, E. LUCAS, J. A. GARCÍA-VILLARACO, A. RAMOS, B. (2013). "Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture" en *Antonie van Leeuwenhoek*, Núm 104, Vol. 3, [pp321-330].

SCHWYN, B. NEILANDS, J.B. (1987). "Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores" en *Analytical Biochemistry*, Núm 160, Vol 1, Enero 1987, [pp. 47- 56].

OBTENCIÓN DE LÍNEAS TRANSFORMANTES DE *Marchantia polymorpha*.

González Santibáñez Susana Jacqueline¹, Melissa Dipp Álvarez³ y Luis Alfredo Cruz Ramírez².

RESUMEN.

La planta hepática *Marchantia polymorpha* es un modelo emergente para el estudio y entendimiento del proceso evolutivo de adaptación de las plantas al ambiente terrestre. *Marchantia polymorpha* pertenece a la división Marchantiophyta, que incluye plantas relativamente simples en comparación con las angiospermas, haciéndola idónea para el estudio comparativo de dichas adaptaciones y sus mecanismos genéticos (Ishizaki, 2008). En este trabajo se desarrolló la transformación de *M. polymorpha* empleando dos métodos: Agar trap (Tsuboyama- Tanaka y Kodama, 2015) y transformación mediada por *Agrobacterium* usando talos en regeneración de *M. polymorpha* (Kubota *et al.*, 2013). Las fusiones utilizadas para transformar *M. polymorpha* fueron del promotor del gen AINTEGUMENTA-PLETHORA-LIKE de *M. polymorpha* (pMpAPL) fusionado a GUS y sobreexpresión del gen APL (OE APL). El empleo de estos dos métodos se realizó a fin de determinar el más efectivo en la transformación de *M. polymorpha*.

ABSTRACT.

The liverwort plant *Marchantia polymorpha* is an emerging model for the study of the evolutionary process of adaptation of plants to the terrestrial environment. *Marchantia polymorpha* belongs to the Marchantiophyta division, which includes relatively simple plants in comparison with angiosperms, making it ideal for the comparative study of these adaptations and their genetic mechanisms (Ishizaki, 2008). In this work the transformation of *M. polymorpha* was developed using two methods: Agar trap (Tsuboyama-Tanaka and Kodama, 2015) and transformation mediated by *Agrobacterium* using regenerating thalli of *M. polymorpha* (Kubota *et al.*, 2013). The fusions used to transform *M. polymorpha* were the promoter of the gene AINTEGUMENTA-PLETHORA-LIKE of *M. polymorpha* (pMpAPL) fused to GUS and overexpression of the APL gene (OE APL). The use of these two methods was carried out in order to determine the most effective in the transformation of *M. polymorpha*.

Palabras Clave. Terrestrialización, *Marchantia polymorpha*, transformación mediada por *Agrobacterium*, Agar Trap, pMpAPL, OE APL.

INTRODUCCIÓN.

La adaptación de las plantas al ambiente terrestre ha sido permitida gracias a diferentes mecanismos que estos organismos han desarrollado a lo largo del tiempo, como la generación de raíces, una mayor prevalencia de la etapa esporofítica en comparación con la gametofítica, el surgimiento de meristemos indeterminados, entre otros (Garay-Arroyo *et al.*, 2014). Estos mecanismos están determinados por la expresión de genes. Se ha predicho que la función de estos genes puede estar conservada desde linajes de plantas tempranamente divergentes, como las briofitas (en el sentido amplio de la palabra).

M. polymorpha tiene un tamaño de aproximadamente 10 cm de radio, crecimiento radial, no presenta hojas si no un cuerpo taloso, posee rizoides, y junto a las Briofitas y Antocerofitas, se caracteriza por no poseer un tejido vascular y ser de una estructura simple comparada con Angiospermas (Mauseth, 2008; Shimamura, 2015). Lo que la hace perfecta para el estudio de la evolución de los sistemas genéticos que hayan podido permitir la aparición de cambios y adaptaciones morfológicas y fisiológicas para la vida terrestre (Ishizaki, 2008).

El estudio comparativo de genes involucrados en el desarrollo de estructuras adaptativas de *Arabidopsis thaliana* en *M. polymorpha*, ha mostrado que existe cierto grado de conservación funcional, tal como la encontrada en la familia de factores de transcripción RKD, involucrados en la formación de células germinales (Koi *et al.*, 2016). Más recientemente se ha encontrado que la función de los factores de transcripción AINTEGUMENTA LIKE (AIL)

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia El Copal. Tel. (462) 606 79 00. C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. susa.jgs@gmail.com

² Dr. Luis Alfredo Cruz Ramírez, Jefe del Grupo de Complejidad Molecular y del Desarrollo Lab. 2 Unidad de Genómica Avanzada. LANGEBIO-CINVESTAV Km. 9.6 Libramiento Norte, Carretera Irapuato-León, Apdo. Postal 629, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato, México. alfredo.cruz@cinvestav.mx

³ M. en C. Melissa Dipp Álvarez, Lab. 2 Unidad de Genómica Avanzada. LANGEBIO-CINVESTAV.

podría estar también conservada en plantas terrestres (Dipp-Álvarez, 2017). Los factores de transcripción AIL en angiospermas están involucrados en el desarrollo del embrión, desarrollo de raíz, mantenimiento de nichos de células madre, entre otras funciones (Horsman, *et al.*, 2014). Dentro de esta familia están los genes PLETHORA, AIL1 y ANT (Aida, *et al.*, 2004; Santuari, *et al.*, 2016). En *M. polymorpha* se ha encontrado un solo gen ortólogo de la familia AIL nombrado *AINTEGUMENTA-PLETHORA-LIKE* (*MpAPL*) (Dipp-Álvarez, 2017). En este proyecto se pretende probar la transformación genética de *M. polymorpha* para generar líneas transformantes que nos indiquen el patrón transcripcional del gen así como sobreexpresar *MpAPL* para observar el fenotipo en comparación con plantas silvestres.

En *M. polymorpha*, al igual que en otros organismos, la transformación genética ha facilitado el análisis funcional de genes a través de sobreexpresión y silenciamiento de genes (Ishizaki, 2008). Con este fin se han desarrollado diferentes métodos para la obtención de líneas transformantes de *M. polymorpha*, entre los que se destacan el método de Agar Trap (Tsuboyama- Tanaka y Kodama, 2015) y transformación mediada por *Agrobacterium* en talos en regeneración (Kubota *et al.*, 2013), métodos que se pondrán a prueba en éste proyecto.

METODOLOGÍA.

Para la realización de este proyecto se contó con los siguientes materiales principales:

- *Escherichia coli* cepa DH5 α electrocompetente para su transformación y clonación de los plásmidos.
- *Agrobacterium tumefaciens* cepa GV 22-60 electrocompetente, para la infección y transformación de *M. polymorpha*. La cepa fue crecida en medio LB a 28°C.
- *M. polymorpha* Tak-1 (Wild type). Se emplearon las plantas crecidas a partir de gemas en medio agar Gamborg (1/2 B5) a la mitad de la proporción indicada en su etiqueta, en luz continua a 22°C.
- Plásmidos. Se utilizaron plásmidos con la fusión transcripcional del promotor de gen APL de *M. polymorpha* con gen reportero GUS (pMpAPL:GUS), y sobreexpresión del gen APL (35s:MpAPL::YFP, OE APL). Los plásmidos empleados ya habían sido verificados por secuenciación y listos para su empleo en transformación.

1. Transformación de *E. coli* DH5 α por electroporación.

Se empleó la cepa *E. coli* DH5 α electrocompetente para la transformación por electroporación para clonar todas las construcciones. Esta cepa es empleada por su buen rendimiento y estabilidad en los insertos plásmidicos.

Se dializaron aproximadamente 600ng de DNA por 10min. en 10-5 μ l de agua MiliQ. Las células DH5 α se incubaron en hielo por 5min. Posteriormente se agregaron los plásmidos a las células y se incubaron en hielo 5 min. Las células se colocaron en una celda para el electroporador y se dio la descarga con el programa predeterminado para *E. coli*.

Las células se resuspendieron en 600 μ l de medio LB y se incubaron en Thermomixer a 37°C/1000rpm por 1-1:30 hrs.

2. Transformación de *Agrobacterium tumefaciens* por electroporación.

A células de *Agrobacterium* electrocompetentes se les agregó ~500ng de los plásmidos. Se incubaron por 30 min. en hielo. Transcurrido el tiempo se les dio la descarga en el electroporador con el programa determinado para *Agrobacterium*. Las células se resuspendieron en 600 μ l de medio LB y se incubaron a 28°C por 3 hrs. Las células se plaquearon en medio LB con antibiótico y fueron incubadas a 28°C por tres días.

3. Transformación de *M. polymorpha* por método de Agar Trap.

En el método de Agar Trap, se emplean gemas de *M. polymorpha* en medio solido Gamborg (1/2 B5) y fue llevado a cabo de acuerdo con el protocolo hecho por Tsuboyama- Tanaka y Kodama en 2015.

En este protocolo las gemas de *M. polymorpha* se dejan crecer en medio Gamborg B5 a 22°C bajo luz continua por dos días, para después colocarles el buffer de transformación con *Agrobacterium*. Este método fue empleado con los plásmidos pMpAPL:GUS y OE APL. Este tratamiento se aplicó para 50 gemas por construcción.

4. Transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* usando talos en regeneración en *M. polymorpha*.

Este protocolo es caracterizado por la infección e incubación de los fragmentos de talos de *M. polymorpha* en medio líquido. Se realizó de acuerdo con lo publicado por Kubota *et al.* en 2013. Fue empleado para las construcciones de la fusión transcripcional del promotor de *MpAPL* con el gen reportero GUS (pMpAPL:GUS), y sobreexpresión de *MpAPL* (OE APL).

Las gemas de *M. polymorpha* fueron crecidas dos semanas en placas Petri con medio Gamborg a mitad de su proporción indicada por la etiqueta (1/2 B5), con pH 5.5 y 1% de sucrosa, a 22°C en luz continua. Transcurridas las dos semanas se cortaron sus zonas meristemáticas y se dividieron los talos en 4 para transferir los fragmentos a otra placa con el mismo medio. Se dejaron crecer dos días y se co-cultivaron en matraces con medio OM51C y acetociringona, a los que se añadieron las células de *Agrobacterium* previamente activado por 6 hrs. a 28°C con agitación. Los matraces se dejaron en agitación a 130 rpm a 22°C por 3 días. Posteriormente, los talos recibieron 5 lavados con agua destilada estéril y fueron colocados en placas Petri con antibiótico para selección de plantas transformantes. Este método de transformación se aplicó a 100 fragmentos de talo, 50 fragmentos por cada construcción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los plásmidos empleados para transformación, ya verificados por secuenciación fueron diseñados en la herramienta SnapGene, de la que se obtuvieron las imágenes de las construcciones pMpAPL:GUS y OE APL (Fig. 1).

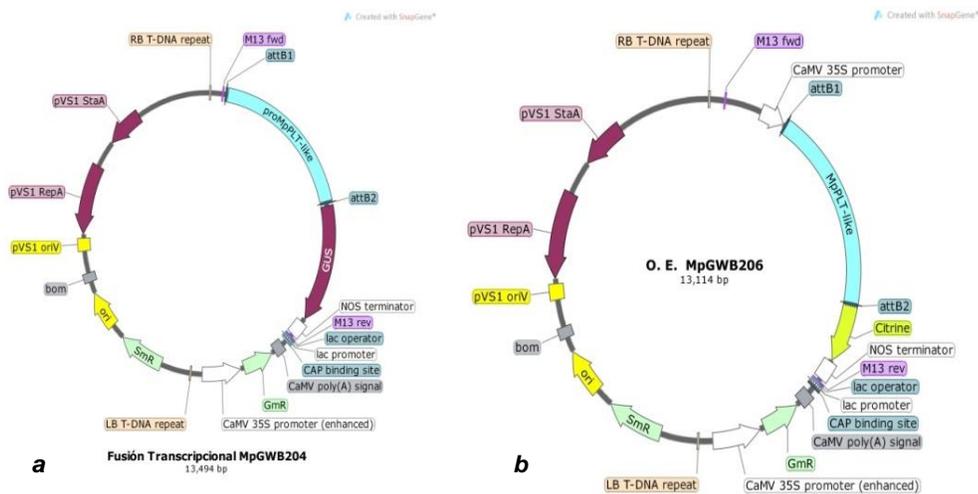


Fig. 1 Mapas de las construcciones de la a) fusión transcripcional pMpAPL:GUS y b) OE APL.

En la transformación de gemas por medio del método de AgarTrap ninguna logró crecer en el antibiótico correspondiente, y por tanto no se logró la transformación con este método. Es necesario hacer más ensayos utilizando este método de transformación en donde se altere la cantidad de *Agrobacterium* utilizada, los días de co-cultivo, entre otros, para lograr estandarizarlo en el laboratorio.

En contraste, el método de transformación mediada por *Agrobacterium* presentó resultados favorables para las construcciones de fusión transcripcional del promotor de *MpAPL* fusionado a GUS (pMpAPL:GUS), y sobreexpresión de *MpAPL* (OE APL). De 50 fragmentos en total de cada construcción, en OE APL se logró regenerar fragmentos 7 y en pMpAPL:GUS 1 (fig.2). Obteniendo un total de 8% de transformación exitosa en este laboratorio.

Aun habiendo obtenido resultados positivos en la transformación con el método mediado por *Agrobacterium* en talos en regeneración, ésta no se obtuvo en un porcentaje como el obtenido por Kubota *et al.* (2013), pues con este método obtuvieron un promedio del 14% de efectividad en transformación. Kubota *et al.* en su metodología incuban los talos en luz continua para el co-cultivo con *Agrobacterium*, y en este trabajo se incubaron en fotoperiodo, quizá este sea un motivo por el cuál existieron diferencias en la eficiencia de la transformación. Se continuará trabajando con este método y se continuará afinando la técnica para poder obtener un resultado más próximo al reportado por Kubota y colaboradores (2013).

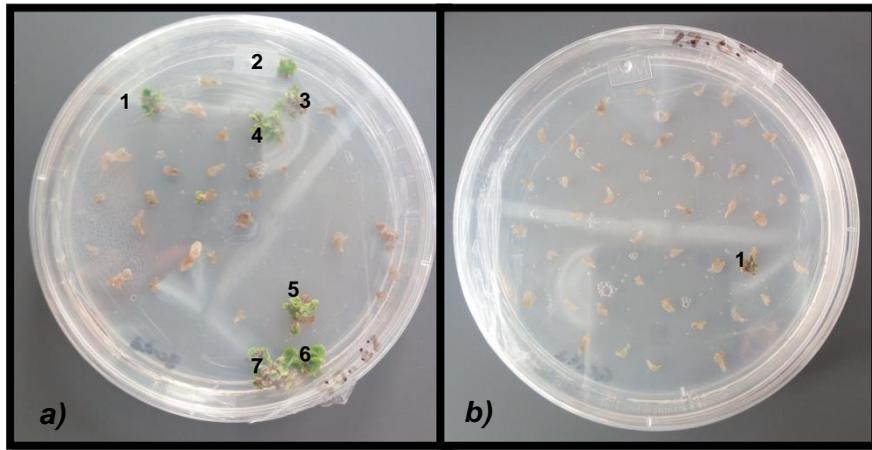


Fig. 2 Placas de medio $\frac{1}{2}$ B5 con las plantas transformantes para a) OE APL y b) pMpAPL:GUS.

CONCLUSIONES.

Se ha logrado determinar que la transformación mediada por *Agrobacterium* en talos en regeneración es más efectivo que el método de Agar Trap para la obtención de líneas transformantes de *Marchantia polymorpha* con las condiciones del laboratorio de Complejidad Molecular y del Desarrollo, aunque claramente este último sea más sencillo de realizar.

BIBLIOGRAFÍA.

Aida, M., Dimitris Beis, Renze Heidstra, Viola Willemsen, Ikram Blilou, Carla Galinha, Laurent Nussaume, Yoo-Sun Noh, Richard Amasino y Ben Scheres. (2004). The PLETHORA genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche. *Cell*, 119(1): 109-120.

Dipp-Álvarez, Melissa. (2017). Caracterización funcional del gen AINTEGUMENTA-PLETHORA-LIKE en *Marchantia polymorpha*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico nacional. Pág. 55.

Garay-Arroyo, Adriana, María de la Paz Sánchez, Berenice García-Ponce, Elena R. Álvarez-Buyila y Crisanto Gutiérrez. (2014). Homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *REB*. 33(1): 13-22.

Horstman, A., Viola Willemsen, Kim Boutilier y Renze Heidstra. (2014). AINTEGUMENTA-LIKE proteins: hubs in a plethora of networks. *Trends in plant science*, 19(3): 146-157.

Ishizaki, Kimitsune, Shota Chiyoda, Katsuyuki T. Yamato y Takayuki Kohchi. (2008). *Plant Cell Physiol*. 49(7): 1084–1091.

Satoshi Koi, Tetsuya Hisanaga, Katsutoshi Sato, Masaki Shimamura, Katsuyuki T. Yamato, Kimitsune Ishizaki, Takayuki Kohchi y Keiji Nakajima. (2016). An Evolutionarily Conserved Plant RKD Factor Controls Germ Cell Differentiation. *Current Biology* 26: 1775–1781.

Kubota, A., Kimitsune Ishizaki, Masashi Hosaka y Takayuki Kohchi. (2013). Efficient Agrobacterium-mediated transformation of the liverwort *Marchantia polymorpha* using regenerating thalli. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 77(1): 167-172.

Mauseth J. (2008). *Botany. An introduction to Plant Biology*. 4^a ed. Saunders College Publ., Philadelphia.

Santuari, L., Gabino F Sanchez-Perez, Marijn Luijten, Bas Rutjens, Inez Terpstra, Lidija Berke, Maartje Gorte, Kalika Prasad, Dongping Bao, Johanna L.P.M. Timmermans-Hereijgers, Kenichiro Maeo, Kenzo Nakamura, Akie Shimotohno, Ales Pencik, Ondrej Novak, Karin Ljung, Sebastiaan van Heesch, Ewart de Bruijn, Edwin Cuppen, Viola Willemsen, Ari Pekka Mähönen, Wolfgang Lukowitz, Berend Snel, Dick de Ridder, Ben Scheres y Renze Heidstra (2016). The PLETHORA gene regulatory network guides growth and cell differentiation in Arabidopsis roots. *The Plant Cell*, tpc-00656.

Shimamura, Masaki. (2015). *Marchantia polymorpha: Taxonomy, Phylogeny and Morphology of a Model System*. *Plant and Cell Physiology*. 57 (2, 1): 230–256.

AGRADECIMIENTOS.

El primer agradecimiento en este proyecto es al Dr. Luis Alfredo Cruz Ramírez, por la aceptación de mi participación y su apoyo en su realización. En seguida quiero dar un reiterado agradecimiento a la asesora de este trabajo M. en C. Melissa Dipp Álvarez, por su guía, paciencia y atención a lo largo de la realización de este trabajo.

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA DE PREBIÓTICOS Y PROBIÓTICOS EN PROCESOS INFLAMATORIOS INTESTINALES EN LA RATA

Valdés Gutiérrez Tanya Verónica¹, Córdova Dávalos Laura Elena² y Salinas Miralles Eva María²

RESUMEN

Durante la inflamación intestinal se presenta una alteración en la microbiota. Se ha demostrado que el glicomacropéptido (GMP), un péptido bioactivo derivado de la leche, posee propiedades prebióticas y anti-inflamatorias. El GMP tiene ácido siálico en enlaces α -2,3 ó α -2,6 en su estructura; no se conoce con exactitud la función biológica de estos azúcares. En éste trabajo se estandarizó la detección de la glicosilación en enlace α -2,3 del GMP utilizando la lectina MAL II. Se observó que el GMP que posee ácido siálico unido mediante enlaces α -2,3, muestra una masa molecular de 15 kDa, mientras que las moléculas del GMP con ácido siálico en uniones α -2,6, presentan un peso de 18 kDa. Además se observó que la neuraminidasa muestra diferente especificidad hacia los enlaces α -2,3 y α -2,6 del ácido siálico del GMP.

ABSTRACT

During intestinal inflammation there is an alteration in the microbiota. It has been shown, that glycomacropéptide (GMP), a bioactive peptide obtained from milk, has anti-inflammatory and prebiotic properties. GMP has sialic acid in α -2,3 or α -2,6 bonds in its structure; the biological function of these sugars is not known exactly. In this work the detection of glycosylation in α -2,3 bond of GMP was standardized using the MAL II lectin. It was observed that the GMP that has sialic acid linked by α -2,3 bonds, shows a molecular mass of 15 kDa, while the molecules of GMP with sialic acid in α -2,6 bonds, have a weight of 18 kDa. Furthermore, it was observed that neuraminidase shows different specificity towards the α -2,3 and α -2,6 bonds of the sialic acid of GMP.

Palabras clave: Glicomacropéptido, inflamación, glicosilación, ácido siálico, lectina.

INTRODUCCIÓN

La inflamación es un proceso central requerido para la defensa de células contra un daño o infecciones microbianas (1). En el proceso inflamatorio los vasos sanguíneos se dilatan gracias a la histamina, producida por las células cebadas y al óxido nítrico, provocando un aumento de la permeabilidad y generando así una extravasación que permitirá la llegada de células del sistema inmune provenientes del torrente sanguíneo (2).

La enfermedad intestinal inflamatoria es un trastorno del tubo digestivo (3), cuya prevalencia se ha incrementado en los últimos años en varios países de Latinoamérica. En México se ha triplicado el número de pacientes de 1997 al 2017, estimando que ya podría superar los 150 mil casos (4,5).

La inflamación intestinal frecuentemente viene acompañada de una alteración en la microbiota (disbiosis). Las bacterias probióticas pueden contrarrestar el proceso de la inflamación al favorecer la colonización intestinal por una flora benéfica y la disminución en la permeabilidad de la barrera intestinal (6, 7). Otra alternativa es ingerir prebióticos, para lograr contrarrestar la disbiosis al generar el crecimiento selectivo de ciertas bacterias que benefician la salud del huésped (8).

Ya se ha demostrado que el glicomacropéptido (GMP) presenta un efecto positivo al emplearlo como prebiótico ya que permite el fortalecimiento de la microbiota intestinal, debido al crecimiento de *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* y *Bacteroides* en la microbiota intestinal (9). Del GMP no sólo se ha demostrado su actividad prebiótica, sino también en diferentes modelos murinos de inflamación intestinal se ha observado que el GMP disminuye la expresión del mRNA de las citocinas pro-inflamatorias IL-1 β , TNF- α y aumenta otras anti-inflamatorias, como IL-1ra (antagonista de la actividad de IL-1 α y IL-1 β). Por otra parte el mRNA de IL-17 se incrementa en procesos de inflamación, esta

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, C.U., Cerro de las Campanas S/N, Col. Las Campanas, C.P: 76010, Querétaro, Qro. tanya.valdes6@gmail.com

² Universidad Autónoma de Aguascalientes, Departamento de microbiología, Centro de Ciencias Básica, Av. Universidad # 940, Colonia Ciudad Universitaria. CP: 20131, Aguascalientes, Ags. emsalin@correo.uaa.mx

citocina es característica de las células Th17, en donde una de sus funciones es ayudar a mantener una función óptima del intestino y la piel (10). También en modelos de inflamación utilizando macrófagos de la línea RAW 264.7 se ha demostrado que hidrolizados de GMP con pepsina y papaína disminuyen la expresión de IL-1 β , TNF- α y óxido nítrico (11).

El GMP es un péptido de 64 aminoácidos que se obtiene a partir de la hidrólisis de κ -caseína por acción de la quimosina, en el proceso de elaboración de los quesos, encontrándose principalmente en el suero de quesería (12). Contiene O-glicosilaciones, presentando ácido siálico unido a su estructura, unido en enlaces α -2,3 o α -2,6. En promedio contiene 2 moles de ácido siálico por mol de proteína (13). Hasta el momento muy poco se sabe acerca del efecto biológico del ácido siálico presente en el GMP, por lo que en éste trabajo se realizó una aportación al proyecto global mediante el desarrollo del trabajo titulado: “Caracterización del uso de la lectina MALII para la detección de enlaces α -2,3 de ácido siálico unido al GMP bovino”. Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue estandarizar las condiciones de detección de ácido siálico unido en enlaces α -2,3 al GMP utilizando la lectina MAL II.

METODOLOGÍA

1. Preparación de los geles de poliacrilamida SDS (SDS-PAGE)

La fase separadora fue de acrilamida al 16 %: 2.05 mL de agua destilada, 2.5 mL de lower Buffer (Tris 1.5 M pH 8.8), 5.4 mL acrilamida-bisacrilamida (29:1), 100 μ L SDS 10 %, 70 μ L APS 10 % y por último 10 μ L TEMED. La fase concentradora: 3.5 mL de agua destilada, 5 mL de upper Buffer (Tris 0.5 M pH 6.8), 1.3 mL acrilamida-bisacrilamida (29:1), 100 μ L SDS 10 %, 70 μ L APS 10 % y por último 10 μ L TEMED. Los geles se ensamblaron utilizando el sistema miniprotean Bio-Rad.

1.1. Digestión del GMP en GMP asialidado (aGMP)

Se utilizó la enzima neuroaminidasa (sialidasa) de Roche. Se agregaron 10 μ L de GMP, 2.5 μ L de enzima, 1.5 μ L de acetato de sodio (20 mM 10X pH 5.5) y 1 μ L de agua desionizada. Se dejó en agitación a 37 °C durante 16 h.

1.2. Preparación de las muestras y corrida del gel

Se utilizó el GMP a una concentración de 50 μ g. Las muestras se calentaron a 95 °C durante 5 min (14). El marcador de masa molecular de amplio rango utilizado fue el Rainbow marca Biorad. Se utilizó el buffer de corrida 1X (Tris Base, Glicina y SDS pH 8.2-8.8), las muestras se corrieron a 100 V por 1 h 30 min.

2. Western Blot.

Se activó la membrana de PVDF (polifluoruro de vinilideno) marca Immobilon-P en metanol, posteriormente se colocó en el buffer de transferencia (Tris Base, Glicina y Metanol). Se realizó el ensamble de la membrana con el gel y se transfirió a 200 mA por 2 h o 12 mA constantes durante toda la noche.

3. Detección del ácido siálico en enlace α -2,3 del GMP.

Se llevó a cabo la estandarización de la detección del ácido siálico utilizando la lectina MALII (*Maackia amurensis* lectin II de Vector Lab). El protocolo que se estandarizó durante la estancia quedó de la siguiente manera: después de la transferencia se realizó un lavado con TBS Tween 0.1 % (pH 7.4) incubándolo 15 min en agitación (90 rpm) para eliminar los restos de acrilamida. Se agregó BSA 5 % a las membranas para bloquear durante 2 h a 90 rpm. Posteriormente se adicionó MAL II biotilado en una concentración de 0.5 μ g/mL durante 30 min, se realizó un lavado con TBS Tween 0.1 % durante 15 min y otro por 5 min, se agregó la avidina unida a fosfatasa de rábano (HRP) y se incubó por 30 min; se empleó un nuevo lavado con TBS Tween 0.1 % por 15 min, posteriormente se realizaron dos lavados con TBS de alta sal 1X (NaCl 0.5 M, Tris 20 mM pH 7.4) uno por 30 min y otro de 15 min. El último lavado fue con TBS Tween 0.1 % por 35 min. La detección por quimioluminiscencia se realizó utilizando el reactivo Clarity Western ECL Substrate (Bio-Rad) y el equipo DNR Bio-Imaging Systems MicroChemi 4.2. Las membranas reveladas con la lectina se lavaron y se tiñeron con azul de Coomassie como control de carga.

4. Detección del ácido siálico en enlace α -2,6 del GMP

La detección del ácido siálico en enlaces α -2,6 del GMP se realizó utilizando la lectina SNA (*Sabucus nigra* lectin). Las condiciones ya habían sido previamente estandarizadas en el laboratorio, básicamente es el mismo protocolo que con la lectina MAL II, únicamente cambiando el bloqueo a BSA 1 % durante 2 h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se empleó LACPRODAN® CGMP-10, Arla *Foods Ingredients*, el cual es un producto con un nivel muy bajo de fenilalanina y un nivel muy alto de treonina e isoleucina, siendo empleado como una excelente fuente de proteína para quienes tienen fenilcetonuria (PKU), aquellos que no pueden metabolizar la fenilalanina de manera eficiente. Éste péptido fue analizado mediante electroforesis desnaturalizante de forma filtrada y sin filtrar y además las muestras ya separadas fueron teñidas con azul de Coomassie. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 1 donde se observó que en la muestra de LACPRODAN no filtrada se localizan varias proteínas mayores a una masa molecular de 37 kDa y una zona que no se tiñe bien con el colorante (podrían ser otras moléculas presentes en la muestra); por otro lado en las muestras filtradas como en las muestras sin filtrar se observó el péptido GMP, el cual corresponde a las bandas de 18 kDa y la de 15 kDa. Decidiendo trabajar en base a los resultados con las muestras filtradas pues se eliminó una mayor cantidad de moléculas extras (Figura 1).

La masa molecular teórica del GMP es alrededor de 7.5-9.6 kDa. Los cambios en la masa podrían estar dados por el nivel de glicosilación presente (15,16) y debido a la asociación de los monómeros del péptido formando agregados (17,18). Además, la fuerza iónica del SDS en este caso es débil para disociar las formas agregadas del péptido GMP (18). Por lo tanto, se ha reportado que el comportamiento del GMP en SDS-PAGE oscila en una masa molecular de 14- 30 kDa como se llega a apreciar en la Figura 1, dando por consiguiente la afirmación de que se presentan las dos bandas características del GMP en el proceso de electroforesis (19).

Las glicosilaciones son las uniones covalentes de azúcares a los aminoácidos de las proteínas. En general, la glicosilación de las proteínas tiene varios efectos biológicos como adhesión celular, tráfico de moléculas y activación de vías y transducción de señales. El tipo de glicosilación que presenta el GMP es O-glicosilación, la cual corresponde a azúcares unidos al radical OH de Serina o Treonina (20).

En el GMP la región glicosilada corresponde al extremo carboxilo terminal, mientras que en el extremo amino terminal no se han reportado glicosilaciones, además de las glicosilaciones en la región carboxilo terminal también se han detectado fosforilaciones (12). Las fosforilaciones ocurren principalmente en el residuo Ser149. Por otro lado las O-glicosilaciones varían, creyendo que se encuentran en Thr131, Thr133, Thr135, Thr136, Ser141 y Thr142. Los tipos de azúcares detectados en el GMP son el ácido N-acetilneuramínico o ácido siálico unidos a la galactosa mediante enlace α -2,3 o α -2,6 y también se ha detectado el azúcar N-acetilgalactosamina (12,21).

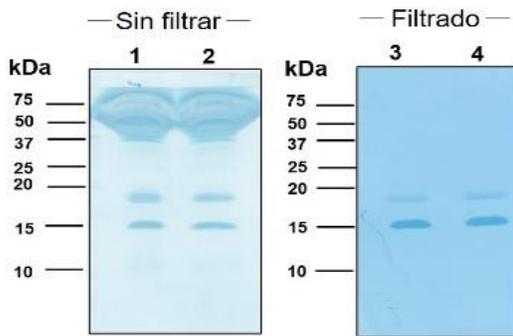


Figura 1. Diferencias entre LACPRODAN (conteniendo 50 µg de GMP) sin filtrar (carriles 1 y 2) y el filtrado (carriles 3 y 4) observadas mediante la tinción de Azul

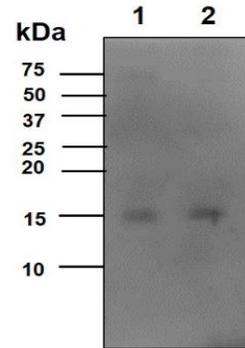


Figura 2. Detección de ácido siálico en enlace α -2,3 del GMP (50 µg), revelado con la lectina MAL II (carriles 1 y 2).

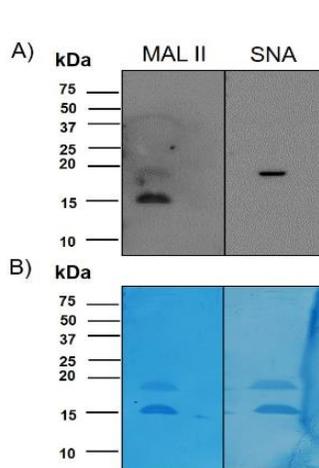


Figura 3. Glicosilación del GMP por ácido siálico en unión α -2,3 y α -2,6. A) Determinación de ácido siálico en enlace α -2,3 y α -2,6 del GMP revelado con la lectina MAL II y SNA respectivamente. B) Control de carga (50 µg de GMP), revelado con azul de Coomassie.

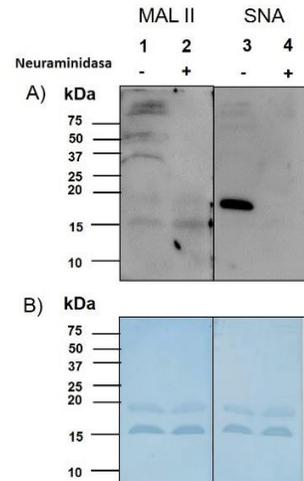


Figura 4. Detección de ácido siálico en GMP tratado o no con neuroaminidasa. A) Determinación de ácido siálico en GMP sin tratar con la neuraminidasa en enlace α -2,3 (MAL II) en el carril 1 y α -2,6 (SNA) en el carril 3; en los carriles 2 y 4 se muestra GMP digerido con neuraminidasa detectado con MALII y SNA. B)

La detección de ácido siálico unido en enlaces α -2,3 del GMP se estandarizó utilizando la lectina MALII. Las lectinas son glicoproteínas multivalentes que presentan en su estructura sitios de unión específicos para algunos carbohidratos (22). Una parte importante en la detección del ácido siálico ha sido el proceso de bloqueo para minimizar las uniones no específicas con otras proteínas (23).

En la Figura 2, se observó una única banda de 15 kDa, que corresponde al ácido siálico enlazado de manera α -2,3 al GMP y que se detectó empleando la lectina MAL II. Sin embargo, al comparar la banda marcada con MAL II con respecto a la obtenida al revelar con SNA (Figura 3) se apreció un marcaje distinto. En el caso del revelado con MAL II se observó que el GMP sialilado en enlaces α -2,3 corresponde a la banda en 15 kDa y mientras que el revelado con SNA mostró que el GMP sialilado en enlaces α -2,6 posee un peso molecular de 18 kDa. Esto puede deberse a la presencia de distintas glicofomas del GMP en el LACPRODAN (20). De la misma forma se apreciaron

distintos patrones con respecto a la cantidad de ácido siálico presente en cada muestra tratada, por lo que se cree que existen distintos niveles de glicosilaciones presentes en cada muestra analizada.

En el caso de realizar la eliminación del ácido siálico mediante el uso de la neuraminidasa, se pudo apreciar que el ácido siálico en enlaces α -2,6 fue eliminado pues al emplear la lectina SNA se perdió totalmente el marcaje (Figura 4A, carril 4), mientras que al evaluar la eliminación del ácido siálico en enlaces α -2,3, se siguió observando un marcaje con la lectina MAL II (Figura 4A, carril 2).

CONCLUSIONES

Se observó un marcaje diferencial de glicosilación entre las dos bandas del GMP detectado con la lectina MALII que reconoce ácido siálico en enlaces α -2,3 y SNA que reconoce ácido siálico en enlaces α -2,6; esta diferencia también se detectó al realizar la eliminación de ácido siálico con la neuraminidasa, pues en los enlaces α -2,6 se elimina completamente el marcaje, mientras que no se observó una eliminación del ácido siálico de los enlaces α -2,3. Estos resultados confirman la existencia de glicofomas del GMP, de las cuales sería interesante establecer sus funciones a nivel celular.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDULKHALEQ, L.A., ASSI, M.A., ABDULLAH, R., ZAMRI, M., TAUFIQ, Y.H. y HEZMEE, M.N.M. (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 11(5), 627-635.
- VILLALBA, E.W. y WENDIE, E. (2014). Inflamación. *Rev. Act. Clin. Med.* 43, 2261-2265.
- Mayo clinic. (2017). Enfermedad intestinal inflamatoria: Mayo Clinic. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/inflammatory-bowel-disease/symptoms-causes/syc-20353315>
- YAMAMOTO, J.K., BOSQUES, F., DE-PAULA, J., GALIANO, M.T., IBAÑEZ, P., JULIAO, F., KOTZE, P.G., ROCHA, J.L., STEINWURZ, F., VEITIA, G. y ZALTMAN, C. (2017). Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal: Primer Consenso Latinoamericano de la Pan American Crohn's and Colitis Organisation. *Rev Gastroenterol Mex*, 82(1), 46-84.
- CRUZ, A. (2017). En México se triplicaron casos de enfermedad intestinal inflamatoria: Cronica.com. <http://www.cronica.com.mx/notas/2017/1015339.html>
- CUMMINGS, J.H., ANTOINE, J., AZPIROZ, F. BOURDET-SICARD, BRANDTZAEG, P., CALDE, P., GIBSON, G. GUARNER, F., ISOLAURI, E., PANNEMANS, D., SHORTT, C., TUIJTELAARS, S. y WATZL, B. (2004). Gut health and immunity. *Eur J Nutr.* 2(43), II/118-II/173
- MAZNMANNAN, S.K., ROUND, J.L. y KASPER D.L. (2008). A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 453(7195), 620-625.
- JIMÉNEZ, M., CERVANTES, D., MUÑOZ, Y.H., GARCÍA, A., HARO, L.M. y SALINAS, E. (2016). Novel mechanisms underlying the therapeutic effect of glycomacropeptide on allergy: change in gut microbiota, upregulation of TGF- β , and inhibition of mast cells. *Int Arch Allergy Immunol.* 171(3-4), 217-226.
- IDOTA, T., KAWAKAMI, H. y NAKAJIMA, I. (1994) Growth-promoting effects of N-acetylneuraminic acid-containing substances of Bifidobacteria. *Biosci Biotech Biochem.* 58, 1720-2.
- REQUENA, P., DADDAOUA, A., MARTÍNEZ, E., GONZÁLEZ, M., ZARZUELO, A., SUÁREZ, M.D., SÁNCHEZ, F. y MARTÍNEZ, O. (2008). Bovine glycomacropeptide ameliorates experimental rat ileitis by mechanisms involving downregulation of interleukin 17. *British Journal of Pharmacology* 154 (4), 825-832.
- CHENG, X., GAO, D., CHEN, B. y MAO, X. (2015). Endotoxin-Binding Peptides Derived from Casein Glycomacropeptide Inhibit Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammatory Responses via Blockade of NF- κ B activation in macrophages. *Nutrients*, 7(5), 3119-3137.
- BRODY, E.P. (2000). Biological activities of bovine glycomacropeptide. *British Journal of Nutrition.* 1(84), S39-S46.
- MIKKELSEN, T.L., BAKMAN, S., SORENSEN, E.S., BARKHOLT, V. y FROKAER, H. (2005). Sialic acid-containing milk proteins show differential immunomodulatory activities independent of sialic acid. *J. Agric. Food Chem.* 20(53), 7673-7680.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. (1970). *Nature*. 227(5259), 680-5.

- MOLLÉ, D. y LÉONIL, J. (1995). Heterogeneity of the bovine κ -casein caseinomacropéptide, resolved by liquid chromatography on-line with electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 708,223–230.
- MOLLÉ, D. y LÉONIL, J. (2005). Quantitative determination of bovine κ -casein macropéptide in dairy products by liquid chromatography/electrospray coupled to mass spectrometry (LC-ESI/MS) and Chemico-functional properties & role of GMP 41 liquid chromatography/electrospray coupled to tandem mass spectrometry (LC-ESI/MS/MS). *Int Dairy J*. 15,419–428.
- FARÍAS, M., MARTÍNEZ, M. y PILOSOF, A. (2010). Casein glycomacropéptide pH-dependent self-assembly and cold gelation. *Int Dairy J*. 20,79–88.
- GALINDO, A., VALBUENA, E. y ROJAS, E. (2006). Estandarización de la detección del glicomacropéptide por PAGE-SDS como índice de adulteración de leche. *Rev Cient*, 16(3), 308-314.
- NEELIMA, SHARMA, R., RAJPUT, Y.S. y MANN, B. (2013) Chemical and functional properties of glycomacropéptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review. *Dairy Sci. & Technol*. 93, 21–43.
- MAGNELLI, P.E., BIELIK, A.M. y GUTHRIE, E.P. (2011) Identification and Characterization of Protein Glycosylation using Specific Endo- and Exoglycosidasas. *J. Vis. Exp.* (58), 3749.
- TRAN, N.T., DAALI, Y., CHERKAOUI, S., TAVERNA, M., NEESER, J.R. y VEUTHEY, J.L. (2001). Routine O-glycan characterization in nutritional supplements—a comparison of analytical methods for the monitoring of the bovine kappa-casein macropéptide glycosylation. *J. Chromatogr.* 929, 151–163.
- IORDACHE, F., IONITA, M., MITREA, I., FAFANEATA, C. y POP, A. (2015) Antimicrobial and Antiparasitic Activity of Lectins. *Current Pharmaceutical Biotechnolog.* 16(2), 152-161.
- ThermoFisher. (2015). Protein gel electrophoresis technical handbook: ThermoFisher. <https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/global/Forms/PDF/protein-gel-electrophoresis-technical-handbook.pdf>

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al laboratorio de Inmunología y a cada uno de sus integrantes por haberme recibido de una manera muy cálida. Principalmente quiero agradecer a la Dra. Eva Salinas por haberme dado la oportunidad de conocer un campo distinto y a la Dra. Laura Córdova por enseñarme sobre el tema, y lo más importante por haberme asesorado en todo momento. Gracias por haberme formado y enseñado con amabilidad, me llevo una gran experiencia de la estancia. También quiero agradecer a la convocatoria de la Región Centro por haberme dado la beca, a la Universidad Autónoma de Aguascalientes por portar las instalaciones y claramente a la Universidad Autónoma de Querétaro por haberme impulsado.

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE MASAS SEPARADORAS VEHICULARES DE ACERO 1040 Y ACERO 4140 SOMETIDAS A ESFUERZO DE TORSION

Ulises Jiménez Vinatier¹ y Juan Pablo Razón González²

RESUMEN

Los autos de competencia tipo rally tienen un gran desempeño por lo que es importante que todos sus componentes tenga una alta calidad. Al ser estos carros modificados a partir de modelos de producción es posible encontrarse con problemas para lograr las especificaciones que se desea. Este proyecto consiste en continuar mejorando una masa separadora vehicular que se diseñó, fabricó e implementó para evitar un roce entre la suspensión y la cara interna de la llanta. Anteriormente se han realizado otros análisis sobre la pieza, el actual compara los aceros 1045 y 4140 mediante simulaciones en el software CAD/CAE SOLIDWORKS para encontrar cual tiene un mejor comportamiento ante el par torsión que el vehículo genera en las ruedas.

ABSTRACT

Race cars like the ones in rally competitions have a great performance so is necessary that all its components have high quality. These vehicles are modified versions of production models then is possible get in troubles to match the desired specifications. This project take a wheel spacer which was designed, manufactured and installed in the car to prevent the inner face of the tired rubbing against the spring to keep improving it. Before this study others were done, this one try to figure out which steel between 1045 and 4140 is the better option for manufacture the wheel spacer, using software CAD/CAE SOLIDWORKS to simulate the performance against the torque output of the vehicle.

Palabras clave: Torsión, deformación, análisis por elemento finito, masa separadora, rueda (vehículo).

INTRODUCCION

La base de este proyecto es la solución al problema que se presentó en un auto de rally modificado; este consiste en que al cambiar el motor y suspensión entre otros componentes, se presentó la situación de que en curvas cerradas el resorte de la suspensión tenía contacto con la cara interna de la llanta, pocas veces ocurrido esto la llanta reventaba, por lo que la solución que se propuso fue aumentar la distancia de separación de las ruedas mediante una masa separadora vehicular ya que la suspensión no se podía mover al ser una parte fija, se realizó un modelo en base a las dimensiones específicas y se le sometió a un análisis estático, al ver que era viable se maquinó y se le aplicó un tratamiento térmico. Posteriormente a esto se han realizado otros estudios de fatiga y comparativo entre otros materiales.

A partir del modelo ya creado se utilizó el software SOLIDWORKS para realizar un análisis por elementos finitos donde se realizaron varios mallas con el fin de obtener una convergencia en los resultados y tener la certeza de ellos para poder decidir que material es el más apto según sus propiedades para ser utilizado para la masa separadora vehicular.

¹ Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias de la Ingeniería (Campus Sur), Alfonso Avalos de Saavedra, Fuentes de la Asunción, C.P: 20268, Aguascalientes, Aguascalientes, ulisesjimenezvinatier@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Departamento de Ingeniería Electromecánica, Ctra. Irapuato-Silao, km. 12.5, Col. El Copal, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, jurazon@itesi.edu.mx

Como una nota final, aunque la investigación contemplaba en un inicio que se emplearan los aceros 1040 y 4140 en la base de datos del software no se tenía acceso al acero 1040 por lo que se decidió en su lugar usar el acero 1045.

MARCO TEORICO

Según como describe en el libro (Shigley, 2008) la torsión se presenta cuando una barra es sometida a un momento de vector de par torsión, este vector es aquel que es colineal a un eje del elemento mecánico. A través de la sección transversal se producen esfuerzos cortantes. En los libros (Shigley, 2008) y (Norton, 2011) se emplean unas condiciones básicas donde el análisis del momento de torsión es válido solo si en la barra actúa un par de torsión puro, las secciones de la barra permanecen planas y perpendiculares al eje y el material obedece la ley de Hooke.

Para un material dúctil la teoría de la energía de distorsión (Von Mises-Hencky) es la que mejor describe una falla bajo carga estática de acuerdo al libro (Norton, 2011); para una pieza sometida a una torsión pura existen solamente esfuerzos cortantes como se ve en el círculo de Mohr (*Figura 1*), el cual se emplea para un análisis bidimensional, por lo tanto para determinar una posible falla y encontrar un factor de seguridad adecuado se emplea la resistencia a la fluencia de cortante que se define como una fracción de la resistencia a la fluencia a la tensión como se muestra en la ecuación 3).

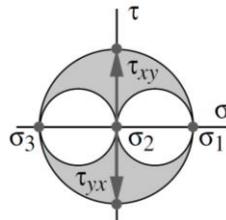


Figura 1. Círculo de Mohr para torsión pura (Norton, 2011)

$$S_y^2 = \sigma_1^2 - \sigma_1\sigma_3 + \sigma_3^2 \quad (1)$$

$$S_y^2 = \sigma_1^2 + \sigma_1\sigma_3 + \sigma_3^2 = 3\sigma_1^2 = 3\tau_{max}^2 \quad (2)$$

$$\sigma_1 = \frac{S_y}{\sqrt{3}} = 0.577S_y = \tau_{max} \quad (3)$$

El análisis por elementos finitos es una metodología con pocas décadas de implementación pero con una rápida evolución que ha permitido solucionar desde esfuerzos sólidos continuos por Hrennikoff, McHenry y Newmark en la década de 1940 hasta problemas de campo como la determinación de la torsión en un eje, flujo de un fluido y conducción de calor resueltos por Zienkiewicz y Cheung en 1965. La aparición de las computadoras en la década de 1950 permitió su amplia implementación en la ingeniería para escribir y resolver ecuaciones de rigidez en forma matricial.

Las teorías de torsión y de la energía de distorsión mencionadas anteriormente plantean varias idealizaciones que para fines de la ingeniería resultan poco prácticas, es por ello que el análisis por elementos finitos permite obtener información lo más próximo a la realidad sobre tensión, deformación o temperatura de una pieza. Aunque como cualquier metodología existen ciertos errores, ligados a la computadora o la geometría del mallado, para los errores relacionados con la geometría del mallado se necesita encontrar convergencia, que consiste en encontrar que tan fino debe ser el mallado para que los resultados no sean afectados por el tamaño de los elementos de la malla; se considera que hay convergencia si dos resultados presentan el mismo valor. Existen dos técnicas de refinamiento de malla, h y p, el refinamiento h consiste en reducir el tamaño del elemento de la malla mientras que el refinamiento p consiste en aumentar el orden del elemento de la malla.

METODOS Y MATERIALES

Para empezar, a partir del plano de la pieza se empleó el software SOLIDWORKS para generar el modelo 3D. El cual se generó mediante una revolución de un plano del perfil de la masa separadora, compuesta por una rueda de 150 mm de diámetro y una pulgada de espesor con un orificio al centro de 60 mm de diámetro y 20 mm de profundidad, en la cara exterior hay un anillo de 15 mm de espesor y con diámetros interno y externo de 50 mm y 55 mm respectivamente; también hay 8 barrenos divididos en 2 grupos de 4, el primero de 12.7 mm de diámetro con una caja de 27 mm de diámetro con 12.5 mm de profundidad, el segundo grupo también de 12.7 mm de diámetro y con una caja de 20 mm de diámetro a 10 mm de profundidad. Como se puede apreciar en la *Figura 2*.

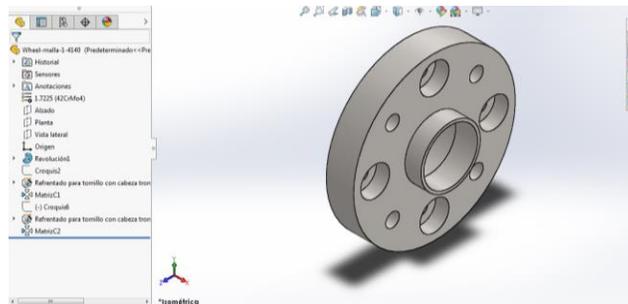


Figura 2. Modelo de la masa separadora vehicular en SOLIDWORKS

Posteriormente se activó el complemento SIMULATION del software que permite realizar análisis por elemento finito. Se seleccionó un análisis estático y se configuraron las sujeciones y fuerzas de la pieza; para las sujeciones se eligió geometría fija y se seleccionaron las 4 caras del segundo grupo de barrenos ya que estos son los que se fijan al cubo de la rueda; para las fuerzas se aplicó un par torsión de 160 N-m y se seleccionó la cara cilíndrica exterior la rueda.

Ya fijados los parámetros del análisis se siguió con el mallado, se realizaron un total de 14 mallas todas ellas con diferentes parámetros de mallado mostrados en la *Tabla 1*. Para las mallas donde el tamaño del elemento es el mismo pero muestran diferentes número de nodos y de elementos se debe a que ese tamaño es para la malla en general y que se aplicaron controles de mallado en ciertas partes del modelo.

Tabla 1. Detalles de las 12 mallas generadas

Malla	1	2	3	4	5	6	7
Tamaño de elemento (mm)	13	12	8	4	4	3	2
Número de nodos	5498	11510	22801	116237	131538	228312	441558
Número de elementos	3087	6931	14119	77111	88134	155772	306276
Malla	8	9	10	11	12	13	14
Tamaño de elemento (mm)	2	1.75	4	4	3	2	2.5
Número de nodos	403038	570896	224845	266336	509194	506295	298824
Número de elementos	278631	397161	153379	181960	352665	351692	204679

La estrategia que se siguió para el refinamiento de la malla fue la siguiente. La primer malla fue muy gruesa considerando que los barrenos eran de 12.7 mm elementos de 13 mm eran muy grandes para poder hacer un análisis correcto de las curvas, pero el objetivo de esta malla era encontrar los puntos de interés aquellos donde los esfuerzos son máximos y tener una visión general de la distribución de esfuerzos en la pieza. Durante las mallas 2, 3 y 4 se siguió reduciendo el tamaño de los elementos y también se aplicó un control de mallado en las caras de los 8 barrenos y sus cajas ya que se encontró que estas partes soportaban altos niveles de esfuerzos, el objetivo de esto era encontrar la convergencia en los puntos de interés. A partir de la malla 5 y hasta la 7 se continuó con los mismos parámetros salvo que al control de mallado se agregaron las caras que unen a los barrenos con sus cajas; con esto se llegó a una convergencia en los valores de esfuerzos máximos.

Seguido de esto se decidió para las mallas 8 y 9 refinar la malla reduciendo el tamaño de los elementos pero en lugar de aplicar un control de malla se usó la herramienta de transición automática la cual aplica automáticamente un control de malla especialmente en detalles, taladros y redondeos pequeños, la idea aquí era ver si la computadora podía presentar una solución similar siguiendo otros pasos, estas mallas también mostraron convergencia por lo que se decidió intentar otro grupo de mallas las que seguiría el enfoque de las primeras pero prestando atención hacia los detalles en las generadas por el software, si este tercer grupo mostraba la misma convergencia se considerarían las mallas como satisfactorias para obtener resultados. Entonces observando las mallas anteriores y prestando atención a los desplazamientos se empezó a utilizar otros parámetros y controles en otras partes de la pieza. Estos se aplicaron en las mallas de la 10 a la 14 y consistieron principalmente en modificar el cociente de crecimiento el cual marca el tamaño de los elementos en las capas que radian a la sección donde se aplicó el control, al reducir este se obtuvo una mayor uniformidad en los elementos; también se aplicó un control de mallado a las caras de los barrenos que sirven para unir la masa con el cubo de la rueda y las de sus cajas ya que en estas áreas se soportaban los esfuerzo máximo y también se aplicó otro control a la cara de la rueda, a las caras del otro grupo de barrenos junto a sus cajas y a la cara exterior de la masa ya que estas zonas tenían los desplazamientos más grandes.

RESULTADOS

Los resultados se compararon con un modelo de prueba de la misma masa de acero 4340 hecho en un estudio anterior para asegurar su confiabilidad como se pueden ver en las siguientes figuras.

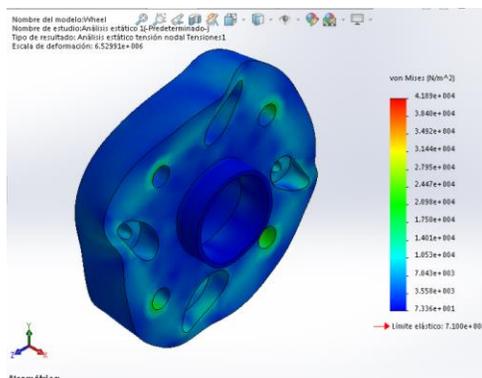


Figura 3. Análisis de esta investigación

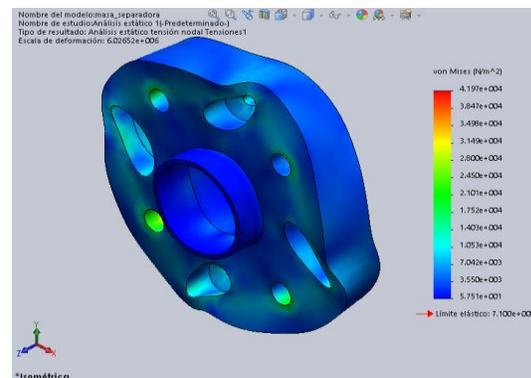


Figura 4. Análisis de la investigación anterior

A continuación se muestran los resultados obtenidos para ambos aceros en las 14 mallas donde se puede observar que estos resultados tienden a converger en un valor.

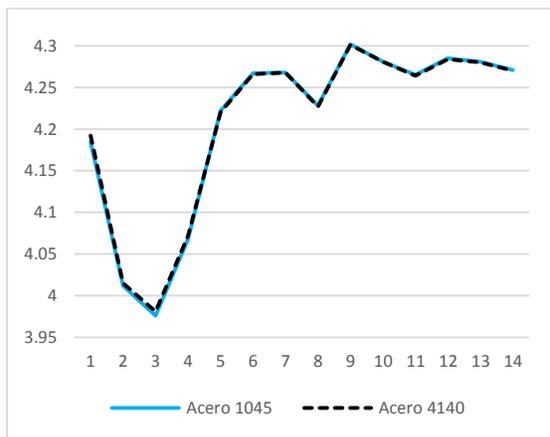


Figura 5. Esfuerzo máximo (MPa)

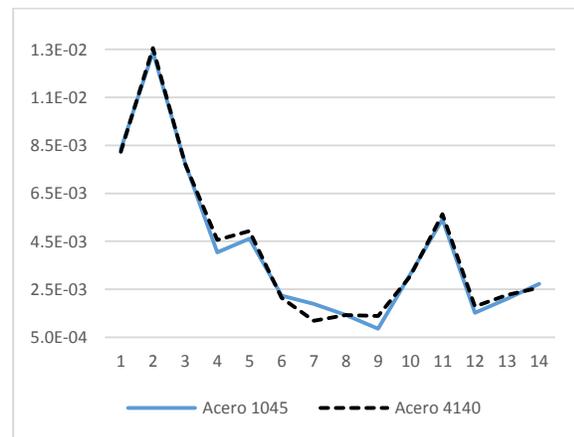


Figura 6. Esfuerzo mínimo (MPa)

Finalmente y después de concluida la generación de mallas se pudieron obtener datos confiables, en la **Tabla 2** se muestran los valores obtenidos para ambos materiales en los criterios más importantes. Para obtener un valor se realizó un promedio con los valores de las mallas 7, 9 y 12 que son las mas confiables.

Tabla 2. Valores críticos de los aceros 1045 y 4140

	Acero 1045	Acero 4140
Esfuerzo máximo (Mpa)	4.285	4.284
Esfuerzo mínimo (Mpa)	0.001418	0.001453
Desplazamiento máximo (mm)	2.356×10^{-4}	2.290×10^{-4}
Desplazamiento mínimo (mm)	1.963×10^{-5}	1.909×10^{-5}
Factor de seguridad	107	151
Masa (Kg)	2.60898	2.59237
Limite elástico	2.05×10^{11}	2.10×10^{11}
Módulo cortante	8×10^{10}	7.9×10^{10}

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que el acero 4140 presenta mejores cualidades para ser el material elegido; en cuestión de esfuerzos la diferencia que existe entre ambos materiales tanto para los máximos o para los mínimos son despreciables considerando los límites elásticos de ambos materiales, por lo que se puede considerar que tienen un comportamiento similar ante el par de torsión aplicado, sin embargo en los desplazamientos se observa que el acero 1045 tiende a resentir en mayor medida, que si bien podrían considerarse pequeños estos provocan acumulaciones de tensiones y podrían generar grietas que causen una falla por fatiga más pronta. Aunque igualmente la diferencia de masas puede ser despreciada esta favorece al acero 4140. Entre las actuales aplicaciones el acero 4140 se emplea principalmente en la industria automotriz para piezas sometidas a torsión mientras que el acero 1045 se emplea en piezas varias que requieren dureza y tenacidad. Para la selección de un material existen múltiples criterios a considerar y depende del diseñador elegir a cuales dar prioridad, pero hay un consenso general en la comunidad de diseñadores de que las propiedades juegan el rol principal, por lo tanto y considerando que en este proyecto se planea fabricar pocas piezas no es necesario considerar factores de maquinado. Todo lo anterior lleva al autor a concluir que este análisis por torsión entre ambos materiales señala que el mejor candidato para ser empleado en la fabricación de la masa separadora vehicular es el acero 4140.

BIBLIOGRAFIA

- Budnays & Keith. (2008). *Diseño de la ingeniería mecánica de Shigley*, Ciudad de México: McCRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES.
- Norton, R. (2011). *DISEÑO DE MÁQUINAS Un enfoque integrado*, Naucalpan de Juárez: Pearson Educación.
- Harish, A. (2018). "What is Convergence in Finite Element Analysis?" En SIMSCALE. Consulta en <https://www.simscale.com/blog/2017/01/convergence-finite-element-analysis/> (fecha de consulta 28-06-18).
- Fenske, J. (2015). "Wheel Spacers & Adapters – God or Bad?" En Engineering Explained. Consulta en <https://www.youtube.com/watch?v=hWijfooeSyU> (fecha de consulta 25-06-18)

POLITOPO DE BASES: POLINOMIO DE EHRHART

Uriel Alejandro Salazar Martínez¹ y César Israel Hernández Vélez²

RESUMEN

En el presente documento investigamos el número de puntos enteros dentro de las expansiones de politopos enteros d -dimensionales. Se sabe que el número de puntos enteros de un politopo entero está dado por un polinomio, llamado polinomio de Ehrhart, pero en general no se tiene una forma explícita para éste. Nos enfocamos en calcular, haciendo uso del software Maxima, los polinomios de Ehrhart y las funciones generatrices (Series de Ehrhart) de politopos asociados a matroides conocidos como *lattice path matroids*, en particular de *snakes* y uno que definimos como *cobra*. Los resultados obtenidos verifican la conjetura sobre el h^* -vector de politopos enteros de De Loera et al.

ABSTRACT

In this paper we investigate the number of integer points in a d -dimensional integral polytope. It is well-known that the number of integer points of an integral polytope is given by a polynomial, but, in general, there is not an explicit form for it. We focus on computing, using the software Maxima, the Ehrhart polynomial and the generating functions (Ehrhart series) of matroid polytopes known as lattice path matroids, specifically that called snakes and another one that we named “cobra”. The results verify a conjecture about the h^* -vector of integral polytopes of De Loera et al..

Palabras Clave: Polinomio de Ehrhart, Matroide, *Lattice Path Matroid*.

INTRODUCCIÓN

Existe una estrecha relación entre el volumen de un politopo d -dimensional y el número de puntos enteros que yacen en su interior (Beck & Robins, 2007). Sin embargo, ambos parecen ser problemas igual de complicados de resolver. Hasta el momento se sabe que el número de puntos enteros de un politopo entero viene dado por un polinomio llamado el polinomio de Ehrhart (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018), pero en general no se conocen estos polinomios y los que se conocen no son fáciles de manejar. Tomando en consideración lo anterior se fijó como objetivo para la investigación obtener los polinomios de politopos asociados a matroides conocidos como *lattice path matroids* de forma explícita, en particular para los matroides conocidos como *snakes* y un matroide al que nosotros denominamos como cobra.

Retomando nociones de Teoría de Matroides (Oxley, 2011), de Teoría de Ehrhart (Beck & Robins, 2007) e investigaciones previas (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018) fue posible obtener los polinomios y las series de Ehrhart para 5 matroides distintos. También fue posible verificar que los polinomios y las series cumplían la conjetura de De Loera, Haws & Köpe (2009).

MARCO TEÓRICO

Un matroide es un par ordenado (E, \mathfrak{I}) que consiste en un conjunto finito E y una colección \mathfrak{I} de subconjuntos de E con las siguientes propiedades:

- i) $\emptyset \in \mathfrak{I}$
- ii) Si $I \in \mathfrak{I}$ y $I' \subseteq I$, entonces $I' \in \mathfrak{I}$
- iii) Si I_1 y I_2 están en \mathfrak{I} y $|I_1| < |I_2|$, existe un elemento e en $I_2 - I_1$ tal que $I_1 \cup e \in \mathfrak{I}$

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias; Lateral Av. Dr. Salvador Nava Martínez s/n, Zona Universitaria, C. P. 78290, San Luis Potosí, SLP, urielsalazar260796@outlook.es

²Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias; Lateral Av. Dr. Salvador Nava Martínez s/n, Zona Universitaria, C. P. 78290, San Luis Potosí, SLP, cesar.velez@uaslp.mx

Las propiedades i) y ii) son llamadas propiedad hereditaria y propiedad de aumento independiente, respectivamente. Los miembros de \mathfrak{I} son los conjuntos independientes de M . Llamemos base de M a los conjuntos independientes maximales (Oxley, 2011).

Una definición equivalente a la interior de un matroide es como un par ordenado (E, \mathfrak{B}) que consiste en un conjunto finito E y una colección \mathfrak{B} de subconjuntos de E que satisfacen las siguientes propiedades:

- i) $\mathfrak{B} \neq \emptyset$
- ii) Si $B_1, B_2 \in \mathfrak{B}$ y $x \in B_1 - B_2$ existe un elemento $y \in B_2 - B_1$ tal que $(B_1 - x) \cup y \in \mathfrak{B}$

Donde \mathfrak{B} es el conjunto de bases de M y la propiedad ii) se le llama el Axioma del cambio de base (Oxley, 2011).

Para un matroide $M = (E, \mathfrak{B})$, el politopo de bases del matroide, denotado por $P(M)$, se define como la envolvente convexa de los vectores incidentes de las bases de M , esto es:

$$P(M) := \text{conv}\{\sum_{i \in B} e_i : B \text{ es una base de } M\} \quad (1)$$

Donde e_i es el i -ésimo vector estándar en \mathbb{R}^n (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018).

Para un politopo $P \subseteq \mathbb{R}^n$ se define la k -expansión del politopo como $kP := \{kp | p \in P\}$ (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018). La Figura 1 tomada de Beck & Robins (2007) muestra un ejemplo de la expansión de un politopo.

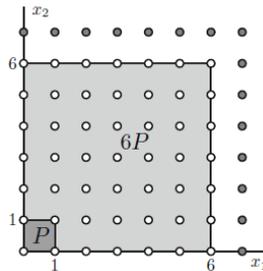


Figura 1. 6-expansión de un cuadrado

Para politopos enteros, que es el caso del politopo de bases de un matroide, la función $L(P, k) := \#(kP \cap \mathbb{Z}^n)$ es un polinomio en \mathbb{R} conocido como el Polinomio de Ehrhart de P . Además, $L(P, 0) = 1$ (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018).

Un camino en el plano es un *lattice path* si inicia en el origen y termina en el punto (m, r) y sólo da pasos de la forma $+(1, 0)$ y $-(1, 0)$. Un camino P puede codificarse como el vector $\text{st}(P) = (P_1, P_2, \dots, P_{r+m})$ donde $P_i \in \{0, 1\}$ corresponde a la coordenada y del i -ésimo paso de P . El camino P puede ser identificado con un subconjunto de $\{1, \dots, r+m\}$ de cardinalidad r . Si se tienen dos *lattice paths* L, U que empiezan en $(0, 0)$ y termina en el punto (m, r) tales que L nunca pasa por arriba de U entonces se puede definir un matroide llamado *lattice path matroid* (LPM) sobre el conjunto $\{1, \dots, m+r\}$ cuyas bases corresponden a todos los *lattice paths* que empiezan en $(0, 0)$ y termina en el punto (m, r) que, además, nunca pasan por debajo de L y nunca pasan por arriba de U , el matroide se denota como $M[U, L]$ (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018). La figura 2 tomada de Knauer, Martínez y Ramírez (2018) muestra del lado izquierdo los *lattice paths* U, L que van de $(0, 0)$ a $(8, 5)$ y un camino P entre ellos, del lado derecho muestra las representaciones de U, L y P como subconjuntos de $\{1, \dots, 13\}$ y como vectores.

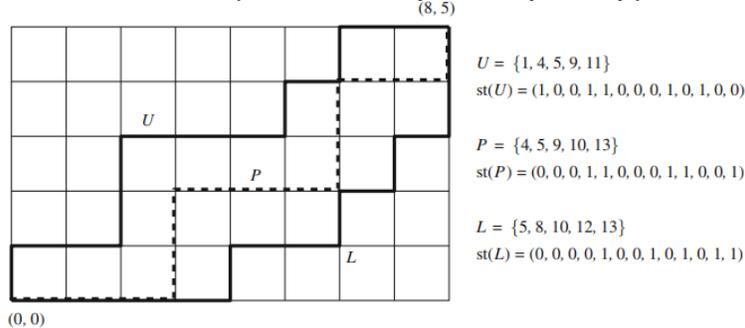


Figura 2. Diagrama de los caminos U y L , el camino P entre ellos, sus correspondencias como vectores y como conjuntos.

Un LPM se le llama *snake* si tiene al menos dos elementos, es conexa y su diagrama no tiene puntos interiores en el plano. Una *snake* se representa como S_{a_1, a_2, \dots, a_n} , es decir, empieza en el origen, abarca a_1 cuadros para la derecha, luego a_2 cuadros hacia arriba, luego a_3 hacia la derecha y así sucesivamente (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018). La figura 3 tomada de Knauer, Martínez y Ramírez (2018) muestra el diagrama de la *snake* S_{a_1, a_2, a_3, a_4} .

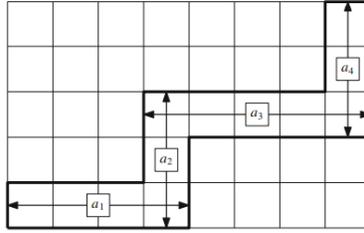


Figura 3. Diagrama de la *snake* S_{a_1, a_2, a_3, a_4}

Sea $M = M[U, L]$ un LPM conexo de rango r con $r + m$ elementos. Sea l_i la línea definida por $x + y = i$ para todo $i = 0, \dots, r + m$ y sea $R(M[U, L])$ la región determinada por U y L . Se define $T_i := l_i \cap R(M[U, L])$ para todo $i = 0, \dots, r + m$. Con esto se define un *generalized lattice path* P como un camino poligonal formado por $r + m$ segmentos $S_{i+1}(P)$ que unen los puntos (x_i, y_i) con los puntos (x_{i+1}, y_{i+1}) que cumplen que $x_i, y_i \in T_i$, $x_i \leq x_{i+1}$ y $y_i \leq y_{i+1}$ para todo $i = 0, \dots, r + m - 1$ (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018). La Figura 4 muestra, en color rojo, los l_i y, en color azul, un *generalized lattice path*.

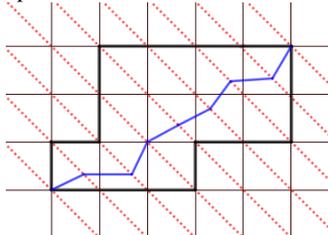


Figura 4. Generalized lattice path

Si se quieren contar el número de *generalized lattice path* cuyas coordenadas están dadas por los múltiplos enteros de $\frac{1}{k}$ se tiene la $(k - 1)$ -división del LPM y es equivalente a contar el número de puntos enteros en la k -expansión del politopo de bases del LPM (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018).

La serie de Ehrhart de un politopo P es la serie infinita $Ehr(P, z) = \sum_{k \geq 0} L(P, k)z^k$. Si P es un politopo entero convexo de dimensión d su serie de Ehrhart es la función racional

$$Ehr(P, z) = \frac{h^*_P(z)}{(1-z)^{d+1}} = \frac{h^*_0 + h^*_1 t + h^*_2 t^2 + \dots + h^*_{d-1} t^{d-1} + h^*_d t^d}{(1-t)^{d+1}}. \quad (2)$$

Los coeficientes de $h^*_P(z)$ son las entradas del h^* -vector de P (Knauer, Martínez y Ramírez, 2018). Los coeficientes h^*_0, \dots, h^*_d son enteros no negativos y $h^*_0 = 1$. Más aún, si P es un politopo entero convexo de dimensión d , su polinomio de Ehrhart y su serie de Ehrhart cumplen que

$$L(P, k) = h^*_0 \binom{t+d}{d} + h^*_1 \binom{t+d-1}{d} + \dots + h^*_{d-1} \binom{t+1}{d} + h^*_d \binom{t}{d}. \quad (3)$$

Además, si el polinomio de Ehrhart de P está dado por $c_d t^d + c_{d-1} t^{d-1} + \dots + c_1 t + 1$ y su serie de Ehrhart está dada por la ecuación 2) entonces se cumple lo siguiente (Beck & Robins, 2007):

$$c_d = \text{vol}(P) \quad (4)$$

$$\text{vol}(P) = \frac{1}{d!} (h^*_d + h^*_{d-1} + \dots + h^*_1 + 1). \quad (5)$$

Un vector (x_0, \dots, x_d) es unimodular si existe un subíndice p , $0 \leq p \leq d$ tal que $c_{i-1} \leq c_i$ para $i \leq p$ y $c_j \geq c_{i+1}$ para $j \geq p$ (De Loera, Haws & Köpe, 2009).

Conjetura. Sea $P(M)$ el politopo de bases del matroide M . Se cumple que

- El h^* -vector de $P(M)$ es unimodular.
- Los coeficientes del polinomio de Ehrhart de $P(M)$ son positivos (De Loera, Haws & Köpe, 2009).

MÉTODOS Y MATERIALES

La presente investigación se realizó en 4 fases que se resumen en el esquema de la figura 5.

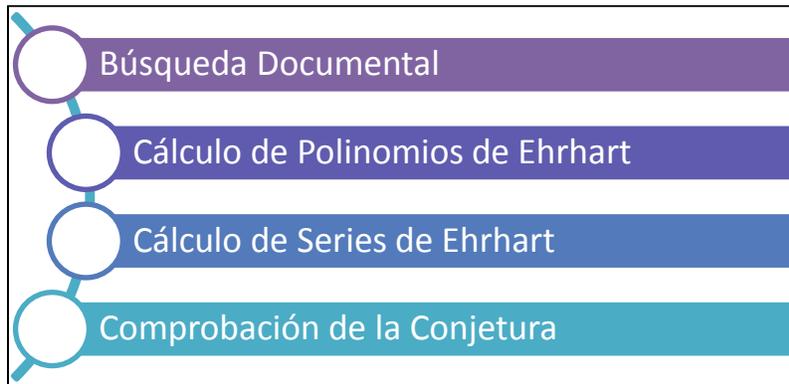


Figura 5. Fases de la investigación

Como se observa en la figura 1, en la primera fase se realizó una búsqueda documental sobre Teoría de Matroides y sobre las investigaciones previas de Teoría de Ehrhart. Posteriormente, en la segunda fase se procedió a calcular polinomios de Ehrhart de forma explícita para *snakes*, en particular para $S_{a,1}, S_{a,2}, S_{a,3}, S_{a,2,2}$, y para un LPM que denominamos cobra, denotado como C_a , así como el cálculo de volúmenes de los politopos asociados haciendo uso de la ecuación 4). Después, en la tercera fase se procedió al cálculo de las Series de Ehrhart de los LPM anteriormente mencionados con la ayuda de un Software de cómputo algebraico, Máxima, que permitió predecir los h^* -vectores para posteriormente verificarlos haciendo uso de la ecuación 3). Finalmente, en la cuarta fase se procedió a corroborar que los LPM trabajados durante la investigación cumplieran con la conjetura de De Loera, Haws & Köpe (2009).

RESULTADOS

Se definió el matroide cobra como el matroide *lattice path* que proviene de los caminos que se muestra en la figura 6. Se puede observar que la cobra es similar a $S_{a,2}$ pero en lugar de que la segunda tira tenga 1 cuadrado de grosor tiene 2.

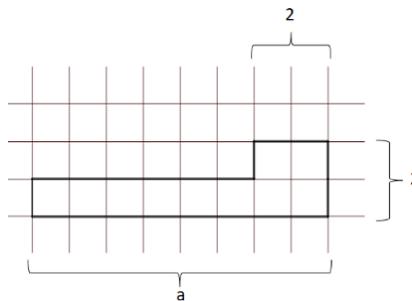


Figura 6. Diagrama de una cobra

Se obtuvieron los polinomios de Ehrhart para los matroides $S_{a,1}, S_{a,2}, S_{a,3}, S_{a,2,2}$ y C_a , que se muestran a continuación:

$$L(P(C_a), k) = \frac{(k+a-1)\dots(k+1)}{(a+1)!} \left[a(a+1) + \frac{1}{2}(3a^2 - a + 2)k + \frac{1}{2}(a^2 + 3a - 2)k^2 \right] \quad (6)$$

$$L(P(S_{a,1}), k) = \frac{(k+a)\dots(k+1)}{a!} \quad (7)$$

$$L(P(S_{a,2}), k) = \frac{(k+a)\dots(k+1)}{(a+1)!} [(a+1) + ak] \quad (8)$$

$$L(P(S_{a,3}), k) = \frac{(k+a)\dots(k+1)}{(a+2)!} \left[(a+1)(a+2) + \frac{1}{2}(7+3a)k + \frac{1}{2}a(a+1)k^2 \right] \quad (9)$$

$$L(P(S_{a,2,2}), k) = \frac{(k+a)\dots(k+1)}{(a+2)!} \left[(a+1)(a+2) + \frac{1}{2}(a+1)(3a+4)k + \frac{1}{2}a(a+1)k^2 \right] \quad (10)$$

Una vez obtenidos los polinomios de Ehrhart, se lograron obtener las series de Ehrhart de los mismos matroides, haciendo uso de la ecuación 3). A continuación, se muestran dichas series como funciones generatrices:

$$Ehr(P(C_a), k) = \frac{\frac{a(a-1)}{2}z^2 + 2(a-1)z + 1}{(1-z)^{a+2}} \quad (11)$$

$$Ehr(P(S_{a,1}), k) = \frac{1}{(1-z)^{a+1}} \quad (12)$$

$$Ehr(P(S_{a,2}), k) = \frac{(a-1)z + 1}{(1-z)^{a+2}} \quad (13)$$

$$Ehr(P(S_{a,3}), k) = \frac{\frac{(a-1)(a-2)}{2}z^2 + 2(a-1)z + 1}{(1-z)^{a+3}} \quad (14)$$

$$Ehr(P(S_{a,2,2}), k) = \frac{\frac{a(a-1)}{2}z^2 + (2a-1)z + 1}{(1-z)^{a+3}} \quad (15)$$

Con estos resultados se cumple parcialmente el objetivo de encontrar una forma explícita del polinomio de Ehrhart para *snakes* y se cumple el objetivo de encontrar dicho polinomio para el matroide definido como cobra. Así mismo, se logra verificar la conjetura de De Loera, Haws & Köpe (2009).

CONCLUSIONES

El objetivo inicial del trabajo era poder encontrar polinomio para *snakes* de forma general. Sin embargo, sólo se lograron calcular dichos polinomios para casos específicos, sin poder generalizar para $S_{a,b}$ y las demás *snakes*. Además, de proporcionar las formas explícitas para los polinomios de los politopos asociados a *snakes* y a la cobra, este trabajo sirve como base para calcular los polinomios de Ehrhart y sus series para casos generales en futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

BECK, M. & ROBINS, S. (2007). *Computing the Continuous Discretely*. New York: Springer.

DE LOERA, J. A., HAWS, D. C., & KÖPPE, M. (2009). Ehrhart polynomials of matroid polytopes and polymatroids. *Discrete & computational geometry*, 42(4), 670–702. DOI: 10.1007/s00454-008-9080-z

KNAUER, K., MARTÍNEZ-SANDOVAL, L. y RAMÍREZ-ALFONSÍN, J. L. (2018). On lattice path matroid polytopes: integer points and ehrhart polynomial. *Discrete Comput. Geom.* DOI: 10.1007/s00454-018-9965-4

OXLEY, J. (2011). *Matroid Theory*. New York: Oxford University Press.

EFEECTO DE LA DESNUTRICIÓN PERINATAL SOBRE LA RESPUESTA MATERNAL Y LA REACTIVIDAD DE C-FOS EN LA CORTEZA PREFRONTAL MEDIAL

Valeria Rodríguez Pacheco¹ y Manuel Salas Alvarado²

RESUMEN

El instinto maternal es considerado como un vínculo biológico cercano entre la madre y la cría, este es tan estrecho que incluso da comienzo antes del parto. Se caracteriza principalmente con cuatro rasgos; el lamido anogenital para ayudar a la cría a la defecación en sus etapas iniciales de vida, posturas de cuidado alta y baja para la protección y amamantamiento; la creación de nidos antes del nacimiento para la seguridad y restricción de desplazamiento de los recién nacidos, sin embargo, éste se ve afectado por la desnutrición. El presente trabajo aborda información sobre los efectos que puede llegar a tener la desnutrición en etapas perinatales en ratas, dando a conocer la c-Fos, la cual es una proteína que actúa como marcador temprano de actividad neuronal, esto con el fin de que se pueda concientizar a la población sobre cuáles son los posibles alcances que la desnutrición puede llegar a tener en el ser humano.

ABSTRACT

The maternal instinct is considered as a close biological link between the mother and the offspring, it is so narrow that it even starts before delivery. It is characterized mainly with four features; the anogenital lick to help the young to defecate in its initial stages of life, high and low care postures for protection and breastfeeding; the creation of nests before birth for the safety and restriction of displacement of newborns, however this is affected by malnutrition. The present work deals with information about the effects that malnutrition can have in perinatal stages in rats, making known the c-Fos, which is a protein that acts as an early marker of neuronal activity, this in order to can raise awareness among the population about the possible scope that malnutrition can have on the human.

Palabras Clave: inmunohistoquímica, desnutrición, lactancia, acarreo.

INTRODUCCIÓN

La desnutrición es el desequilibrio celular entre el suministro de nutrientes y la energía demandada por el cuerpo para garantizar su crecimiento, mantenimiento y funciones específicas según la organización mundial de la salud (OMS, 2016). Se clasifica como aguda cuando se presenta en un corto periodo de tiempo alterando el peso corporal, crónica ocurriendo en un periodo largo de tiempo afectándose principalmente la talla, y desnutrición global cuando no hay relación entre la edad y el peso corporal. La desnutrición es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil en los países pobres y en vías de desarrollo. Su prevalencia a nivel mundial es de casi 200 millones de niños menores de 5 años que sufren desnutrición crónica. En México la desnutrición crónica en menores de 5 años fue en 2016 de 13.6%, lo que representa casi 1.5 millones de niños con esta condición según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2016).

Se conocen las afecciones físicas asociadas a la desnutrición como la disminución de talla y peso corporal, a su vez, puede deteriorarse el desempeño físico durante la expresión de las actividades motoras como el nado, la marcha y la postura (Salas, 1972; Clarke et al., 1992; Salcedo et al., 2018). De igual forma se han estudiado las alteraciones en el desarrollo cognitivo que pueden reflejarse en el desempeño intelectual, alteraciones en el aprendizaje, retención y memoria por lo que se ven afectadas en su ejecución en distintas etapas del ciclo de la vida. La desnutrición perinatal (DP) durante la gestación y primeros años de vida, puede afectar el desarrollo del sistema nervioso central (SNC), ya que el cerebro inmaduro tiene periodos críticos, donde el tejido cerebral es vulnerable a los factores del medio

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Enfermería; Carretera libre a Celaya km 3.5 s/n, Los Mezquites, C.P: 76912, Corregidora, Querétaro, valepachecoro@hotmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Neurobiología; Boulevard Juriquilla 3001, Juriquilla, C.P: 76230, Querétaro, Querétaro, masal@unam.mx

ambiente en el que el individuo se desempeña, modulando su ensamblaje y funcionalidad (Morgane et al., 1993). La vulnerabilidad depende de la concurrencia temporal de los procesos citogenéticos que se presentan en el periodo de la DP (neurogénesis, migración, sinaptogénesis, mielinización, gliogénesis, angiogénesis, etc.) que están ocurriendo en diferentes partes del cerebro (Rice y Barone, 2000). De esta forma, se entiende que la nutrición es importante para el desarrollo anatómico y la expresión de las funciones plásticas cerebrales tanto en el corto como en el largo plazo, como lo son diversos procesos cognitivos incluyendo a la respuesta maternal para la crianza (Black et al., 2008; Giussani, 2011; Modgil et al., 2014).

La respuesta maternal, en la rata, es la expresión de una serie de patrones motores desplegados al final de la gestación durante y después del parto, que proveen de alimentación, calor, protección y estímulos sensoriales y sociales necesarios para el desarrollo de la progenie.

La DP puede alterar el ensamblaje del circuito neuronal que regula la respuesta maternal. Así, la deficiencia en el cuidado materno impacta negativamente el desarrollo de la progenie y su desempeño en el largo plazo (Felix et al., 2014; Salcedo et al., 2018). De lo anterior, se justifica la importancia del diseño de modelos animales para investigar los mecanismos del daño provocado al tejido cerebral por la DP, de su deficiente funcionalidad, y la posible rehabilitación.

En el presente trabajo, se analizaron las alteraciones en el acarreo de crías y construcción del nido de madres con antecedente de DP y su relación con la expresión de la proteína c-Fos, utilizada como marcador temprano de actividad nerviosa en las neuronas piramidales de la corteza prefrontal medial (CxPm) de la rata lactante.

MÉTODOS Y MATERIALES

Se utilizaron 20 ratas hembra adultas de la cepa Wistar (200-300 g); las cuales fueron mantenidas a una temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, con humedad del 50%, y con ciclos de luz/oscuridad de 12h/12 h, en cajas de plástico (60x50x20 cm³). Diez de estas ratas fueron desnutridas perinatalmente, y las otras 10 provinieron de madres lactantes normales y después del destete se mantuvieron con agua y dieta ad libitum todo el tiempo.

Se sometió a un grupo de ratas (n =10) a un proceso de desnutrición que se llevó a cabo durante la gestación y el periodo de lactancia, para analizar los efectos que esta desencadenaba en la respuesta maternal adulta.

Las madres se alimentaron con perdigones de Lab Diet 5001 de Purina, donde el contenido de proteína era del 28.507%, lípidos de alrededor de un 13.49% y los carbohidratos de aproximadamente 57.66%.

Las crías que conformaban el grupo control tuvieron acceso al mismo alimento balanceado sin restricciones, es decir, no hubo disminución en las raciones. Las madres del grupo con DP consumieron el mismo tipo de alimento, pero en distintos porcentajes durante la gestación (ver diagrama).

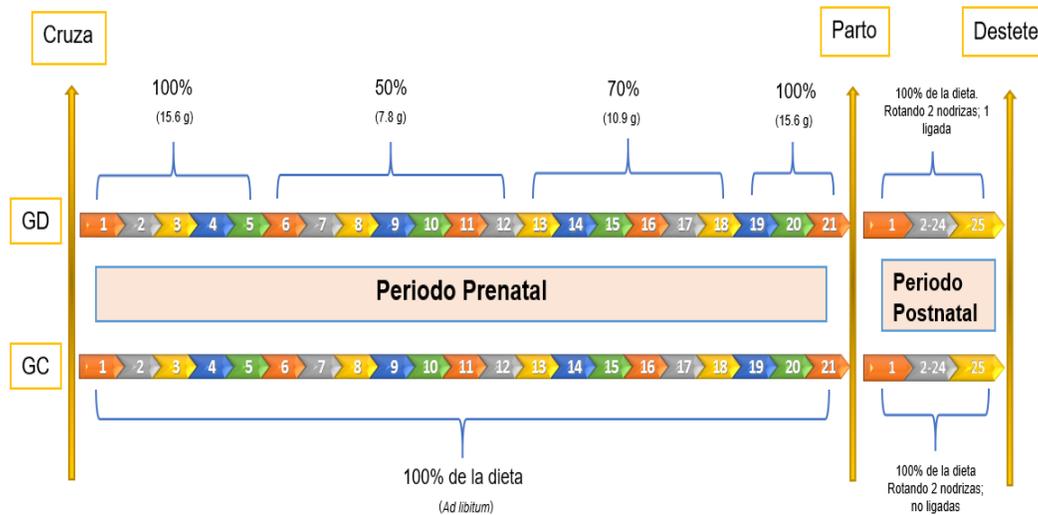


Diagrama 1.

En el grupo de madres con DP una vez que las crías nacieron, se ligaron los conductos galactóforos de una de 2 madres lactantes para restringir la ingesta láctea de sus crías durante 12 h, rotándose las madres entre las camadas cada 12 h. El procedimiento permite llevar a cabo la desnutrición de los recién nacidos, pero manteniendo el contacto y la interacción sensorial con la madre (Lynch, 1976). En todos los casos el destete se realizó en el día 25 de edad de las crías.

Para la evaluación de la respuesta maternal se midió el acarreo y la construcción del nido en los días 4 y 12 post parto en ambos grupos experimentales.

La construcción del nido se determinó utilizando una escala de valores relativos en la cual un puntaje de 3, correspondió a un nido redondo de 15 cm de diámetro aproximadamente; 2, a un nido semidestruido y 1, a un nido amorfo (Fig. 1). Esta medición se llevó a cabo al final del periodo de registro conductual diario.

Puntaje	Descripción
1	Nido ausente o amorfo
2	Nido presente, semidestruido
3	Nido presente, redondeado



Figura 1. Criterios para evaluar la construcción del nido en la rata adulta lactante.

Para la evaluación del acarreo, se retiró a la madre de la jaula, se esparcieron con suavidad a las crías fuera del nido, e inmediatamente se reingresó a la madre a la jaula. Se grabó la respuesta maternal en video durante 10 minutos para su posterior análisis. En las grabaciones se cuantificó la latencia de acarreo a la primera de las crías de la camada, su frecuencia, duración y la zona corporal (de un total de 7 áreas) por la que la madre prendió a la cría para acarrearla al nido.

La inmunohistoquímica es un proceso de inmuno tinción de proteínas producidas por células nerviosas activadas por señales neuronales específicas producto de la activación de genes de expresión temprana (C-Fos), que pueden ser

visibles por su marcaje con anticuerpos específicos. Este proceso funciona debido a que se usa la capacidad de los anticuerpos de unirse específicamente con sus antígenos correspondientes. Esta reacción se hace visible si el anticuerpo absorbe, emite luz o coloración en su evaluación al microscopio. En la técnica de c-Fos, únicamente se contabilizan las marcas de las proteínas que se expresaron en un espacio dimensional en este caso de la corteza prefrontal medial previamente definido.

Para comparar las diferencias en los tratamientos dietéticos, las edades, el acarreo de las crías y la clasificación de los nidos, se usaron los siguientes modelos estadísticos por separado.

- Las diferencias entre los grupos Control y con DP se analizaron con un ANOVA de tres vías, Nutrición (2) X Días de lactancia (2) X Zona de acarreo (7), donde se consideró significativo un valor de $p \leq 0.05$.
- Para los puntajes de la construcción del nido, se utilizó una prueba de "U" de Mann-Whitney para 2 (regímenes nutricionales) y 2 (días de lactancia).
- Las comparaciones entre los grupos grupo Control y con DP a lo largo de los días del estudio se analizaron con una prueba de Fisher LSD post hoc. En todos los casos la significación estadística se fijó cuando el valor de p fue menor o igual al 0.05%.

RESULTADOS

En la observación de los nidos que se realizó los días 4 y 12 de lactancia, se encontraron disminuciones significativas por la dieta, $F(1,36) = 11.2268$, $p < 0.01$, la edad, $F(1,36) = 33.49$, $p < 0.0001$, con interacción dieta x edad, $F(1,36) = 7.51$, $p < 0.01$. En la evaluación post hoc, hubo disminución significativa sólo en el día P4, de las madres con DP ($p < 0.05$) y cuando se conjuntaron y compararon los valores de los días P4 y P12 de cada condición (Total) (Figura 2).

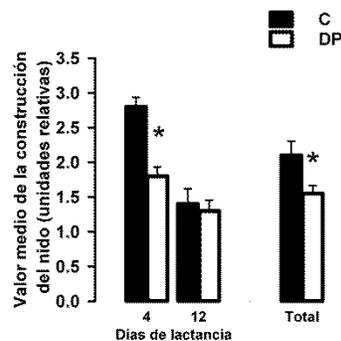


Figura 2. Valor medio \pm EEM de la construcción del nido. Se observaron reducciones significativas sólo en el día 4 de la lactancia, y cuando se conjuntaron y compararon los valores del nido de las 2 edades (Total), * $p < 0.05$.

Al analizar los datos de las latencias de acarreo materno en los 2 días de lactancia hubo incrementos significativos relacionados con la dieta, $F(1,18) = 9.53935$, $p < 0.01$, sin efectos para la edad y la interacción entre los factores. En el análisis post hoc se observaron incrementos significativos ($p < 0.05$) en las latencias para el acarreo en ambos días de evaluación, y en el total conjuntando las 2 edades de lactancia de las madres con DP (Figura 3A).

En la frecuencia de acarreo se obtuvieron reducciones significativas asociadas a la dieta, $F(1,18) = 12.0440$, $p = 0.002$, sin efectos del factor edad y con interacción de los factores dieta x edad, $F(1,18) = 6.5511$, $p = 0.01$. En el análisis post hoc, se observaron reducciones significativas en la frecuencia del acarreo del día 12 ($p = 0.001$), y en el total ($p < 0.05$) conjuntando los datos de los 2 días de lactancia en las madres con DP (Figura 3B).

Al comparar la duración del acarreo de crías, hubo reducciones significativas relacionadas con la dieta, $F(1,18) = 5.99623$, $p = 0.02$, más no por la edad o la interacción entre estos factores (Figura 3C). En cuanto, al análisis *post hoc*, no se identificaron diferencias significativas en ninguna de las comparaciones, aunque si tendencias a reducirse ($p < 0.07$). Únicamente en el total conjuntando los valores de los 2 días de lactancia se encontró reducción significativa en la duración del acarreo de las madres con DP ($p < 0.05$).

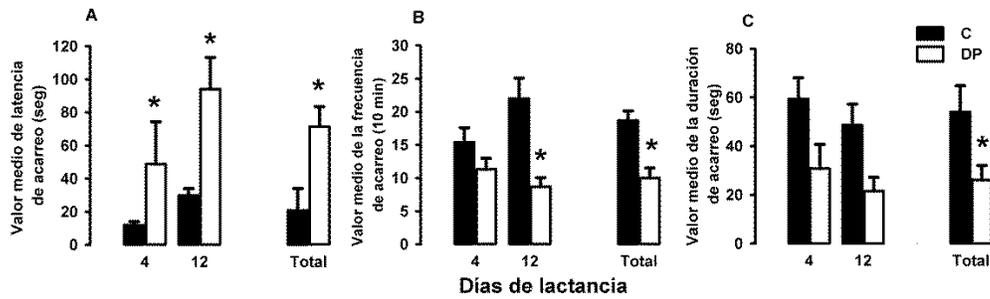


Figura 3. A) Valor medio \pm EEM de la latencia para el acarreo. Se muestran incrementos significativos en latencia por la dieta ($* p < 0.05$) en las madres con DP en ambos días de lactancia y en el total conjuntando las mediciones. B) Valor medio \pm EEM de la frecuencia de acarreo, mostrando reducciones significativas en el día 12 y en el total conjuntando los valores de los 2 días de lactancia de las madres con DP. $* p < 0.05$. C) Valor medio \pm EEM de la duración de acarreo mostrándose reducciones únicamente en la suma de ambos días $* p < 0.05$.

Las observaciones preliminares que se realizaron en la corteza prefrontal medial respecto a la expresión de la proteína c-Fos neuronal fueron únicamente cualitativas, mostrándose mayor expresión en los animales control en comparación con los DP en ambos días de la evaluación (Figura 4).

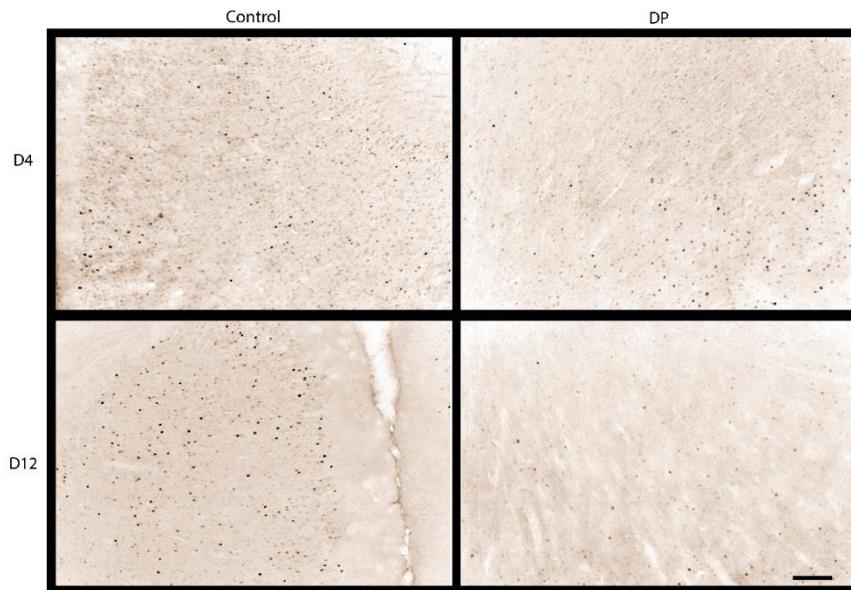


Figura 4. Fotomicrografías de la expresión de c-Fos en la CxPm. Nótese la disminución de la inmunoreactividad en las neuronas piramidales provenientes de madres con DP en ambos días de la evaluación. Barra horizontal, 20 μ m.

DISCUSIÓN

Los efectos a largo plazo de la DP sobre el desarrollo físico se conocen ampliamente por estudios previos, describiéndose disminución de talla y peso, alteraciones en los órganos viscerales, así como, daños en el metabolismo relacionado con la secreción de hormonas (Ayala-Moreno et al., 2013; Belluscio et al., 2014; Culley y Lineberger, 1968)

Los hallazgos conductuales mostraron específicamente reducciones en la construcción del nido, únicamente en el día 4, en las madres con DP, teniendo nidos descuidados y poco elaborados. En los primeros días posterior al nacimiento, el nido cumple con la función de protección y termorregulación de las crías (Denenberg et al., 1969; Rychlink y Korda, 1989), que las mantiene juntas como un medio de supervivencia. Al paso de los días, las crías comienzan a tener mayor actividad por lo que el nido puede ser destruido por ellas mismas, lo que se observa con la baja en las puntuaciones en el día 12 para ambos grupos por lo cual posiblemente ya no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, al conjuntar los datos de los 2 días de evaluación, se identificaron alteraciones en el grupo de madres con DP confirmándose que el daño en estructuras que pertenecen al circuito maternal como la corteza cerebral, el hipocampo, el núcleo accumbens y el área preóptica media, afectan la construcción del nido, entorpeciendo el desarrollo de la prole (Slotnick, y Nigrosh, 1975; Jacobson et al., 1980; Corodimas et al., 1993; Lee et al., 2000; Salas, et al., 2002); esto podría ser resultado del daño en alguna o varias de esas estructuras por la restricción temprana de alimento.

Las alteraciones en el acarreo de las crías fueron consistentes en ambos días de la evaluación, así como, en la zona de acarreo siendo las madres DP quienes tardan más en presentar la conducta, así como disminución en la frecuencia y la duración de ésta; además que el acarreo lo realizan en zonas inadecuadas que podrían lastimar a sus crías (Felix et al., 2014). Estudios previos muestran que la DP interfiere severamente con la creación del vínculo madre-camada, como lo indican la reducción del lamido anogenital, el contacto reducido con las crías, así como el acarreo desorganizado cuando se dispersan fuera del nido. De igual forma, el vínculo deficiente de la madre también afecta el crecimiento del cerebro del recién nacido, el desarrollo del comportamiento y su respuesta al estrés, los cuales se han asociado con trastornos mentales en etapas posteriores de la vida (Crnic, 1976; Fleming y Walsh, 1994; Smart, 1974; Felix et al., 2014; Salas et al., 2017).

CONCLUSIÓN

Por último, las observaciones preliminares de la inmunoreactividad de c-Fos en la CxPm podrían deberse a la disminución o a las alteraciones en la actividad de las madres con DP, durante los cuidados maternos de sus crías, en este caso el acarreo y la construcción del nido. Sin embargo, se necesita un análisis cuantitativo más detallado y en varias de las estructuras del circuito maternal para poder establecer conclusiones más consistentes, acerca de que las deficiencias en la motricidad y la postura de las madres con DP son relevantes para alterar la actividad neuronal en la CxPm de la rata desnutrida.

BIBLIOGRAFÍA

Artículos de revista

Ayala-Moreno, R., Racotta, R., Anguiano, B., Aceves, C., y Quevedo, L. (2013). Perinatal undernutrition programmes thyroid function in the adult rat offspring. *The British Journal of Nutrition*, 110(12), 2207–15. <https://doi.org/10.1017/S0007114513001736>

Belluscio, L. M., Berardino, B. G., Ferroni, N. M., Ceruti, J. M., y Cánepa, E. T. (2014). Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. *Physiology and Behavior*, 129, 237–254. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.02.051>

Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., de Onis, M., Ezzati, M., y Rivera, J. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61690-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61690-0)

Clarke, K. A., Parker, A. J., y Smart, J. L. (1992). Analysis of walking locomotion in adult female rats undernourished as sucklings. *Physiol Behav.* 52, 823-826.

Corodimas, P., Rosenblatt, J. S., Canfield, M. E., y Morrel J. I. (1993). Neurons in the lateral subdivision of the habenular complex mediate the normal onset of maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience*. 5, 827-843

Crnic, L. S. (1976). Maternal behavior in the undernourished rat (*Rattus norvegicus*). *Physiology & Behavior*, 16(6), 677–680. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384\(76\)90235-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384(76)90235-3)

Culley, W. J., y Lineberger, R. O. (1968). Effect of undernutrition on the size and composition of the rat brain. *The Journal of Nutrition*, 96(3), 375–381.

Denenberg, V. H., Taylor, R. E., y Zarrow, M. X. (1969). Maternal behavior in the rat: an investigation and quantification of nest building. *Behaviour*, 34(1), 1–16. <https://doi.org/10.1163/156853969X00369>

ENSANUT. (2016). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. (ENSANUT 2016). Instituto Nacional de Salud Pública. <https://doi.org/10.21149/8593>

Felix, J., Regalado, M., Torrero, C., y Salas, M. (2014). Retrieval of pups by female rats undernourished during the pre – and neonatal period. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 4(7), 325–333. [https://doi.org/doi:10.1016/0031-9384\(78\)90041-0](https://doi.org/doi:10.1016/0031-9384(78)90041-0).

Fleming, A. S., y Walsh, C. (1994). Neuropsychology of maternal behavior in the rat: c-Fos expression during mother-litter interactions. *Psychoneuroendocrinology*, 19(5–7), 429–443. <https://doi.org/doi:http://dx.doi.org/10.1037/h0036414>

Giussani, D. A. (2011). The vulnerable developing brain The Physiology of the “ Fetal Brain Sparing ” Response Maternal Undernutrition and the Primate Fetal Brain Long-Term Consequences. *PNAS*, 108(7), 2641–2642. Retrieved from <http://www.pnas.org/content/108/7/2641.full>

Jacobson, C. D., Terkel, J., Gorski, R. a., y Sawyer, C. H. (1980). Effects of small medial preoptic area lesions on maternal behavior: Retrieving and nest building in the rat. *Brain Research*, 194(2), 471–478. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)91226-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)91226-3)

Lee, A., Clancy, S., y Fleming, A. S. (2000). Mother rats bar-press for pups: effects of lesions of the MPOA and limbic sites on maternal behavior and operant responding for pup reinforcement. *Bio Behavioral Brain Research*. 108, 215-231.

Lynch, A. (1976). Postnatal undernutrition: an alternative method. *Dev. Psychobiol.*, 9, pp. 39-48. <https://doi.org/10.1002/dev.420090107>

Modgil, S., Lahiri, D. K., Sharma, V. L., & Anand, A. (2014). Role of early life exposure and environment on neurodegeneration: implications on brain disorders. *Translational Neurodegeneration*, 3(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2047-9158-3-9>

Morgane, P. J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., ... Galler, J. R. (1993). Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80234-9](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80234-9)

Rice, D., y Barone, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s3511>

Rychlink, L., y Korda, P. (1989). Nest building activity as thermoprotective maternal behaviour in rats. *Acta Theriologica*, 34(20), 287–303.

Salas, M. (1972). Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiol Behav*. 8, 119-122.

Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., y Perez, E. (2002). Retrieving of pups by neonatally stressed mothers. *Nutritional Neuroscience*, 5(6), 399–405. <https://doi.org/10.1080/1028415021000055943>

Salas, M., Regalado, M., Torrero, C., y Rubio, L. (2017). Maternal alterations induced by exposure to an unfamiliar home-cage in early underfed dams. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 62:, 25-31.

Salcedo, C., Torrero, C., Regalado, M., Rubio, L., y Salas, M. (2018). Effects of pre- and neonatal undernutrition on the kyphotic response and c-Fos activity in the caudal periaqueductal gray of primiparous lactating Wistar rats. *Physiology and Behavior*, 185, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.12.020>

Slotnick, B., y Nigrosh, B. (1975). Maternal behavior of mice with cingulate cortical, amygdala or septal lesions. *Journal Comparative Physiological Psychology*. 88, 118-127.

Smart, J. L. (1974). Activity and exploratory behavior of adult offspring of undernourished mother rats. *Developmental Psychobiology*, 7(4), 315–321. <https://doi.org/10.1002/dev.420070408>

Artículos en línea

Organización Mundial de la Salud. (2016). Directriz: actualizaciones sobre la atención de la desnutrición aguda severa en lactantes y niños. Who

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE *PLUMBAGO PULCHELLA* EN RELACIÓN A SUS PROPIEDADES HIPOGLICEMIANTES

Vanessa del Rocío Hernández Álvarez¹ y Claudia Isela González López²

RESUMEN

Las plantas medicinales tienen mucho que ofrecer dentro del tratamiento de enfermedades como la diabetes mellitus, una de las principales enfermedades crónicas degenerativas de México, con cifras altas en mortalidad y prevalencia. Este estudio presenta un análisis de *Plumbago pulchella*, usada por algunas comunidades en Guanajuato para mejorar sus niveles de glicemia. Las plantas se colectaron en el cerro del veinte, Gto., se secaron, se molieron y se sometieron a extracción etanólica y hexánica por maceración. Se realizaron las pruebas fotoquímicas y se identificaron principalmente esteroides y fenoles, reportados como los posibles encargados del efecto hipoglucémico. La importancia de uso en la comunidad enfatiza la necesidad de iniciar estudios farmacológicos sobre la actividad hipoglucémica de estas especies.

Palabras clave: *Plumbago pulchella*, hipoglucémico, fitoquímica

ABSTRACT

Medicinal plants have much to offer in the treatment of diseases such as diabetes mellitus, one of the main chronic degenerative diseases in Mexico, with high figures in mortality and prevalence. This study presents an analysis of *Plumbago pulchella*, used by some communities in Guanajuato to improve their blood sugar levels. The plants were collected on "Cerro del 20, Gto", dried, milled and subjected to ethanolic and hexane extraction by maceration. The phytochemical tests were carried out and mainly steroids and phenols were identified, reported as possible responsible for the hypoglycemic effect. The importance of use in the community emphasizes the need to initiate pharmacological studies on the hypoglycemic activity of these

Keywords: *Plumbago pulchella*, hypoglycemic, phytochemical

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la Diabetes actualmente es considerada una seria problemática de salud, debido a las altas cifras que se han alcanzado en cuanto a mortalidad y prevalencia de personas portadoras de la enfermedad (Fernández et al. 2007). En el año 2013, las cifras indicaron que en el mundo había 382 millones de personas que padecían diabetes mellitus, dichos números se han mantenido en aumento constante al paso de los años, afectando a la población de diversos países, según datos del Instituto Nacional de salud pública, en México desde el año 2000 la diabetes ha sido la primera causa de muerte en mujeres y la segunda en hombres, lo cual incrementa la preocupación en el país (Corrales, 2014). Dentro de la medicina existen varios tratamientos que han buscado reducir las cifras antes mencionadas, sin embargo de forma indirecta la diabetes atribuye muchos gastos al sector salud debido a las complicaciones que cada paciente puede presentar, por lo que se han buscado otras alternativas ante dicha problemática (Icaza y Arredondo, 2011). En México se han llevado a cabo diversas investigaciones etnobotánicas que demuestran que la población utiliza de manera empírica más de 100 especies de plantas para el control de diabetes, y es que la medicina tradicional con plantas es precisamente una alternativa de tratamiento más accesible, ya que desde la época prehispánica ha sido empleada como un primer recurso para aliviar distintos malestares, pues

¹ Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Licenciatura en Biología; Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, vanessaalvarezhdz@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Licenciatura en Biología; Carr. Irapuato-Silao Km. 12.5, C.P: 36821, Irapuato, Guanajuato, clgonzalez@itesi.edu.mx

existen variadas especies de plantas a las que se les atribuyen propiedades medicinales (Alarcón et al., 2005; Zolla, 2005). En 1985 la OMS llevo a cabo un Programa de Medicina Tradicional Herbolaria, donde se reconocía que dentro de este campo efectivamente existen sustancias de origen vegetal que pueden considerarse fármacos importantes, útiles en el tratamiento de varias enfermedades como la diabetes mellitus, a pesar de ello la mayor parte de estas sustancias no han sido estudiadas, por lo cual los investigadores creen necesario ampliar los análisis sobretodo en cuestión medicinal (Beyra et al., 2004). En comunidades pertenecientes al estado de Guanajuato, se emplean varias especies de plantas para tratar la diabetes, entre las más comúnmente usadas se hallan algunas de la familia Plumbaginaceae como *Plumbago scadens* y *Plumbago pulchella* que cuentan con una amplia distribución no solo en el estado si no en el mundo, las plantas se localizan en zonas que van de templadas cálidas a tropicales, son herbáceas y por su tipo de vida se pueden encontrar en el campo durante todo el año, las personas que las han usado aseguran sentir un efecto benéfico en el control de sus niveles de glicemia, existen trabajos sobre estas especies, sin embargo la mayoría presenta un enfoque sobre sus usos y ecología, por esta razón se planteó realizar una evaluación fitoquímica que nos permita identificar los metabolitos secundarios presentes en *Plumbago pulchella* (jiricua morada) considerada una planta con efecto hipoglicemiante, con el fin de propiciar nuevos usos en el ámbito farmacéutico e incentivar el estudio posterior de cada uno de los compuestos contenidos en la planta.

METODOLOGIA

Área de colecta y muestreo

En el verano de 2018 se realizó la colecta del material biológico en el Cerro del veinte, el cual se ubica en el estado de Guanajuato en las coordenadas N 20° 41' 21.7" y W 101° 29' 07.0" a una altitud de 2005 msnm, se colectaron varios ejemplares de *Plumbago pulchella*, los cuales se fotografiaron, etiquetaron y prensaron para su posterior secado. Esta especie fue seleccionada de acuerdo a las propiedades contra la diabetes que la misma población le atribuye a la planta.

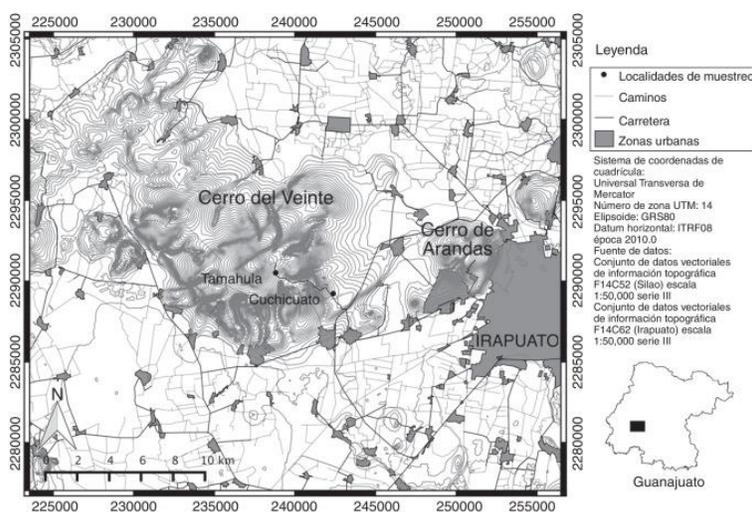


Figura 1. Ubicación geográfica del cerro del Veinte, municipio de Irapuato, Guanajuato.

Obtención del extracto

Previo al secado los ejemplares se separaron en dos secciones raíz y parte aérea (tallo, hoja, flor), cada una de las secciones se guardó en sobres de papel y se colocaron en una secadora por alrededor de una semana para asegurar la eliminación completa del exceso de humedad en los órganos de la planta, posteriormente cada una de las secciones se molieron hasta pulverizar usando un molino de mano para la muestra más rígida es decir la raíz y un mortero para la más suave. La preparación de los extractos se realizó por el método de maceración en matraz erlenmeyer, para ello se emplearon dos solventes hexano y etanol absoluto, cada uno de los extractos se preparó con 10 ml de solvente por

cada gr de muestra, los matraces se envolvieron con plástico y papel aluminio para evitar la volatilidad de algunos metabolitos, finalmente estos se colocaron en un agitador orbital a velocidad mínima. Al cabo de unos días cada una de las muestras se filtraron con papel wattman, el filtrado se colocó en goteros ámbar y en refrigeración lejos de la luz para su preservación.

Pruebas fitoquímicas

Se realizaron pruebas fitoquímicas con reacciones de color para determinar los metabolitos presentes en los extractos, etanólico y hexánico. Los metabolitos que se analizaron fueron: flavonoides (ensayo shinoda), fenoles (ensayo de cloruro férrico), esteroides (ensayo de Liebermann- Burchard) y saponinas (ensayo de espuma). Para la identificación de flavonoides el ensayo se realiza con un ml de muestra donde se lleva a cabo una reacción exotérmica y es considerada positiva si se desarrolla una coloración que va de rojo hasta magenta. En el caso de fenoles se usa una pequeña porción del ensayo y se pone en contacto con la muestra, siendo positiva al presentar una coloración azul-verde o rojo-naranja. Los esteroides se pueden reconocer poniéndose en contacto con una prueba de Cloruro ferrico al 20%, dando un color que va de rojo hasta vino. Por otra parte, para determinar la presencia de saponinas se realiza una prueba de espuma en agua, donde la espuma debe permanecer más de 2 minutos en la superficie del líquido de la muestra.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se comprobó con la ayuda de claves de identificación y el fascículo 44 de Flora del Bajío y regiones adyacentes, que el material vegetal colectado pertenecía a la especie *Plumbago Pulchella* Boiss, la cual es comúnmente conocida por las personas de la comunidad que la emplean como jiricua morada. Esta es una hierba o arbusto en algunas ocasiones trepadora que llega a medir entre 1m y 50 cm de alto, presenta hojas alternas, corola azul- morada que mide 1.5 cm e incluso menos, el cáliz está desprovisto de glándulas y las inflorescencias se disponen de manera terminal (Calderón, 1996).



Figura 2. Ejemplar en campo de *Plumbago Pulchella* Boiss.

En las pruebas cualitativas realizadas a los extractos etanólico y hexánico de *Plumbago pulchella*, se observó la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, fenoles, esteroides y saponinas en todas las muestras de ambos solventes. La tabla 1 muestra los resultados del análisis fitoquímico, los flavonoides y esteroides se observaron con mayor frecuencia en los extractos etanólicos en la parte aérea, así como en la raíz, es decir en toda la planta en

general, en el caso de fenoles se presentaron en todas las muestras excepto en el extracto etanólico de la parte aérea, y finalmente saponinas estuvieron presentes solo en el extracto de raíz de ambos solventes. En cuanto a la distribución general de los metabolitos en los extractos de Raíz se detectó la presencia de los mismos en mayor cantidad comparado con la parte aérea de la planta, y en cuanto a solventes el extracto preparado con etanol fue donde también se encontraron con más frecuencia estas sustancias.

Tabla 1. Resultados del análisis fisicoquímico.

Componentes fitoquímicos	Raíz		Parte aérea	
	Etanol	Hexano	Etanol	Hexano
Flavonoides	+	-	+	+
Fenoles	+	+	-	+
Esteroles	+	+	+	-
Saponinas	+	+	-	-

Las pruebas realizadas en este estudio específicamente nos indican que la mayor parte de los metabolitos secundarios se hallan en la raíz, así como en los extractos etanólicos, es bien sabido que estas sustancias tienen una amplia distribución en todas las especies vegetales, ya que son producto del metabolismo secundario de las mismas, se localizan a lo largo de la planta pero pueden hallarse o no presentes en algunos de sus órganos, sin embargo otros estudios mencionan que estas sustancias suelen ser compuestos muy volátiles por lo cual podrían presentarse o no, existe una variedad de ensayos más específicos para detectar algunos grupos de los mismos, que depende en ocasiones de el uso de diferentes solventes (García y Carril, 2011). Una característica sobresaliente de los metabolitos es su actividad funcional en beneficio propio de las plantas, mas sin embargo también llegan a tener efecto sobre otros seres vivos ya sea de manera negativa o positiva, son precisamente estas sustancias las cuales les brindan a las plantas medicinales sus denominadas propiedades farmacológicas, el análisis de resultados comprueba lo antes mencionado, ya que las personas que emplean a *Plumbago pulchella* dentro de su tratamiento aseguran tener efectos positivos sobre su salud (García, 2004). Existen algunos pocos trabajos que se han encargado de estudiar a las plantas desde una perspectiva medicinal partiendo de la fitoquímica muchos autores sugieren este tipo de estudios por ser más amplios y completos a la hora de determinar el efecto de ciertos metabolitos en diferentes enfermedades, además sería necesario seguir analizando si existen otros metabolitos distintos a los ya encontrados, comprobar su presencia nuevamente con cromatografía en capa fina y lo más importante determinar cuáles son los encargados del efecto hipoglicemiante.

CONCLUSIONES

Se logro comprobar la especie de planta usada para este estudio, comúnmente llamada jiricua morada se identificó como *Plumbago Pulchella Boiss*, de acuerdo con los resultados esta especie, cuenta con algunos de los metabolitos secundarios que tienen entre sus funciones efecto en el tratamiento de la diabetes, como por ejemplo los flavonoides y esteroles, por tanto se comprueba que es una de las especies vegetales que se pueden incluir en la lista de plantas medicinales hipoglicemiantes distribuidas y empleada en el estado de Guanajuato. Además, los resultados arrojados por el estudio nos indican que la mayor parte de los metabolitos secundarios se hallan en la raíz lo cual coincide con lo que la población menciona, ya que ellos generalmente emplean esta parte de la planta asegurando sentir efectos significativos y positivos en el tratamiento de diabetes.

Aun cuando *P. pulchella* se utiliza como una especie vegetal de tradición para su uso como planta medicinal, se debe sustentar en estudios científicos referente a su fisiología, identificación de metabolitos secundarios óptimos en calidad y cantidad, dosis y concentraciones adecuadas para los usuarios y órganos de la planta a utilizar.

BIBLIOGRAFIA

Artículos de revista

ALARCON, F., ROMAN, R., & FLORES, J. (2005). Plantas medicinales usadas en el control de la diabetes mellitus. *Ciencia*, Núm. 2, Vol. 44, [pp 363-371].

BEYRA, A., D. C., IGLESIAS, E., FERRÁNDIZ, D., HERRERA, R., VOLPATO, G. & ALVAREZ, R. (2004). Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales del jardín botánico de Madrid*, Núm. 2, Vol. 61, [pp 185-204].

CORRALES, E. (2014). Estado actual de la diabetes mellitus en el mundo. *Acta Médica Costarricense*, Núm. 2, Vol. 56, [pp 44-46].

FERNÁNDEZ, G., ROJAS, R., SALINAS, A., RAUDA, J., & VILLALPANDO, S. (2007). Diabetes mellitus en adultos mexicanos: Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2000. *Salud pública de México*, Núm. 3, Vol. 49, [pp 331-337].

GARCÍA, A. Á., & CARRIL, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, Núm. 3, Vol. 2, [pp 11-17].

GARCÍA, D. E. (2004). Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y Forrajes*, Núm. 27, Vol. 1, [pp 1-13].

ICAZA, E., & ARREDONDO, A. (2011). Costos de la diabetes en América latina: Evidencias del caso mexicano. *Value in health*, Núm. 5, Vol.14, [pp 85-88].

ZOLLA, C. (2005). La medicina tradicional indígena en el México actual. *Arqueología mexicana*, Núm. 74, Vol. 13, [pp 62-65].

Libros

CALDERÓN, G. (1996). Plumbaginaceae fascículo 44: 1-11. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, Pátzcuaro: Instituto de Ecología, AC, editorial.

AGRADECIMIENTOS

A los organizadores del 20° Verano de la Ciencia Región Centro. A mi asesora la Dra. Claudia González por darme la oportunidad de participar en su proyecto, así como a la Dra. Victoria Hernández y Dr. Juan Collí Mull por su apoyo para la realización del proyecto y al Biol. Fernando Ramos por su apoyo con las fotografías de la planta,

DEGRADACIÓN DE AZUL DE METILENO A TRAVÉS DEL EMPLEO DE Ta₂O₅ COMO FOTOCATALIZADOR NANOPARTÍCULADO

Vania Lizeth Guerra Castillo¹ y Esmeralda Mendoza Mendoza²

RESUMEN

Se estudió la actividad fotocatalítica de partículas de pentóxido de tantalio, Ta₂O₅. Se probaron dos sistemas de partículas de Ta₂O₅, uno comercial con tamaño micrométrico ($\leq 20 \mu\text{m}$) y otro nanométrico ($\leq 20 \text{nm}$). Las nanopartículas (NPs) empleadas fueron sinterizadas por un método innovador y parcialmente verde. El estudio demostró que las NPs de Ta₂O₅ al poseer mayor área superficial alcanzaron una degradación de azul de metileno (AM) del 89.67% tras 180 min de irradiación con luz UV. La degradación de las NPs de Ta₂O₅ empleadas fue significativamente superior a la reportada en literatura para el Ta₂O₅ puro y dopado con diversos elementos químicos. Además, se identificó que las especies oxidativas principales en la degradación de AM siguen el siguiente orden $h^+ > e^-$ con el uso de NPs de Ta₂O₅. Asimismo, se realizaron pruebas de reusabilidad, mostrando una degradación de AM igual al 84.03% en el tercer ciclo de reuso, demostrando la estabilidad química de las NPs de Ta₂O₅ y las ventajas que representa el uso de fotocatalizadores inorgánicos en el tratamiento de aguas residuales.

ABSTRACT

The photocatalytic activity of Ta₂O₅ particles was studied. Herein, two systems of Ta₂O₅ particles were tested, the first system corresponding to commercial particles with a micrometric size ($\leq 20 \mu\text{m}$) and the second with a nanometric size ($\leq 20 \text{nm}$). The nanoparticles (NPs) were synthesized by a novel and partially green synthesis method. This study showed that the Ta₂O₅ NPs with higher specific surface area achieved a methylene blue (MB) degradation of 89.67% after 180 min of irradiation with UV-Vis light. The degradation efficiency of NPs was substantially higher than those reported in the literature for pure Ta₂O₅ and even for doped Ta₂O₅ with different cations. Furthermore, the main oxidative species for degrading MB by using Ta₂O₅ NPs followed the order: $h^+ > e^-$. Moreover, the reusability of Ta₂O₅ NPs was tested, showing an MB degradation of 84.03% after the third cycle, which proves the chemical stability of Ta₂O₅ NPs and the advantages of using inorganic photocatalysts for wastewater treatment.

Palabras Clave: Ta₂O₅, nanopartículas, band gap (E_g), fotocatalisis, azul de metileno.

INTRODUCCIÓN

Los colorantes orgánicos constituyen uno de los mayores grupos de contaminantes en las aguas residuales, los cuales son desechos de diversas industrias como la alimenticia, cosmética, farmacéutica, textil, etc. Los colorantes tienen una alta estabilidad, lo que resulta en altas concentraciones de colorante en las aguas residuales dentro de los ecosistemas, provocando problemas ambientales y repercusión en la vida acuática. Por si fuese poco, algunos colorantes y productos de su degradación son altamente carcinogénicos [1]. Entre ellos se encuentra el azul de metileno (AM), un colorante que tiene gran importancia tanto en fines académicos como en otras ramas de la ciencia, y que es ampliamente usado en la industria textil (como en la mezclilla). Además, al ser suministrado al cuerpo por cualquier medio genera confusión, hiperactividad, problemas de memoria, espasmos musculares, sudoración excesiva, escalofríos o temblores, diarrea, problemas con la coordinación y fiebre, por lo cual resulta sumamente importante estudiar la eliminación parcial o total de AM previo a su descarga a efluentes y fuentes naturales de agua [2].

Aunque existen técnicas tradicionales para remover estos compuestos coloreados, como la precipitación química, adsorción con carbón activado, desorción con aire, ultrafiltración, intercambio iónico, etc. Dichas técnicas presentan

¹Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química; Cerro de las Campanas s/n, Centro Universitario, Las campanas, C.P: 76010, Santiago de Querétaro, Qro., vania.liz.17@live.com

²Cátedras-CONACYT, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas; Av. Dr. Manuel Nava No.6, Zona Universitaria, Nombre, C.P: 78210, San Luis Potosí, S.L.P., emendoza@conacyt.mx

la problemática de ser métodos físicos de adsorción y su acción está limitada a la transferencia del contaminante desde una fase acuosa a otra que resulta también contaminada, provocando la persistencia del problema [2].

Una alternativa tecnológica a los métodos tradicionales se encuentran los procesos avanzados de oxidación (PAOs), definiéndose como “aquellos procesos de oxidación que implican la generación y uso de especies altamente oxidantes, primordialmente radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$), en cantidad suficiente para interactuar con los compuestos orgánicos del medio”. El principal objetivo de los PAOs es mineralizar los contaminantes en agua, esto es oxidar los constituyentes de un contaminante complejo a un compuesto más simple y menos nocivo, los productos finales en su mayoría son dióxido de carbono, iones inorgánicos y agua. La fotocatalisis heterogénea es una de las que presenta mayores ventajas: mineralización completa de los contaminantes (CO_2 y H_2O), sin que el fotocatalizador sufra cambios químicos. Utiliza materiales semiconductores que puede ser de bajo costo, inocuos, con alta fotoactividad, nula selectividad, estabilidad química, reusabilidad, entre otras ventajas.

El pentóxido de tantalio (Ta_2O_5) se utiliza en diferentes aplicaciones tales como dispositivos fotovoltaicos, industrias electrónicas y material antireflectante. También se emplea como fotocatalizador activo para la producción de H_2 debido a su potencial de banda de conducción más negativo en comparación con TiO_2 [3]. La actividad fotocatalítica de Ta_2O_5 y la fotodegradación de contaminantes aumenta bajo iluminación UV. La activación del Ta_2O_5 permite llevar a cabo reacciones de fotooxidación debido a su ancho de banda (E_g) de Ta_2O_5 ~ 3.9 eV [3], sin embargo, la activación requiere el uso de radiación UV que comprende únicamente entre el 4-5 % del espectro solar. Debido a este problema, en los últimos años se ha desarrollado el uso de las nanopartículas (NPs) de Ta_2O_5 pues está relacionado con el aumento de eficiencia fotocatalítica debido a modificaciones químicas y estructurales que derivan en reducción de su E_g , facilitando la promoción de electrones (e^-) de la banda de valencia a la de conducción.

El objetivo de este trabajo consistió en el estudio de la degradación fotocatalítica del colorante AM mediante fotocatalisis heterogénea usando NPs de Ta_2O_5 , las cuales fueron preparadas por un método de síntesis innovador y de química parcialmente verde. Los alcances de trabajo incluyen la determinación de las especies oxidativas principales en la degradación de AM y pruebas de reusabilidad del fotocatalizador nanoparticulado empleado.

MÉTODOS Y MATERIALES

Preparación de la solución patrón y curva de calibración

Se utilizó 10 mg de AM para disolverse en un litro de agua desionizada por lo que la solución patrón fue de 10 ppm del colorante a degradar. A partir de dicha solución se preparó una curva de calibración con un coeficiente de correlación lineal del 0.9995 de las siguientes concentraciones 0.1; 0.3; 0.5; 1; 2; 4; 8 y 10 ppm.

Selección de las condiciones experimentales del estudio fotocatalítico

Se evaluó previamente la concentración a utilizar del fotocatalizador (FC) comercial de Ta_2O_5 , desde 5 mg, 10 mg y 50 mg en 50 mL. Los resultados indicaron que 50 mg de FC en 50 mL de AM generan una significativa de degradación al AM. También se determinó la potencia de la lámpara de Hg desde 270, 180, 90 y 135 W, siendo la última la que presentó la mínima fotólisis del colorante y la actividad de los fotocatalizadores de Ta_2O_5 . Asimismo, se estudiaron diversos tiempos de irradiación desde 3 hasta 6 h, siendo el menor tiempo el seleccionado. Las pruebas de degradación se llevaron a cabo a 25°C y en el pH natural de la solución patrón de AM. Se estudió la degradación de AM con micropartículas de Ta_2O_5 comerciales (≤ 20 μm) y nanopartículas de Ta_2O_5 (≤ 20 nm). La solución con los FCs se agitó en la oscuridad por 30 min para alcanzar el equilibrio adsorción/desorción de los FCs y las moléculas de AM. Posteriormente, se encendió la lámpara del reactor (ver Figura 1) y se tomaron alícuotas de 3 mL desde $t=0$, 15, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min. Seguido a lo cual las alícuotas fueron centrifugadas usando 4000 rpm durante 40 min para separar las partículas del FC presentes en las alícuotas previo a la lectura de la concentración de AM en un espectrofotómetro 2600 UV-Visible marca Shimadzu a la longitud de onda de máxima absorbancia ($\lambda=664$ nm para AM), Figura 2. Todas las muestras fueron estudiadas por duplicado.



Figura 1. Fotorreactor



Figura 2. Espectrofotómetro



Figura 3. Lavados de NPs

Pruebas de reciclado y determinación de las especies oxidativas

Después de del estudio de degradación, las NPs fueron recuperadas y centrifugadas 25 min a 3500 rpm, y posteriormente, fueron agitadas por 30 min en agua desionizada por 3 ocasiones, seguido a lo cual se realizó un lavado final con etanol por 20 min, Figura 3. Las NPs lavadas fueron secadas a 100 °C por 2 h, y posteriormente tratadas a 400 durante 1 h en una mufla. Las NPs sometidas a dichas operaciones de acondicionamiento fueron reutilizadas en un siguiente ciclo de degradación, hasta completar 3 ciclos de reuso.

La determinación de las especies oxidativas principales se llevó a cabo mediante el uso de IPA (isopropanol) y EDTA-Na (etilendiamina tetraacético disódico), empleadas como especies de sacrificio que captan los electrones (e^-) y huecos (h^+) generados durante la activación del FC. Se añadieron 1 mL de IPA y 50 mg de EDTA a la solución con el FC durante la etapa de agitación en obscuridad previa a la irradiación.

RESULTADOS

La figura 4(a) muestra la imagen obtenida por HR-TEM (Microscopia electrónica de transmisión de alta resolución) para las NPs de Ta_2O_5 , en la cual se muestra la forma esférica y el tamaño nanométrico menor a 20 nm de las partículas. En la figura 4(b) se muestra la energía de la banda prohibida (E_g) calculado para las NPs de Ta_2O_5 e igual a 3.56 eV, dicho valor presenta una disminución con respecto a literatura (≈ 3.9 eV) [4].

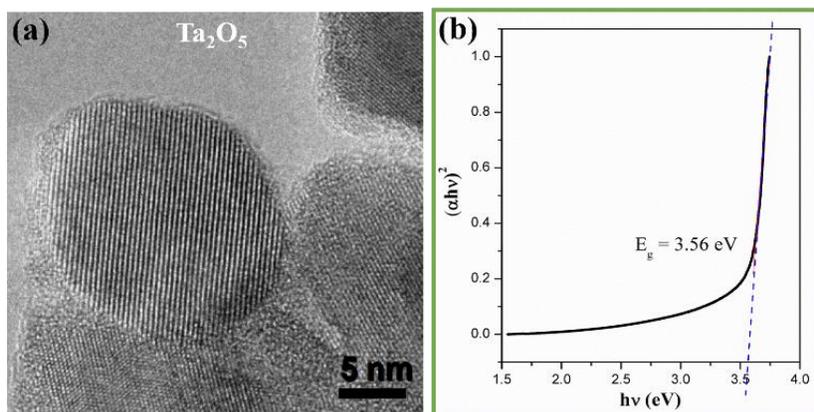


Fig. 4 Imagen de HRTEM (a) y la E_g de NPs de Ta_2O_5 (b)

La figura 5 muestra los espectros UV-Vis de la solución patrón de AM con un pico máximo absorción en $\lambda=664$ nm [5], y posteriormente la disminución de su concentración como resultado de la degradación a diferentes tiempos de irradiación. En dicha figura se observa claramente el desplazamiento del pico máximo ratificando la degradación de la molécula de AM. La apreciación visual de la degradación en función del tiempo de irradiación se muestra en la figura insertada en la parte superior izquierda.

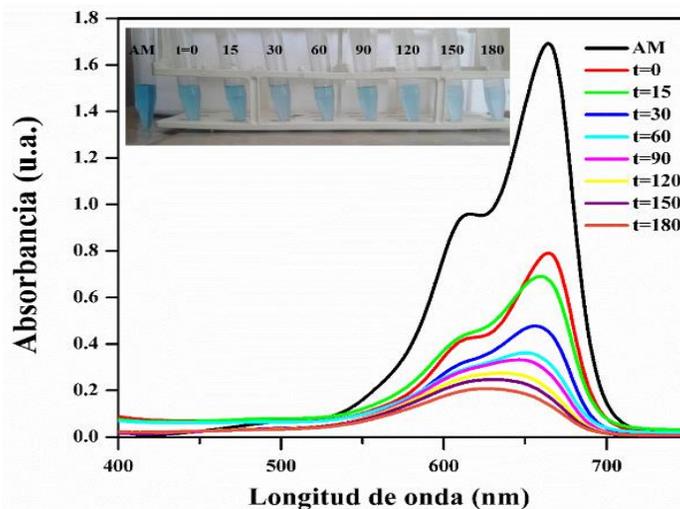


Fig. 5 Espectros de absorción en UV-Vis de la degradación de AM usando NPs de Ta₂O₅.

La fig. 6 muestra el decremento de la concentración de AM con respecto a la concentración inicial ($C_0 \approx 10 \text{ mgL}^{-1}$) y a diferentes tiempos durante su irradiación. La línea de color negro muestra la fotodegradación de AM sin la adición de fotocatalizador, denominada muestra en blanco, la cual degradó 11% tras irradiar 3 h con la lámpara de Hg con potencia de 135 W. La degradación que presentó el AM por fotólisis está de acuerdo con lo reportado en literatura: C/C_0 igual al 10% al usarse una lámpara de Hg a 400 W [6]. La siguiente línea, en color rojo, corresponde al FC en su versión comercial, el cual obtuvo un mayor porcentaje de degradación en comparación con la muestra en blanco, demostrando así que existe actividad considerable del FC, sin embargo, en la siguiente línea, de color azul, se aprecia que el Ta₂O₅ nanoparticulado muestra el mayor porcentaje de degradación (89%). Este porcentaje de degradación es hasta 3.2 veces mayor que el reportado en literatura para Ta₂O₅ puro [5]. El rendimiento es comparable incluso con estudios anteriores donde su porcentaje de degradación está alrededor del 90% pero con la diferencia de que se trata de Ta₂O₅ dopado [3, 5]. El dopaje implica cambios estequiométricos y estructurales en el Ta₂O₅ relacionados con procesos laboriosos, uso de un mayor número de equipos y costos de producción. En este trabajo, el alto rendimiento fotocatalítico de las NPs de Ta₂O₅ se atribuye a su valor de E_g (3.56 eV) y al área superficial.

La velocidad de fotodegradación de AM con el empleo de partículas de Ta₂O₅ puede representarse mediante la siguiente ecuación cinética de pseudo segundo orden: $(1/C) = (1/C_0) + k t$; donde k es la constante de velocidad de primer orden (min^{-1}), C es la concentración de AM en la solución en el tiempo t (mgL^{-1}) y C_0 es la concentración inicial de AM (mgL^{-1}). Los valores de k para el uso de Ta₂O₅ nanoparticulado y microparticulado fueron de 0.0041 y 0.0004 min^{-1} , respectivamente.

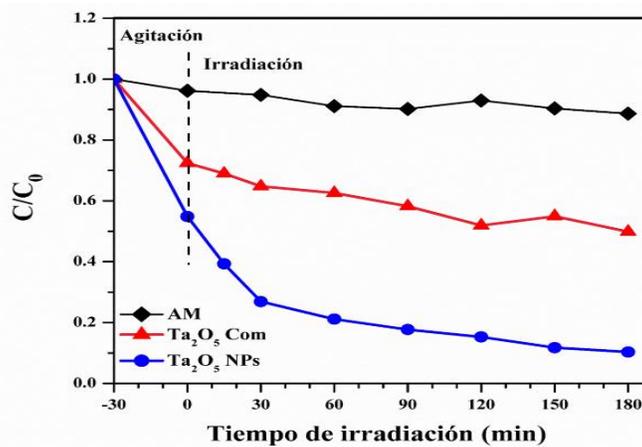


Fig. 6 Perfiles de la degradación fotocatalítica del AM con NPs y partículas comerciales de Ta₂O₅.

La Fig. 7 (a) corresponde el estudio realizado para determinar la especie oxidativa determinante en la degradación de AM. La adición de IPA resultó en el 89.67 % (línea azul), mientras que el EDTA-Na reportó el 76 % (línea roja) de degradación de AM, con respecto a 89.67 % sin la adición de atrapadores de e^- o h^+ . Los resultados sugieren que en este sistema de estudio los huecos corresponden a las principales especies oxidativas que degradan el AM. Se ha reportado en literatura inhibiciones en la degradación de AM de hasta el 90 % al añadirse EDTA-Na o TEOA en conjunto con FC puros o dopados de Ta_2O_5 [5], siendo los h^+ las especies oxidativas predominantes. La Fig. 7 (b) contiene los ciclos de reuso de NPs de Ta_2O_5 , donde se muestra que el porcentaje de degradación disminuyó del 89 al 84%, que representa el 7%, entre el primer y tercer ciclo de uso. Los resultados mostraron la estabilidad química de las NPs de Ta_2O_5 preparadas y sugieren que es viable reutilizarlas en al menos los 540 min evaluados.

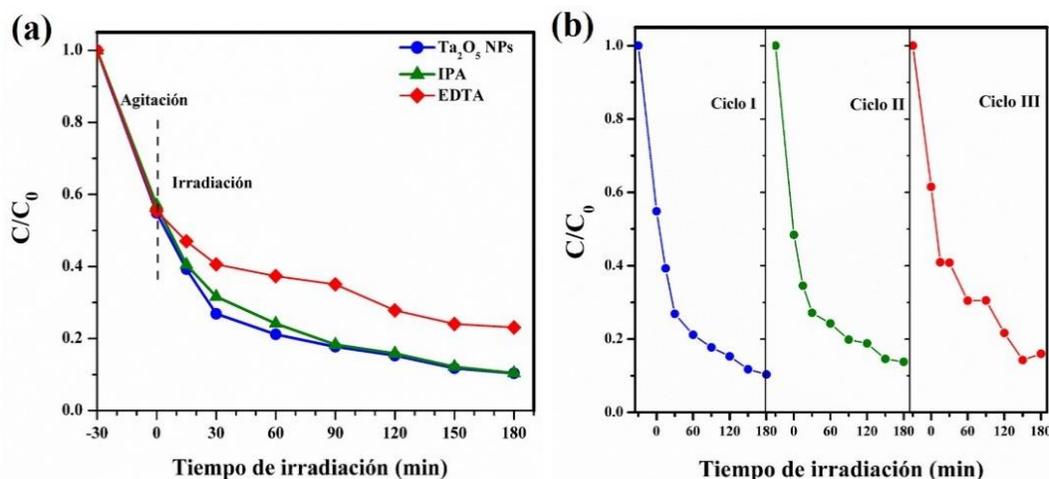


Fig. 7 Efecto de diferentes atrapadores de especies oxidativas (a) y perfiles de la degradación fotocatalítica del AM con NPs Ta_2O_5 de los estudios de reciclado (b).

CONCLUSIONES

Las NPs de Ta_2O_5 preparadas por un método de química parcialmente verde mostraron una mayor eficiencia fotocatalítica tras 3 h de irradiación en comparación con las partículas comerciales. La actividad fotocatalítica de las NPs de Ta_2O_5 fue significativamente superior a la reportada en literatura para Ta_2O_5 puro y competitiva con Ta_2O_5 dopado. Se comprobó que las especies oxidativas predominantes que llevan a cabo la degradación de AM son los huecos, quedando como perspectiva futura el uso de especies como la benzoquinona para estudiar el efecto que tiene los superóxidos en el mecanismo de degradación de AM. Se comprobó que las NPs son reusables y que la exposición a la radiación derivó en la disminución de tan solo el 7% de la actividad fotocatalítica tras el tercer ciclo de reuso.

BIBLIOGRAFIA

- [1] MENDOZA, E., ÑUNEZ, A., GARCÍA, L., PERALTA, R. & MONTES, A. (2018). "One-step synthesis of ZnO and Ag/ZnO heterostructures and their photocatalytic activity" en *Ceramics International*, Núm. 44, Enero-Diciembre, [pp. 6176-6180].
- [2] BAICUE, S. (2015). "DEGRADACIÓN DEL AZUL DE METILENO Y VERDE DE MALAQUITA POR FOTOCATÁLISIS HETEROGÉNEA UTILIZANDO DIÓXIDO DE TITANIO DOPADO CON NITRÓGENO (N-TiO₂) BAJO LUZ VISIBLE", Universidad Tecnológica de Pereira, FTQI, [pp. 19-43].

- [3] ISMAIL, A., FAISAL, M., HARRAZ, F., AL-HAJRY, A. & AL-SEHEMI, A. (2016). "Synthesis of mesoporous sulfur-doped Ta₂O₅ nanocomposites and their photocatalytic activities" en *Journal of Colloid and Interface Science*. Núm. 471. Enero-Marzo, [pp. 145-154].
- [4] NASHED, R.; HASSAN, W. M.; ISMAIL, &. ALLAM, N. K. (2013) "Unravelling the interplay of crystal structure and electronic band structure of tantalum oxide (Ta₂O₅)" en *Phys. Chem. Chem. Phys.* Núm 15. Vol 5. [pp. 1352-1357].
- [5] XIAOMIN, S., DELONG, M., YING, M. & ANMING, H. (2016). "N-doping Ta₂O₅ nanoflowers with strong adsorption and visible light photocatalytic activity for efficient removal of methylene blue" en *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. Septiembre, [pp. 1-24].
- [6] ARBUJ, S., MULIK, U. & AMALNERKAR, D. (2013). "Synthesis of Ta₂O₅/TiO₂ Coupled Semiconductor Oxide Nanocomposites with High Photocatalytic Activity" en *Nanoscience and Nanotechnology Letters*. Núm. 9. Vol. 5. [pp. 968-973]

VALORACIÓN DE LA TOXICIDAD DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *X. nematophila*, UTILIZANDO COMO MODELO BIOLÓGICO A *C. elegans*.

Verónica del Rosario Frías Negrete ⁽¹⁾ y Rafael Montiel Duarte ⁽²⁾, Juan Antonio Castillo González ⁽³⁾
En colaboración con: Francisco Barona Gómez, e Hilda E. Ramos Aboites.

RESUMEN

Se han purificado parcialmente los metabolitos secundarios producidos por la bacteria entomopatógena *X. nematophila*, y evaluado en el modelo biológico ampliamente utilizado *C. elegans*, para relacionarlo con el papel que juegan dichos metabolitos en la relación entre la bacteria y otros organismos, que se lleva a cabo en el ambiente. Generando una posible utilización de los compuestos purificados, como moldes de futuros antihelmínticos. Así mismo, se evaluó la toxicidad de interés, con un procedimiento estandarizado, de la viabilidad de células eucariontes, el ensayo de MTT, lo cual, fue un punto importante en la determinación de la citotoxicidad de los elementos en la presente investigación.

ABSTRACT

The secondary metabolites produced by the entomopathogenic bacterium *X. nematophila* have been partially purified and evaluated in the widely used biological model *C. elegans*, to relate it to the role played by these metabolites in the relationship between the bacteria and other organisms, which is carried out in the environment. Generating a possible use of the purified compounds, as molds of future anthelmintic. Likewise, the toxicity of interest, with a standardized procedure, of the viability of eukaryotic cells, the MTT test was evaluated, which was an important point in the determination of the cytotoxicity of the elements in the present investigation.

Palabras Clave: Metabolito secundario, citotoxicidad, viabilidad celular, ensayo de MTT.

INTRODUCCIÓN

Un nemátodo es un fílum de gusanos, cuyas formas pueden ser tanto libres, como parásitas (CIAT, 1992). De cuerpo cilíndrico y delgado, cubierto por una cutícula. Los cuales realizan autofertilización, gracias a que son unisexuales.

C. elegans es ampliamente utilizado como modelo biológico para el estudio de patogénesis bacteriana, fúngica, e inmunidad innata, ya que su uso nos brinda diferentes ventajas, por ejemplo, que es un organismo con su genoma secuenciado, es pequeño, cuenta con un tiempo de generación corto (Ewbank, 2011), además que, muchos microorganismos de interés clínico activan una respuesta innata en él, activando respuestas de protección como la expresión de polipéptidos antimicrobianos, y activación de vías de señalización, y la compatibilidad de genes entre este y el humano.

Se ha encontrado una relación mutualista entre los metabolitos secundarios producidos por *X. nematophila* y el nemátodo entomopatógeno *Steinernema carpocapsae* (Singh, 2015) en la cual, como bien sabemos, los microorganismos a lo largo de su ciclo emplean diferentes estrategias para poder competir contra el resto de los organismos presentes en su entorno, por el espacio, nutrientes, y otros recursos indispensables para su proliferación.

X. nematophila en su ciclo de infección, presenta dos

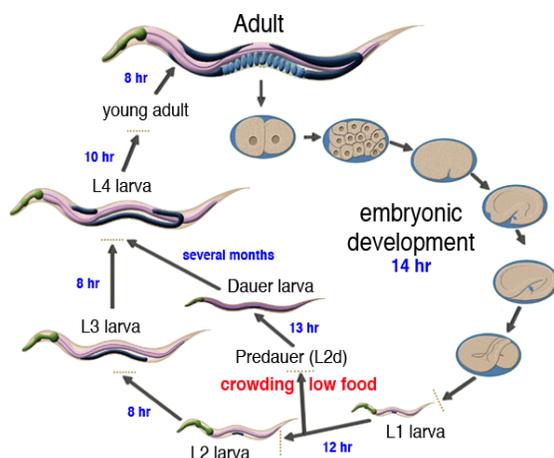


Figura 1. Ciclo de vida de *C. elegans*. Tomada de "Developmental neurobiology laboratory".

⁽¹⁾ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas; Noria Alta S/N, C.P: 36050, Guanajuato, Gto, vero.drfn@gmail.com

⁽²⁾ LANGEBIO- CINVESTAV Unidad Irapuato; Libramiento Norte Carretera León Km 9.6, 36821 Irapuato, Gto. rafael.montiel@cinvestav.com.mx

⁽³⁾ LANGEBIO- CINVESTAV Unidad Irapuato; Libramiento Norte Carretera León Km 9.6, 36821 Irapuato, Gto. juan.castillo@cinvestav.com.mx

fases: genera una relación endosimbiótica con *S. carpocapsae* en donde reside en su hemocoel. Este último invade a insectos diana (entomopatógeno) a través de orificios naturales de estos, como son la boca y el ano. Ya dentro, *X. nematophila* se libera, pasando a su fase patógena.

El peptidoglucano de la pared celular de las bacterias activa la expresión de AMPS, citocinas y eicosanoides, de los insectos.

El 7.5% de los genes de *X. nematophila* están implicados en la producción de metabolitos secundarios, de los cuales ya se encuentra un buen número de estos reportados, entre los que se encuentra **xenocumacin**, con poder antimicrobiano. Segrega al menos ocho en sus diferentes fases de crecimiento, que son importantes para suprimir las respuestas inmunes generadas por la biosíntesis de eicosanoides. E inmunosupresores que podrían inhibir diferentes etapas de la respuesta inmune de los insectos, que únicamente es innata. Cinco de ellos inhiben a la actividad de los hemocitos fosfolipasa 2. Y 3 inhibidores de fosfolipasa A2: bencilidenacetona, un complejo acetilados de Phe-Gly-Val, y de Pro-Tyr.

Estos metabolitos inhiben la respuesta inmune de los insectos, por lo tanto, la inmunosupresión del hospedador es la principal herramienta mutualista nemátodo-bacteria. Suprime la expresión de los AMPS. Además, inhibe la actividad catalítica de la fosfolipasa A2, que libera ácido araquidónico, precursor de los eicosanoides.

Muchos mecanismos de las bacterias para llevar a cabo su patogenicidad hacia *C. elegans*, son los mismos que utilizan para infectar a mamíferos (Sifri, 2005).

MÉTODOS Y MATERIALES

Crecimiento de nemátodos.

Para poner en marcha el presente, se ha partido de una cepa aislada del nemátodo *C. elegans* N2. Los cuales se crecieron en placas de medio NGM, enriquecido para el crecimiento favorable de nemátodos, y adicionado con *E. coli* OP50, de 48 horas de crecimiento, a condiciones estándar, la cual servirá como alimento para los nemátodos sembrados en la misma placa posteriormente. Dejando crecer los nemátodos hasta su etapa adulta.

Sincronización de nemátodos.

Para poder estandarizar el procedimiento, se sincronizaron los nemátodos cuyo objetivo es tenerlos todos en una sola estadio L1 (revisar imagen X). Procedimiento que se basó según lo descrito por James y Davey (2007), el cual básicamente consistía en lavados con buffer M9 (buffer rico en sales) de las placas de NGM con los nemátodos, recolectando los lavados y dejándolos reposar para que los nemátodos precipitados al fondo del tubo sean aquellos que son viables, se desechó el buffer que ahora contenía los desechos y cosas que no son de interés. Se repitió hasta que el buffer no presentara turbidez.



Figura 2. *C. elegans* visto en microscopio estereoscópico.

Se agregó una solución de NaOH 10N y cloro comercial como solución de lisis. Cuidando que no excediese de 5 minutos, puesto que, pasado este tiempo, los huevecillos podrán ser susceptibles a daños, incluyendo posible lisis. Centrifugación 3 min / 4,500rpm. Se retiró la solución y se agrega más buffer M9, se repitió la centrifugación, bajo las mismas condiciones, y esto a su vez por

tres ocasiones más.

Para realizar un gradiente de sacarosa, y poder separar los elementos que interesan, se agregó 1 ml de buffer M9, y 1 de sacarosa 60%, se repiten las condiciones de centrifugación. Transcurrido esto, se retiró 1 ml de la mezcla de nemátodos-sacarosa y se transfirió a un tubo eppendorf nuevo, agregando 1 ml más de M9, se centrifugó nuevamente con las mismas condiciones mencionadas, se retiró el líquido y el precipitado restante se lavó con 2 ml de buffer M9, se centrifugó y se repitió este último paso dos veces más.

Los huevecillos resultantes se resuspendieron en buffer M9, los cuales se dejaron incubando toda una noche, a una temperatura favorable para su crecimiento, 25°C a 350 rpm, y transcurrido este tiempo, se observó al microscopio, para tener un promedio aproximado de las larvas presentes.



Figura 3. Colonias aisladas de *X. nematophila*, en medio NBTA.

Crecimiento de la bacteria de interés, y obtención de sus metabolitos secundarios.

Simultaneo a lo mencionado en el apartado anterior, se sembraron tres cepas de *Xenorhabdus nematophila*, (CABA, PB y JCL-27) en tres diferentes medios cada una: LB, TSB, y NBTA. Los cuales tendrán un objetivo específico en el experimento.

De las bacterias en los medios LB, y TSB se procedió a la prepurificación de los metabolitos secundarios producidos por estas. Los cuales se encontrarán en el medio, separando el pellet celular, del sobrenadante. Este procedimiento se realizó en un cartucho de productos para extracción en fase sólida “Sep pack”, el cual separó los elementos del medio que no fuesen de interés, de los que sí lo son, que en esta ocasión se trata de los metabolitos secretados por la bacteria, en los diferentes medios utilizados.

Se utilizó acetonitrilo 90% como solvente, para lavar y activar el cartucho. Se agrega el sobrenadante del medio de la bacteria, al cartucho, para posteriormente lavar y comenzar con las

eluciones. Estas se realizan con la adición de acetonitrilo a diferentes concentraciones: Acetonitrilo 30%, Acetonitrilo 60%, y Acetonitrilo 100%. En cada elución con estas concentraciones de solvente, se realizó una colecta del producto, es decir, nueve muestras diferentes de cada uno de los dos medios de cultivo:

- Metabolitos de *X. nematophila* en medio LB.

Cepa CABA extraído con acetonitrilo al 30%, 60% y 100%, a los cuales llamaremos CABA30, CABA 60 Y CABA100, respectivamente, del medio LB.

Cepa JCL27 extraídos con acetonitrilo al 30%, 60% y 100%, es decir, JCL30, JCL60 y JCL100 del medio LB. Y cepa PB extraídos con acetonitrilo al 30%, 60% y 100%, o PB30, PB60 y PB100 del medio LB.

- De igual manera se obtuvieron nueve extractos más, con la misma nomenclatura, salvo que fueron los extraídos de la bacteria en el medio TSB.

Los extractos obtenidos se almacenaron a -20°C, preservándolos de la luz, debido a que no se conoce su composición hasta el momento, y con ello se desconoce también su fotosensibilidad.

Justo antes de su uso, se resuspende en buffer M9.

Interacción metabolito- nemátodo

En una placa de 96 pocillos con fondo plano, se sometieron los nemátodos obtenidos en la sincronización mencionada anteriormente, a los extractos de los metabolitos secundarios, para que estos últimos realicen su actividad sobre los nemátodos.

La interacción se realizó por triplicado, de cada uno de los tratamientos de metabolitos de *Xenorhabdus nematophila*, de los cuales se agregaron 50 µL en cada pocillo, y aproximadamente 100 nemátodos en 50 µL, en cada uno, mezclando suavemente.

Se incubó el tratamiento a 25°C, durante 24 horas, a una agitación de 150 rpm.

Ensayo MTT para viabilidad

Para evaluar la viabilidad celular, y observar con ello el grado de citotoxicidad de los extractos de metabolitos, se realizó el ensayo de MTT, una sal de tetrazolio, Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (James and Davey, 2007). En el cual, se agrega 100 µL de MTT 10 mg/ml a cada pozo del tratamiento, incubando con especial cuidado de no exponer a la luz, durante 3 horas a una temperatura de

20°C. Si los nemátodos se encuentran vivos, la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa, realizará la reducción del reactivo utilizado, a una sal de formazán, cuyos cristales son color morado intenso (Castro de Pardo, 2006). Posterior al tiempo de incubación, se centrifugó 800 g durante 10 minutos, y se retiró el sobrenadante. Para finalmente, agregar 100 µL de dimetil sulfóxido (DMSO), que sacará a los cristales de la célula, haciéndolos perceptibles. La cantidad de formazán formado, será proporcional a la cantidad de células viables. Se incubó a temperatura ambiente, durante una hora. Y se midió la absorbancia en un lector de placa a $\lambda=575$ nm.

RESULTADOS

Realizando un análisis estadístico de los resultados obtenidos, en las mediciones de densidad óptica, se llegó a lo siguiente.

MUESTRA	Absorbancia	% de viabilidad
NEGATIVO	0.18	100.00
CABA-30	0.13	71.87
CABA-60	0.09	48.15
CABA-100	0.02	8.7
PB-30	0.17	95.69
PB-60	0.06	31.87
PB-100	0.09	52.63
JCL-30	0.17	95.85
JCL-60	0.08	45.52
JCL-100	0.02	12.15

MUESTRA	Absorbancia	% de viabilidad
NEGATIVO	0.3	100
CABA-30	0.30	98.4
CABA-60	0.10	31.7
CABA-100	0.01	3.2
PB-30	0.28	93.4
PB-60	0.11	38.1
PB-100	0.07	24.2
JCL-30	0.25	83.3
JCL-60	0.08	27.7
J-100	0.03	10.4

Las casillas resaltadas, son aquellos tratamientos, en los que se presentó mayor toxicidad por parte de los extractos de metabolitos de la bacteria y, por lo tanto, se observó una menor viabilidad de los nemátodos. Cabe resaltar que, en general los metabolitos extraídos con la concentración más alta de acetonitrilo son aquellos que presentaron más toxicidad, salvo por la cepa PB, en medio LB, extraídos con acetonitrilo al 60%. Respecto a las bacterias en medio TSB, efectivamente se observa que entre mayor concentración de acetonitrilo con el que se extrajeron los metabolitos, mayor porcentaje de mortalidad presentaron.

Además, es importante mencionar que, contrario a lo anterior mencionado, los extractos obtenidos con menor concentración de acetonitrilo (30%), fueron aquellos que tuvieron un porcentaje de viabilidad cercano al 100%, comparándose con el control negativo. Dicho control únicamente contenía los nemátodos *C. elegans* suspendidos en buffer M9, y su respectivo tratamiento del ensayo de MTT.

DISCUSIÓN

Se sabe que, a diferentes condiciones de crecimiento, entre ellos temperatura, nutrientes, humedad, entre otros, los microorganismos pueden crecer y reaccionar de manera diferente entre sí y, por lo tanto, su metabolismo puede trabajar dependiendo de estos factores para favorecer un óptimo crecimiento y desarrollo. Por lo anterior, se justifica el uso de los dos diferentes medios de cultivo, ya que, al poseer entre sí diferentes nutrientes para la bacteria, esta puede llevar a cabo metabolismo diferente dependiendo de sus necesidades en

el medio en el que se encuentre. Pese a esto, se observan similitudes en los resultados de citotoxicidad de los metabolitos, entre los extraídos del medio TSB y aquellos del medio LB.

Si bien, no se analizaron los extractos, para determinar su composición, se observa que en general, aquellos metabolitos extraídos con una mayor concentración de acetonitrilo fueron los que mayor mortalidad produjeron, y esto a su vez, se relaciona con la hidrofobicidad de estos, puesto que, los más hidrofóbicos son aquellos que, se extrajeron con mayor concentración del solvente. Esto gracias a la naturaleza de la polaridad de los compuestos presentes en los extractos. Que, será indispensable analizarlos posteriormente, para conocer su composición, y con ello aquellos metabolitos que han participado de manera directa en la mortalidad de los nemátodos aquí estudiados.

CONCLUSIÓN

Los compuestos excretados por *X. nematophila*, producto de su metabolismo respecto al medio en el que se encuentre, tienen cierto grado de toxicidad sobre algunos organismos que se encuentran en su entorno, para favorecer su prevalencia sobre estos. En esta ocasión, el organismo utilizado como modelo para medir dicha toxicidad fue el nemátodo *C. elegans*,

Debido a ello, los metabolitos secundarios producidos por esta bacteria pueden crear una pauta para posibles antihelmínticos, gracias a su actividad citotóxica que presentan frente a ciertos microorganismos. Lo cual, podría llegar a ser de gran utilidad como alternativa para principios activos, para el tratamiento de las infecciones parasitarias. Sin embargo, se requiere conocer la composición y purificación total de los compuestos en los extractos de la bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

- ~Ian A. Hope (2002). “*C. elegans* – A practical approach”. School of biology, University of Leeds, in The practical approach series.
- ~Jonathan J. Ewbank (2011). *C. elegans*: model host and tool for antimicrobial drug discovery. 1/jun/2018, de Disease Models & Mechanisms.
- ~Seonghyeon Eom, Youngjin Park, and Yonggyun Kim. (2014). “Sequential Immunosuppressive Activities of Bacterial Secondary Metabolites from the Entomopathogenic Bacterium *Xenorhabdus nematophila*”. 1/jun/2018, de The Microbiological Society of Korea.
- ~Costi D. Sifri, Jakob Begun, and Frederick M. Ausubel. (2005). “The worm has turned – microbial virulence modeled in *Caenorhabditis elegans*”. 01/jun/2018, de TRENDS in microbiology.
- ~Swati Singh (2015). “Role of Secondary Metabolites in Establishment of the Mutualistic Partnership between *Xenorhabdus nematophila* and the Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae*”. 01/jun/2018, de Applied and Environmental Microbiology.
- ~Catherine E. James, and Mary W. Davey (2007). “A rapid colorimetric assay for the quantitation of the viability of free-living larvae of nematodes in vitro”. 01/jun/2018, de Parasitol Res.
- autor. (2018). titulo. 06/08/18, de asociacion Sitio web: url

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Montiel Duarte. Jefe del laboratorio de Interacción núcleo mitocondrial, del LANGEBIO-CINVESTAV, unidad Irapuato.

Dr. Juan Castillo González. Asesor directo de la presente investigación, quién además dispuso de su tiempo para la misma.

Hilda E. Ramos Aboites. Técnico del laboratorio en colaboración, y quien facilitó los protocolos mencionados, incluyendo en su totalidad, el protocolo de prepurificación de los metabolitos secundarios.

Dr. Francisco Barona Gómez. Jefe del laboratorio en colaboración.

LANGEBIO-CINVESTAV, unidad Irapuato, que proporcionó los recursos necesarios para la investigación.

Veranos UG, y verano de la ciencia Región Centro, que apoyaron mi estancia en la unidad de investigación.

INVENTARIO DE ESPECIES ARBÓREAS EN EL CERRO DEL VEINTE, IRAPUATO GUANAJUATO

Víctor Emmanuel Baltazar Rodríguez¹ y Victoria Hernández-Hernández²

RESUMEN

El estrato arbóreo es parte de la composición florística del Bosque tropical caducifolio; sin embargo, en Irapuato el conocimiento de la flora es escasa. En el presente estudio se obtuvo un listado preliminar de los árboles que crecen en la Barranca la Escondida, cerro del Veinte, Irapuato. El muestreo fue por cuadrantes de 100 m², para obtener información e identificar los taxones en tres cuadrantes, además se hicieron entrevistas a 32 personas de la comunidad de Cuchicuato para conocer cuáles son las especies que emplean. Se tiene que las especies más abundantes en los cuadrantes son *Montanoa* spp., *Croton ciliantoglandulifer* e *Ipomoea murucoides*. De acuerdo a las entrevistas llevadas a cabo, las plantas más usadas son *Opuntia* spp. y *Eysenhardtia polystachya*. Se concluyó que la vegetación presente en la cañada la escondida se encuentra perturbada debido a las actividades ganaderas de la zona, convirtiéndose de bosque tropical caducifolio a matorral subtropical.

Palabras clave: Bosque tropical caducifolio, plantas útiles, taxones.

ABSTRACT

The arboreal stratum is part of the floristic composition of the tropical deciduous forest; however, in Irapuato, knowledge of the flora is little. In the present study was obtained a preliminary list of the trees are growing in Barranca la Escondida, Cerro del Veinte, Irapuato. The sample was by quadrants of 100 m², to obtain information and identify the taxa, also they were interviews to 32 people from the community of Cuchicuato to know which are the species used. The most common species are *Montanoa* spp., *Croton ciliantoglandulifer* and *Ipomoea murucoides*. According to the interviews carried out, the most used plants are *Opuntia* spp. and *Eysenhardtia polystachya*. It was concluded that the vegetation present in the Barranca la Escondida is disturbed by the livestock activities of the area, becoming tropical deciduous forest to subtropical scrub.

Key words: Deciduous tropical forest, useful plants, taxa.

INTRODUCCIÓN

El bosque tropical caducifolio (BTC) también conocido como selva baja caducifolia, es una comunidad vegetal que se localiza en la vertiente pacífica desde el norte de Sonora hasta Chiapas y la frontera con Guatemala (Rzedowski, 2006). Este bosque presenta un estrato arbóreo de hasta de 12 m de altura; sin embargo, predominan árboles de 6 a 8 m de longitud y la familia mejor representada es Fabaceae (Ruíz et al., 2013). En Guanajuato el BTC es un tipo de vegetación presente en región del Bajío; sin embargo, ha desaparecido entre el 90-95% de su superficie, principalmente como consecuencia de la agricultura y ganadería y sólo quedan escasos relictos de vegetación primaria que ha sido remplazando por vegetación secundaria arbustiva, a la cual se le denomina como matorral subtropical (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 1987; Rzedowski 2014). Los objetivos del presente estudio fueron Identificar las especies dominantes en el bosque tropical caducifolio y obtener información sobre el uso de los árboles en la comunidad de Cuchicuato.

MARCO TEÓRICO

El municipio de Irapuato es una zona dedicada principalmente a la agricultura y se conoce poco sobre la flora arborea en la zona, uno de los principales estudios que hay, es el estudio florístico y de la vegetación del cerro de Arandas en Irapuato Guanajuato (López Jiménez & Martínez Díaz de Salas). En el cual se menciona la presencia de cuatro tipos de vegetación, siendo el bosque tropical caducifolio, el matorral subtropical, matorral y bosque de

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Departamento de Biología; Carretera Irapuato-Silao km12.5. Colonia el Copal. CP.36821, Irapuato Guanajuato, victemmabuel.br@gmail.com

² Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Departamento de Biología; Carretera Irapuato-Silao km12.5. Colonia el Copal. CP.36821, Irapuato Guanajuato, vihernandez@itesi.edu.mx

galería; así como la presencia de 23 especies de plantas vasculares, 21 géneros y 13 familias, siendo *Acacia farnesiana* e *Ipomea murucoides* las especies dominantes de acuerdo con el estudio.

Los árboles tienen un gran valor ecológico dentro de los ecosistemas, por los beneficios que aportan como la protección de los suelos contra la erosión, la moderación del clima debajo del dosel gracias a los microclimas que generan un ambiente estable y benéfico para el desarrollo de otras plantas, la regulación del ciclo hídrico gracias a la conservación de la humedad favoreciendo la infiltración del agua al suelo y la protección de la erosión de ríos y lagos, y su función como nicho ecológico para diversas especies (Jiménez et al., 2001).

Un área poco explorada es el cerro del Veinte, el cual presenta bosque tropical caducifolio, siendo una de las principales áreas prestadora de servicios ambientales para la ciudad, existiendo pocos estudios para esta zona, siendo los de (Hernández-Hernández et al., 2017) con un listado de licopodios y helechos del cerro del Veinte; y el de (Manrique et al., 2016) con un estudio sobre la Variación estacional de la herpetofauna en el cerro del Veinte.

En cuanto a los estudios en Guanajuato sobre plantas útiles se encuentra el del cerro del Cubilete en Silao, donde se reportan un total de 43 especies de plantas útiles, entre medicinales, forrajeras, combustible, maderable y comestibles (Fernández et al., 2017), aunque cabe destacar que el tipo de vegetación en el cerro del cubilete es bosque de encino.

METODOLOGÍA

Se realizaron tres salidas de campo al cerro del Veinte, el cual se localiza en la porción centro-oeste del municipio de Irapuato, el estudio se realizó en la Barranca la Escondida localizada al SO del cerro a un gradiente altitudinal que va de 1730 a 2091 msnm (Hernández-Hernández et al., 2017). El muestreo se hizo por medio de cuadrantes de 10 X 10 m a lo largo de la Barranca y se seleccionaron tres puntos con una distancia de 100 m entre estos (Mostacedo y Fredericksen, 2000). En cada cuadrante se tomaron los datos del número de individuos para cada especie, para la identificación de taxones se revisó guías de campo y literatura especializada (Godínez et al., 2014; Sahagún, 2014; Rincón et al., 2014). De manera complementaria se llevaron a cabo entrevistas a 32 habitantes de la comunidad de Cuchicuato, sobre el uso que le dan a las especies arbóreas.

RESULTADOS

Se registró un total de 12 familias, 17 géneros y 18 especies entre árboles y arbustos como se muestra en la (tabla 1). La familia más abundante fue Fabaceae con 5 especies, después Cannabaceae y Burseraceae con 2 especies ambas y con solo un taxon Asteraceae, Cactaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Malvaceae, Opilaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Verbenaceae.

Tabla 1. Especies presentes en el Cerro del veinte.

Familia	Especie
Asteraceae	<i>Montanoa</i> spp.
Burseraceae	<i>Bursera fagaroides</i> .
	<i>Bursera penicillata</i>
Cactaceae	<i>Opuntia</i> spp.
Cannabaceae	<i>Celtis caudata</i>
	<i>Trema micrantha</i>
Convolvulaceae	<i>Ipomea murucoides</i>
Euphorbiaceae	<i>Croton ciliantoglandulifer</i>
Fabaceae	<i>Albizia occidentalis</i>
	<i>Caesalpinia velutina</i>
	<i>Lysiloma microphyllum</i>
	<i>Prosopis laevigata</i>
	<i>Senna polyantha</i>

Malvaceae	<i>Heliocarpus terebinthaceus</i>
Opilaceae	<i>Agonandra racemosa</i>
Rubiaceae	<i>Randia capitata</i>
Rutaceae	<i>Zanthoxylum fagara</i>
Verbenaceae	<i>Lantana hirta</i>

El número de plantas en cada cuadrante fue muy similar entre 24 y 26 individuos; sin embargo, si hubo diferencias en abundancia y el número de especies, en el primer cuadrante el género mejor representado fue *Montanoa* spp. con 12 individuos, mientras que *Condalia velutina* con una planta. Para el segundo cuadrante *Zanthoxylum fagara* con 7 y un solo individuo de *Bursera fagaroides* y *Celtis caudata*. Y el tercer cuadrante el taxon más abundante fue *Croton ciliantoglandulifer* (12) y con una planta en *Albizia occidentalis*, *Bursera fagaroides*, *Senna polyantha*, *Lantana hirta* y *Lysiloma microphyllum*. (Figura 1).

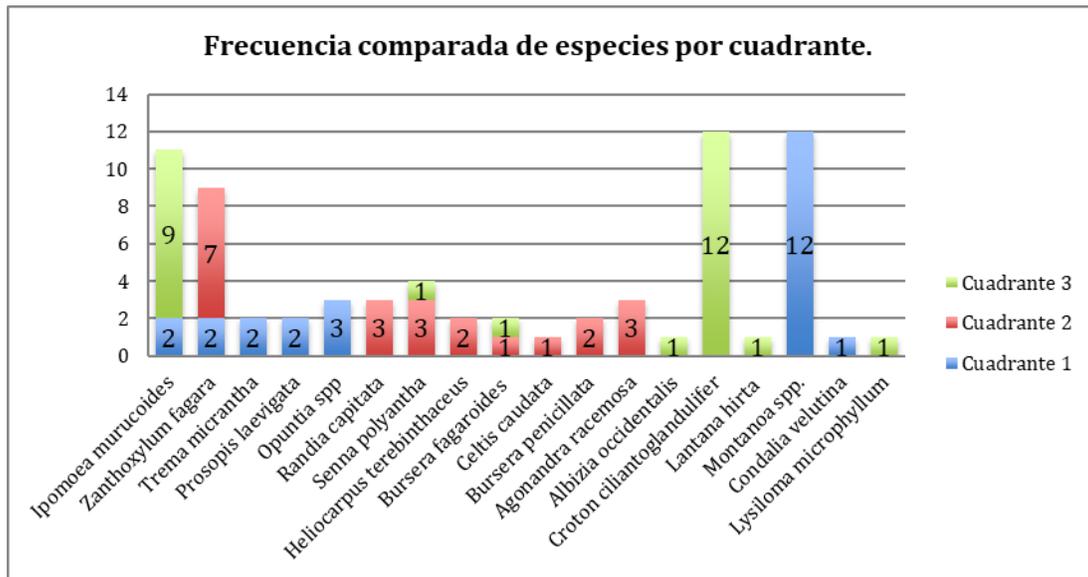


Figura 1. Comparación de frecuencias de especies en los cuadrantes.

De las personas entrevistadas el 74.58% fueron mujeres y 25.42% hombres, con un rango de edad de 47 a 60 años. La ocupación de las mujeres en su totalidad es amas de casa, mientras que los hombres son campesinos jubilados o comerciantes. Se obtuvo información de ocho taxones de árboles usadas por la gente de la comunidad de Cuchicuato, que son: *Opuntia spp* (uso medicinal); *Ipomoea murucoides* (uso medicinal); *Acacia farnesiana* (uso medicinal); *Albizia occidentalis* (uso maderable); *Eysenhardtia polystachya* (uso medicinal y maderable); *Lysiloma microphyllum* (uso maderable) y *Prosopis laevigata* (uso maderable y forrajero). La especie más utilizada es el nopal (*Opuntia spp.*), después el Palo dulce (*Eysenhardtia polystachya*), y en menor frecuencia son el mezquite (*Prosopis laevigata*) y el palo blanco (*Albizia occidentalis*).

DISCUSIÓN

El número de especies arbóreas encontradas en este estudio representa el 39% de los taxones reportados en el BTC de la Sierra de Pénjamo (Guadián, 2012), considerando que dicha ANP es de mayor extensión y mejor conservado debido al difícil acceso comparado con el cerro del Veinte.

La estructura arbórea registrada en la Barranca la Escondida, cerro del Veinte, con base a las especies observadas indica modificación a su estado secundario estable de matorral subtropical (Rzedowski et, at. 2014), debido a la presencia de especies dominantes como son *Ipomoea murucoides*, *Acacia farnesiana*, *Opuntia spp.* *Montanoa spp.* y *Zanthoxylum fagara* (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 1987).

Los tres sitios donde se realizó el muestreo se encontró animales de tipo bovino, así como en las zonas adyacentes, por lo que la perturbación es originada principalmente por la ganadería siendo una de las principales actividades de la comunidad. Además, los terrenos son poco óptimos para desarrollar la agricultura, por lo que la principal actividad es el pastoreo libre, siendo un uso intensivo, sin una estructura o planificación adecuada, ocasionando una degradación en la cubierta vegetal (Rzedowski y Calderón de Rzedowski, 1987).

CONCLUSIÓN

Por lo que se concluye que la vegetación en la barranca la Escondida esta sometida a una alta presión debido a las actividades de pastoreo, que llevan acabo los pobladores de la región, propiciando la transformación de los componentes del BTC hacia un tipo de vegetación más estable y que pueda enfrentar el estrés, como es el matorral subtropical.

BIBLIOGRAFÍA

- Fernández A. M. G., V. Hernández-Hernández y J. G. Colli-Mull. (2017). Plantas Útiles en el Cerro del Cubilete, Silao, Guanajuato. *Jóvenes en la Ciencia.*, Núm. 3, pp 32-36. Consultada en <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2234/1733> (fecha de consulta 05-07-2018).
- Hernández-Hernández, V., C.E. Vargas-Gallaga, J.G. Colli-Mull y M. Jasso-Barrón. (2017). Listado de lycopodios y helechos del cerro del Veinte, Irapuato, Guanajuato, México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, Núm 7, vol. III, Marzo [pp.39-48].
- Guadián, J. I. (2012). *Flora y Vegetación de la Sierra de Pénjamo, Guanajuato (tesis de pregrado)*. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Morelia, Michoacan.
- Jiménez, F., Muschler, R., & Köpsell., E. (2001). *Funciones y Aplicaciones de Sistemas Agroforestales*. Turrialba, Costa Rica: Bib. Orton IICA/CATIE.
- Manrique, L. A., J. P. Morales Castorena y L. A. Escobedo Morales. (2016). Variación estacional de la herpetofauna en el cerro del Veinte, Irapuato, Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Núm. 1, pp. 150-155. Consultada en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-34532016000100150&script=sci_arttext (fecha de consulta 22-06-18).
- Mostacedo, B. y T. S. Fredericksen. (2000). Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. *BOLFOR (Proyecto de Manejo Forestal Sostenible)*, Santa Cruz: Editora el Pais.
- López Jiménez, L. N., y Martínez Díaz de Salas, M. Estudio Florístico y de la Vegetación del Cerro de Arandas en Irapuato, Guanajuato.
- Sahagún Godínez, E., M. A. Macías Rodríguez, P. Carrillo Reyes, N. Larrañaga González y J. A. Vázquez García. (2014). Guía de campo de los árboles tropicales de la Barranca del Río Santiago en Jalisco, México. México. Prometeo editores [1-315].
- Rincón, T. d., Flores, V. E., Sánchez, C. G., & Hurtado., M. T. (2014). *Plantas Silvestres en el Paisaje Urbano*. León: IMPLAN.
- Ruíz, L. E., R. L. Cisneris, M. Gómez Romero y A. Blanco García. (2013). Desempeño de Tres Especies Arbóreas del Bosque Tropical Caducifolio en un Ensayo de Restauración Ecológica. *Botanical Sciences*, Núm. 1, vol. XCI, [pp. 315-343]
- Rzedowski, J. y .G. Calderón de Rzedowski. (1987). El Bosque Tropical Caducifolio de la Región Mexicana del Bajío. *TRACE*, Núm. 12, [pp. 12-21].
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México*. CONABIO.
- Rzedowski, J., S. Zamudio, .G. Calderón de Rzedowski y A. Paizanni. (2014). El bosque tropical Caducifolio en la cuenca lacustre de pátzcuaro (Michoacan, México). *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Fascículo complementario XXIX, [pp. 1-14].

SOBRE LA LUMINOSIDAD EMITIDA POR MÁSERES DE AGUA EN FUNCIÓN DE OTRAS VARIABLES

Víctor Miguel García Sánchez¹ y Dr. Miguel Ángel Trinidad Hernández²
1. RESUMEN

Se analizaron las bases de datos del Red MSX, con el fin de encontrar correlaciones entre las variables que las conforman. Al obtener distintas propuestas de modelos, se compararon los errores cuadráticos que se producían al usar cada una. Posteriormente, se imputaron algunas respuestas no observadas para validar el modelo que presente mayor ajuste.

2. ABSTRACT

The present paper presents the study of some linear models to estimate a parameter of great interest, the luminosity of water masers, which allows us to know the density of water molecules in a source.

Palabras Clave: Water masers, linear models, imputation, validation.

3. INTRODUCCION

El lenguaje R de programación está orientado a la estadística, ciencia de datos y análisis de bases de datos. Usando algunos paquetes del mismo, es posible analizar las variables que conforman el Red MSX, con información de los máseres de agua y amoníaco.

Al utilizar las herramientas de regresión lineal, obtendremos estimadores de la luminosidad de los máseres de agua en cada fuente. A pesar de que las tablas 2 y 5, de la base de datos, son incompatibles en varios aspectos, estudiaremos sus variables e incorporaremos una tabla conjunta e indexada por los nombres de las fuentes.

A continuación, se presenta una descripción de las variables de ambas tablas:

Tabla 2

- MSX: Nombre de la fuente.
- f MSX: Componente hiperfino equipado.
- Type: Tipo de la fuente.
- RAJ2000, DEJ2000: Ascensión vertical y declinación.
- NH3: Densidad de la columna de amoníaco.
- I Tmb1: Marcador de límite de la temperatura del haz principal en la transición (1, 1) del amoníaco.
- Tmb1, VIsr1, dVIsr1: Temperatura del haz principal, velocidad y ancho de línea en la transición (1, 1).
- Tmb2, VIsr2, dVIsr2: Temperatura del haz principal, velocidad y ancho de línea en la transición (2, 2).
- Tmb3, VIsr3, dVIsr3: Temperatura del haz principal, velocidad y ancho de línea en la transición (3; 3).
- H2O: Indicadora de presencia de máser de agua detectado.

Tabla 5

- MSX: Nombre de la fuente.
- rms: Media cuadrática de las densidades de flujo espectral en la fuente.
- Vmin, Vmax, Vpeak: Velocidades mínima, máxima y pico del máser de agua.
- VNH3: Velocidad pico del amoníaco.
- log(S), log(SdV), log(LH20), log(Ls): Logaritmos del pico de la densidad de flujo, la densidad de flujo integrada, luminosidad del máser de agua y luminosidad de la fuente, respectivamente.

¹ Universidad de Guanajuato, Departamento de Matemáticas; Jalisco s/n, Mineral de Valenciana, C.P: 36240, Guanajuato, Guanajuato victor.garcia@cimat.mx

² Universidad de Guanajuato, Departamento de Astronomía; Jalisco s/n, Mineral de Valenciana, C.P: 36240, Guanajuato, Guanajuato trinidad@astro.ugto.mx

4. METODOLOGIA

Haciendo uso del paquete R se leyeron las tablas 2 y 5 del catálogo Gaia DR2 que contienen la información de los máseres de agua y amoniaco.

Para un primer análisis, consideremos solamente las observaciones con respuesta completa de las variables cuantitativas.

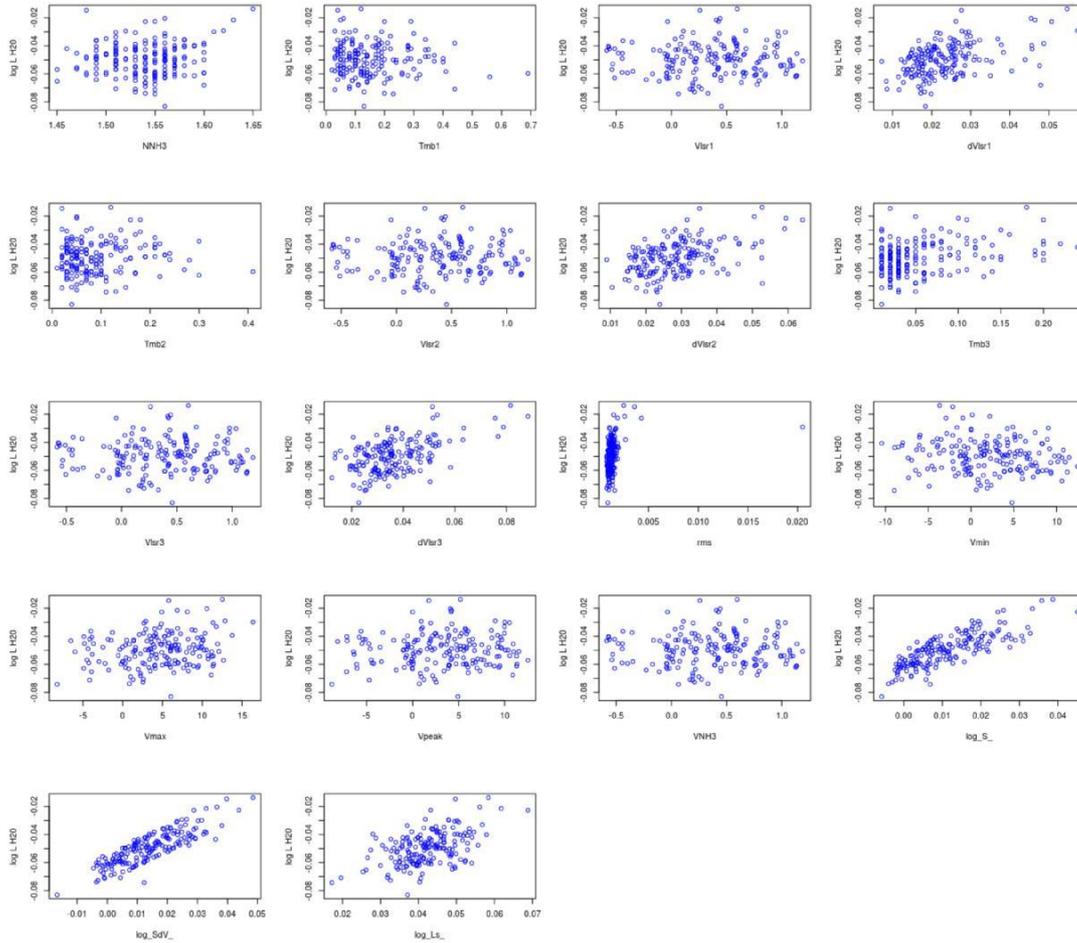


Figura 4.1: Comparaciones de $\log(LH20)$ con el resto de variables de las bases de datos

Por lo tanto, se establece una relación lineal entre $\log(LH20)$, como variable de interés, y las variables $dVlsr1$, $dVlsr2$, $dVlsr3$, $\log(S)$, $\log(SdV)$ y $\log(Ls)$. Considerando tales variables, inicialmente se propone el modelo

Para verificar la relación entre tales variables, a continuación, se muestran sus coeficientes de correlación:

	$dVlsr1$	$dVlsr2$	$dVlsr3$	rms	$\log(S)$	$\log(SdV)$	$\log(Ls)$
$\log(LH20)$	0:4521762	0:4601684	0:5228361	0:2668336	0:8036691	0:8450765	0:5127737

Cuadro 4.1: Coeficientes de correlación de $\log(LH20)$ con otras variables

Lo anterior indica que la correlación entre $\log(LH20)$ y las variables consideradas en el modelo es positiva, y va de ser media hasta fuerte, a excepción de rms, con la que presenta una correlación positiva débil. Al graficar individualmente $\log(LH20)$ contra rms sin el notable dato atípico,

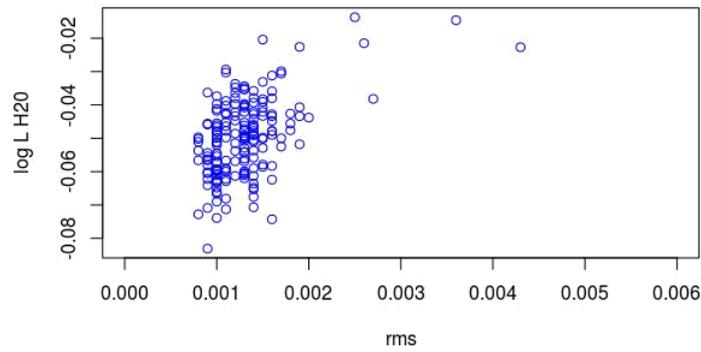


Figura 4.2: Comparación de log(LH20) con rms sin un dato asintótico

podemos notar que hay una tendencia numérica de rms a mantenerse cercana de 0.0012 y no una relación lineal con log(LH20). Tras descartar esta variable del modelo, se ajusta para obtener

$$\log(\widehat{LH20})_1 = -0.102dVlrs1 + 0.027dVlrs2 + 0.081dVlrs3 - 0.373 \log(S) + 1.152 \log(SdV) + 0.544 \log(Ls) - 0.086$$

Equivalentemente,

$$\widehat{LH20}_2 = 0.918 \frac{1.027^{dVlrs2} 1.084^{dVlrs3} SdV^{1.152} Ls^{0.544}}{1.107^{dVlrs1} S^{0.373}}$$

Por otro lado, al realizar una regresión lineal de log(LH20) contra el resto de variables, en la que no consideramos la representación visual de los gráficos anteriores, las variables que presentan significancia considerable, son las siguientes:

Variable	Coficiente	Error estándar	t valor	P(t >)
NNH3	-3.184e-18	1.382e-17	-2.300e-01	0.818123
Vlrs1	4.073e-17	1.665e-16	2.450e-01	0.807038
Tmb3	-5.743e-18	2.729e-17	-2.100e-01	0.833612
Vlrs2	1.805e-16	2.019e-16	8.940e-01	0.372651
Tmb3	-1.773e-17	1.659e-17	-1.069e+00	0.286841
dVlrs3	-9.060e-17	5.006e-17	-1.810e+00	0.072198
rms	-2.531e-16	2.385e-16	-1.061e+00	0.290244
Vmax	-5.950e-20	2.432e-19	-2.450e-01	0.807025
log(S)	2.656e-16	1.531e-16	1.735e+00	0.084678
log(Ls)	6.721e-17	6.927e-17	9.700e-01	0.333361

Cuadro 4.2: Análisis de varianza para un modelo inicial

Al descartar rms, dVlrs3 y log(S), que son las que presentan menor significancia, se obtiene el modelo

$$\log(\widehat{LH20})_2 = -0.030NNH3 - 0.712Vlrs1 - 0.043Tmb2 + 0.696Vlrs2 + 0.106Tmb3 + 0.001Vmax + 0.595 \log(Ls) - 0.031$$

Equivalentemente,

$$\widehat{LH20}_2 = 0.97 \frac{2.005^{dVlrs2} 1.112^{Tmb3} 1.001^{Vmax} Ls^{0.595}}{1.030^{NNH3} 2.038^{Vlrs1} 1.044^{Tmb2}}$$

Para comparar los modelos 4.2 y 4.4, notemos que el modelo 4.4 brinda un mejor ajuste, pues el error cuadrático medio del primero es de $6.821409e - 05$, mientras que el segundo es de $1.811435e - 05$.

Notemos además la similitud entre el modelo 4.3 y uno en el que solo se expresa LH20 en función de SdV.

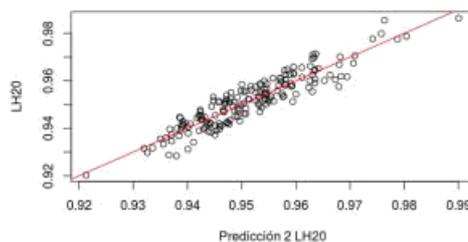
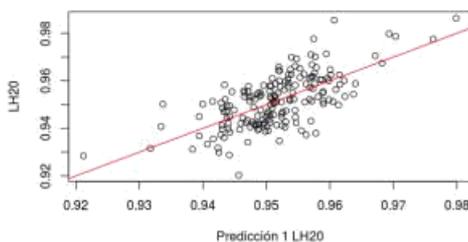


Figura 4.3: Comparación de modelos

Mas aun, en su forma exponencial brindan respectivamente errores cuadráticos medios de $3.930381e - 05$ y $1.996395e - 05$, respectivamente. Al reducir casi a la mitad tal error, consideramos pertinente la inclusión de todas las variables involucradas en el modelo 4.4.

Notemos ahora para validar el modelo que entre estas variables, aquella que, de ser imputada, aumentaría mas el número de fuentes es dV_{lrs3} , pues pasamos de tener 194 observaciones a un total de 243.

Mediante una variable aleatoria $\text{LogN}(-3.3668812, 0.3349905)$ generamos entradas para dV_{lrs3} de toda la tabla y haciendo uso del modelo 4.4 obtenemos un error cuadrático medio de $2.059213e - 05$ inherente a la simulación de variables.

De manera análoga, es posible imputar más variables que no fueron determinadas en la observación, y con ello es posible incluso mejorar el modelo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es posible simular respuestas de la variable dV_{lrs3} mediante una distribución $\text{LogN}(-3.3668812, 0.3349905)$. El modelo

$$\widehat{LH_2O_2} = 0.97 \frac{2.005^{dV_{lrs2}} 1.112^{T_{mb3}} 1.001^{V_{max}} L_S^{0.595}}{1.030^{NNH_3} 2.038^{V_{lrs1}} 1.044^{T_{mb2}}}$$

es el que mejor estima la luminosidad de los máseres de agua mediante la incorporación de variables asociadas a las transiciones en los máseres de amoniaco, la velocidad máxima del máser de agua y la luminosidad total de la fuente. Además, es posible obtener expresiones analíticas para las dos últimas, a partir de la ecuación 4.4, que permitan simplificar la obtención de parámetros de interés en las fuentes.

6. CONCLUSIONES

A pesar de que las bases de datos de las tablas 2 y 5 de Red MSX están conformadas por las emisiones de máseres de distintos compuestos, se encontraron variables correlacionadas que permiten usar información auxiliar para obtener un modelo lineal que relaciona la información de ambas bases de datos y brinda un estimador de la luminosidad de los máseres de agua según cada fuente.

7. BIBLIOGRAFÍA

- BRANDT, J. S., et al (2015). Astrochemical correlations in molecular clouds. *The Astrophysical Journal*:1-14.
- HUANG, E. T. and FULLER, W. A. (1978). Nonnegative regression estimation for sample survey data. pages 300-305.
- URQUHART, J. S., et al (2011). The Red MSX Source survey: ammonia and water maser analysis of massive star-forming regions. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, 418:1-18.
- URQUHART, J. S., et al (2011). Distribution and properties of a sample of massive Young stars. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, 410:1-14.
- WAKEFIELD, J. and Skinner, C. (2017). Introduction to the design and analysis of complex survey data. *Statistical Science*, 32(2):165-175.

8. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los organizadores del Verano Regional de la Ciencia por brindarme la oportunidad de trabajar con el Dr. Miguel Ángel Trinidad Hernández, quien estuvo siempre dispuesto a resolver mis dudas, atender mis inquietudes y tener la paciencia para escuchar mis propuestas.

TRATAMIENTO TERMICO-QUIMICO PARA LA ELABORACION DE UN CARBON ACTIVADO PARA EL USO DE ADSORCION DE CIANURO

Vidal Israel Carrasco Cerda⁽¹⁾, Leonor Muñoz Ramírez⁽²⁾, Claudia Verónica Reyes Guzmán⁽³⁾, Isabel Aracely Facundo Arzola⁽³⁾

RESUMEN

La química de superficie puede ser modificada por diversos métodos, tales como, el tratamiento con ácido, la oxidación con ozono, el plasma, el tratamiento de microondas, etc. En este trabajo se ha propuesto que el carbón activado hueso de durazno sea sometido a tratamientos térmicos y químicos con el objetivo de incrementar o mejorar la capacidad adsorbente. Para ello se hizo un tratamiento con un Acido A, en soluciones muy alcalinas y como resultado de ello se obtuvo que el carbón hueso de durazno adsorbe el cianuro del agua residual de cianuración, cuando es sometido a 1000°C por dos horas y puesto en contacto con el ácido A.

Palabras claves: modificación, cianuro, carbon activado, modification, cianuro, activated carbon

INTRODUCCION

El carbón activado tiene una bien desarrollada estructura porosa y gran área de superficie interna, el uso del carbón activado es amplio dentro de la industria incluyendo tecnologías para la purificación de gases, eliminación de contaminantes orgánicos en aguas (purificación de bebidas, o tratamiento de aguas residuales), usado como un catalizador o como un soporte catalítico dentro del proceso de catálisis o bien usados como electrodos en dispositivos electroquímicos en las recientes últimas décadas.

El carbón activado ha jugado un papel importante en las industrias químicas, farmacéuticas y de alimentos. El extenso uso del carbón activado en el tratamiento de aguas residuales por adsorción aún es un proceso caro y las investigaciones recientes prometen un interesante crecimiento para la producción de carbones activados a bajo precio. En la activación física las materias primas son primero carbonizadas y después la materia carbonizada se activa con CO₂, aire o sus mezclas. Existen dos pasos: de carbonización y activación. El rango de las temperaturas de carbonización está entre 400 y 850°C a veces alcanzando los 1000°C; y el rango de temperaturas de activación están entre 600 y 900°C. En la activación química la materia prima es activada con un agente de activación y la impregnación del material es por tratamiento de calor por debajo de una atmósfera inerte. Los procesos de carbonización y activación son llevados a cabo en un proceso de activación química con percusores que se mezclan con agentes activadores químicos, como agentes deshidratantes y agentes oxidantes.

⁽¹⁾Estudiante de Facultad de Metalurgia-Universidad Autónoma de Coahuila

⁽²⁾Investigador de Facultad de Metalurgia - Universidad Autónoma de Coahuila

⁽³⁾ Colaboradores: catedráticos de la Facultad de Metalurgia - Universidad Autónoma de Coahuila

J.M. Valente Nabais, P.J.M. Carrot, M..M.L. Ribeiro Carrot, J.A Menéndez, en el 2003, llevaron a cabo un tratamiento térmico de fibras de carbón activado usando un dispositivo de microondas en vez de un horno convencional. Su objetivo fue probar el calor de microondas en la textura y en las propiedades químicas de la superficie de las fibras de carbón activado. Las fibras de carbón activado (ACF) son una forma relativamente moderna de material de carbono poroso con un número de ventajas significativas sobre el polvo más tradicional de las formas granulares. Estos incluyen una alta área de superficie y capacidad de adsorción, así como una alta tasa de adsorción de una fase gas o una fase líquida. Generalmente los tratamientos térmicos se llevan a cabo a temperaturas relativamente altas ($>800^{\circ}\text{C}$) mientras corre un gas inerte o reductor (N_2 , H_2), más de un carbón precursor adecuado durante al menos una o dos horas. Las altas temperaturas son invariables alcanzando por convección y / o calentamiento por conducción de la muestra, que se coloca en un sistema de calefacción convencional, tal como un horno tubular. La principal ventaja del uso de calor de microondas es que el tiempo del tratamiento puede ser considerablemente reducido, el cual en muchos casos presenta una reducción en la energía de consumo.

METODOS Y MATERIALES

Las materias primas fueron elegidos manualmente, limpiadas con agua desionizada, secadas a 110°C por 48 horas y trituradas con un pulverizador de discos marca Vico obteniendo un tamaño de partícula de 4.75-3.55mm. En un análisis posterior se obtuvo 10.53 wt% de humedad, 78.30wt% de materia volátil, 20.96wt% de carbono fijo y 0.74wt% de cenizas. (wt% = por ciento en peso). Antes de su uso, los carbonos cascara de durazno fueron molidas y tamizadas para obtener partículas con tamaños menores de 2mm.

Subsecuentemente fueron puestos en un plato de cerámica que se colocaron en un horno convencional. El carbon hueso de durazno fueron calentados hasta una carbonización usando temperaturas de 300, 600, 800 y 1000°C . La velocidad de calentamiento fue de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ durante dos horas a las temperaturas de carbonización antes mencionadas. Después de la carbonización las muestras se enfriaron a temperatura ambiente. Las muestras carbonizadas fueron molidas y se tamizaron obteniendo partículas de tamaños menores entre 3.35-4.75 mm. Las activaciones del hueso de durazno se introdujeron en el horno y se calentaron en rangos de $50^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a temperaturas deseadas, es introducido un ácido A para activar las muestras en el tiempo deseado (30, 60, 90 y 120 min). Después de la activación, las muestras sólidas fueron enfriadas a temperatura ambiente. Los productos se mantuvieron en un desecador para posteriores caracterizaciones.

Se realizaron experimentos en rectores agitados Figura 1y este se inicia de inmediato que se pone en contacto el cianuro de sodio con el carbón en cuestión, manteniendo una agitación constante, se tomaron muestras de la solución a cada determinado tiempo hasta que al titular en base a la técnica de cianuro con el método APHA-AWWA 4500-CN D diera una asintotes, lo cual significa una estabilidad en la adsorción de cianuro.

Después de extraer la muestra se filtra, depositando esto en un vaso de precipitado de 50 mL, el mismo que se le coloca un agitador magnético y se le añaden 3 gotas de dimethylamino-benzylidenerhodanine este como un indicador de viraje, se agita constantemente mientras se titula con nitrato de plata. Al momento en que ocurre un cambio de coloración en la muestra, se detiene la titulación y se toma la lectura. Es preciso mencionar que las variables del experimento fueron la temperatura de activación, se mantuvo constante la cantidad de carbón agregado a la solución del cianuro, y solo se varió el tipo de ácido para la activación como se muestra en la Tabla 1, la solución de cianuro fue ajustada a un pH de 11.5 con NaOH.

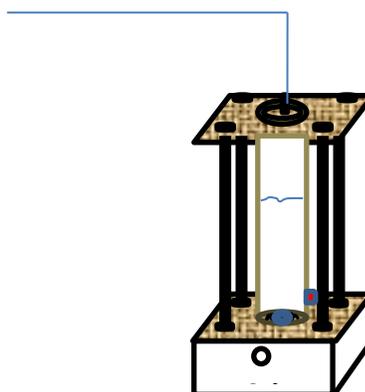


Figura 1. Reactor de experimentación

Tabla 1. Diseño experimental

Temperaturas °C	Tratamiento químico Acido A (Molaridad)
300	0.5
800	1
1000	1.5

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados mostraron que la mejor adsorción fue el carbón activado con el tratamiento térmico a 1000° C con un ácido con molaridad 1.5, esto debido a esa temperatura está en el proceso de carbonización.

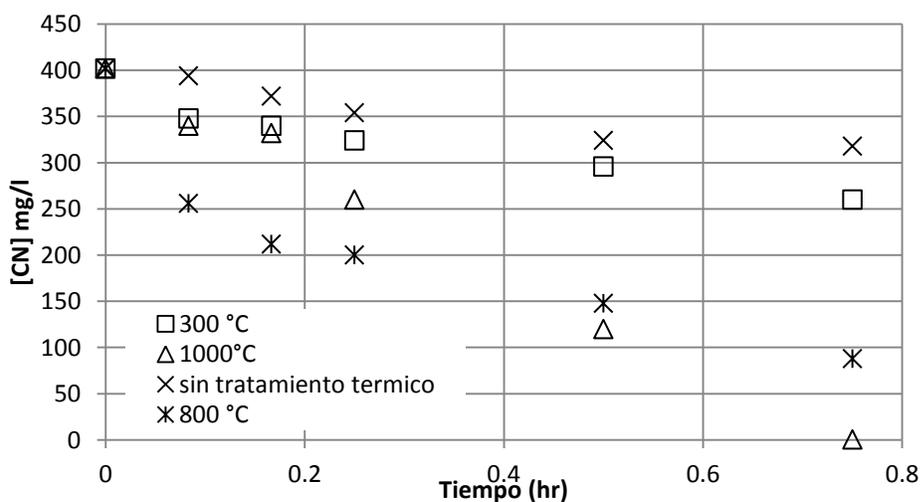


Figura 2. Tratamiento térmico del carbón activado

Con relación a la mejor adsorción de la Figura 2 se tomó el de 1000°C y se puso a impregnar con ácido A y nos dio como resultado la Figura 3, siendo el ácido de 1.5 molar la que mejor presentó la cinética de adsorción.

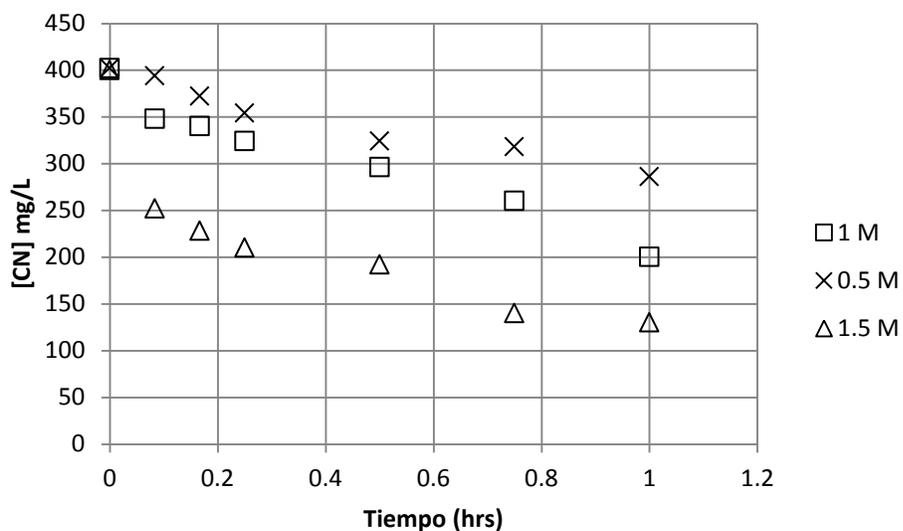


Figura 3.- Tratamiento químico del carbón activado

CONCLUSION

Se puede concluir que el cianuro se adsorbe en la superficie del carbón cuando se está en la etapa de carbonización como lo es los 1000°C y con un tratamiento químico con una molaridad de 1.5.

Esto principalmente los grupos funcionales que coexisten en la superficie de este, nos da la pauta para estudiar el uso para adsorción de metales que estén presentes en efluentes y por otra parte, el uso del hueso en la adsorción del cianuro así como para la destrucción de compuestos dañinos para el medio ambiente y la salud.

BIBLIOGRAFIA

Botz, M., Mudder, T., Akcil, A., 2005. Cyanide treatment: physical, chemical and biological processes. In: Adams, M. (Ed.), *Advances in Gold Ore Processing*. Elsevier Ltd., Amsterdam, pp. 672–702 (Chapter 28).

Faria, P.C.C., Orfao, J.J.M., Pereira, M.F.R., 2005. Mineralisation of coloured aqueous solutions by ozonation in the presence of activated carbon. *Water Research* 39 (8), 1461–1470.

Georgi, A., Kopinke, F Mackenzie, K., Battke, J., Kopinke, F.D., 2005. Catalytic effects of activated carbon on hydrolysis reactions of chlorinated organic compounds. Part 1. g- Hexachlorocyclohexane. *Catalysis Today* 102–103, 148–153.

Mudder, T.I., Botz, M.M., 2004. Cyanide and society: a critical review. *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection* 4 (1), 62–74.

Mudder, T.I., Botz, M.M., Smith, A., 2001. *Chemistry and Treatment of Cyanidation Wastes*, second ed. Mining Journal Books Ltd., London.

Ubago-Perez, R., Carrasco-Marin, F., Fairen-Jimenez, D., Moreno-Castilla, C., 2006. Granular and monolithic activated carbons from KOH-activation of olive stones. *Microporous and Mesoporous Materials* 92 (1–3), 64–70.

Kula, I., Ugurlu, M., Karaoglu, H., Celik, A., 2008. Adsorption of Cd(II) ions from aqueous solutions using activated carbon prepared from olive stone by ZnCl₂ activation. *Bioresource Technology* 99 (3), 492–501.

AISLAMIENTO Y RESISTENCIA A METALES DE BACTERIAS PROVENIENTES DE RESIDUOS MINEROS ZACATECANOS

Wendy Patricia Gil Sánchez¹ y Juan Armando Flores de la Torre²

RESUMEN

Los residuos mineros de determinadas zonas de Zacatecas contienen una variedad de bacterias que podrían afectar o ayudar al ecosistema. Con esta investigación se pretende dar a conocer la resistencia que tienen 4 muestras de bacterias aisladas anteriormente tomadas de rizosferas y 3 muestras de bacterias también aisladas tomadas de suelo, las cuales en su totalidad fueron encontradas en residuos de fundición de Concepción del Oro, Zacatecas que actualmente albergan la unidad deportiva, mediante curvas de absorbancia con ayuda de espectrofotometría, frente a metales pesados como el zinc y el mercurio, sometiéndolas a concentraciones 100, 150, 200 y 20, 50, 100 partes por millón (ppm) respectivamente; también se tiene como objetivo el realizar un aislamiento nuevo bacterias encontradas en una muestra de suelo también proveniente de Concepción del Oro, Zacatecas.

ABSTRACT

The tailings of certain areas of Zacatecas contain a variety of bacteria that could affect or help the ecosystem. This research aims to show the resistance of 4 samples of previously isolated bacteria taken from rhizospheres and 3 samples of isolated bacteria taken from the soil, all of which were found in foundry waste from Concepción del Oro, Zacatecas that currently they house the sports unit, using absorbance curves with the aid of spectrophotometry, against heavy metals such as zinc and mercury, subjecting them to concentrations of 100, 150, 200 and 20, 50, 100 ppm respectively; also aims to make a new isolation bacteria found in a soil sample also from Concepción del Oro, Zacatecas.

Palabras clave: zinc, mercurio, bacterias, resistencia

INTRODUCCIÓN

Son considerados como metales pesados (MPs) aquellos metales que tienen una densidad mayor a 5 gr/cm³ (NIES D. , 1999), entre los cuales están As, Pb, Co, Hg, Cr, Cd, Ni, Se y Zn (DUFFUS, 2002) . Los metales pesados se encuentran en forma natural en la corteza terrestre, sin embargo, se pueden convertir en contaminantes si su distribución en el ambiente se altera mediante actividades humanas. En general esto puede ocurrir durante la extracción minera, el refinamiento de productos mineros o por la liberación al ambiente de efluentes industriales y emisiones vehiculares. (CASTAÑEDA, 2015).

El estado de Zacatecas tiene un gran número de ecosistemas que se encuentran alterados por la industria mineral, por lo que son un factor de selección para los microorganismos que se encuentran presentes (HEMME, 2010), por lo que se pueden aislar bacterias resistentes a MPs de estos sitios. Por su naturaleza, la explotación minera perturba la superficie de la tierra e incrementa la posibilidad de que el sedimento y otros materiales contaminen el suelo y las aguas, tanto superficiales como subterráneas. La minería a cielo abierto genera grandes cantidades de desperdicio en forma de montones de residuos. Estos residuos amontonados o las colas de las minas subterráneas originan polvo, erosión excesiva, contaminación del aire por partículas y contaminación del agua por el drenaje ácido de las minas (DAVIS & MASTEN, 2005).

¹ Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Ing. José Cárdenas Valdez S/N, República, C.P: 25080 Saltillo, Coah., wendy_gil@uadec.edu.mx

² Universidad Autónoma de Zacatecas “Francisco García Salinas”, Campus UAZ siglo XXI. 2, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Carr. a Guadalajara Km 6, Ejido La Escondida, C.P: 98160 Zacatecas, Zac., armando.flores@uaz.edu.mx

Los impactos más patentes de la minería en la litosfera son: a) los residuos derivados de la descarga de desechos y desperdicios de proceso directamente en el suelo y b) el trastorno de muchas actividades, como la agricultura, la silvicultura y la recreación, en particular a causa de la explotación a cielo abierto y la cantería (HENRY & HEINKE, 1999).

De esta intrínseca capacidad de la naturaleza para superar estos desequilibrios en el ecosistema, surge la biorremediación, como una técnica de tratamiento que tiene como objetivo utilizar el potencial de la microbiota autóctona o exógena, para degradar los compuestos orgánicos constituyentes de los residuos, con la consecuente disminución de la toxicidad. Esta tecnología está influenciada por factores internos y externos. Entre los factores internos se destaca el genotipo de los microorganismos y entre los externos, la temperatura, la aireación, el tipo y la concentración de los contaminantes, su grado de intemperismo, así como las fuentes y las concentraciones de los macronutrientes (HUANG X.D., 2004) (ZAHED M.A., 2010). Esta tecnología es, en general, eficiente y económica cuando se compara con las alternativas físicas y fisicoquímicas convencionales de tratamiento de suelos (F.P., 2005)

MARCO TEÓRICO

La naturaleza persistente de algunos metales en el ambiente ha llevado a modificaciones considerables de la comunidad microbiana y sus actividades. Se ha demostrado que los metales pesados inhiben el crecimiento microbiano y las actividades enzimáticas bloqueando grupos funcionales, desplazando iones de metales esenciales y modificando la configuración de moléculas biológicas. En ambientes contaminados con metales, las respuestas de las comunidades microbianas dependen, entre otros factores, de las concentraciones de los agentes tóxicos a los que estén expuestas, de la naturaleza de los nutrientes y forma química del agente tóxico. Los principales mecanismos de resistencia a metales pesados propuestos en bacterias incluyen: 1) Exclusión del metal por barrera de permeabilidad, 2) Transporte activo del metal fuera del microorganismo, 3) Secuestro intracelular por proteínas chaperonas o de unión, 4) Secuestro extracelular, 5) Reducción de la sensibilidad al metal en el blanco celular, 6) Detoxificación enzimática del metal a una forma menos tóxica. La resistencia a metales pesados es el resultado de la intervención de múltiples sistemas con especificidad de sustrato diferentes, pero que comparten las mismas funciones. Algunos de estos sistemas están ampliamente distribuidos y contribuyen en la defensa elemental de la célula frente a metales potencialmente dañinos, así como frente a las especies que estos producen al interactuar con los componentes celulares (BROWN, 2006); otros están muy especializados y se encuentran solo en algunas especies bacterianas, confiriéndoles la capacidad de resistencia a metales pesados (NIES D. , 2003).

METODOLOGÍA

Aislamiento de bacterias

Se preparó un tubo con un gramo de suelo tomado del centro de la unidad deportiva de Zacatecas y 30 ml de una solución buffer de fosfatos, se dejó en agitación por 24 horas, se tomaron 250 μ L para luego estriarlos en 3 cajas Petri que contenían agar nutritivo estéril después se dejaron en la incubadora a 30°C por 24 horas este proceso se tuvo que repetir (también por triplicado) cambiando el volumen de solución tomada a 100, 50, 20, 10 y 8 μ L ya que al hacer una observación macroscópica de las cajas Petri, después de las 24 horas, estas contenían gran cantidad de bacterias por lo tanto era imposible tomarlas para después aislarlas.

Preparación del tubo primario

Se tomaron 500 μ L de cada una de las 7 bacterias que se obtuvieron de los residuos de fundición encontrados también en la unidad deportiva para luego añadirlos a tubos diferentes que contenían 14 ml de caldo nutritivo. Se dejaron en la incubadora a 30°C por 24 horas hasta notar turbidez dentro de ellos.

Análisis de resistencia a Sulfato de zinc ($ZnSO_4$) y a Oxido de mercurio (HgO)

Se preparó una solución de 100 ml de sulfato de zinc (de 1000 ppm). Se prepararon 4 series (por triplicado) de tubos con caldo nutritivo estéril para cada una de las 7 bacterias. La primera serie era el Control que contenía 10 ml de caldo nutritivo y 500 μ L del tubo primario; la segunda serie (de 100 ppm) contenía 9 ml de caldo nutritivo, 1 ml de la solución de sulfato de zinc y 500 μ L del tubo primario; la tercera serie (de 150 ppm) contenía 8.5 ml de caldo nutritivo, 1.5 ml de la solución de sulfato de zinc y 500 μ L del tubo primario; la cuarta y última serie (de 200 ppm) contenía 8 ml de caldo nutritivo, 2 ml de la solución de sulfato de zinc y 500 μ L del tubo primario.

Se preparó una solución de 50 ml de óxido de mercurio (de 1000 ppm). Se prepararon 4 series (por triplicado) de tubos con caldo nutritivo estéril para cada una de las 7 bacterias. La primera serie era el Control que contenía 10 ml de caldo nutritivo y 500 μ L del tubo primario; la segunda serie (de 20 ppm) contenía 9.8 ml de caldo nutritivo, 0.2 ml de la solución de óxido de mercurio y 500 μ L del tubo primario; la tercera serie (de 50 ppm) contenía 9.5 ml de caldo nutritivo, 0.5 ml de la solución de óxido de mercurio y 500 μ L del tubo primario; la cuarta y última serie (de 100 ppm) contenía 9 ml de caldo nutritivo, 1 ml de la solución de óxido de mercurio y 500 μ L del tubo primario.

Después de haber realizado lo anterior explicado se dejaron todos los tubos 24, 48 y 72 horas en la incubadora para posteriormente leer la absorbancia de cada una de las series realizadas por triplicado (84 tubos en total) por medio de un espectrofotómetro estandarizado a 340 nanómetros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

AISLAMIENTO DE BACTERIAS



Figura 1. Observación macroscópica después de 24 horas de incubación a 30°C de cajas Petri con gar nutritivo y 8 μ L de la solución de la muestra de suelo mezclada con buffer de fosfatos.

ANÁLISIS DE RESISTENCIA A SULFATO DE ZINC

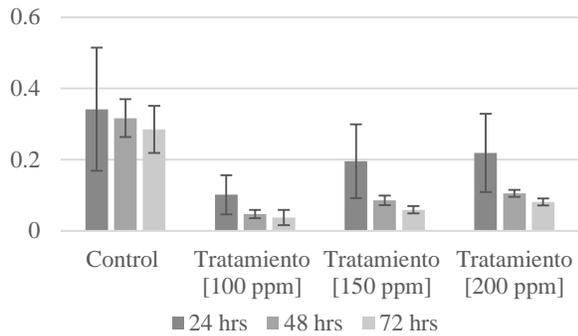


Figura 2. Gráfica de comportamiento de resistencia a zinc de la bacteria encontrada en la rizosfera número 2.

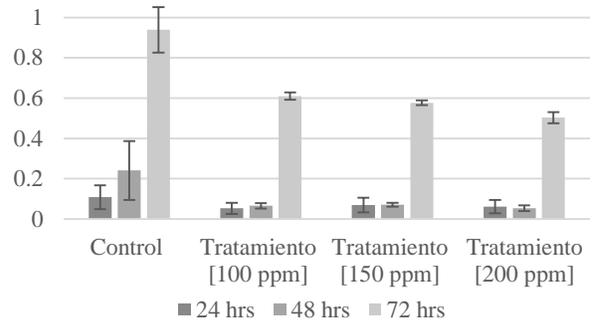


Figura 3. Gráfica de comportamiento de resistencia a zinc de la bacteria encontrada en el suelo número 3.

ANÁLISIS DE RESISTENCIA A ÓXIDO DE MERCURIO

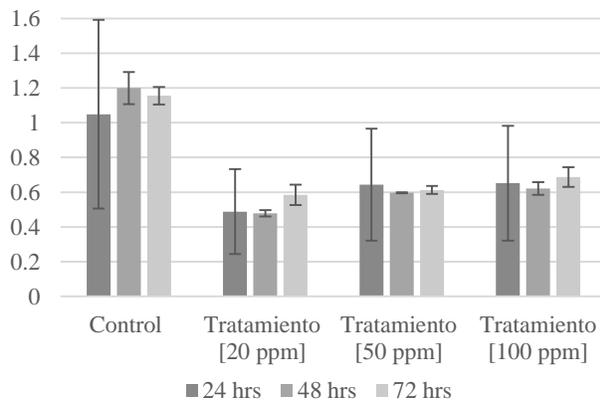


Figura 4. Gráfica de comportamiento de resistencia a mercurio de la bacteria encontrada en la rizosfera número 2.

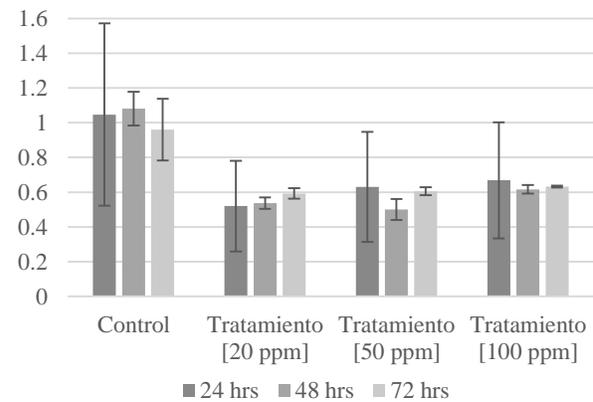


Figura 5. Gráfica de comportamiento de resistencia a mercurio de la bacteria encontrada en el suelo número 3.

En este proyecto se evaluó la resistencia de bacterias frente a metales pesados en este caso zinc y mercurio, tal como se muestra en la figura 2 y 3 las bacterias presentes en zinc solo tuvieron un pequeño incremento a las 72 horas de haberse incubado, en cambio en las figuras 4 y 5 se puede ver un crecimiento constante de las bacterias presentes en mercurio durante 24, 48 y 72 horas incluso era posible ver macroscópicamente el crecimiento de bacterias dentro de los tubos que la contenían algo que en los tubos que contenían zinc era casi imposible de ver.

Según Saravan V.S., Madhaiyan M. y Thangaraju, M. (2007) el Zn es considerado como un micronutriente esencial para el crecimiento de las plantas; ya que es un constituyente vital de varias enzimas metabólicas, sin embargo, también puede ser muy tóxico cuando éste se presenta a una concentración excesiva (KÜPPER, LOMBI, ZHAO, & MCGRATH, 2000) (S., 2006) (BROADLEY, WHITE, HAMMOND, ZELKO, & LUX, 2007). Al realizar esta investigación podemos estar de acuerdo con lo anterior explicado ya que el zinc es un elemento que influye mucho en el crecimiento de las bacterias, pero también que es un nutriente selectivo ya que solo hace crecer a algunas bacterias o en su defecto hay un menor crecimiento comparado con las bacterias presentes en mercurio.

Existe una amplia variedad de bacterias facultativas que pueden crecer en presencia de compuestos mercuriales, algunas de las cuales forman biopelículas, generando un gradiente de concentraciones como medio de protección ante la toxicidad de los compuestos (HERNANDEZ, 2009). La tolerancia de una amplia variedad de bacterias al mercurio puede deberse a un contacto permanente con este elemento en condiciones especiales. Algunas bacterias son capaces de utilizar estos compuestos (organomercuriales) como fuentes de carbono o de energía y producir compuestos menos tóxicos (ESSA, MACASKIE, & BROWN, 2002). De acuerdo con lo anterior mencionado y con la realización de la investigación se puede deducir que es cierto que una amplia variedad de bacterias crece en presencia de mercurio ya que como se presentó en los resultados hubo un crecimiento notorio a simple vista y constante en cada bacteria.

CONCLUSIONES

En México, los ambientes contaminados con metales están ampliamente distribuidos como consecuencia de varios siglos de ininterrumpido actividades mineras. Sin embargo, el conocimiento de bacterias la diversidad en estos sitios es limitada (SÁNCHEZ, 2017). Con este proyecto se puede concluir que el suelo perteneciente a residuos mineros zacatecanos contiene una gran cantidad de diferentes tipos de bacterias ya que no fue nada fácil lograr el aislamiento de cada bacteria presente en una pequeña cantidad de muestra, también se puede deducir que las bacterias ya aisladas anteriormente en el Laboratorio de Toxicología y Farmacia de UAZ podrían ser resistentes o no a metales pesados ya que con el zinc no crecieron en su gran mayoría las bacterias y por otro lado en mercurio si hubo un crecimiento notable en cada bacteria, sabiendo que el mercurio estaba a un pH de 1 podemos pensar que tal vez las bacterias que se utilizaron sean acidófilas.

BIBLIOGRAFIA

Artículos de revista

BROADLEY, M., WHITE, P., HAMMOND, J., ZELKO, I., & LUX, A. (2007). Zinc in plants. *New Phytol.*

BROWN, S. T. (2006). Molecular Dynamics of the *Shewanella oneidensis* Response to Chromate Stress. *Molecular & Cellular Proteomics*, 1054-1071.

CASTAÑEDA, R. (24 de Marzo de 2015). *SliderShare*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/raulcc1950/los-metales-pesados-y-sus-efectos-ambientales>

DAVIS, M. L., & MASTEN, S. J. (2005). *Ingeniería y Ciencias Ambientales*. México: McGraw-Hill Interamericana.

DUFFUS, J. (2002). " Heavy metals". *International Union of Pure and Applied Chemistry*, 793-807.

ESSA, A., MACASKIE, L., & BROWN, N. (2002). Mechanisms of mercury bioremediation. *Bioquímica Society Transactions*.

F.P., O. F. (2005). Increase in removal of polycyclic aromatic hydrocarbons during bioremediation of crude oil-contaminated sandy soil. . *Revista internacional de contaminación ambiental*, 121-124, 593-603.

HEMME, C. Y. (2010). Metagenomic insights into. *The ISME*, 660-672.

HENRY, J. G., & HEINKE, G. W. (1999). *Ingeniería ambiental*. México: Prentice Hall Hispanoamericana, S.A.

HERNANDEZ, I. R. (Enero de 2009). Caracterización e identificación de microorganismos con resistencia a compuestos mercuriales.

HUANG X.D., E.-A. Y. (2004). Responses of three grass species to cresote during phytoremediation. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 453-464.

KÜPPER, H., LOMBI, E., ZHAO, F., & MCGRATH, S. (2000). Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*.

NIES, D. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol*, págs. 730-750.

NIES, D. (2003). Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 313-339.

S., C. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*.

SÁNCHEZ, V. R. (2017). Biosorption of lead phosphates by lead tolerant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*.

ZAHED M.A., A. H. (2010). Enhancement biodegradation of n-alkanes from crude oil contaminated seawater. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 655-664.

AGRADECIMIENTOS

El agradecimiento de este proyecto va dirigido primeramente a mis padres por apoyarme a siempre perseguir mis sueños, al comité organizador del 20° VCRC por la oportunidad y el apoyo económico para realizar la presente investigación, así como al Dr. Juan Armando Flores de la Torre por su paciencia y enseñanza durante la realización de esta y al Laboratorio de Toxicología y Farmacia de la Universidad de Zacatecas por el apoyo del uso de sus instalaciones y mobiliario.

ADSORCION DE XANTATO EN CARBON SUBITUMINOSO

Yinadi Yarime Castillo Lazarin ⁽¹⁾, Claudia Verónica Reyes Guzman ⁽²⁾

RESUMEN

La flotación con espuma es indudablemente la técnica de procesamiento de minerales más importante, ya que se ha utilizado durante más de un siglo en operaciones mineras para separar materiales valiosos a partir de minerales excavados. Más recientemente, la flotación se utiliza también para el tratamiento de agua contaminada.

Sin reactivos, no habría flotación, y sin el proceso de flotación, la minería tal como la conocemos hoy día, no existiría. Los reactivos de flotación promueven, intensifican y modifican las condiciones óptimas del mecanismo físico-químico de los minerales de flotación y pueden ser sustancias orgánicas e inorgánicas.

La presente investigación surgió por la necesidad de reusar el xantato que se desechaba del proceso de flotación y adsorberlo en la superficie de un carbón de la región con alto contenido de azufre, lo cual es necesario desulfurar

Con el propósito de cuantificar la adsorción y desorción de xantato en la superficie del carbón, se analizaron estas muestras por medio de técnicas de caracterización, XPS, Espectroscopia Raman y UV-Vis.

En caracterizaciones por espectroscopia fotoelectronica de rayos x, se encontraron los principales grupos funcionales del carbón que interactúan con el xantato proveniente de las flotaciones. Estos fueron en su mayoría grupos carbonil y carboxil.

Palabras claves; xantato, carbón activado, espectroscopia fotoelectronica de rayos x

INTRODUCCION

Los reactivos utilizados en la flotación son los colectores, un grupo bastante grande de compuestos químicos orgánicos, que difieren en composición química y función, cuyo propósito principal es el de formar selectivamente una capa hidrófoba sobre una superficie mineral dada, en la pulpa de flotación y proporcionan así, condiciones para la unión de las partículas hidrófobas a las burbujas de aire y la recuperación de dichas partículas en el producto de espuma. [1]

Los xantatos son ditiocarbonatos los cuales son utilizados como colectores en los procesos de flotación para la mayoría de los minerales sulfurados, así como elementos metálicos tales como el cobre, níquel, zinc, plomo, oro y plata.

El tipo de colector más utilizado en la actualidad es el xantato isopropílico de sodio. Sin embargo, después de éste cumplir su función y ser utilizados en el proceso de flotación, suelen ser descargados en las presas de jales donde además de permanecer como remanente tóxico, afectan el suelo, flora y fauna marina. [2]

El impacto negativo del xantato al medio ambiente, en la vida acuática y de suelo se ha registrado en distintos aspectos. Se han estudiado los efectos tóxicos que los colectores de flotación tienen sobre la actividad microbial del suelo [3]. Asimismo, se han hecho estudios sobre peces y distintos tipos invertebrados [4] los cuales demuestran que después del primer día de remanencia del xantato como desecho, afecta de forma considerable la vida acuática. Así como los efectos de los productos de descomposición del xantato, tales como el dixantógeno [5]–[8]. Quienes entre otras cosas demostraron que para plantas acuáticas (lemna minor) la toxicidad de los xantatos causó una mortalidad del 100% a una concentración menor a 5 mg/L. [9]

Tomando en consideración la utilidad que ocupan los xantatos en la industria minera, y debido a la toxicidad que representan para el medio ambiente el uso de éstos reactivos, es necesario desarrollar una metodología de evaluación de xantatos en efluentes de procesos de flotación, así como la adsorción de los residuos de xantatos en los efluentes del proceso de flotación de minerales.

(1) estudiante de 6 semestre de la carrera IQMM

(2) Investigadora de la Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Metalurgia, Carretera 57 Km 5, C.P. 25710 Monclova, Coah clavereyes@gmail.com

Después que se realiza la flotación los efluentes son mandados a la presa de jales y tirados a la intemperie, por ello surgió esta investigación con ayuda del poder adsorbente de los carbones activados, ponerlos en contacto con la solución de flotación y adsorber el xantato para poderlo atrapar en la superficie del carbón y liberarlo para recircularlo al proceso.

RESULTADOS Y DISCUSION

El espectro Raman de XIPNa adsorbido en la superficie del carbon se muestra en la figura 1. Se puede observar los distintos picos en los que se presenta el xantato isopropilico de sodio, el cual fue adsorbido en la superficie. El rango en el cual fueron analizadas las muestras fue desde 100 hasta 3500 cm^{-1} .

Los picos característicos del xantato aparecen entre las siguientes frecuencias 650, 1020, 1450-1500, y entre 2800-3000 cm^{-1} .

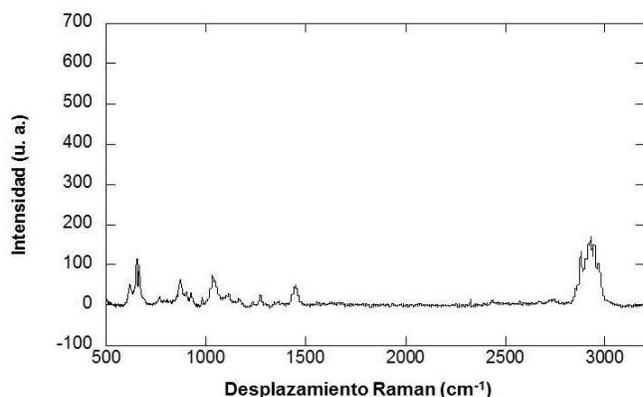


Figura 1. Espectro Raman de XIPNa

Otra técnica de caracterización que también se llevó a cabo fue la Espectroscopia de Fotoelectrones emitidos por Rayos X (XPS), con la cual se analizó la adsorción de xantato. Los espectros con mayor cantidad de xantato adsorbido, fueron analizados y comparados con la literatura correspondiente.

En base a estudios de xantato isopropilico de sodio que se han publicado anteriormente, según (K. C. Pillai, 1983), podemos comparar que, los resultados obtenidos en los espectros, mismos a los que no se realizó deconvoluciones ya que se comparó con la literatura, muestran los picos característicos de la presencia de xantato en su superficie, los cuales producen corrimientos de los picos.

En la figura 2 se muestra el espectro del carbono (C) del nivel 1s en el cual se pueden observar 3 diferentes picos correspondientes a distintos compuestos enlazados con carbono. Para este espectro se define que existen 3 átomos de carbono químicamente no equivalentes localizados a 284.9, 286.3 y 288.1 eV. Por este motivo podemos asumir que estos enlaces son correspondientes a enlaces xantato

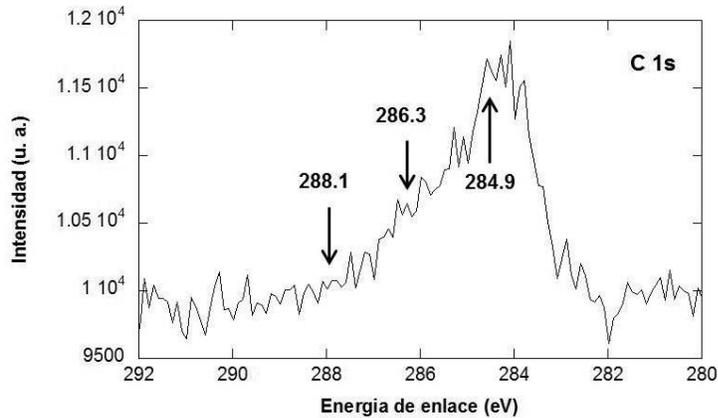


Figura 2. Espectro muestra 1: nivel 1s del C.

CONCLUSIONES

De los espectros obtenidos por XPS y Raman determinamos que el xantato se adsorbió y desorbió de la superficie del carbon. El xantato residual presente en los procesos de flotación, puede ser removido utilizando en el carbon como adsorbente del mismo, esta técnica desplaza otro tipo de técnicas las cuales descomponen el xantato, ya que, para aplicar tecnologías encargadas de la descomposición química, se requiere gran consumo de energía reflejado en elevados costos de operación.

El empleo de carbon como adsorbente beneficia sustancialmente, debido a que el xantato puede ser desorbido y retornado nuevamente al proceso aplicando una ligera purificación del mismo.

BIBLIOGRAFIA

Bolin N. J., C. S. L., Martin C.J. A surface study of a Boliden ore by ToF-LIMS. *International Journal of Mineral Processing*. 1997.

Cheng H., L. H., Huo H., Dong, Y. Xue, Q. Cao L. Continuous removal of ore flotation reagents by an anaerobic-aerobic biological filter. *Bioresource Technology*, 255–261. 2012.

Chockalingam E., S. S., Natarajan K.A. Studies on biodegradation of organic flotation collectors using *Bacillus polymyxa*. *Hydrometallurgy*. 2003.

Gerardo Cifuentes Molina, C. H. C., Marco Antônio Siqueira Rodrigues, Andréa Moura Bernardes. Sodium isopropyl xanthate degradation by advanced oxidation processes. *Minerals Engineering*. 2013.

Howe, T. M., Pope, M.I. The quantitative determination of flotation agents adsorbed on mineral powders, using differential thermal analysis. *Powder Technology*. 1970/1971.

K. C. Pillai, V. Y. Y., J.O.M. Bockris. XPS studies of Xanthate adsorption on galena surfaces. *Applications of surface Science*. 1983.

Miettinen, M., Steín, P., Bckman, S., Leppinen, J., Aaltonen, J. Determination of chemicals bound to mineral surfaces in flotation processes. *Minerals Engineering*, 245–254. 2000.

Oliveira Jr., G. G. M. Desenvolvimento de uma rota de processo de dessulfurização de rejeitos de um minério aurífero sulfetado. 71. 2011.

OS. Zingg, D. M. H. Phys. Chem. 1992.

Pearse, M. J. An overview of the use of chemical reagents in mineral processing. *Minerals Engineering*. 2005.

Piantadosi C., S. R. S. C. Statistical comparison of hydrophobic and hydrophilic species on galena and pyrite particles in flotation concentrate and tails from ToF-SIMS evidence. *Minerals Engineering*, 1377–1394. 2002.

Pugh, R. J., Husby, K. Quantitative determination of collector adsorbed on fluorite, galena and quartz particles by selective oxidation surface analysis. *International Journal of Mineral Processing*. 1986.

R.A. Pollak, C. H. B. Appl. Phys. 1975.

Rao, S. R., Finch, J.A. Areview of water reuse in flotation. *Minerals Engineering*. 1989.