

# CIENCIAS

# NATURALES Y

# EXACTAS



24° Verano de la Ciencia de la Región Centro

### **Comité Organizador**

C.P. Raúl Sergio Farias Martínez  
M.C. Jesús Roberto de Garza de Luna  
M.A. Verónica Martínez Vela  
Lic. Laura Elena González Rodríguez  
**Instituto Tecnológico Superior de Monclova**

#### **INSTITUCIONES PARTICIPANTES**

#### **COORDINADORES INSTITUCIONALES**

Universidad Autónoma de Aguascaliente	Marcelo de Jesús Pérez Ramos
Universidad Autónoma de Coahuila	Yazmin Ramírez Rodríguez
Instituto Tecnológico Superior de Monclova	Dora Elia Cárdenas Elizondo
Instituto Tecnológico de Abasolo	Alejandro Herrera Hernández
Universidad Politécnica del Bicentenario, Instituto Tecnológico de Celaya	Verónica Martínez Vela
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato	Laura Elena Gonzalez Rodriguez
Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón	César Álvarez Mejía
Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM, Unidad León	Elizabeth Torres Vázquez
Instituto Tecnológico Superior del sur de Guanajuato	Rosa Ines Yerena Yerena
Instituto Tecnológico de Querétaro	Akira Torreblanca Ponce
Arkansas State University Campus Querétaro	Carlos Alberto Sebastián Serra Martínez
Universidad Autónoma de Querétaro	Luis Fernando Villanueva Jiménez
Universidad Politécnica de Querétaro	Harumi Shimada Beltrán
Universidad Autónoma de San Luis Potosí	María Trinidad Pimentel Villegas
Centro Regional de Educación Normal Profra. Amina Madera Lauterio de Cedral	Eduardo Arroyo Ortega
Universidad Politécnica de San Luis Potosi	Adriana del Pilar Aranda Servín
Universidad del Centro de México	María Montserrat Juárez Aubry
	Nicolas Ramos Lara
	Karina Villarauz Camargo
	Jonny Paul Zavala De Paz
	Laura Elena Ochoa Leija
	Juan Manuel Rodríguez Tello
	Martín Hernández Sustaita
	Alicia Villagómez Carvajal

## CONTENIDO

1. Laboratorio de fibras ópticas: introducción a los láseres. Francisco Alberto Torres Bautista, Miguel Ángel Bello Jiménez .....	7
2. Determinación de comunidades eucariotas asociadas a floraciones cianobacteriales. Carolina Gutiérrez Hernández, Laura Valdés Santiago .....	13
3. Actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de lavanda, laurel y moringa sobre <i>Staphylococcus aureus</i> . Sandra Tiscareño Magallanes, Dr. Angel Antonio Vértiz Hernández, Olga Edith González Lugo .....	19
4. Análisis comparativo de anatomía vegetal de <i>agave americana</i> y <i>agave rhodacantha</i> . José Eduardo de Luna de la Serna, Mahinda Martínez y Diaz de Salas .....	25
5. Actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de <i>ruta graveolens</i> y <i>azadirachta indica</i> sobre <i>staphylococcus aureus</i> . Araceli Alvarado Aguilera, Dr. Angel Antonio Vértiz Hernández, Dra. Olga Edith González Lugo.....	31
6. Escrutinio fitoquímico y cultivos <i>in vitro</i> de <i>lepidium virginicum</i> L. y <i>pereskia acuelata</i> mill. Elide Martín De Alba, Yenny Adriana Gómez Aguirre .....	38
7. Developing inhibition methodologies for gaba <sub>a</sub> receptor with valerenic acid: molecular docking/dft approach. Ugarte Maldonado Miren Maitane, Fernando Belmont-Bernal .....	46
8. Análisis bioinformático de la enzima mdh en la especie <i>mammillaria bombycina</i> . Karen Janeth Domínguez López, José Francisco Morales Domínguez .....	51
9. Biopelículas o apósitos utilizados en la regeneración celular. Sara Martin del Campo Rodríguez, Ma. Elena Calixto Olalde .....	58
10. Síntesis de películas delgadas cds por depósito de baño químico. Arely Patricia Mejía Mejía , Mónica Balvanera Ortuño López .....	67
11. Registro de ectomicorrizas e inoculación en plantas de encinos en el anp cerro del cubilete. Jessica Urbiola Montes , Francisco Alejo Iturvide .....	74

12.	Materiales lumidiscetes para el revelado de huellas dactilares en criminalista. Osornio Hernández Monserrat, Rodríguez García Carlos Eduardo.....	81
13.	Nest-site characteristics, diet, and activity patterns of <i>sciurus oculatus</i> in a mixed forest. Ximena Zamora Prieto, Dr. Nicolás Ramos Lara .....	87
14.	Clasificación de galaxias. Julieta Díaz Azúa, Josué de Jesus Trejo Alonso.....	95
15.	Indicadores de restauración ecológica. Angela Elizabeth Peña Barrientos, Sandra Milena Gelviz Gelvez . .....	101
16.	“Diseño de compósitos en estado hidrogel para aplicaciones biotecnológicas”. Ana Daniela Barba Padilla, Jesús Alejandro Claudio Rizo .....	106
17.	Clasificación de galaxias. Héctor de Jesús García Escamilla, Josué de Jesús Trejo Alonso ....	118
18.	Diseño de compósitos en estado hidrogel para aplicaciones biotecnológicas. Juan Carlos Martín Coronado, Jesús Alejandro Claudio Rizo .....	125
19.	Poliaminas y la expresión de genes relacionados con la producción de astaxantina en haematococcus pluvialis. Kevin Herrera Márquez, Laura Valdés Santiago.....	133
20.	Encapsulamiento y determinación de la biodisponibilidad de los principales fitoquímicos del subproducto de betabel. Paola Lizeth Ortiz Olvera, Miriam Aracely Anaya Loyola .....	141
21.	Efecto de la cópula regulada y ejercicio en la plasticidad cerebral de la rata hembra. Ailed Cecilia Méndez Guerrero, Raúl Gerardo Paredes Guerrero .....	147
22.	Estudio de semiconductores para aplicación a materiales termoeléctricos. Alberto García Martínez José Alonso López Miranda .....	155
23.	Biopelículas utilizadas en la regeneración celular. Ana Paola Hernández Rodríguez, Ma. Elena Calixto Olalde .....	169
24.	Variación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del arilo de <i>pithecellobium dulce</i> en polvo y como galleta. Nelly Bibiana Trejo Domínguez, Jorge Luis Chávez Servín .....	177

25.	Historia evolutiva de las aldolasas tipo i, subfamilia aldolasa nal. Kenya Jazive Villanueva Garcia, Bernardo Pérez Zamorano .....	184
26.	Evaluación de la actividad antimicrobiana de diversos extractos del muérdago <i>psittacanthus calyculat</i> . Diego Guadalupe Chávez Torres, Raúl Reyes Bautista .....	190
27.	Aplicación de inmunoensayos para detectar contaminantes emergentes (antibióticos) en agua residual. Jackeline González Zacarías, Norma Angélica Chávez Vela.....	196
28.	Estudio de modelos de materia oscura y galaxias. Juan Jordi Ancona Flores, Alberto Hernández Almada .....	202
29.	Poliaminas y la expresión de genes relacionados con la producción de astaxantina en haematococcus pluvialis. Humberto David Resendiz De Lira, Laura Valdés Santiago.....	209
30.	Aislamiento de microorganismos del tracto digestivo de achroia grisella para la biodegradacion de poliestireno y polietileno. Andrea Barba González, Dra. Diana Issell Sandoval Cárdenas .....	216
31.	Efecto de la luz uv sobre la microbiota del jugo de caña. Karen Vianney Caudillo Alcalá, Raúl Reyes Bautista.....	224
32.	Programación de perfiles de masas de cúmulos de galaxias por anillos. Suárez Rangel Hugo Alexis Dr. Trejo Alonso Josué de Jesús.....	230
33.	Propiedades mecánicas de un nanocomposito impreso mediante manufactura aditiva 3d. Jairo Daniel Guapo Rivera, Armando Almendarez Camarillo.....	237
34.	Nest-site characteristics, diet, and activity patterns of <i>sciurus oculatus</i> in a mixed forest. José Pablo Torres Campos, Dr. Nicolás Ramos Lara .....	243
35.	Nest-site characteristics, diet, and activity patterns of <i>sciurus oculatus</i> in a mixed forest. Diego Emilio Aznar Cruz, Dr. Nicolás Ramos Lara .....	251
36.	Programación de perfiles de masas de cúmulos de galaxias. Dulce Ariadna Martínez González, Josué de Jesús Trejo Alonso.....	259
37.	Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del subproducto de betabel ( <i>beta vulgaris</i> ) liofilizado. Karla Vela Solís, Miriam Aracely Anaya Loyola .....	267

38. Análisis fisicoquímico de apatitas en fémures de rata wistar. Dulce Magdalena Villanueva Raya. Gabriel Herrera Pérez.....	272
39. Análisis fisicoquímico de apatitas en fémures de rata wistar. Aldo Mauricio Gutiérrez Hernández, Gabriel Herrera Pérez.....	278
40. Recubrimientos nanoestructurados obtenidos por métodos químicos sostenibles. Vicenteño Ramírez Alejandro, Mónica Balvanera Ortuño López.....	284
41. Crecimiento de <i>bacillus subtilis</i> por fermentación sumergida: población celular y producción de bacteriocinas Fatima Tapia Alvarado, Carlos Regalado Gonzales .....	289
42. Evaluación de la actividad antimicrobiana de diversos extractos del muérdago psittacanthus calyculat. Alexa Serrano Vázquez, Raúl Reyes Bautista.....	296
43. Activación de microorganismos degradadores de polietileno y poliestireno. Sophia Guadalupe De Loera Muñoz, Diana Issell Sandoval Cárdenas .....	303
44. Inventario de macromicetos comestibles en anp cerro del cubilete. Carla Guadalupe Regalado Moncada, Francisco Alejo Iturvide .....	312
45. Registro de ectomicorrizas e inoculación de plantas en encinos en el anp cerro del cubilete. Catalina Rico Aguilar, Francisco Alejo Iturvide .....	318



# LABORATORIO DE FIBRAS ÓPTICAS: INTRODUCCIÓN A LOS LÁSERES.

**Francisco Alberto Torres Bautista**  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Facultad de Ciencias  
Av. Parque Chapultepec 1570.  
C.P. 78210, San Luis Potosí, S.L.P.  
[a291320@alumnos.uaslp.mx](mailto:a291320@alumnos.uaslp.mx)

**Miguel Ángel Bello Jiménez**  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Instituto de Investigación en Comunicaciones  
Ópticas  
Av. Karakorum 1470, Lomas 4a. Sección.  
C.P. 78210 San Luis Potosí, S.L.P.  
[miguel.bello@uaslp.mx](mailto:miguel.bello@uaslp.mx)

**Resumen** — En el presente artículo describe el desarrollo de prácticas introductorias en el uso de fibras ópticas y láseres en investigaciones experimentales, elaborándose tapers de fibra óptica y microesferas que permitieron implementar un microresonador de fibra óptica el cual se usó para medir peines de frecuencia óptica. Se lograron encontrar peines en la región de los 1567.82 nm de un láser de 200 mW de potencia con el bombeo de un diodo láser de 975 nm a 12.05 mW de potencia.

**Palabras clave** — Fibra óptica, tapers, peines de frecuencia óptica.

**Abstract** — In this paper introductory practices on optical fibers and lasers use in experimental research is described, creation of tapers and microspheres were preformed, this allowed the usage of a microresonator to measure optical frequency combs. Combs in the 1567.82 nm region for a 200 mW laser were found, with a laser diode of 975 nm and 12.05mW as the optical pumping.

**Keywords** — Optical fiber, tapers, optical frequency combs.

## I. INTRODUCCIÓN

Las fibras ópticas se pueden utilizar para la creación de diversos elementos ópticos como esferas nanométricas y tapers que pueden ser utilizados en la investigación experimental, en éste caso se usarán dichos elementos como parte de un microresonador de fibra óptica, un arreglo que permite la medición de peines de frecuencia óptica que a su vez tienen diversas aplicaciones entre las que destacan la metrología con la creación de sensores cada vez más precisos que nos permiten desde fabricar mejores radares, hasta conocer las características de otros planetas.

## II. MARCOTEÓRICO

### A. Tapers de fibra óptica

Un taper es una fibra óptica adelgazada mediante la fusión y estiramiento de una fibra óptica estándar, es un proceso sencillo y fácilmente reproducible, los parámetros importantes en la fabricación de un taper son el diámetro de la sección transversal más estrecha conocido como cintura, la longitud de adelgazamiento y el perfil de transición que indica qué tan abrupto es el cambio en diámetro. Es importante que se logre un estiramiento uniforme a fin de que los campos que pasan por la fibra logren atravesar el

taper de manera adecuada sin muchas pérdidas. Este tipo de dispositivos son muy versátiles pues se pueden emplear diversos efectos físicos en la región adelgazada.

#### B. Esferas micrométricas.

Las esferas micrométricas han captado el interés en su uso con resonadores pues tienen un gran potencial para aplicación en circuitos fotónicos de cara al futuro. En general se estudian microesferas de sílice fabricadas con tapers de fibra óptica estándar pues ofrecen una gran facilidad para describir sus propiedades físicas y su composición. Una microesfera se consigue mediante la fusión de la punta de una fibra óptica, que puede o no estar adelgazada, esto depende de las necesidades del usuario y normalmente el diámetro de la microesfera está relacionado con el diámetro de la fibra de origen.

#### C. Peines de frecuencia óptica

Los peines de frecuencia óptica proporcionan mediciones de la luz que se tiene de un objeto, que proveen una medida precisa en la escala de los femtosegundos de ciclos ópticos, que a su vez sirven para la fabricación de relojes de altísima precisión, que ahora llega hasta los 18 dígitos, superando a otras alternativas basadas en las microondas en al menos un orden de magnitud. Con esto se logran desarrollar pruebas físicas en el laboratorio con la máxima precisión posible.

Podemos producir peines con una onda continua mediante fenómenos ópticos no lineales en un microresonador que atrapa y confina luz en una pequeña región haciendo que la intensidad de la luz aumente y provoque interacciones no lineales, una clase importante de microresonador es el que trabaja con microesferas que permiten atrapar la luz mediante la reflexión total interna alrededor del perímetro de la interfase.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### A. Fabricación de tapers.

Se usó una estiradora de fibra óptica no comercial de fabricación en casa en el Instituto de Investigación en Comunicaciones Ópticas (IICO). El sistema consta de tres motores, dos motores fijos a un par de prensas que sujetan los extremos de la fibra con la cual se fabricará el taper, moviéndose en direcciones contrarias, y un tercer motor traslada un mechero de manera periódica a lo largo de la dirección de la fibra óptica, que se encarga de fundir la fibra y permite el estiramiento. Para la combustión del mechero se utilizan dos gases, Butano y Oxígeno los cuales se conectan al sistema a través de un controlador de flujo MKS MASS FLO, que a su vez se conecta a un par de tanques de los elementos antes mencionados y a una interfase etiquetada como Control de Estiradora de Fibra Óptica la cual nos permitirá controlar todo el sistema a través de un software desarrollado también en el IICO.

El proceso de estiramiento es sencillo, se debe preparar primero el mechero, para hacerlo se deja fluir primero Butano por el conducto por algunos minutos, el tiempo depende de la temperatura del ambiente, esto con el fin de tener un flujo constante una vez encendida la mecha. Después se deja fluir Oxígeno y se enciende el mechero con un encendedor estándar. Para estirar la fibra es necesario quitar la capa de poliuretano con unas tijeras Strippers, quitando la parte a estirar con una tolerancia de algunos centímetros, se limpia el excedente de poliuretano con alcohol. Posteriormente se asegura la fibra óptica a trabajar en las prensas, es importante tener una buena fijación para obtener resultados uniformes. Finalmente se trabaja con el software, el proceso está automatizado por lo cual solo es necesario seleccionar los parámetros deseados: longitud del taper, diámetro del taper, perfil de transición. El proceso tardará varios minutos dependiendo principalmente en el diámetro y longitud del taper.

### *B. Fabricación de microesferas.*

Se fabricaron microesferas en base a los tapers creados, para lograrlo primero se debe preparar el taper, lo que consiste en hacer un corte con una cuchilla de alta precisión Fujikura CT-32, para mantener la fibra fija se coloca el taper en una prensa de adherencia magnética a la cuchilla, se abre la cuchilla, se inserta la prensa y se realiza el corte en un movimiento, al ser el taper más pequeño que una fibra óptica estándar la cuchilla no logra cortar de manera sencilla entonces para facilitar el proceso el taper se une a una fibra óptica estándar pelada de manera momentánea con alcohol etílico y se realiza el corte junto a ésta.

Posteriormente se utiliza una empalmadora de fibra óptica Fujikura ARCMaster FSM-100P la cual posiciona la fibra óptica junto a un par de electrodos que la funden, la misma prensa usada en la cuchilla se puede adherir a la empalmadora lo cual facilita el posicionamiento, el taper no debe quedar justo por encima de los electrodos pero si algunas fracciones de milímetros por detrás. Para hacer trabajar la empalmadora se crea un perfil mediante un programa sencillo creado en el IICO el cual permite elegir el diámetro de la esfera y algunos otros parámetros más específicos, también permite hacer la medición de la esfera una vez que ha terminado el proceso. Se envía el perfil a través de una conexión USB directamente a la empalmadora la cual lo reconoce de manera instantánea, una vez cargada se corre el programa desde la empalmadora y se crea la esfera de manera automática.

### *C. Medición de peines de frecuencia.*

Se usó un microresonador de fibra óptica montado en el laboratorio y que había sido utilizado en trabajos previos, con un láser sintonizable New Focus TLB-6700 que trabaja en la región de los 1520 a los 1570 nanómetros a 200 mW, con un diodo laser de bombeo de 975 nm con 12.05 mW. Ambos láseres son transportados con una fibra óptica hasta un combiner que les permite interferir, luego una salida de fibra óptica que pasa por un

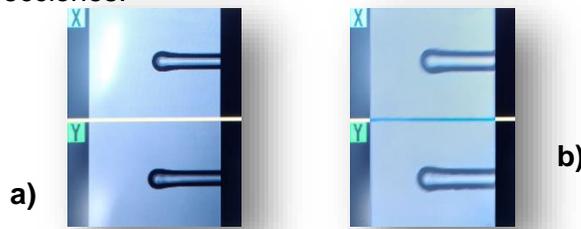
control de polarización que lleva el resultado de la interferencia hasta una carcasa de vidrio que contiene un taper. Este es un resonador que trabaja con las esferas que fabricamos con anterioridad las cuales se colocan en contacto con el taper mediante un posicionador Thorlabs NanoMax 300. La esfera permite la creación de un campo evanescente en su superficie y como resultado ocurren fenómenos ópticos no lineales, que generan los peines ópticos a medir, la luz en la esfera continúa su camino por el taper que es conectado a un analizador de espectro óptico YOKOGAWA AQ6375 que puede trabajar en la región de los 1200 a los 2400 nanómetros.

Para buscar los peines se debe hacer un barrido con el láser sintonizable programado mediante software en una computadora conectada por un cable USB a dicho laser. La teoría permite acotar el barrido entre los 1560 y 1570 nm realizando saltos con una precisión de 0.02 nm con un segundo de diferencia entre cada salto. Si bien el láser permite saltos de 0.01 nm no fue necesario recurrir a la máxima precisión disponible para observar el peine. Con cada barrido se seleccionaba una polarización aleatoria mediante el control de polarización pues ésta influye en el comportamiento del peine. En el proceso se vigila el analizador de espectro óptico prestando atención a la respuesta de la luz que proviene desde el taper, la forma fácilmente reconocible del peine permite detener el barrido justo cuando se identifica, esto deja al laser sintonizado en la frecuencia adecuada y el peine se mantiene en el analizador lo que permite la recolección de datos.

#### IV. RESULTADOS

##### A. Fabricación de microesferas.

Se trabajaron con tapers de 70 nm y a partir de ellos se hicieron dos tipos de esferas distintas. Se midieron las esferas con el software el cual da una medida exacta de la esfera en 2 direcciones.



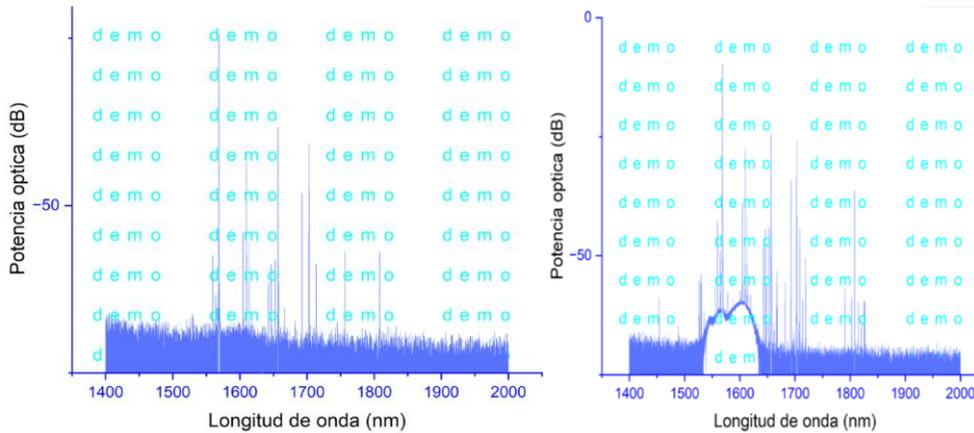
**Fig. 1 a)** Esfera configurada para 120  $\mu\text{m}$ , el software midió 119.2  $\mu\text{m}$  de diámetro. **b)** Esfera configurada para 150  $\mu\text{m}$ , el software midió 152.1  $\mu\text{m}$  de diámetro.

##### B. Medición de peines de frecuencia.

A continuación, se presenta el peine que se logró encontrar en el barrido para 1567.82 nm para una polarización aleatoria.

**Fig. 2 a)** Grafica para el peine de frecuencia óptica medido para 1567.82nm con un bombeo de 975nm, el conector al analizador se mantuvo unos centímetros separados de la entrada por

seguridad del equipo. b) Gráfica para el mismo peine con el conector al unido al analizador, se puede apreciar con mayor detalle las características del peine.



a)

b)

## V. DISCUSIÓN

Fue posible fabricar esferas de dos tamaños distintos sin muchas complicaciones y con una buena precisión, se pudo notar que el factor importante para una buena exactitud en el tamaño de las esferas es el corte que se le realiza al taper, la esfera de 152.1 nm comparada con la esfera de 119.2 nm tiene un poco más de pérdida de exactitud, curiosamente esto se atribuye a que el corte realizado con la cuchilla era más exacto que para el taper de la esfera de 119.2 el cual presentaba un ligero excedente de material en la punta del taper, lo cual es común pues como se mencionó antes la cuchilla empleada está diseñada para cortar fibra óptica estándar y no tapers más delgados.

Se logró encontrar un peine en la región de los 1567.82 nm de un láser sintonizable para un bombeo de 975 nm de un diodo laser, la primera medición permitió encontrar el peine en un barrido del láser sintonizable de manera segura pues la instrumentación utilizada no era la adecuada no obstante era la que se tenía disponible en el laboratorio, tener conectada la fuente de la luz al analizador por largos periodos de tiempo podía afectar sus componentes electrónicos, en la forma en que se realizó pudimos evitar esto teniendo una pérdida de intensidad y exactitud, pero el peine se logra apreciar en primera instancia, después se pudo colocar el conector de manera correcta y como resultado obtuvimos el peine esperado, esto solo se hizo durante la recopilación de los datos para su posterior procesamiento.

Fue posible replicar el muestreo con el mismo procedimiento durante varios ciclos del barrido del láser sintonizable sin ningún problema aparente. Se intentaron encontrar otros peines aparte del ya presentado al cambiar la polarización con el controlador del microresonador, lo cual resulta complicado pues se debe realizar a mano lo cual no es preciso del todo, aun así, se pudieron apreciar varios peines. No obstante, a fin de evaluar

la estabilidad de los peines se dejó el sistema corriendo durante un largo periodo de tiempo, lo que se pudo notar es que conforme avanzaba el tiempo muchos de los peines presentaron un decaimiento en su potencia óptica lo cual era un indicativo de su poca estabilidad.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Es posible fabricar tapers sin muchas complicaciones, es un proceso sencillo y automatizado, las microesferas se pueden fabricar aun cuando no se tienen los materiales aptos, haciendo énfasis en las cuchillas para realizar los cortes del taper, pese a ello se pueden adaptar los instrumentos disponibles como lo hicimos para encontrar el peine de frecuencia óptica esperado. Es complicado encontrar peines cuando se tienen que modificar las variables con poco control como lo es la polarización pues esta es aleatoria e imposibilita modificar el sistema de manera precisa, así como también por el hecho de que muchos de los peines ópticos no son estables y decaen con el tiempo.

## VII. RECONOCIMIENTOS

Agradezco al Instituto de Investigación en Comunicaciones Ópticas (IICO) y al doctor Miguel Ángel Bello Jiménez por permitirme trabajar en este proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] Hecht, "Óptica", 2ª Edición, Madrid: Addison Wesley Iberoamericana, 2000.
- [2] S. Marujo, "Adelgazamiento de fibra óptica monomodo de sílice y su característica espectral", tesis de maestría, Centro de Investigación e Innovación Tecnológica, IPN, Ciudad de México.
- [3] T. Martan et al. "Tapered optical fiber for sensing", Proceedings of SPIE, vol. 7138, (2008)
- [4] P. Wang et al. "Packaged chalcogenide microsphere resonator with high Q-factor", Applied Physics Letter, vol. 102, (2013).
- [5] T. J. Kippenberg et al. "Microresonator-Based Optical Frequency Combs", *Science*, vol. 332, pp. 555, Oct 2012

# DETERMINACIÓN DE COMUNIDADES EUCARIOTAS ASOCIADAS A FLORACIONES CIANOBACTERIALES

**Carolina Gutiérrez Hernández**

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Irapuato/Ingeniería Bioquímica. Carretera Irapuato- Silao Km 12.5 Irapuato. C.P. 36821, México.  
[caro-gh@hotmail.com](mailto:caro-gh@hotmail.com)

**Laura Valdés Santiago**

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Irapuato/Ingeniería Bioquímica. Carretera Irapuato- Silao Km 12.5 Irapuato. C.P. 36821, México.  
[laura.vs@irapuato.tecnm.mx](mailto:laura.vs@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — La eutrofización tiene un papel importante en la inducción de los florecimientos cianobacteriales potencialmente tóxicos y afectando la biodiversidad de cuerpos de agua continentales y artificiales, como son las presas. Los ecosistemas acuáticos pueden ser afectados por su composición física, química y biología generando alteraciones en los florecimientos cianobacteriales teniendo como consecuente un crecimiento descontrolado de acuerdo con ciertos factores; dichos factores por considerar son los parámetros fisicoquímicos como es el caso de la temperatura, pH, conductividad y demanda de oxígeno. En este trabajo se analizaron los parámetros fisicoquímicos y se identificaron géneros microbianos presentes en tres presas de Guanajuato que podían presentar floraciones cianobacteriales. Se determinó que las condiciones ambientales favorecen la aparición de floraciones de cianobacterias, ya que el pH que presentaron estuvo entre 7 y 9, la temperatura entre 19 °C y 26 °C, los niveles de nitratos y fosfatos se determinaron entre estos valores 0 y 5 mg/L. Los géneros de microalgas identificados a nivel morfológico fueron *Nodularia*, *Dolichoespermum* y *Planktothrix*. El agua de las presas estudiadas se utiliza para actividades recreativas, para riego, abrevadero de ganado y en algunos casos para potabilizar, es urgente tomar medidas remediales y preventivas para evitar un evento tóxico relacionado con la presencia de cianotoxinas.

**Palabras clave** —Floraciones cianobacteriales, eutrofización, *Nodularia*, *Dolichoespermum*, *Planktothrix*.

**Abstract** —Eutrophication plays an important role in inducing potentially toxic cyanobacterial blooms and affecting the biodiversity of inland and artificial water bodies, such as dams. Aquatic ecosystems can be affected by their physical, chemical and biological composition, generating alterations in cyanobacterial blooms, resulting in uncontrolled growth according to certain factors; these factors to consider are the physicochemical parameters such as temperature, pH, conductivity and oxygen demand. In this research, the physicochemical parameters and microbial genera present in three Guanajuato dams with cyanobacterial bloom were analyzed. It was determined that the environmental conditions could induce the appearance of cyanobacterial blooms since range pH goes from 7-9, the temperature between 19 °C and 26 °C, the levels of nitrates and phosphates were determined between these values 0 and 5 mg /L. The genera of microalgae identified at the morphological level were *Nodularia*, *Dolichoespermum* and *Planktothrix*. The water from the studied reservoirs is used for recreational activities, for irrigation, cattle watering and in some cases for drinking water, it is urgent to take remedial and preventive measures to avoid a toxic event related to the presence of cyanotoxins.

**Keywords** — Cyanobacterial blooms, eutrophication, *Nodularia*, *Dolichoespermum*, *Planktothrix*.

## I. INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los recursos naturales más importantes; este es esencial para las personas y para actividades socioeconómicas, presenta un impacto directo en la higiene, la salud, la educación, la alimentación, en los ecosistemas y en el modo de vida de los seres vivos, por lo cual este recurso es indispensable para poder sobrevivir y tener estabilidad en el entorno (Pintor, 2021). Sin embargo, el agua contiene nutrientes, los cuales en los ecosistemas son indispensable, pero existe la contaminación por ellos mismos, debido a que se encuentran de manera excesiva, como es el caso del nitrógeno y fósforo, fenómeno conocido como eutrofización, que induce proliferación descontrolada

de algas fitoplanctónicas y provocando efectos adversos en el ecosistema, a este suceso se le conoce como eutrofización (EPA, 2021).

La eutrofización suele ser un problema debido a las modificaciones que este realiza en los ecosistemas, ya que tienen la capacidad de formar florecimientos o crecimientos algales de manera descontrolada los cuales llegan a ser nocivos y esto llega a ser un desequilibrio en la biodiversidad de los organismos acuáticos, afectando a cada uno de los organismos presentes (Gil, 2019). Las cianobacterias son procariontes fotosintéticos que al momento de formar floraciones presentan la capacidad de liberar metabolitos bioactivos, los cuales son denominados cianotoxinas, entre estos metabolitos, se encuentran las microcistinas, las cuales son hepatotóxicas, estas son producidas de forma general por el género *Planktothrix spp*, *Microcystis sp*, *Cylindrospermopsis spp*, *Limnothrix redekei* (Mallia, et al., 2020).

Por lo anterior, los florecimientos cianoalgales son eventos de gran importancia debido a que han llegado a provocar la disminución de la diversidad y la modificación de las interacciones entre las comunidades microbianas registrados en México (Cantoral, et al., 2017). La dinámica que se presenta en el ciclo completo de una floración en el ecosistema marino ha sido documentada para de esta forma lograr identificar a los grupos taxonómicos de arqueobacterias, bacterias y microeucariotes asociados, así mismo, se lograron establecer interacciones tanto positivas como negativas entre ellos (Zhou, et al., 2018). En cambio, en el sistema lacustre fueron determinadas redes de co-ocurrencia entre comunidades procariontes y eucariotes durante la floración (Mikhailov, et al., 2018).

## II. MARCO TEÓRICO

### A. Floraciones algales

Las floraciones algales son eventos de origen natural de alta productividad y conforman el ciclo anual del fitoplancton que es producido en primavera, verano u otoño. El florecimiento de algas puede resultar favorable puesto que ayudan a la activación de la cadena alimentaria en los cuerpos de agua, sin embargo, en algunas ocasiones dichos florecimientos provienen de especies que dañan a otros organismos debido a la gran cantidad de biomasa que suelen presentar o por la producción de toxinas, los cuales se denominan floraciones de algas nocivas (FAN) (Cortés, et al., 2019).



**Fig. 1.** Floración algal nociva en aguas dulces. Presa El Palote, León Guanajuato.

### *B. Cambios ambientales que estimulan la aparición de floraciones cianobacteriales*

El cambio climático está transformando los ecosistemas acuáticos teniendo como consecuencia un progresivo calentamiento, acidificación y desoxigenación los cuales se irán intensificando de forma paulatina con el paso del tiempo. Uno de los principales resultados que llega a tener el cambio climático es el crecimiento de algunos organismos que son importantes indicadores biológicos de la cadena del agua. Sin embargo, existen grupos taxonómicos que bajo ciertas condiciones presentan la capacidad de formar florecimientos o crecimientos algales descontrolados que llegan a ser nocivos (Glober, 2020). Debido a que el calentamiento del agua en océanos es de forma desigual, es probable que los cambios impulsados por la temperatura en las distribuciones de HAB varíen a lo largo de las costas y entre las cuencas oceánicas (Gobler, *et al.*, 2017).

### *C. Parámetros fisicoquímicos que favorecen la aparición de florecimientos cianobacteriales*

En ocasiones los cuerpos de agua se ven afectados por diferentes aspectos, por ejemplo, por su composición física, química y/o biológica. Dichos aspectos provocan una alteración en florecimientos cianobacteriales. Estos florecimientos presentan un crecimiento de acuerdo con ciertos parámetros fisicoquímicos del agua y también a los cambios ambientes (Ochoa, 2017). Entre los principales se encuentran los cambios de estación los cuales se dan principalmente en inicios de verano y otoño con condiciones calmadas o poco viento. Por otro lado, otros parámetros fisicoquímicos que llegan a afectar los cuerpos de agua para que haya un florecimiento algal son la temperatura que varía entre los 15-30 °C, el pH que se encuentra en un rango de entre 6-9 y la presencia de nutrientes como es el caso de nitrógeno y fosfato, pero en concentraciones en exceso (Cantoral, *et al.*, 2017).

En la presa El Palote ubicada, en León, Gto. México, se determinó la diversidad microbiana que presenta florecimientos algales por metagenómica con genes que codifican subunidades ribosomales 16S y 18S. Se determinó que el género dominante (>60%) fue *Planktothrix*. A partir de dichos resultados obtenidos, se determinó la estructura de las comunidades microbianas se encuentra asociadas a un florecimiento algal de género *Planktothrix agardhii-rubescens* (Valdés-Santiago, *et al.*, 2021).

## **III. METODOLOGÍA**

### *A. Colecta de muestras de agua de presas seleccionadas*

La recolecta de cada una de las muestras en las presas El Palote, El Conejo y La Purísima en el estado de Guanajuato, se realizó de acuerdo con lo establecido en la NOM 003-SEMARNAT-1997, las muestras se almacenaron a 4°C hasta ser procesadas. Los muestreos se realizan como se establece en la Norma Mexicana NMX-AA-003.

### *B. Características fisicoquímicas de las muestras de agua*

El pH se midió con un potenciómetro "JENWAY", así como la conductividad con un equipo portátil "Primo EC and TDS tester" marca HANNA Instruments. De cada una de las muestras recolectadas de las presas se realizará la cuantificación de nivel de nitrógeno y fósforo; en el caso del fósforo se emplea el kit "Phosphate test kit HI38061" intervalo 0.00 a 1 mg/L y 0.0 a 5 mg/L (ppm) de PO<sub>3</sub> y el caso del nitrógeno se emplea el kit "Nitrate test kit HI38050" intervalo de nitrato agua: 0-50 mg/L (ppm) suelo: 0-60 mg/L (ppm).

Para la determinación de nitrato y fosfato de las muestras recolectadas, se hizo por medio discos que contiene cada uno de los kits. Para determinar el nivel de fosfato a la muestra se le adiciono un reactivo HI 93713-0, se agita por 20 segundos, se deja reaccionar por 3 minutos para de esta manera obtener una coloración azul y al observarlo en el check disc junto a nuestro control se debe de nivelar el color y de esta manera se obtuvo el nivel de fosfato. En el caso del nitrato, a la muestra se le adiciono un reactivo HI 38050-0, se agita por 1 minuto, se deja reaccionar por 5 minutos para de esta manera obtener una coloración café y al observarlo en el check disc junto a nuestro control se debe de nivelar el color y de esta manera se obtuvo el nivel de nitrato.

#### C. Identificación a nivel morfológico de las comunidades microbianas

Se tomarán alícuotas de 50 ml de cada una de las muestras las cuales se almacenaron en botes de plástico con tapa a 4 °C, se adicionará Lugol al 1% hasta que adquieran color brandy, con esto se las células se fijan y conservan su morfología por largos periodos de tiempo. Se realizaron observaciones con ayuda del microscopio óptico.

## IV. RESULTADOS

Los parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua de las presas se presentan en la tabla 1.

Lugar	Coordenadas	pH	Conductividad (mS)	Oxígeno disuelto (DO2) mg/L	Temperatura (°C)
El Palote	21.173252, -101.696567	9.2 ± 0	0.275 ± 0.004	0.06 ± 0	26 ± 0
El Palote 2	21.173289, -101.696775	8.8 ± 0.08	0.29 ± 0	0.055 ± 0.004	26 ± 0
El Conejo	20.683774, -101.441197	7.3 ± 0.08	0.4 ± 5.6E-7	0.075 ± 0.004	20.5 ± 0
El Conejo 2	20.684236, -101.441164	7.05 ± 0.20	0.4 ± 5.6E-7	0.08 ± 0.008	19.25 ± 0.61
La Purísima	20.870121, -101.292898	8.55 ± 0.12	0.44 ± 0	0.06 ± 0	24 ± 0
La Purísima 2	20.871500, -101.293400	8.45 ± 0.04	0.45 ± 0	0.07 ± 0	25.25 ± 1.02

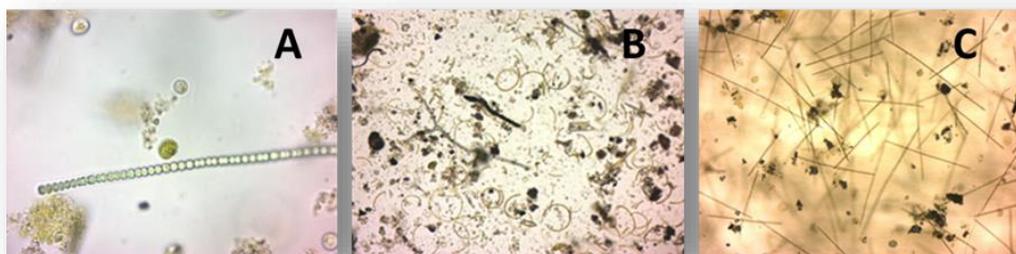
**Tabla 1.** Valores de parámetros fisicoquímicos obtenidos. Las muestras se midieron por cuadruplicado, en al menos dos puntos de cada presa.

En la tabla 2 se presentan los valores obtenidos de nivel de fosfato y nitrato de cada una de las presas.

Lugar	Nivel de fosfato mg/L	Nivel de nitrato mg/L
El Palote	$0.2 \pm 3.4E-17$	$0.01 \pm 0$
El Palote 2	$0 \pm 0$	$5 \pm 0$
El Conejo	$0.68 \pm 0$	$2.5 \pm 0$
El Conejo 2	$0.6 \pm 0$	$2.0 \pm 0$
La Purísima	$0.55 \pm 0$	$0 \pm 0$
La Purísima 2	$0.65 \pm 0$	$0 \pm 0$

**Tabla 2.** Valores de nivel de fosfato y nitrato obtenidos. Los niveles de cada muestra se midieron por triplicado para una mejor precisión.

Para la presa de La Purísima (Fig. 2a) se determinó que la especie que se encuentra presente es *Nodularia*; por otro lado, en la presa El Conejo (Fig. 2b) la especie determinada es *Dolichoespermun*; en cambio, en la presa El Palote la especie identificada fue *Planktothrix* (Fig. 2c).



**Fig. 2.** Morfología presente en presa La Purísima (A), presa El Conejo (B) y presa El Palote (C). Fotografías generadas en el laboratorio de Dra. Rosalba Alonso Rodríguez Laboratorio de Biotoxinas Marinas Servicios Académicos de Toxicología Unidad Académica Mazatlán ICML-UNAM.

## V. CONCLUSIONES

Las condiciones fisicoquímicas de las presas estudiadas pueden favorecer la aparición de floraciones cianobacterianas.

Las cianobacterias identificadas a nivel morfológico fueron *Nodularia*, *Dolichoespermun* (*Anabaena*) y *Planktothrix* (*Oscillatoria*).

Debe de tenerse presente que, al no tratar dichos florecimientos cianobacteriales, la calidad del agua va disminuyendo, presentando consecuencias en el ámbito de la salud y en actividades socioeconómicas, así como en el ecosistema acuático ya que provocan la disminución de la diversidad y modifican las interacciones entre las comunidades microbianas existentes en el medio, lo cual con el paso del tiempo tendrá como resultado la producción de toxinas denominadas floraciones de algas nocivas (FAN).

## VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Dra. Laura Valdés Santiago, al Dr. José Luis Castro Guillen, a la Dra. Rosalba Alonso Rodríguez, a mi compañera Andrea Alejandra Pantoja Cuenca y al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato por el apoyo brindado para lograr la elaboración de esta investigación durante la estancia del verano regional.

## REFERENCIAS

- [1] C.J. Glober. Climate Change and Harmful Algal Blooms: Insights and perspective. *Harmful Algae*. Vol. 91, pp. 1-3. 2020.
- [2] C. Gobler, O.M. Doherty, T.K. Hattenrath-Lehmann, A.W. Griffith, Y. Kang, R. Wayne Litaker. Ocean warming since 1982 has expanded the niche of toxic algal blooms in the North Atlantic and North Pacific oceans. *PNAS*, Vol. 114(19), p. 4975–4980. 2017.
- [3] E. Cantoral Uriza, A. Asencio Martínez, M. Aboal Sanjurjo. Cianotoxinas: efectos ambientales y sanitarios. Medidas de prevención. *Hidrobiológica*. Vol. 27(2), pp. 241-251. 2017.
- [4] EPA. Contaminación por nutrientes. US EPA. 2021.
- [5] H. Pintor. La importancia del AGUA en la Agenda 2030. *Comillas. edu*. 2021.
- [6] I.S. Mikhailov, Y.R. Zakharova, Y.S. Bukin, Y.P. Galachyants, D.P. Petrova, M.V. Sakirko, Y.V. Likhoshway. Co-occurrence Networks Among Bacteria and Microbial Eukaryotes of Lake Baikal During a Spring Phytoplankton Bloom. *Microbial Ecology*. Vol. 77, pp. 96–109. 2018.
- [7] L. Valdés-Santiago, J.N. García-Chávez, J.L. Castro Guillén. Caracterización de las comunidades microbianas asociadas a un florecimiento cianoalgal en una presa de León, Gto. México mediante secuenciación de regiones variables de los genes que codifican la Rarn 16S y 18S. *Hidrobiológica*. Vol. 31(1), pp 93-105. 2021.
- [8] L. Zhou, W. Chen, J. Sun, L. Liu, X. Huang. Spatial Variation in Bacterioplankton Communities in the Pearl River, South China: Impacts of Land Use and Physicochemical Factors. *Microorganisms*. Vol. 8, pp. 1-16. 2020.
- [9] M. Ochoa. Evaluación del crecimiento de cianobacterias en relación a los parámetros fisicoquímicos del agua en el lago Yasuraoka. Ecuador, Universidad técnica del norte facultad de ingeniería en ciencia agropecuaria y ambiental. 2017.
- [10] R. Cortés Altamirano, R. Alonso Rodríguez, D.A. Salas de León. Historical observations of algal blooms in Mazatlan Bay, Sinaloa, Mexico (1979-2014). *PLoS One*. Vol. 14, pp. 1-17. 2019.
- [11] R. Gil. Eutrofización. Carga crítica de fósforo. Universidad Politécnica de Valencia. 2019.
- [12] V. Mallia, L. Ivanova, G.S. Eriksen, E. Harper, L. Connolly, S. Uhlig. Investigation of In Vitro Endocrine Activities of *Microcystis* and *Planktothrix* Cyanobacterial Strains. *Toxins*. Vol. 12, pp. 1-15. 2020.

# ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE LAVANDA, LAUREL Y MORINGA SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Sandra Tiscareño Magallanes**

Centro de ciencias básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Avenida Universidad 940, Ciudad Universitaria, C.P. 20100, Aguascalientes, Ags  
[tiscmag.sandra@gmail.com](mailto:tiscmag.sandra@gmail.com)

**Dr. Angel Antonio Vértiz Hernández**

Coordinación Académica Región Altiplano,  
U.A.S.L.P., Carretera a Cedral Km 5 + 600,  
Matehuala, S.L.P. C.P. 78700  
[antonio.vertiz@uaslp.mx](mailto:antonio.vertiz@uaslp.mx)

**Olga Edith González Lugo**

Coordinación Académica Región Altiplano,  
U.A.S.L.P., Carretera a Cedral Km 5 + 600,  
Matehuala, S.L.P. C.P. 78700  
[olga.gonzalez@uaslp.mx](mailto:olga.gonzalez@uaslp.mx)

**Resumen** — Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de *Lavandula angustifolia miller*, *Laurus nobilis* y *Moringa oleifera* sobre dos cepas de *Staphylococcus aureus*, una sensible y una resistente a meticilina. Para la medición de la actividad antimicrobiana se usó el método de difusión en disco también llamado el método de Kirby-Bauer. Teniendo como resultado que el *L. nobilis* presentó halos de inhibición entre 9 y 11 mm, *Moringa oleifera* presentó halos de inhibición de 8 mm para ambas cepas; por otro lado, *Lavandula angustifolia miller* solo presentó inhibición en la cepa sensible a meticilina. Por tanto, los extractos evaluados son una fuente importante para la búsqueda de nuevos antibióticos de origen natural sobre todo para combatir aquellos microorganismos que presentan resistencia bacteriana.

**Palabras clave** — Extractos metanólicos, *Staphylococcus aureus*, actividad antimicrobiana

**Abstract** — The antimicrobial activity of the methanolic extracts of *Lavandula angustifolia miller*, *Laurus nobilis* and *Moringa oleifera* was evaluated on two strains of *Staphylococcus aureus*, one sensitive and one resistant to methicillin. For the measurement of antimicrobial activity, the disk diffusion method, also called the Kirby-Bauer method, was used. Having as a result that *L. nobilis* presented inhibition halos between 9 and 11 mm, *Moringa oleifera* presented inhibition halos of 8 mm for both strains; on the other hand, *Lavandula angustifolia miller* only showed inhibition in the methicillin-sensitive strain. Therefore, the extracts evaluated are an important source for the search for new antibiotics of natural origin, especially to combat those microorganisms that present bacterial resistance.

**Keywords** — methanolic extracts, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial activity

## I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a antimicrobianos se refiere a los procesos que presentan los microorganismos (bacterias, virus, hongos y parásitos) que inciden y hacen ineficaces a los medicamentos utilizados en su tratamiento. La resistencia a los antimicrobianos puede ser natural o adquirida [1]. Algunos organismos tienen la capacidad de crear una

resistencia a los antibióticos que se usan comúnmente o por el abuso en el consumo de estos.

En la actualidad, *Staphylococcus aureus* es uno de los microorganismos que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones hospitalarias y comunitarias, además es uno de los patógenos nosocomiales de mayor importancia, causante de una gran variedad de enfermedades en humanos y animales. En los últimos años se ha observado un incremento progresivo de infecciones producidas por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM), estas infecciones adquiridas en la comunidad pueden desarrollar diferentes enfermedades, siendo las más comunes en la piel y tejidos blando. En las cepas de SARM la resistencia es conferida por una proteína de unión a la penicilina (PBP) denominada PBP2a o PBP2, la cual no se encuentra en las cepas de *S. aureus* susceptibles a meticilina (SASM) [2].

Debido a la resistencia a los antibióticos que se presenta en la actualidad, se busca la manera de encontrar en la naturaleza compuestos que tengan capacidad antimicrobiana [3]. Así, la *Lavandula angustifolia* Miller (*lavanda*) es una planta que se emplea como sedante, relajante, antiséptico y cicatrizante [4]. Por otro lado, el *Laurus nobilis* (laurel) es una planta de importancia industrial, utilizada en alimentos, medicamentos y cosméticos. De acuerdo a la medicina tradicional, la *Moringa oleífera* es usada como antimicrobiano, antioxidante, antipirético y antineoplásico [5].

## II. OBJETIVO

Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de *Lavandula angustifolia* Miller, *Laurus nobilis* y *Moringa oleífera* sobre *Staphylococcus aureus* meticilin resistente y una cepa de referencia sensible a meticilina.

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

**Extractos metanólicos:** Las plantas de laurel, lavanda y moringa fueron recolectadas en la región Altiplano del estado de San Luis Potosí. El método empleado para la preparación de los extractos fue por maceración. Se pesaron 10 gr de cada planta a las cuales se añadieron 50 ml de metanol y se dejaron en reposo por 1 semana al abrigo de la luz.

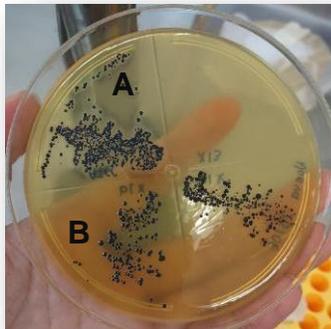
**Cepas bacterianas:** Se utilizaron dos cepas bacterianas, la cepa SARM (x19) fue aislada de muestras clínicas y la cepa sensible a meticilina (ATCC 25923). Las cuales fueron reactivadas en medio Baird Parker e incubadas a 36°C por 48 horas. Se realizó una tinción de Gram para verificar las características morfológicas de *S. aureus*. Después, se sembró un inóculo en agar Mueller Hinton y se verificó la sensibilidad a eritromicina y penicilina. Posterior a ello, se preparó un inóculo estándar con una medida de 0.5 en la escala de Mc Farlane que equivale a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml. Para esto, se colocaron en un tubo 5 ml de solución salina y algunas asadas de bacterias, se agitó y se procedió a una lectura

en el espectrofotómetro empleando una longitud de onda de 594 nm y se ajustó a una absorbancia entre 0.08-0.1.

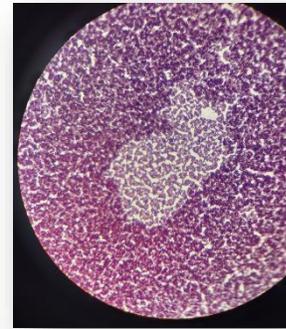
**Actividad antimicrobiana:** Se utilizó el método de difusión en disco, donde se usaron discos de papel filtro con un diámetro de 7mm. Estos discos fueron impregnados con 50 y/o 100 µl de los extractos de laurel, lavanda y moringa de forma individual. Para los discos de 50 µl se colocaron en 3 aplicaciones (20, 15 y 15 µl); mientras que para los de 100µl se colocaron 4 aplicaciones (20, 20, 30 y 30 µl) con un intervalo de secado de 30 min entre cada aplicación. Se emplearon discos impregnados con metanol y sometidos al mismo proceso de secado como control. Después se dejaron al abrigo de la luz por 24 horas o hasta su uso. El inóculo estandarizado fue sembrado empleando un hisopo estéril en agar Mueller Hinton, se colocaron los discos impregnados con los diferentes extractos para después ser incubada a 36°C por 18 horas. La lectura de los resultados consistió en medir el diámetro de los halos de inhibición incluyendo el disco [6].

#### IV. RESULTADOS

Se obtuvieron extractos metanólicos de *Lavandula angustifolia* Miller, *Laurus nobilis* y *Moringa oleífera* de una concentración de 200 mg/ml que pueden ser empleados para evaluar su actividad antibacteriana. La reactivación de las cepas dio como resultado el crecimiento de colonias pequeñas, muy redondas, brillantes, con un color oscuro el cual va entre un azul y un negro (Figura 1). Los resultados de la tinción Gram (Figura 2) muestran la presencia de cocos de color púrpura lo cual indica la presencia de un microorganismo Gram positivo que aparece en parejas, en cadenas o racimos. Toda vez que se confirmó la pureza del cultivo, se procedió a hacer las pruebas de sensibilidad microbiana. Se confirmó la resistencia a meticilina de la cepa SARM y la sensibilidad a la misma de la cepa sensible.



**Figura 1.** *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker. A) ATCC 25923, B) SARM.



**Figura 2.** *Staphylococcus aureus* con tinción Gram, imagen obtenida en microscopio óptico (1000X).

Los extractos metanólicos de *Laurus nobilis* y *Moringa oleífera* presentan efecto inhibitorio sobre el crecimiento de SARM (Tabla 1). Se puede observar que el efecto antibacteriano de *L. nobilis* (10 y 11 mm) es mayor que el producido por *M. oleífera* (8

mm) sobre SARM. En la Figura 3 se muestran los cultivos de SARM sobre los cuales se colocaron los discos impregnados con el extracto de *L. nobilis*, se puede observar un área proximal al papel filtro de forma circular donde no hubo crecimiento de esta forma se considera que el extracto en estudio tiene propiedades antimicrobianas.

Por otro lado, los tres extractos muestran efecto inhibitorio sobre la cepa sensible a meticilina (Tabla 1). Obteniendo halos de inhibición de 9-10 mm de diámetro cuando se emplea el extracto de *L. nobilis*, siendo este efecto mayor que el encontrado con los extractos de *L. angustifolia miller* (8 mm) y *M. oleífera* (8 mm). En la figura 4 pueden observarse los cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en agar Mueller Hinton sobre los cuales se evaluó el efecto del extracto de *L. nobilis* (50 y 100 µl), se observa claramente la zona de inhibición producto de la interacción entre el extracto y la bacteria. Lo cual apunta a que ambas cepas de *S. aureus* son sensibles al extracto de *L. nobilis*. El extracto de *M. oleífera* presenta efecto sobre ambas cepas pero con menor diámetro de inhibición.

<b>Tabla 1.</b> Halo de inhibición correspondientes al efecto antibacteriano de los extractos sobre <i>S. aureus</i>		
<b>Extracto</b>	<b>Cepa</b>	
	<b>SARM</b>	<b>ATCC 25923</b>
<b><i>Laurus nobilis</i></b> 50µl 100µl	10mm 11mm	10mm 9mm
<b><i>Lavandula angustifolia Miller</i></b> 100µl	-	8mm
<b><i>Moringa oleífera</i></b> 100µl	8mm	8mm



**Figura 3.** Efecto antibacteriano del extracto de *Laurus nobilis* sobre SARM. A) Metanol, B) *L. nobilis* (50 µl) y C) *L. nobilis* (100 µl)



**Figura 4.** Efecto antibacteriano de extracto de *Laurus nobilis* sobre *S. aureus* sensible a meticilina (ATCC 25923). A) Metanol, B) *Laurus nobilis* (50 µl), C) y *Laurus nobilis* (100 µl).

## V. ANALISIS DE RESULTADOS

La proliferación de enfermedades causada por microorganismos patógenos es una preocupación generalizada que constituye un factor de riesgo para la salud pública, es por esto que se buscan fuentes naturales que inhiban el crecimiento bacteriano; descubriendo en las plantas compuestos bioactivos para tal fin [7]. Lo cual justifica el uso de extractos metanólicos de plantas para evaluar su actividad antimicrobiana.

Los resultados de la prueba de sensibilidad demostraron que todos los extractos tienen actividad antibacteriana, sin embargo, esta puede variar frente a distintos microorganismos. En el presente trabajo, el extracto de *Laurus nobilis* demostró tener mayor efecto antimicrobiano en comparación con los otros dos, y fue efectivo para combatir ambas cepas utilizadas. Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Rodas-Espinoza et al. (2017) [6] en donde se evaluó la actividad antimicrobiana de *L. nobilis* frente a *S. aureus* ATCC 25923 reportando halos de inhibición de 3.5-4 mm empleando discos de papel filtro de 3 mm. En este sentido, cabe destacar que en el presente proyecto se obtuvieron halos de inhibición de 9-10 mm (discos de 7 mm) por lo que, el efecto antibacteriano fue superior. En el caso de SARM los resultados concuerdan con los reportados por Otsuka et al. (2008) [8] quienes obtuvieron un extracto metanólico de *L. nobilis* con una fuerte actividad antibacteriana contra SARM. Posteriormente, extrajeron los compuestos de interés y los identificaron como kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-(2",4"-di-E-p-cumaril)-ramnósido y kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-(2"-Z-p-cumaril-4"-E-p-cumaril)-ramnósido. Existe la posibilidad de que el extracto empleado en el presente estudio pueda contener estos compuestos y que la presencia de estos permita observar el efecto antibacteriano contra SARM. El extracto de *Lavandula angustifolia miller* mostró actividad sobre la cepa sensible a meticilina. Este resultado es similar al obtenido por Bayoub et al., (2010) [9] quienes evaluaron el efecto antimicrobiano de un extracto etanólico de *L.*

*angustifolia miller* y encontraron un débil efecto inhibitorio sobre *S. aureus* ATCC 25923. El extracto de *Moringa oleífera* mostró tener efecto sobre ambas cepas de *S. aureus*, resultado semejante al reportado por Oliveira-Peixoto et al., 2011 [10] que manifiesta el efecto inhibitorio de un extracto etanólico (50% v/v) sobre *S. aureus* ATCC 25923.

## VI. CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de *Laurus nobilis* y *Moringa oleífera*, presentan actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* meticilin resistente y sobre la cepa sensible a meticilina, mientras que el extracto de *Lavandula angustifolia Miller* presentó efecto sobre la cepa sensible a meticilina.

## VII. RECONOCIMIENTOS

Agradezco a la UASLP Coordinación Académica Región Altiplano por abrirme sus puertas y brindarme un espacio para llevar a cabo todos los análisis requeridos y en especial a la Dra. Olga Edith González Lugo por toda su dedicación y apoyo que me brindo a lo largo de esta investigación.

## REFERENCIAS

- [1] L. Camacho-Silvas, J. H Portillo-Gallo, A. E. Rivera-Cisneros, J. M. Sánchez-González, R. Franco-Cendejas, J. Duque-Rodríguez, C. Ishida-Gutiérrez, (2021). Multirresistencia, resistencia extendida y resistencia a antibacterianos en el norte de México. *Cirugía Y Cirujanos*, 89(4). <https://doi.org/10.24875/ciru.20000304> [consultado en 2022]
- [2] E. Cervantes-García, R. García-González, P. M. Salazar-Schettino. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2014;61(1):28-40. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf> [consultado en 2022]
- [3] A. Azuero., C. Jaramillo, D. San Martin., & D. D'Armas Regnault, (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador. *CIENCIA UNEMI*, 9(20), 11-18. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p> [consultado en 2022]
- [4] P. Moreiro López (2013). *Lavanda*. monográfico No. 5. <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=2EEPEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=lavanda+%ots=WuQtLYGP85&sig=3h64CD3vqPKpRPV-YMwJ-xedfl#v=onepage&q=lavanda&f=false> [consultado en 2022]
- [5] Stohs SJ, Hartman MJ. Review of the safety and efficacy of *Moringa oleífera*. *Phyther Res*. 2015;29(6):796–804. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6680322/>
- [6] Rodas Espinoza S, Ricaurte Ortiz P, Mejia Lopez A. Evaluation of the antimicrobial capacity of the leaves of *Laurus nobilis* and *Thymus vulgaris*. *Cienc Unemi*. 2017;10(24, SI):46–50. <https://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/557>
- [7] Corzo Barragán, DC., Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [Internet]. 2012;43(3):81-86. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57928310009>
- [8] Otsuka N, Liu MH, Shiota S, Ogawa W, Kuroda T, Hatano T, et al. Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) compounds isolated from *Laurus nobilis*. *Biol Pharm Bull*. 2008;31(9):1794–7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18758079/>
- [9] Bayoub K., T. B, D. M, Retmane A., A. S. Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *African J Biotechnol* [Internet]. 2010;9(27):4251–8. Available from: [http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L359229951%5Cnhttp://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2010/5Jul/Bayoub et al.pdf](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L359229951%5Cnhttp://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2010/5Jul/Bayoub%20et%20al.pdf)
- [10] Peixoto JRO, Silva GC, Costa RA, de Sousa Fontenelle J res L, Vieira GHF, Filho AAF, et al. In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4(3):201–4. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21771453/>

# ANÁLISIS COMPARATIVO DE ANATOMÍA VEGETAL DE AGAVE AMERICANA Y AGAVE RHODACANTHA

**José Eduardo de Luna de la Serna**  
Benemérita Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Dirección de institución (Arial 9 pt)  
[joseedua1998@hotmail.com](mailto:joseedua1998@hotmail.com)

**Mahinda Martínez y Díaz de Salas**  
Universidad Autónoma de Querétaro  
Dirección de institución (Arial 9 pt)  
[mahinda@uaq.mx](mailto:mahinda@uaq.mx)

**Resumen** — Los objetivos del presente trabajo se enfocaron en analizar, con diferentes técnicas histológicas, la anatomía de especies vegetales de agaves identificando estructuras de resistencia a estrés, así como diferencias y similitudes entre cada una de las especies (*A. americana* y *A. rhodacantha*). Dichas técnicas se basaron en la literatura que hace referencia a fijaciones basadas en deshidratación para embeber en parafina, tinciones de cortes histológicos basados en safranina y verde rápido, mostrando estructuras de resistencia a sequía en ambas especies vegetales, diferencias significativas tanto en el haz como en el envés de la hoja, dentro de las estructuras que guardaron similitud fue la epidermis, que mostro la misma cantidad de estomas. .

**Palabras clave** — Agaves, Estructuras, Resistencia

**Abstract** — The objectives of this work focused on analyzing, with different histological techniques, the vegetal anatomy of agaves, identifying structures of resistance to stress, as well as differences and similarities of the species (*A. americana* and *A. rhodacantha*). These techniques were based on the literature that refers to fixations based on dehydration to embed in paraffin, staining of histological sections based on safranin and fast green, showing structures of resistance to drought in both plant species, significant differences in both the bundle and the underside of the leaf, within the structures that kept similarity was the epidermis, which showed the same number of stomata.

**Keywords** — Agaves, Structures, Resistance

## I. INTRODUCCIÓN

En México, los agaves, han sido objeto de muchos usos a lo largo de toda su historia; desde civilizaciones antiguas hasta la actualidad, se han usado como alimento, bebida, vestimenta, ornato e inclusive como combustible, entre otros. Debido a la gran cantidad de usos a los que se destinan, los agaves tienen gran importancia para la población mexicana, aunado a su relevancia ecológica como integrantes de la flora de México. A pesar de esto se han realizado muy pocos estudios en cuanto a su conservación y cuidado [4].

El género *Agave* tiene una distribución desde el sur de los Estados Unidos de América hasta Venezuela, por lo tanto, es un género endémico del continente americano; hay aproximadamente 200 especies, el 75 % de las cuales se encuentran en territorio mexicano, alcanzando una cifra de 129 taxa endémicos de México, por lo que es considerado como el centro origen de este género [6].

Los grupos humanos que se asentaron en estas regiones desarrollaron uno de los principales centros agrícolas de América. Al aprovechar los magueyes, estos pueblos

hicieron de México su centro de domesticación y diversificación. Además de seleccionarlos por sus fibras o aguamiel, los que presentaban mayores concentraciones de azúcar fueron identificados y manejados para asegurar el abastecimiento del mexcalli (mezcal). [1]

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### Toma de muestras

Se tomaron muestras de hojas y bulbillos de *A. americana* y *A. rhodacantha* respectivamente del jardín botánico de la Universidad Autónoma de Querétaro.

### Corte, fijación y deshidratación de tejido vegetal.

Se cortaron hojas en forma transversal tanto de *A. americana* como de *A. rhodacantha*, de igual forma se cortaron longitudinalmente los tallos de bulbillos de *A. rhodacantha*. Dichos cortes se fijaron con solución FAA sumergiéndolas durante 24 horas. Posteriormente se colocaron las muestras en el tren de deshidratación en soluciones de alcohol en concentraciones de 50% durante 4 horas, 70% durante 14 horas, 85% durante 4 horas, 85% durante 4 horas, 95% durante 4 horas, 95% durante 4 horas y alcohol terbutílico (TBA) durante 6 horas. Posteriormente se colocaron en el horno sumergiendo las muestras en parafina por 24 horas.

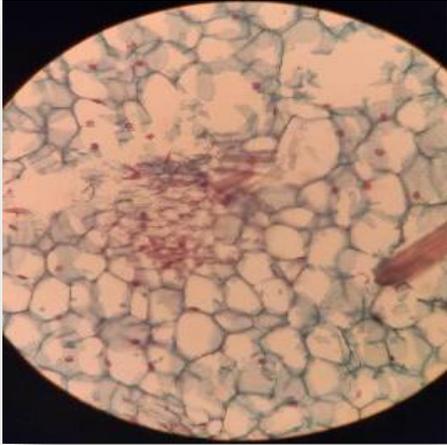
### inclusión en parafina

Los cortes sumergidos en parafina se incluyeron en bloques de parafina para después proceder a realizar cortes de 12 micras con el uso del microtomo para después colocar los cortes colocarlos en portaobjetos con la ayuda del baño maría. Después se dejaron secar durante 24 horas.

### Tinción y montaje de cortes histológicos basado en safranina y verde rápido

Se colocaron las muestras en un tren de tinción iniciando con histoclear puro, alcohol absoluto, alcohol al 95%, alcohol al 70%, alcohol al 50% durante 10 minutos. Después se sumergieron las laminillas en safranina O y se colocaron en el horno de microondas por 15 minutos. Se enjuagaron las muestras en agua para después sumergirlas de 5 a 6 veces en alcohol al 70%, alcohol al 90% y alcohol absoluto. Posteriormente se sumergieron las muestras en verde rápido por 5 segundos, se sumergieron 10 veces en solución de enjuague, se dejó por 10 minutos en solución aclaradora y se dejó por 15 minutos en histoclear puro para proceder al montaje de las laminillas.

### III. RESULTADOS



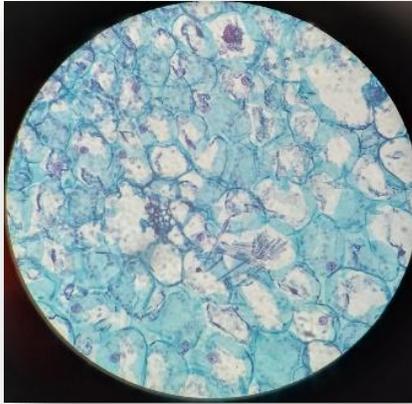
**Imagen 1.** Corte longitudinal de tallo de *Agave rhodacantha*. Se observan droseras y paquetes de rafidios en células de parénquima



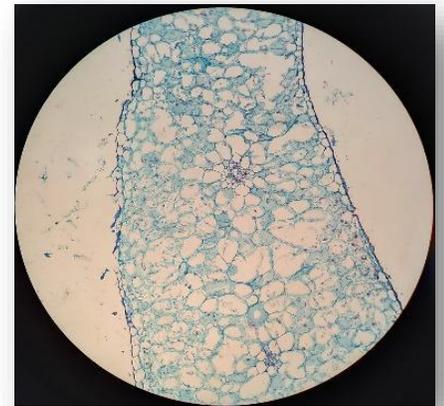
**Imagen 2.** Corte longitudinal de tallo de *Agave americana*. Se observan droseras y paquetes de rafidios en células de parénquima.



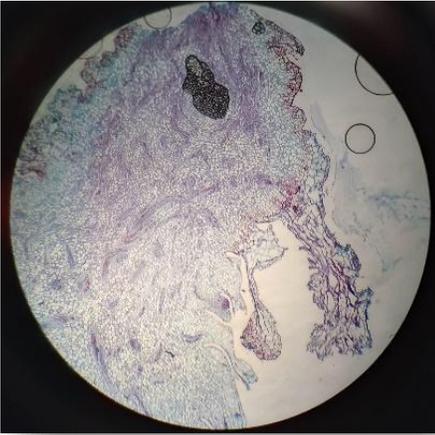
**Imagen 3.** Corte transversal de hoja de *A. americana*. Se observa las células epidérmicas y la cutícula



**Imagen 4.** Corte transversal de hoja de *A. americana*. Se observan droseras y paquetes de rafidios en células de parénquima.



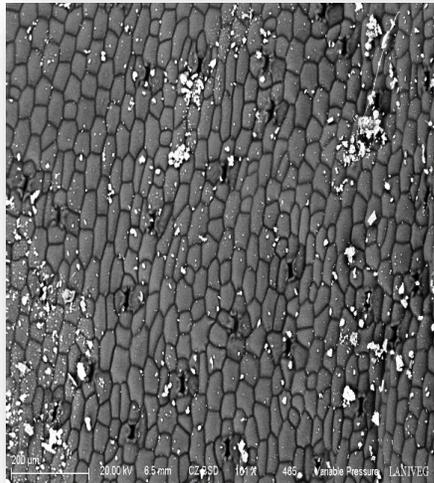
**Imagen 5.** Corte transversal de hoja de *A. americana*. Se observan los haces vasculares, epidermis y estomas.



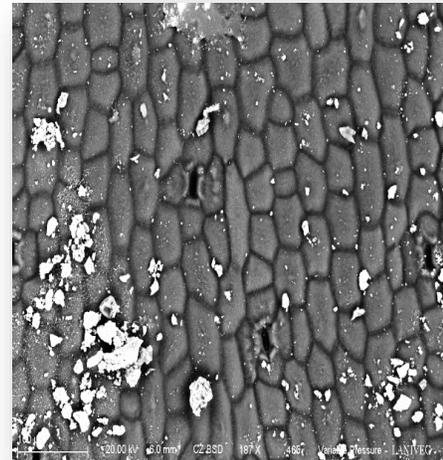
**Imagen 6.** Corte longitudinal de tallo *A. rhodacantha*. Se observan células del meristemo apical



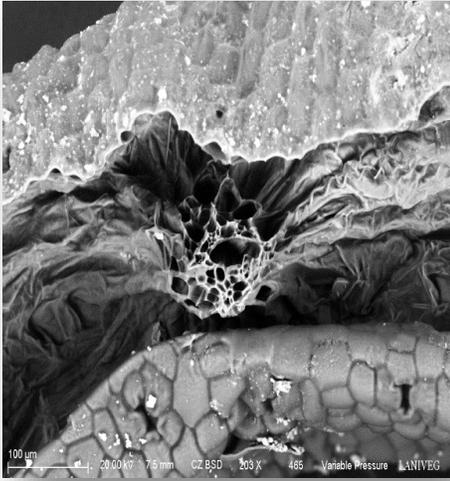
**Imagen 7.** Corte transversal de hoja de *A. rhodacantha* vista en microscopio electrónico de barrido en el cual se observan paquetes de rafidios.



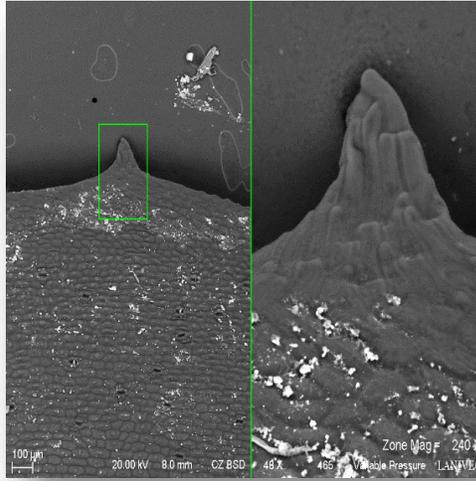
**Imagen 8.** Envés de hoja de *A. rhodacantha* en el cual se observa una mayor cantidad de estomas en comparación del haz y del envés de *A. americana*



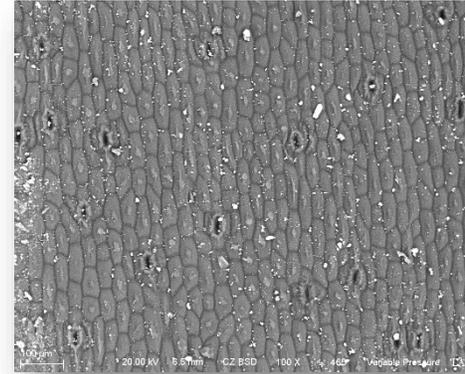
**Imagen 9.** Envés de hoja de *A. americana* vista en microscopio electrónico de barrido en el cual se observa una mayor cantidad de estomas en comparación del haz



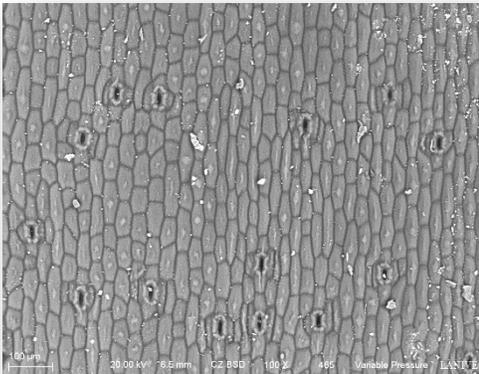
**Imagen 10.** Corte transversal de hoja de *A. rhodacantha* vista en microscopio electrónico de barrido. La imagen esta conformada por la epidermis, el parénquima y haces vasculares



**Imagen 11.** Corte transversal de hoja de *A. rhodacantha* vista en microscopio electrónico de barrido. Se logra observar a los estomas, cera, células epidérmicas y una espina



**Imagen 12.** Haz de hoja de *A. americana* vista en microscopio electrónico de barrido. Donde se observa una menor cantidad de estomas en comparación del envés de *A. americana*, pero en mayor cantidad en comparación del envés de *A. rhodacantha*



**Imagen 13.** Haz de hoja de *A. rhodacantha* vista en microscopio electrónico de barrido. Se observa una menor cantidad de estomas en comparación del envés e incluso en comparación del envés de *A. americana*

#### IV. DISCUSIÓN

La anatomía foliar tiene una estrecha relación con las vías bioquímicas que utilizan las especies de agaves para realizar la fotosíntesis y las características anatómicas de cada vía fotosintética se muestran en todos los órganos de la planta [3]

Los rafidios son cristales conformados por oxalato de calcio que se encuentran en las células del parénquima de las angiospermas los cuales suponen una respuesta a estrés biótico, particularmente en este caso se encuentran en el parénquima de las hojas tanto de *A. americana* como de *A. rhodacantha* (imagen 1, 2 y 7), esto se debe a que las condiciones bióticas a las que se sometieron estos agaves fueron muy similares al encontrarse muy cercanos entre si [2]

Las plantas pueden llegar a acumular rafidios debido a que sintetizan ácido oxálico en respuesta a altos niveles de calcio. Se menciona que las plantas utilizan los rafidios para inactivar el ácido oxálico debido a la toxicidad que este representa [5].

#### V. CONCLUSIONES

Las estructuras anatómicas de ambas especies mostraron una gran similitud, además de tener conformaciones sumamente similares mostraron estructuras de resistencia de la misma manera

#### VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Estoy totalmente agradecido con la Universidad Autónoma de Aguascalientes y con la Universidad Autónoma de Querétaro, así como con sus investigadores por brindarme la oportunidad de obtener un mayor conocimiento y experiencia en el área de la ciencia.

#### REFERENCIAS

- [1] CONABIO. (s/f). Fichas técnicas de los agaves de Oaxaca. Gob.mx. Recuperado el 3 de noviembre de 2021, de [http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/NE012\\_Anexo\\_Fichas\\_agave.pdf](http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/NE012_Anexo_Fichas_agave.pdf)
- [2] Font Quer, P. (1982). Diccionario de Botánica. 8ª reimpresión. Barcelona: Editorial Labor, S. A. 84-335-5804-8.
- [3] Fontúrbel, F. 2001. Fotosíntesis CAM. La revista 4: 2-6. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia
- [4] García-Mendoza, A.J. (2007). Los Agaves de México. Ciencias. 87:14-23
- [5] Tovar-Puente, A., Pando-Moreno, M., González-Rodríguez, H. Scott-Morales, L. Méndez-Gallegos, S. 2007. Densidad de cristales de oxalato de calcio en quince cultivares de nopal. J. PACD
- [6] Velasco- Bautista, E., Zamora-Martínez, M.C., Espinosa Paz, H., Sampayo Bautista, C., Moreno Sánchez, F. (2009). Modelos predictivos para la producción de productos forestales no maderables: agaves mezcaleros. INIFAP

# ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE *RUTA GRAVEOLENS* Y *AZADIRACHTA INDICA* SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Araceli Alvarado Aguilera**

Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas  
Avenida universidad 904, Ciudad Universitaria, C.P. 20100, Aguascalientes, Ags.  
[araceli08aa@hotmail.com](mailto:araceli08aa@hotmail.com)

**Dr. Angel Antonio Vértiz Hernández**

Universidad Autónoma de San Luis Potosí,  
Coordinación Académica Región Altiplano.  
Carretera a Cedral Km 5 + 600, Matehuala, C.P.  
78700, San Luis Potosí, S.L.P.  
[antonio.vertiz@uaslp.mx](mailto:antonio.vertiz@uaslp.mx)

**Dra. Olga Edith González Lugo**

Universidad Autónoma de San Luis Potosí,  
Coordinación Académica Región Altiplano.  
Carretera a Cedral Km 5 + 600, Matehuala, C.P.  
78700, San Luis Potosí, S.L.P.  
[olga.gonzalez@uaslp.mx](mailto:olga.gonzalez@uaslp.mx)

**Resumen** — Se determinó la actividad antimicrobiana in vitro de extractos metanólicos de *Ruta graveolens* y *Azadirachta indica* sobre dos cepas de *Staphylococcus aureus*. Se evaluó el extracto total mediante pruebas de difusión en discos también conocido como método Kirby – Bauer. Los resultados muestran que con un volumen de 100  $\mu$ L de un extracto de *Ruta graveolens* (200 mg/ml), presenta halos de inhibición de 13 mm y 9 mm sobre *Staphylococcus aureus* meticilin resistente y sensible a meticilina, respectivamente. *Azadirachta indica* produce halos de inhibición de 8 mm sobre *Staphylococcus aureus* meticilin resistente. Por lo tanto, se determinó que ambos extractos presentan potencial antibacteriano.

**Palabras clave** — *Ruta graveolens*, *Azadirachta indica*, *Staphylococcus aureus* meticilin resistente

**Abstract** — The in vitro antimicrobial activity of methanolic extracts of *Ruta graveolens* and *Azadirachta indica* on two strains of *Staphylococcus aureus* was determined. The total extract was evaluated by disc diffusion tests also known as Kirby - Bauer method. The results show that with a volume of 100  $\mu$ L of an extract of *Ruta graveolens* (200 mg/ml), it presents inhibition halos of 13 mm and 9 mm on methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, respectively. *Azadirachta indica* produces inhibition halos of 8 mm on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Therefore, both extracts were determined to have antibacterial potential.

**Keywords** — *Ruta graveolens*, *Azadirachta indica*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

## I. INTRODUCCIÓN

*Staphylococcus aureus* es un patógeno Gram positivo, que pertenece a la familia *Staphylococcaceae*, es una bacteria esférica de aproximadamente 1  $\mu$ m de diámetro. A menudo está presente de forma asintomática en partes del cuerpo humano como la piel, las glándulas cutáneas y las membranas mucosas. [1,2]. El fenómeno de la resistencia a la meticilina en las cepas de *Staphylococcus aureus* (SARM), se caracteriza por una proteína de unión a la penicilina alterada que tiene afinidad reducida por la meticilina lo que permite a la bacteria continuar la síntesis de peptidoglicanos sin interrupciones en presencia de este fármaco. *S. aureus* es considerado uno de los principales patógenos en constante evolución, es una bacteria que se adapta rápidamente a diferentes condiciones ambientales gracias a su capacidad de cambio en la sensibilidad a los antimicrobianos y a la diversidad de factores de virulencia que posee, tanto bioquímicos

como estructurales; se le considera un patógeno perfecto equipado para colonizar, invadir y diseminarse [3, 4].

En la actualidad, la fitoterapia se está revalorizando como una terapéutica suave y no agresiva, con márgenes terapéuticos amplios para tratar afecciones leves o moderadas, así como enfermedades crónicas [5]. En este sentido, la *Ruta graveolens* es oriunda del Mediterráneo y del Asia menor, es una planta subarborescente, aromática y perenne. La *Ruta graveolens* tiene posibilidades de ser una fuente de fitofármacos con acción antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena y antimicrobiana, que pueden presentar menos efectos adversos que algunos fármacos [6]. A su vez, el árbol de Neem (*Azadirachta indica*) pertenece a la familia *Meliaceae*, es de crecimiento rápido, presentan frutos de drupas verdes que se torna de color amarillo al madurar. Se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antifúngicas, antibacterianas, antitumorales y hepatoprotectoras [7]. Por lo tanto, *Ruta graveolens* y *Azadirachta indica* muestran potencial como antibacterianos.

## II. OBJETIVO

Evaluar la eficacia antimicrobiana de los extractos metanólicos de *Ruta graveolens* y *Azadirachta indica* sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente y una sensible a meticilina.

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

*Material vegetal y extractos metanólicos.* Se recolectaron hojas de *Ruta graveolens* y *Azadirachta indica* de plantas localizadas en la región Altiplano del estado de San Luis Potosí. El método empleado para la preparación de los extractos fue por maceración. Se pesaron 10 gr de cada planta a las cuales se añadieron 50 ml de metanol y se dejaron en reposo por una semana al abrigo de la luz.

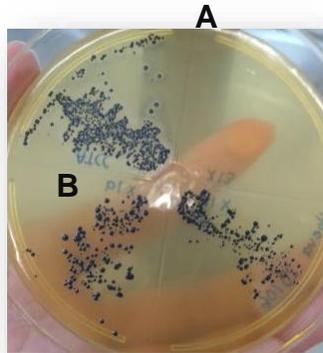
*Cepas bacterianas y su reactivación.* Se utilizaron dos cepas de *Staphylococcus aureus* una sensible (ATCC 25923) y otra resistente a meticilina (X19). Las cepas de *S. aureus* fueron reactivadas colocando un inóculo de estas en agar Baird Parker, los cultivos fueron incubados a 35°-37°C por 48 horas. Posterior al periodo de incubación se realizó una tinción Gram. Para verificar la resistencia a antibióticos se emplearon penicilina y eritromicina.

*Análisis de sensibilidad.* Las pruebas de sensibilidad se llevaron a cabo por el método de difusión en discos. Se empleó un inóculo estandarizado con una medida de 0.5 en escala de Mc Farland o de  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml, para esto se colocaron en un tubo 5 ml de solución salina y algunas asadas de bacterias, se agitó y se procedió a una lectura en el espectrofotómetro empleando una longitud de onda de 594 nm y se ajustó a una absorbancia entre 0.08-0.1 [8]. Se emplearon discos de papel filtro de 7 mm de diámetro los cuales se dejaron reposar en metanol y posteriormente se secaron en un horno a 180 °C por 30 minutos. Estos discos fueron impregnados con 50 y/o 100 µl de los extractos de *R. graveolens* y *A. indica* de forma individual. Para los discos de 50 µl se colocaron dos aplicaciones (20 y 30 µl); mientras que para los de 100µl se colocaron 4 aplicaciones

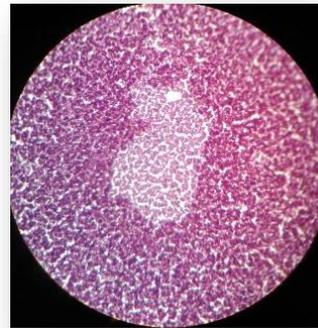
(20, 20, 30 y 30  $\mu$ l) con un intervalo de secado de 30 min entre cada aplicación. Los discos se mantuvieron al abrigo de la luz hasta su uso. Se emplearon discos impregnados con metanol como control. El inóculo estandarizado fue sembrado de forma masiva empleando un hisopo estéril en agar Mueller Hinton, se colocaron los discos impregnados con los diferentes extractos para después ser incubados a 36°C por 18 horas. La lectura de los resultados consistió en medir el diámetro de los halos de inhibición incluyendo el disco.

#### IV. RESULTADOS

Se obtuvieron extractos metanólicos de *Ruta graveolens* y *Azadirachta indica* con una concentración de 200 mg/ml, a partir de los cuales se realizaron las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana *in vitro*.



**Figura 1.** *Staphylococcus aureus* en medio Baird Parker. A) ATCC 25923, B) SARM.



**Figura 2.** *S. aureus* con tinción Gram, imagen obtenida en microscopio óptico (1000X).

La figura 1 muestra la reactivación de *S. aureus* (ATCC 25923) y SARM (X19) en agar Baird Parker. En donde se observan colonias pequeñas, brillantes, negras, redondas y rodeadas de una zona opaca características de la bacteria. Se procedió a realizar una tinción Gram, los resultados de la figura 2 muestran una tinción color púrpura lo cual indica la presencia de una bacteria Gram positiva con forma de coco que aparece en parejas, en cadenas o en racimos. Una vez que se confirmó la pureza del cultivo, se procedió a hacer las pruebas de sensibilidad microbiana con antibióticos. Se confirmó la resistencia a meticilina de la cepa SARM y la sensibilidad a la misma de la cepa sensible.

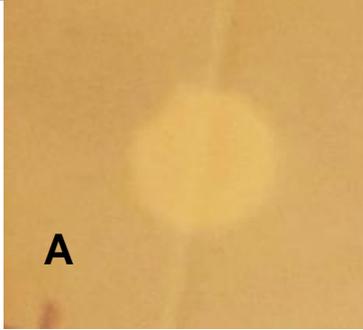
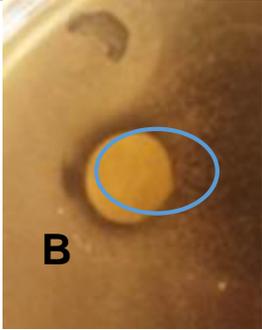
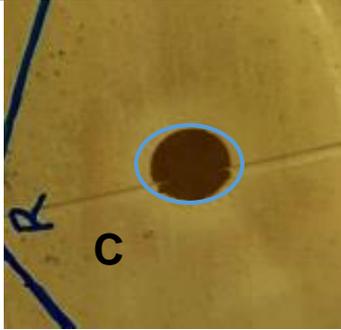
Los estudios de sensibilidad *in vitro* arrojan los siguientes resultados (Tabla 1). El extracto de *R. graveolens* muestra una inhibición notoria del crecimiento bacteriano de SARM (10 y 13 mm). En lo concerniente a la *S. aureus* sensible a meticilina (SASM), el extracto de *R. graveolens* muestra una inhibición del crecimiento bacteriano (8-9 mm), sin embargo, la cepa SARM es más sensible. En la Figura 3 y 4 se presentan los cultivos sobre los cuales se probó el extracto de *R. graveolens*, se puede observar un área

proximal al papel filtro de forma circular donde no hubo crecimiento; de esta forma se considera que tiene propiedades antimicrobianas. Además, se manifiesta que cuando se aumenta la cantidad de extracto, se observa un incremento en el diámetro de inhibición.

Por su parte, el extracto de *A. indica* puede inhibir de forma moderada a la cepa resistente a meticilina, presentando un halo de inhibición de 8 mm.

Extracto	Halo de inhibición	
	SARM (X19)	SASM (ATCC 25923)
<i>Ruta graveolens</i> :		
50 µL	10 mm	8 mm
100 µL	13 mm	9 mm
<i>Azadirachta indica</i> :		
100 µL	8 mm	-

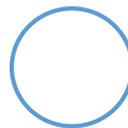
  

		
<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>

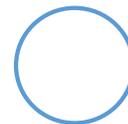
**Figura 3.** Efecto antibacteriano de extracto de *Ruta graveolens* sobre *Staphylococcus aureus* meticilin resistente (X19). A) Metanol, B) *Ruta graveolens* (50 µL), C) *Ruta graveolens* (100 µL)

**A**

**B**



**C**





**Figura 4.** Efecto antibacteriano de extracto de *Ruta graveolens* sobre *Staphylococcus aureus* sensible a metilicina (ATCC 25923). A) Metanol, B) *Ruta graveolens* (50 µL), C) *Ruta graveolens* (100 µL)

## V. DISCUSIÓN

Desde la antigüedad han sido empleadas las plantas en área médica para curar o prevenir diversas enfermedades. Los productos naturales tales como los extractos de plantas proveen oportunidades ilimitadas para el desarrollo de nuevas drogas que puedan ser utilizadas para el control microbiano [9]. De esta forma los extractos metanólicos de *R. graveolens* y *A. indica* localizadas en la región Altiplano de San Luis Potosí son una alternativa a la búsqueda de compuestos químicos que favorezcan el control microbiano.

Esta investigación evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* de los extractos metanólicos de *R. graveolens* y *A. indica* sobre dos cepas de *S. aureus*. El extracto de *R. graveolens* muestra un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de SARM y de SASM. Los diámetros de inhibición obtenidos con SARM (10-13 mm) son similares a los reportados por Delgadillo Ruiz y cols. (2017) [10] cuando evaluaron el efecto antimicrobiano de un extracto etanólico de *R. graveolens* sobre *S. aureus* (diámetro de inhibición 15.5 mm). Estos mismos autores, reportan la presencia de limoneno, carvacrol y timol en su extracto, los cuales tienen actividad antimicrobiana. Por lo que, es probable que el extracto metanólico contenga algunos de estos compuestos que interactuando de forma sinérgica justifiquen el efecto observado en el presente estudio. A su vez, los diámetros de inhibición obtenidos con SASM (8-9 mm) son semejantes a los reportados por Quiroz Heras y cols. (2018) [11] quienes muestran halos de 7.09-14.73 mm empleando extractos etanólicos de *R. graveolens* sobre otra cepa sensible a metilicina. Lo cual significa que *R. graveolens* es una alternativa para la búsqueda de nuevos antibióticos.

Por su parte, el extracto metanólico de *A. indica* mostró un moderado efecto antibacteriano sobre la cepa SARM (8 mm), por debajo del encontrado por Vélchez Carrasco y cols., (2016) [12] empleando un extracto etanólico sobre la cepa resistente a metilicina (ATCC 43300). Este efecto puede aumentar si se utiliza un extracto más concentrado, como lo reportan dichos autores. Singo Salazar (2022) [13] reporta resultados semejantes mientras que el estudio fitoquímico de su extracto etanólico reportó

alcaloides y triterpenos/esteroles como posibles causantes del efecto antimicrobiano. Por lo que, *A. indica* es una fuente para la búsqueda de nuevos fitoquímicos con actividad antimicrobiana, sobre todo, para aquellos microorganismos que presentan resistencia bacteriana.

## VI. CONCLUSIÓN

El extracto metanólico de *Ruta graveolens* presentan efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* resistente y sensible a meticilina. Mientras que el extracto de *Azadirachta indica* presenta efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* meticilina resistente. Por tanto, ambos extractos deben ser considerados para futuras investigaciones que complementen los hallazgos encontrados.

## VII. AGRADECIMIENTO

A la Dra. Olga Edith González Lugo por sus enseñanzas, paciencia, el conocimiento brindado y el dejarme participar en este proyecto de investigación. A la Coordinación Académica Región Altiplano, U.A.S.L.P., así como a los demás docentes por la colaboración en la ejecución en este proyecto, por el recibimiento y estancia. A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo proporcionado para la realización de este proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] Gajdács M. The Continuing Threat of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*. 2019 May 2; 8(2):52. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/8/2/52>
- [2] Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018 Oct;31(4). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00020-18>
- [3] Cervantes-García E, García-González R, María Salazar-Schettino P. Importancia de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente intrahospitalario y adquirido en la comunidad. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*. 2014;61(4):196–204. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt144a.pdf>
- [4] Castañeda-Méndez PF, Hernández-Juárez D, Muñoz-López M, Soto LE. Frecuencia de infecciones por *S. aureus* en pacientes hospitalizados en un hospital privado de tercer nivel de la Ciudad de México. *Revista Médica MD*. 2018 oct 18; 9.10(4):317–21. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2018/md184i.pdf>
- [5] Fernando O, Oyoquipa C, Wilmer B, Fernández P. Universidad nacional de San Agustín de Arequipa. 2019. Available from: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/10433/BIcaoyof.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [6] *Ruta graveolens* L Ruda Sinonimia. Available from: [http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografias/Ruta\\_graveolens.pdf](http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografias/Ruta_graveolens.pdf)

- [7] Islas JF, Acosta E, G-Buentello Z, Delgado-Gallegos JL, Moreno-Treviño MG, Escalante B, et al. An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. *Journal of Functional Foods*. 2020 Nov; 74:104171. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464620303959>
- [8] Juana M, Carmen D, Sánchez C. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Azadirachta indica* (neem) SOBRE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA”. 2018. Available from: [https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/3727/Tesis\\_Efecto\\_Concentraci%c3%b3n\\_Extracto\\_Etanolico.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/3727/Tesis_Efecto_Concentraci%c3%b3n_Extracto_Etanolico.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [9] Sánchez-García E, Castillo-Hernández SL, García-Palencia P. Actividad antimicrobiana. *Investig en plantas importancia médica*. 2016;77–100. Available from: <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/816-1?inline=1>
- [10] Delgadillo Ruiz L, Bañuelos Valenzuela R, Delgadillo Ruiz O, Silva Vega M, Gallegos Flores P. Composición química y efecto antibacteriano in vitro de extractos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Nov Sci*. 2017;9(19):273. Available from: <http://novascientia.delasalle.edu.mx/ojs/index.php/Nova/article/view/1019>
- [11] Quiroz Heras, JC. Facultad de Ciencias Médicas Facultad de Ciencias Médicas. Planif Estratégica 2018;1–37. Available from: <https://repositorio.unan.edu.ni/8747/1/18793.pdf%0Ahttp://repositorio.ucsq.edu.ec/bitstream/3317/10053/1/T-UCSG-PRE-MED-ENF-413.pdf>
- [12] Vílchez Carrasco AMDJ. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre *Staphylococcus aureus* metilino resistente ATCC 43300. 2016. Available from: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/87637/V%c3%adlchez\\_CAMDJ-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/87637/V%c3%adlchez_CAMDJ-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [13] Shingo Salazar S. Efecto inhibitorio del extracto de *Azadirachta indica* (Neem) a diferentes tiempos y concentraciones sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Estudio in vitro. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/26563/1/FOD-CPO-SINGO%20CHRISTIAN.pdf>

## ESCRUTINIO FITOQUÍMICO Y CULTIVOS *IN VITRO* DE *LEPIDIUM VIRGINICUM* L. Y *PERESKIA ACUELATA* MILL.

**Elide Martín De Alba**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Centro de Ciencias Básicas  
Av. Universidad 940 s/n C.P. 20100,  
Aguascalientes, Ags.  
[elide.ema2006@gmail.com](mailto:elide.ema2006@gmail.com)

**Yenny Adriana Gómez Aguirre**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Centro de Ciencias Básicas  
Av. Universidad 940 s/n C.P. 20100,  
Aguascalientes, Ags.  
[yagomez@correo.uaa.mx](mailto:yagomez@correo.uaa.mx)

**Resumen** — En este trabajo se estableció el cultivo *in vitro* de *Lepidium virginicum* L (Brassicaceae) y *Pereskia acuelata* Mill. (Cactaceae), y por otra parte se aislaron compuestos fenólicos de plantas silvestres de *L. virginicum* mediante cromatografía en columna abierta. La importancia de *L. virginicum* y *P. acuelata* radica en la producción de compuestos fenólicos como los flavonoides y cumarinas. Los flavonoides otorgan una actividad antioxidante, ya que juegan un papel importante en la absorción y neutralización de los radicales libre y descomposición de peróxidos, también tienen efecto antiinflamatorio porque inhiben citocinas y quimiocinas. En relación a las cumarinas otorgan propiedades con actividades como antidiabéticos, antivirales, antimicrobianos, anticancerígenos, antioxidantes, antiparasitarios, antiproliferativos, anticonvulsivos, antiinflamatorios y antihipertensivos.

**Palabras clave** — Métodos de desinfección, Cromatografía en columna abierta, Compuestos fenólicos.

**Abstract** — In this work, the *in vitro* culture of *Lepidium virginicum* L (Brassicaceae) and *Pereskia acuelata* Mill. (Cactaceae) was established, and phenolic compounds were isolated from wild *L. virginicum* plants by open column chromatography. The importance of *L. virginicum* and *P. acuelata* lies in the production of phenolic compounds such as flavonoids and coumarins. Flavonoids provide antioxidant activity since they play an essential role in the absorption and neutralization of free radicals and decomposition of peroxides; they also have an anti-inflammatory effect because they inhibit cytokines and chemokines. Coumarins provide properties with activities such as antidiabetic, antiviral, antimicrobial, anticancer, antioxidant, antiparasitic, antiproliferative, anticonvulsant, anti-inflammatory, and antihypertensive.

**Keywords** — Methods of disinfection, Column chromatography open, Phenolic compounds.

### I. INTRODUCCIÓN

*L. virginicum* es una planta ampliamente utilizada en la Medicina Tradicional Mexicana [1] desde la época de los mayas hasta la actualidad, sus usos principales han sido para aliviar el dolor de cabeza y espalda, procesos inflamatorios, trastornos biliares, diarrea y enteritis aguda o crónica, así como, antihemorrágico y regulador de la presión arterial [2]. Los estudios fitoquímicos del extracto metanólico de *L. virginicum* han demostrado la presencia de glucosinolatos, flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas, terpenos y esteroides [2]. Estos compuestos son importantes porque tienen un efecto antiinflamatorio debido a que inhiben citocinas y quimiocinas, lo que resulta útil para el tratamiento de enfermedades, pero aún sigue en estudios [3].

*P. aculeata* es una planta nativa de zonas tropicales de América. En México, se encuentra en Michoacán, Morelos y regiones del litoral del Golfo de México. Se considera

como una hortaliza de hoja no convencional. Esta especie se ha consumido principalmente por su contenido en proteínas y minerales (hierro y calcio), y representa una estrategia para mejorar el valor nutricional de las dietas en las comunidades rurales [4,5]. Se ha demostrado que posee propiedad antioxidante [6], anticolinesterásicas, citotóxicas, antiproliferativas [7] y efecto hipoglucemiante [8].

Dada la importancia medicinal de estos recursos vegetales, el presente trabajo tuvo como objetivos: establecer el cultivo *in vitro* de las dos especies y realizar el aislamiento de compuestos fenólicos de plantas silvestres de *L. virginicum* mediante cromatografía en columna abierta.

## II. MARCO TEÓRICO

### A. Descripción botánica

*L. virginicum* (Fig. 1) es una hierba erguida de hasta 50 cm de alto. Tallos angulados, ramificados, pubescentes, con tricomas alargados simples. Hojas lirado-pinnatífidas, sésiles, base auriculadaamplexicaule, con nervadura central engrosada hacia la base y tricomas dispuestos principalmente sobre las nervaduras y hacia los bordes, bordes enteros o dentados, lóbulos de ápice agudo. Flores pequeñas dispuestas en racimos terminales. Sépalos caducos, verdosos, ovado-elípticos, con tricomas simples en la superficie exterior. Pétalos blancos, oblongos. Silícula ovado-elíptica, superficie glabra con nerviación reticulada, ápice estrechamente emarginado, estilo igualando en longitud a los ápices de ambas valvas, de 4 mm de largo y 3 mm de ancho. Semillas alargadas de color anaranjado oscuro, superficie reticulada [9].



Fig. 1, Inflorescencia de *L. virginicum* [10].

### B. Cultivo *in vitro*

Esta alternativa de propagación presenta enormes ventajas, debido a que cada célula contiene la información necesaria para dar origen a una planta completa. Por tanto, la existencia de numerosas células en el explante o inoculo abre la posibilidad de generar miles de plantas a partir de un pequeño fragmento de tejido. El proceso consta de las siguientes etapas: 1- selección de la especie, 2- establecimiento del medio de cultivo (esterilización del medio y desinfección del material vegetal a usar), 3- cultivo *in vitro* (en condiciones estériles), 4- Incubación (tiempo de espera para la germinación en condiciones estériles y con luz), 5- Enraizamiento y acondicionamiento y 6- adaptación de las plántulas (las plántulas son transferidas al suelo) [11].

### C. Compuestos Químicos

Mediante el extracto metanólico de las raíces de *L. virginicum* se encontró la presencia de glucosinolato de bencilo, el cual tiene una actividad antiprotozoaria contra *Entamoeba histolytica* [3]. Por otro lado, el extracto metanólico de hojas, tallo y raíz presenta terpenos,

esteroles, cumarinas y flavonoides, y ácido cinámico. Pero está comprobado que el tallo posee mayor contenido de compuestos fenólicos entre ellos los flavonoides y las cumarinas, lo que está correlacionado con una mayor actividad antioxidante [2].

Los compuestos fenólicos son compuestos orgánicos cuya estructura molecular se encuentra formada por al menos un grupo fenol, así como un anillo aromático unido por lo menos a un grupo funcional hidroxilo. Tienen la capacidad de formar complejos, poseen poder reductor y resultan poco tóxicos. Estas propiedades hacen que tengan actividad antioxidante y antiinflamatoria [3]. Su biosíntesis se da a partir de la vía del ácido shikímico y la del ácido malónico, se sintetizan a partir de carbohidratos y generalmente se producen como mecanismo de defensa frente a patógenos, a el exceso de radiación ultravioleta y para atraer polinizadores [2].

#### D. *Cromatografía en columna abierta*

Es una técnica que utiliza columnas para realizar la separación; los componentes eluidos (que salen de la columna) son transportados por la fase móvil a un detector, que mide una propiedad física o química de los mismos, y los registra en forma de curvas gaussianas (forma de campana). Tales señales se denominan picos. Cada componente de la mezcla presenta un pico, en el tiempo correspondiente a su tR. Un cromatograma es el resultado de graficar en el eje X el tiempo de retención, y en el eje Y una señal correspondiente a la respuesta creada por los diferentes compuestos existentes en la muestra [12].

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### A. *Cultivo In vitro*

##### 1) *Protocolo de desinfección 1*

Se seleccionaron 100 semillas de *L. virginicum* y 50 semillas de *P. acuelata*, se enjuagaron con agua de la llave para eliminar partículas de tierra, se colocaron en un vaso de precipitado con 200 mL de agua de la llave y se desinfectaron con 10 mL/L y se agitaron por 5 min, posteriormente se vació el agua y se enjuagaron con agua destilada, se colocaron en 200 mL de agua destilada e hipoclorito al 0.75%, se tapó el vaso de precipitado con papel aluminio y se agitó por 20 min, se decantaron las semillas en campana y se lavaron 3 veces con agua destilada estéril, se sembraron 90 semillas en 20 frascos con medio Murashige y Skoog (MS), ya que en la desinfección se perdieron 10 semillas de *L. virginicum*, y 50 de *P. acuelata* en 8 frascos, se llevaron a la incubadora con luz y se esperó su germinación.

##### 2) *Protocolo de desinfección 2*

Se seleccionaron 100 semillas de *L. virginicum* y 49 de *P. acuelata* se enjuagaron con agua de la llave para eliminar partículas de tierra, se colocaron en un vaso de precipitado con 200 mL de agua de la llave y se desinfectaron con 10 mL/L y se agitaron por 5 min, posteriormente se vació el agua y se enjuagaron con agua destilada, se colocaron en 200 mL de agua destilada con hipoclorito al 0.75%, se taparon con papel aluminio y se agitaron por 15 min, se separaron las semillas de la solución y se depositaron en 200 mL de agua destilada con Etanol al 70%, se taparon con papel aluminio y se agitaron por 3

minutos, se decantaron las semillas en campana, se sembraron 100 semillas de *L. virginicum* en 20 frascos y 49 semillas de *P. acuelata* en 25 frascos con medio MS, se llevaron a la incubadora con luz y se esperó su germinación.

Para cada protocolo se prepararon 500 mL de medio MS el cual se preparó con: 0.5ml de solución A y B, 1.25ml de solución C y D, 2.5 ml de solución E, 5ml de solución F, 15gr de sacarosa, 0.95gr de KNO<sub>3</sub>, 0.825 de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> y 4gr de agar, se ajustó el pH del medio a 5.7 con NaOH y/o HCl al 0.1N. Se depositó en 20 frascos de gerber para cada tratamiento y se esterilizaron en la autoclave.

#### B. *Escrutinio fitoquímico*

Se concentró el extracto metanólico de tallos de plantas silvestres de *L. virginicum*. Se realizó la separación de compuestos fenólicos mediante cromatografía de columna abierta (CCA). Se utilizaron 0.63 mg de extracto metanólico, como fase estacionaria se utilizaron 5.36 g de sílica gel C18 (Sigma Aldrich, Suecia) y como fase móvil se utilizó un gradiente de agua: acetonitrilo (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40 y 0:100). Posteriormente, se realizaron las cromatografías en capa fina de las fracciones obtenidas, donde los compuestos con R<sub>f</sub> similar se reunieron y se procedieron a concentrar en rotavaporador (Prendo, México) al vacío, bajo una temperatura de 54°C.

La cromatografía en capa fina (CCF), se llevó acabo en placas de sílica gel 60 RP-18 254 S (Merk® Milipore, Alemania). Una vez aplicadas las muestras, las placas se colocaron en una cámara de vidrio previamente saturada con fase móvil [agua: acetonitrilo (7:3)]. Luego, las placas se secaron a temperatura ambiente y observaron bajo luz ultravioleta a 254 nm y 3565 nm, posteriormente se aplicó el revelador de Productos Naturales/Polietilenglicol (NP/PEG) y se observó bajo luz ultravioleta a 365 nm para la detección de flavonoides por fluorescencia naranja. Finalmente, se calculó el factor de retención (R<sub>f</sub>) para cada compuesto, el cual se determinó dividiendo el desplazamiento de la banda seleccionada entre la distancia recorrida por el solvente.

## IV. RESULTADOS

#### A. *Cultivos in vitro*

A continuación se presentan los porcentajes de germinación de *L. virginicum* y *P. acuelata*. Así como los porcentajes de contaminación (**Tabla 1-4**). En el caso de *L. virginicum* se obtuvo un porcentaje de germinación del 23 % en el protocolo de desinfección 1 y 37 % con el protocolo de desinfección 2 (**Tabla 1 y 3**). El pocentaje de germinación de *P. acuelata* fue del 50 % en el primer protocolo de desinfección y del 6.12% en el segundo protocolo de desinfección (**Tabla 2 y 4**).

**Tabla 1** Taza de germinación del cultivo *in vitro* de 90 semillas de *L. virginicum* aplicando el protocolo 1 de desinfección.

Día	Germinación	% de Germinación	Contaminadas	% de Contaminación	No. De frascos perdidos	Semillas Totales
3	0	23.33%	19	76.66%	4	71
4	0		13		3	58
5	6		8		2	50
6	7		0		0	50
7	8		0		0	50
10	7		4		1	46
11	8		0		0	46
18	10		0		0	46
20	12		0		0	46
38	20		25		5	21
41	12		0		0	21
46	13		0		0	21

**Tabla 2** Taza de germinación del cultivo *in vitro* de 50 semillas de *P. acuelata* aplicando el protocolo 1 de desinfección.

Día	Germinación	% de Germinación	Contaminadas	% de Contaminación	No. De frascos perdidos	Semillas Totales
3	0	50%	0	18%	0	50
4	0		0		0	50
5	0		0		0	50
10	2		0		0	50
13	4		0		0	50
14	5		0		0	50
17	9		0		0	50
20	10		0		0	50
38	23		0		0	50
41	25		9		2	41
45	25		0		0	41

**Tabla 3** Taza de germinación del cultivo *in vitro* de 100 semillas de *L. virginicum* aplicando el protocolo 2 de desinfección.

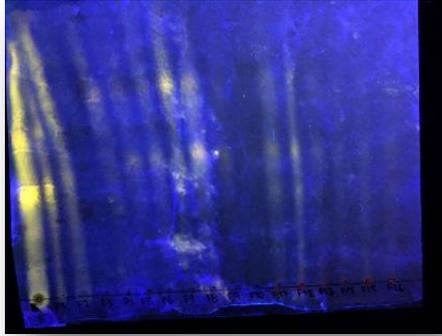
Día	Germinación	% de Germinación	Contaminadas	% de Contaminación	No. De frascos perdidos	Semillas Totales
5	6	37%	40	85%	8	60
6	1		0		0	60
8	16		5		1	55
26	37		15		3	40
29	29		25		5	15
34	15		0		0	15

**Tabla 4** Taza de germinación del cultivo *in vitro* de 49 semillas de *P. acuelata* aplicando el protocolo 2 de desinfección.

Día	Germinación	% de Germinación	Contaminadas	% de Contaminación	No. De frascos perdidos	Semillas Totales
13	0	6.12%	0	8.16%	0	49
16	0		0		0	49
34	3		0		0	49
37	3		4		2	45
41	3		0		0	45

**B. Escrutinio fitoquímico**

Se realizó la separación por cromatografía en columna abierta en fase reversa, se obtuvieron 22 fracciones en total. Se separaron compuestos fenólicos tipo flavonoide, como se observa en la CCF con el sistema de elución agua: acetonitrilo (7:3 v/v) y revelada con NP/PEG y visualizada bajo luz UV a 365 nm, donde se aprecian bandas que fluorescen de color amarillo y naranja (**Fig. 2**).



**Fig. 2** Separación de compuestos fenólicos por cromatografía en capa fina. Fase estacionaria reversa y fase móvil agua: acetonitrilo (7:3 v/v).

## V. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

El protocolo de desinfección 1 fue más adecuado para el establecimiento de cultivos *in vitro* ambas especies ya que presentó menor porcentaje de contaminación con respecto al protocolo 2.

En base al porcentaje de germinación de *L. virginicum* en ambos protocolos de desinfección comparado con los resultados de Giampapa et al. [13] se percibe un rendimiento aceptable, ya que estos obtuvieron 8 brotes de 30 semillas sembradas en 30 días en un medio sin hormonas como el utilizado en este protocolo, lo que se traduce como 26.66% de germinación.

Por otro lado, el porcentaje de germinación de *P. acuelata* obtenido en la metodología llevada a cabo por Zanella et al [14] es igual a 70% de germinación ya que obtuvieron 7 brotes de 10 semillas cultivadas *in vitro* en medio MS sin hormonas después de 270 días, por ello se puede decir que en el protocolo de desinfección 1 el porcentaje de germinación obtenido es aceptable por que los días de cultivo han sido menos, por lo tanto, del protocolo de desinfección 2 se puede comentar que no fue apto para esta especie porque hubo poco porcentaje de germinación y de contaminación, lo que se concluye como una desinfección fuerte para esta especie.

Con respecto al escrutinio fitoquímico de *L. virginicum* la importancia de los flavonoides extraídos de esta especie radica en que tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antiagregantes, antihemorrágicas, vasodilatadoras, antineoplásicas, antivirales, antibacterianas, antialérgicas y hepatoprotectoras. A partir de esto, los flavonoides han ido ganando interés como potenciales agentes terapéuticos frente a una amplia variedad de enfermedades. Además, los efectos curativos de muchos remedios de la medicina natural tradicional pueden ser atribuidos a la presencia de estas moléculas [15].

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este trabajo se logró la germinación de *L. virginicum* y *P. acuelata* en condiciones *in vitro*. Y se separaron compuesto mediante cromatografía en columna abierta y se

identificó la presencia de compuestos fenólicos mediante la separación por cromatografía en capa fina. Estos resultados son relevantes para futuras investigaciones, por ejemplo, sobre evaluaciones de actividades biológicas de los compuestos aislados y la producción de metabolitos secundarios en cultivos *in vitro*.

## VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes, al 24 Verano de la Ciencia región Centro y a la Dra. Yenny por confiar en mi e ilustrarme con sus conocimientos.

## REFERENCIAS

- [1] L. Osuna, O. Figueroa, L. Sánchez, M. Garduño, D. Cruz, P. Carranza & M. González. (2003). "Producción del compuesto glucotropeoleno a partir de *Lepidium virginicum* propagado *in vitro*". CIBIN-IMSS, pp 1. Obtenido de [https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA\\_XI/CARTEL/CXI-18.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA_XI/CARTEL/CXI-18.pdf) [Consultado en 2022]
- [2] E. Martínez Inamura, *Evaluación de la actividad Antiinflamatoria y Citotóxica In Vitro de Lepidium virginicum*. [Tesis] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Ags, 2021. Obtenido de <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/2106/452811.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [3] J. Cruz Muñoz, *Estudio del efecto antiinflamatorio del extracto de Lepidium virginicum en un modelo de Colitis aguda*. [Tesis] Universidad Autónoma de Aguascalientes, Ags, 2020. Obtenido de <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/2066/449924.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [4] Egea, M.B.; Pierce, G. Bioactive Compounds of Barbados Gooseberry (*Pereskia aculeata* Mill.). In Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes, Murthy, H.N., Paek, K.Y., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2020; pp. 1-14.
- [5] da Silva Porto, F.G.; Campos, Â.D.; Carreño, N.L.V.; Garcia, I.T.S. *Pereskia aculeata* leaves: properties and potentialities for the development of new products. Natural Product Research 2021, 1-12, doi:10.1080/14786419.2021.2010070.
- [6] Sousa, R.M.F.; Lira, C.S.; Rodrigues, A.O.; Morais, S.A.L.; Queiroz, C.R.A.A.; Chang, R.; Aquino, F.J.T.; Muñoz, R.A.A.; Oliveira, A.d. Antioxidant activity of Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) leaves extracts using spectrophotometric and voltammetric assays in vitro. Bioscience Journal 2014, 30, 448-457.
- [7] Massocatto, A.M.; Silva, N.F.d.S.; Kazama, C.C.; Pires, M.D.B.; Takemura, O.S.; Jacomassi, E.; Ruiz, A.L.T.G.; Laverde Junior, A. Biological activity survey of *Pereskia aculeata* Mill. and *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). Pharmaceutical Sciences 2021, doi:10.34172/ps.2021.27.
- [8] Sáenz-López, L y Berdeja-Martínez, B.M. (2017) *Evaluación hipoglucemiante de Pereskia aculeata Mill.* 13a Reunión internacional de investigación en productos naturales Dr. Juan Diego Hernández Hernández, Morelia, Michoacan. Revista Latinoamericana de Química.

- [9] C. Monsalve López, *Taxonomía y distribución de la familia Brassicaceae en la provincia de Huaylas, Ancash*. [Tesis] Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, Perú. 2003. Obtenido de [https://museohn.unmsm.edu.pe/docs/pub\\_dico/monsalve\\_lc.pdf](https://museohn.unmsm.edu.pe/docs/pub_dico/monsalve_lc.pdf)
- [10] Conabio. *Lepidium virginicum*. Malezas de México. 2009. Obtenido de: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/brassicaceae/lepidium-virginicum/fichas/ficha.htm>
- [11] M. Perea, *Cultivo de tejidos vegetales in vitro*. [Tesis] Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2009. Obtenido de [http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad\\_de\\_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/P\\_ortadas\\_Libros/Biologia/Cultivo\\_de\\_Tejidos\\_Vegetales\\_In\\_Vitro/Cultivo\\_de\\_Tejidos\\_Vegetales\\_In\\_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkW\\_Zozfqc](http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/P_ortadas_Libros/Biologia/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkW_Zozfqc)
- [12] Corzo, A. (2019). Técnicas de análisis en química orgánica: cromatografía. Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero, UNSE. Facultad de Ciencias Forestales. Obtenido de <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>
- [13] Brucato, Giampapa; Graziella, María; Trujillo Diaz, Iselen Esther and Oropeza C, Maira. *Micropropagación de Lepidium virginicum l. de microesquejes. Tropa Agronomía*. [en línea]. 2006, vol.56, n.4 [citado el 14-08-2022], pp.651-656. Disponible en: <[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0002192X2006000400025&lng=es&nr m=iso](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002192X2006000400025&lng=es&nr m=iso)>. ISSN 0002-192X
- [14] S. . Zanella, S. Stefanello y PV Sanches, “Cultivo in vitro y aclimatación de *Miltonia flavescens* (Lindl.) Lindl. con extracto de *ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata* Mill.)”, *RSD*, vol. 10, núm. 5, pág. e39710515032, mayo de 2021. <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/15032>
- [15] Álvarez Castro E. & Orallo Cambeiro F. (2003). “Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer” Vol. 22, Núm. 10, pp 130-140. Obtenido de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-actividad-biologica-los-flavonoides-i-13054406> [Consultado en 2022]

# DEVELOPING INHIBITION METHODOLOGIES FOR GABA<sub>A</sub> RECEPTOR WITH VALERENIC ACID: MOLECULAR DOCKING/DFT APPROACH

**Ugarte Maldonado Miren Maitane**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Km 17.5 Estatal 100, 76270 Colón, Qro.  
[miren.ugartema@smail.astate.edu](mailto:miren.ugartema@smail.astate.edu)

**Fernando Belmont-Bernal**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Km 17.5 Estatal 100, 76270 Colón, Qro.  
[fbelmont@astate.edu](mailto:fbelmont@astate.edu)

**Resumen** – El estudio del complejo entre el ácido Valerénico y el GLY-D:22 del receptor GABA<sub>A</sub> se realizó con éxito mediante la aplicación de técnicas de Acoplamiento Molecular y cálculos del Método de Banda Elástica Promovida DFT (NEB-TS). Los niveles de teoría correspondientes a la investigación del complejo a profundidad son BP86 y B3LYP con modelo de solvatación de agua CPCM. Ambos tipos de cálculo son valiosos y deben usarse en conjunto para una evaluación completa de la interacción entre una proteína y el ligando elegido, Ácido Valerénico. El funcional BP86 proporciona una inspección rápida, estableciendo una tendencia hacia el estado de transición, para continuar con B3LYP como un refinamiento del cálculo y así obtener resultados más precisos.

**Palabras clave** – Receptor GABA<sub>A</sub>, ácido Valerénico, Acoplamiento Molecular, DFT

**Abstract** – The study of the complex between Valerenic acid and the GLY-D:22 from the GABA<sub>A</sub> receptor was successfully performed by applying Molecular Docking techniques, and DFT Nudged Elastic Band Method (NEB-TS) calculations. The levels of theory corresponding to the in-depth inquiry of the complex are BP86 and B3LYP with CPCM water solvation model. Both calculation types are valuable and should be used in tandem for a complete assessment of the interaction between a protein and the chosen ligand. The BP86 functional provides a quick inspection, establishing a transition state tendency, and B3LYP is later used for calculation refinement and obtaining more accurate results.

**Keywords** – GABA<sub>A</sub> receptor, Valerenic acid, Molecular Docking, DFT

## I. INTRODUCTION

The epidemic quickly escalated into an almost worldwide quarantine. During this time, people were ripped from their daily routine, separated from family and friends for over two years. Arising from the government-imposed isolation, there has been corroboration of a higher incidence of symptoms associated with some psychiatric disorders, especially in people with previously diagnosed mental health problems.[1]

Depending on how each person experiences the pandemic, the impression of loneliness, job insecurity, and vulnerability to the disease, the severity of the common symptoms associated with depression increases. Also, anxiety, post-traumatic stress disorder, distress and stress have shown a significant increase, ranging from a 6% to an 80% incidence rate. [2] All of these circumstances have created a generalised decrease in life quality, which has pushed society towards an unprecedented decline in psychological wellbeing.

Following the anticipation of counteracting these symptoms, a wide range of psychotropic drugs are available; nonetheless, the secondary effects of these drugs have been detrimental to many patients' conditions. For the sake of promoting novel treatments, there are continuous efforts to provide a natural supplement from a secondary metabolite origin. On this note, *Valeriana officinalis* has been studied for such purpose as it has been commonly and widely used to improve sleep and reduce anxiety. [3, 4]

## II. THEORETICAL FRAMEWORK

Valerian root has been studied in hopes of finding an active component helpful in treating insomnia and sleep disorders. By analysing the composition of valerian root extract, Valerenic acid was found to be the compound that produced this effect. Administered in rats at 3 ml/kg, it presented a substantial reduction in anxious behaviour when assessed on an elevated plus maze. Rats treated with Valerenic acid showed a much larger time on the open arms of the maze by about 40 sec [4], which translates into a significant anxiolytic effect.

It has been established that GABA<sub>A</sub> plays a significant role in controlling anxiety-related triggers. It is a pentameric  $\gamma$ -Aminobutyric acid type receptor and a major inhibitory neurotransmitter. Pores are surrounded by transmembrane helices, which are vulnerable to modulation by opening and closing pores. Its permeability to Cl<sup>-</sup> causes conformational changes by the hyperpolarisation of the cell. It inhibits nerve transmission by reducing excitability, leading to temporary and persistent anxiety regulation. [5]

Valerenic acid was found to stimulate chloride currents in GABA<sub>A</sub> receptors. This action was registered through the voltage-clamp technique, where only the channels involving  $\beta$  subunits were stimulated. [6] The receptor is affected by a positive allosteric binding site. However, it was found that the action was dose dependent. It has been suggested that an interaction between these two components causes interesting sedative effects.

In an attempt to better understand the interactions between Valerenic acid and GABA<sub>A</sub> receptors, two main tools were utilised to develop a computational methodology. For a first approach, Molecular Docking is a bioinformatic tool that allows for the description of interactions of large systems, such as those between ligands and proteins. The calculations performed by this technique are based on Coulombic charge differences, providing a user-friendly interface for the cost of approximated energy calculations. Next, Density-Functional Theory was employed, specifically Nudged Elastic Band Method (NEB-TS). This quantummechanic tool allows for defining energetic interactions suitable for small molecular systems. These interactions are resolved via Oppenheimer's approximation to Schrödinger's equation which cannot provide a user-friendly interface for the cost of producing accurate and efficient results.

## III. METHODS

The computational characterisation for both protein and ligand were validated as follows. Valerenic acid (ligand) was evaluated under the Lipinski Rules to assess for oral bioavailability [7], and the GABA<sub>A</sub> receptor's (protein) Ramachandran plots were optimised to achieve a more delimited geometry and reduce the system's energy [8].

To attain the proposed analysis of the interactions between Valerenic acid and GABA<sub>A</sub> receptors, Molecular Docking and Density-Functional Theory were used.

The Molecular Docking calculations were performed through AutoDockTools 1.5.6. [9] from previously grid-selected coordinates [5] as an aid to facilitate the search for an active site on the receptor. The ligand was endorsed to dock around the grid coordinates with all possible free rotations allowed. The calculation was set to perform one hundred runs with twenty-five million evaluations for a better guesstimate of Valerenic acid interactions with the GABA<sub>A</sub> receptor.

Once the docking site was selected, the coordinates of one amino acid were chosen to deepen the analysis between GABA<sub>A</sub> and the coordinates of the docked Valerenic acid. Within this evaluation, GLY-D:22 was preferred as it showed the most promising protein inhibition due to its strong bonding affinity; to promote such interaction, a protonic exchange between both acids was proposed to enhance the hydrogen bonding between both residues.

Based on the interactions proposed by Molecular Docking, ORCA's [10] Density-Functional Theory was used to enhance the results by applying the NEB-TS job for optimisation of the transition state and guessed trajectories between Valerenic acid and Glycine. The parameters selected for the calculation included a BP86 and B3LYP level of theory, a Def2-SVP basis set, a CPCM(water) solvation model and a Becke-Johnson empirical dispersion model.

#### IV. ANALYSIS OF RESULTS

The results to report originated from Molecular Docking come as follows, -6.6 kcal/mol and inhibition constant of 13.71 uM. The energy yielded by the process presents a promising outlook for the interaction between ligand and protein; these preliminary results suggest thermodynamical favourability, which may translate into a highly feasible inhibition.

After evaluating the docking process, the interactions between Valerenic acid and GABA<sub>A</sub> receptor were enhanced by applying two different levels of theory for the NEB-TS calculations: BP86 and B3LYP (Table 1). When comparing both DFT theory levels, the model obtained from the retrieved coordinates of the Molecular Docking calculations shows significant differences between both functionals. The energetic difference between the Transition State and the Products for BP86 is 7.6 kcal/mol, as for B3LYP is 3.0 kcal/mol, showing a notable decrease in the energy required to achieve the reaction proposed by B3LYP far more likely and favourable.

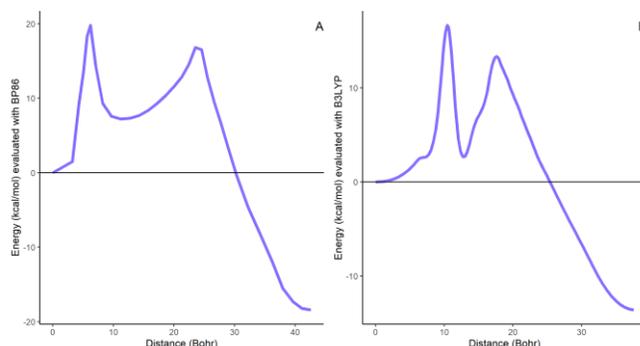
**Table 1.** Energetic pathways for protonic exchange between Valerenic acid and GLY-D:22.

Results		
	BP86	B3LYP
<b>Products</b>	-18.4 kcal/mol	-13.6 kcal/mol
<b>TS</b>	26.1 kcal/mol	16.7 kcal/mol
<b>Difference</b>	7.6 kcal/mol	3.0 kcal/mol

The two overall energetic pathways hold similar shapes; see Figures A and 1B, which serve as an indication of the relationship between both theory levels. This implies an efficient evolution of the molecular system when applying in tandem both functionals to the development of our methodology. Both graphs have two maximum points representing the

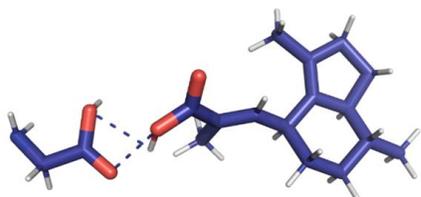
Transition States required to achieve the protonic exchange reaction between Valerenic acid and the GLY-D:22 of the GABA<sub>A</sub> receptor

In **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** and **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, two Transition States corresponding to the B3LYP calculations are illustrated; the first inflexion point corresponds to 16.7 kcal/mol, and the third inflexion point corresponds to 13.3 kcal/mol. Both points correspond to the maximums in the proton

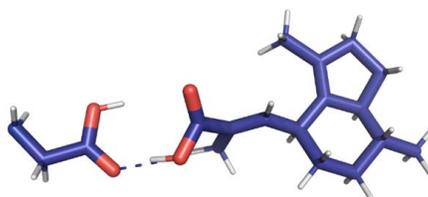


exchange pathway.

**Figure 1.** A) Energetic pathways for protonic exchange between Valerenic acid and GLY-D:22 evaluated with BP86. B) Energetic pathways for protonic exchange between Valerenic acid and GLY-D:22 evaluated with B3LYP.



**Figure 2.** Visual representation of B3LYP's first inflexion point. These atom coordinates represent the first transition state for the protonic exchange promoted between Valerenic acid and GLY-D:22.



**Figure 3.** Visual representation of B3LYP's third inflexion point. These atom coordinates represent the second transition state for the protonic exchange promoted between Valerenic acid and GLY-D:22.

## V. CONCLUSION

The present work has successfully established a methodology to study the interaction between the residue GLY-D:22 from the GABA<sub>A</sub> receptor and the ligand Valerenic Acid. These results were obtained through the tandem application of two computational tools. Molecular Docking provided the first approach to propose an interaction between protein and ligand by applying electrostatic charges. The NEB-TS method can later be improved by applying two different functionals and diminishing computational costs. BP86 allowed for a more general notion of the proposed proton exchanged reaction, while B3LYP provided the details necessary to confirm the tendencies set from the beginning to the end of the expected process.

The results of our work strongly suggest that the inhibition of the GABA<sub>A</sub> receptor might involve a proton exchange between the ligand and the GLY-D:22 residue since the analysis of both NEB-TS calculations find the particle switch feasible. Proposing a mechanism different to that of electrostatic or covalent interactions.

It may be assumed that working exclusively with B3LYP could make the process faster; however, generating guesswork for a Transition State with BP68 requires less computational time compared to B3LYP, allowing for faster results. The preliminary work enabled us to understand the tendencies involving a more anticipated reaction related to the inhibition of the GABA<sub>A</sub> receptor. For future work, such reactions can be studied, including proton exchange, but other mechanisms such as covalent inhibition if the methodology suggests it through the tandem application of the applied tools. Also, employing additional software such as those developed for Molecular Mechanics is being considered as an additional instrument to understand the overall mechanisms engaged in the protein conformational changes along with NEB-TS.

This methodology can also be applied to different proteins and ligands. Furthermore, it may be possible to extend the notion of interaction analysis by establishing similar conditions and corrections for the dielectric environment of a specific protein to improve future results.

## VI. ACKNOWLEDGEMENTS

This work received support from Luis Aguilar, Alejandro De León, Carlos Flores, and Jair García of the Laboratorio Nacional de Visualización Científica Avanzada

## REFERENCES

- [1] B. Bandelow and S. Michaelis, "Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century," 2015. [Online]. Available: [www.dialogues-cns.org](http://www.dialogues-cns.org)
- [2] J. Xiong *et al.*, "Impact of COVID-19 pandemic on mental health in the general population: A systematic review," *Journal of Affective Disorders*, vol. 277. Elsevier B.V., pp. 55–64, Dec. 01, 2020. doi: 10.1016/j.jad.2020.08.001.
- [3] A. Becker, F. Felgentreff, H. Schröder, B. Meier, and A. Brattström, "The anxiolytic effects of a Valerian extract is based on Valerenic acid," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 14, Jul. 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-267.
- [4] K. Murphy, Z. J. Kubin, J. N. Shepherd, and R. H. Ettinger, "Valeriana officinalis root extracts have potent anxiolytic effects in laboratory rats," *Phytomedicine*, vol. 17, no. 8–9, pp. 674–678, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.phymed.2009.10.020.
- [5] P. S. Miller *et al.*, "Structural basis for GABA A receptor potentiation by neurosteroids," *Nature Structural and Molecular Biology*, vol. 24, no. 11, pp. 986–992, Nov. 2017, doi: 10.1038/nsmb.3484.
- [6] S. Khom *et al.*, "Valerenic acid potentiates and inhibits GABAA receptors: Molecular mechanism and subunit specificity," *Neuropharmacology*, vol. 53, no. 1, pp. 178–187, Jul. 2007, doi: 10.1016/j.neuropharm.2007.04.018.
- [7] M. P. Pollastri, "Overview on the rule of five," *Current Protocols in Pharmacology*, no. SUPPL. 49. Jun. 2010. doi: 10.1002/0471141755.ph0912s49.
- [8] R. A. Laskowski, N. Furnham, and J. M. Thornfon, "THE RAMACHANDRAN PLOT AND PROTEIN STRUCTURE VALIDATION." [Online]. Available: [www.worldscientific.com](http://www.worldscientific.com)
- [9] G. M. Morris *et al.*, "Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791, Dec. 2009, doi: 10.1002/jcc.21256.
- [10] F. Neese, "The ORCA program system," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, vol. 2, no. 1, pp. 73–78, Jan. 2012, doi: 10.1002/wcms.81.

# ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LA ENZIMA MDH EN LA ESPECIE *MAMMILLARIA BOMBYCINA*

**Karen Janeth Domínguez López**  
Universidad Autónoma de Coahuila  
Ejido El Águila. Ciudad Universitaria. C.P.  
27087. Torreón, Coahuila.  
[Karen\\_domínguez@uadec.edu.mx](mailto:Karen_domínguez@uadec.edu.mx)

**José Francisco Morales Domínguez**  
Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Avenida Universidad # 940, 20130  
Aguascalientes, Ags.  
[jfmoral@correo.uaa.mx](mailto:jfmoral@correo.uaa.mx)

**Resumen** — La especie *Mammillaria bombycina*, es una cactácea representativa de muchas zonas en México. Debido a sus características metabólicas y físicas ha facilitado que sea una planta modelo con fines biotecnológicos para analizar genes involucrados con diferentes tipos de estrés. El metabolismo CAM es típico de esta planta, por lo que en esta investigación se realizaron estudios bioinformáticos de dos secuencias de la Malato deshidrogena (MDH) a partir del transcriptoma de *Mammillaria bombycina*. Los resultados mostraron que contienen el dominio y motivos conservados reportados para las MDH en diferentes plantas, los parámetros fisicoquímicos son variados para cada secuencia y el modelado hipotético muestra la estructura similar a las MDHs.

**Palabras clave** — Cactáceas, metabolismo, bioinformática, aminoácidos, secuencias.

**Abstract** — *Mammillaria bombycina*, is a cacti representative of many areas in México. Due to its metabolic and physical characteristics, it has made it easier for it to be a model plant for biotechnological purposes to analyze genes involved with different types of stress. CAM metabolism is typical of this plant, so in this research bioinformatics studies of two sequences of Malate dehydrogenase (MDH) were carried out from the transcriptome of *Mammillaria bombycina*. The results showed that they contain the domain and conserved motifs reported to MDH in different plants, the physicochemical parameters are different for each sequence, and the hypothetical modeling shows the structure similar to MDHs.

**Keywords** — Cactaceae, metabolism, bioinformatics, amino acids, sequences.

## I. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son parte representativa de México, ya que tiene una diversidad climática que ha permitido que se adapten distintas especies de esta familia. Generalmente, las cactáceas se desarrollan en ambientes áridos y semiáridos. La especie *Mammillaria bombycina* es una cactácea, la cual necesita de procesos biológicos esenciales para sobrevivir en ambientes mayormente soleados y áridos, es por eso por lo que su metabolismo, difiere al de otras familias, ya que necesitan de un proceso diferente del dióxido de carbono, sin embargo, han sufrido amenazas como su colecta descontrolada problemas en su ambiente al que están acostumbradas, esto debido al cambio climático<sup>1</sup>.

El metabolismo del que se habla anteriormente es el metabolismo ácido de las crasuláceas, CAM, por sus siglas en inglés, el cual necesita de enzimas y metabolitos para realizarse, permitiendo el intercambio gaseoso por la noche para evitar la evapotranspiración de la planta debido al calor que ejerce el sol, esto con ayuda de los estomas, los cuales se mantienen abiertos durante la noche y cerrados en el día. Cuando los estomas están abiertos,

el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) entra a la planta, permitiendo la fijación de CO<sub>2</sub>, en este proceso participan varias enzimas en la noche, como la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC) con la cual se obtiene el oxalacetato y la malato deshidrogenasa MDH, para obtener malato y que se almacene en forma de ácido málico en la vacuola, en el modo diurno, la enzima málica (ME) realiza la descarboxilación oxidativa para obtener piruvato y el dióxido de carbono el cual es fijado con la enzima RuBisCO en el ciclo de Calvin, mientras que el piruvato, junto a otros compuestos, con la enzima fosfoenol piruvato carboxiquinasa obtienen almidón el cual se utiliza para repetir el ciclo del metabolismo CAM, ahora durante la noche, nuevamente<sup>2,3</sup>.

Los análisis bioinformáticos permitirían obtener la información exacta del genoma entero de algún organismo; los problemas ambientales que han venido a través del cambio climático son la muerte a muchísimos organismos, entre ellos las plantas, las cuales nos otorgan desde alimento hasta colorantes, fármacos, etc<sup>4</sup>. Es por esto por lo que encontrar información de algún gen o genes que puedan otorgarnos los suficientes datos para comenzar la creación de herramientas biotecnológicas y moleculares, las cuales se puedan enfocar en que las plantas soporten distintos cambios climáticos, ya que estos son desfavorables para su germinación y crecimiento y ha provocado el deterioro de algunas especies, siendo estas plantas esenciales para creación de distintos productos que utiliza el humano<sup>5</sup>.

## II. METODOLOGÍA

En análisis bioinformático se inició con la secuencia de nucleótidos de las enzimas que participan en el metabolismo CAM, pertenecientes a la especie *Mammillaria bombycina*, al hacer estos análisis, es necesario que las secuencias contengan los nucleótidos exactos, debido a esto, se analizó a fondo solamente la secuencia del enzima malato deshidrogenasa. Primeramente, se obtuvieron las secuencias de aminoácidos de la enzima MDH, a través de ExPasy Translate tool (<https://web.expasy.org/translate/>), los aminoácidos se tomaron desde el segundo marco de lectura (3'5').

Consecuentemente, las secuencias de aminoácidos se sometieron a algunos análisis bioinformáticos, como un blast en NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para ser comparado con otras secuencias de plantas con metabolismo CAM y algunas de especies totalmente diferentes como *Brassica oleracea*.

Los dominios de las secuencias fueron consultados tanto en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi> como en (<https://prosite.expasy.org/>) y motivos con la herramienta bioinformática (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) este último comparado con otras secuencias de MDH en otras especies.

Se realizó un alineamiento de aminoácidos de la enzima MDH en especies diferentes, tanto en la *Mammillaria bombycina*, esto con la herramienta Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>), visualizando los resultados en Jalview.

Localización celular de MDH en la proteína en cada especie con ProtComf (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=protcomppl&group=programs&subgroup=proloc>).

Parámetros fisicoquímicos de la enzima malato deshidrogenasa, se realizó con ExPASy ProtParam tool (<https://web.expasy.org/protparam/>).

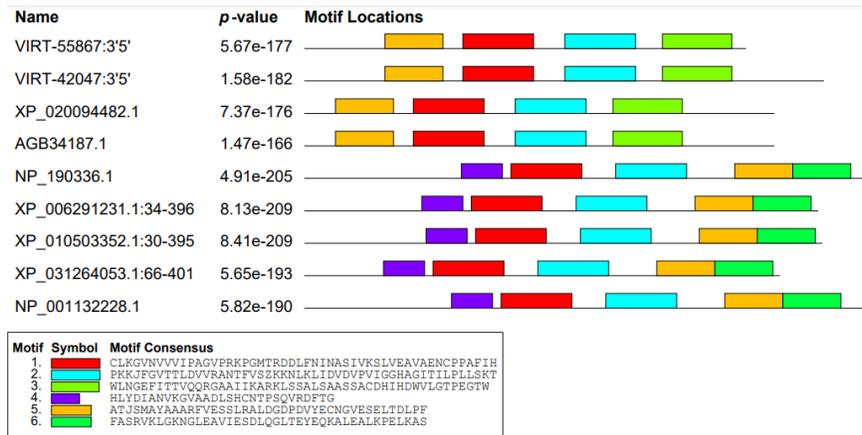
Finalmente, con el programa SWISS MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) se obtuvo un modelado de la proteína MDH en la *Mammillaria bombycina* y se editó con UCSF-Chimera.

### III. RESULTADOS

Se tradujo a aminoácidos de las secuencias de malato deshidrogenasa de *Mammillaria bombycina* obtenidas, la secuencia se convirtió en formato FASTA, se tomaron del segundo marco de lectura (3'5'), de esta manera se continuaron los siguientes análisis bioinformáticos. Las secuencias contienen un solo dominio, el cual se encuentra entre el aminoácido 191 al 203 (figuras 1 y 2), comparten hasta 5 motivos conservados (figura 2)..

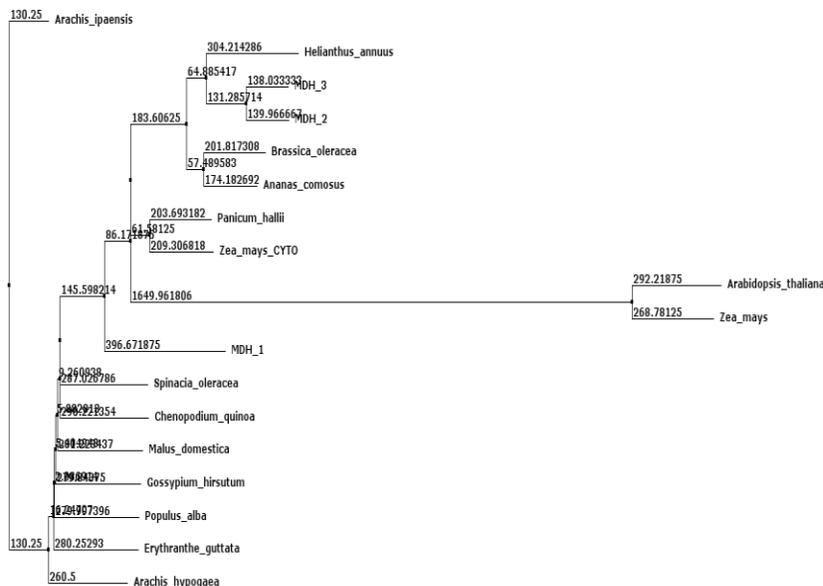


**Figura 1** Dominio de la secuencia de MDH en *M. bombycina*, encontrado desde <https://prosite.expasy.org/> .



**Figura 2** Motivos encontrados en la enzima MDH de las especies de la Tabla 1., se encuentran en orden, el análisis bioinformático se realizó en <https://meme-suite.org/meme/tools/meme>.

A continuación, el árbol filogenético (figura 3) en el cual se presentan plantas relacionadas como *Ananas comosus*, la cual también realiza el metabolismo CAM al igual que *M. bombycina* y las de otras familias, que su secuencia es parecida a la de la planta de estudio, debido a esto, se utilizaron para comparación entre sí. El árbol también contenía las 3 secuencias de MDH de *M. bombycina*, (MDH\_1, MDH\_2, MDH\_3,) la tercera fue descartada para los análisis bioinformáticos consecuentes, ya que se comprobó ser la misma secuencia que la segunda. Este árbol filogenético, a la vista, permitió notar que se separaban dependiendo de que parte de la planta provenía la enzima MDH (citósol, mitocondria, cloroplasto).



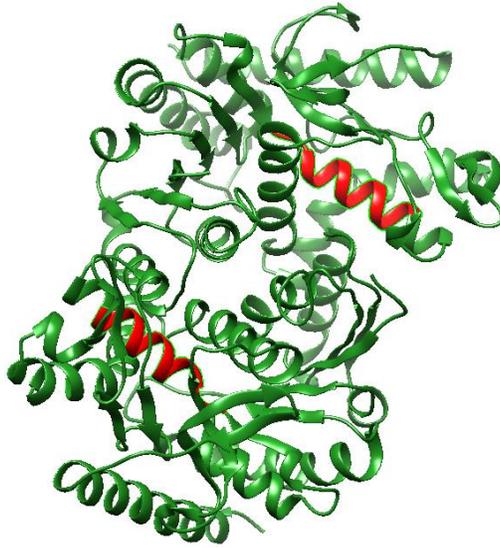
**Figura 3.** Relación filogenética entre diferentes especies de plantas que contienen la enzima MDH, algunas plantas que realizan el metabolismo CAM y de *Mammillaria bombycina*

En la tabla 1 se describen algunos parámetros importantes que siempre caracterizan una proteína, esto dividiendo los 3 tipos de MDH en algunas plantas y en la planta de estudio central.

**Tabla 5** Parámetros consultados en <https://web.expasy.org/protparam/>, de la enzima MDH en sus tres tipos (cloroplástica, citoplasmática y mitocondrial) en diferentes especie. PM: peso molecular, pl: punto isoeléctrico, II: índice de inestabilidad, IA: índice alifático y GRAVY: gran promedio de hidropaticidad)

Tipo de MDH	especie	No. aminoácidos	PM	pl	II	IA	GRAVY
Citoplasmática	<i>Mammillaria bombycina</i>	312	33975.33	8.21	40.45	98.81	0.105
	<i>Mammillaria bombycina</i>	367	39878.76	3.02	39.75	93.3	0.035
	<i>Ananas comosus</i>	332	35651.96	5.84	31.42	95.75	0.017
	<i>Brassica oleracea</i>	332	35718.2	6.11	34.29	95.75	-0.011
cloroplástica	<i>Arabidosis thaliana</i>	403	42405.6	8.66	33.78	98.01	0.078
	<i>Capsella rubella</i>	332	35442.78	6.1	29.41	97.23	0.069
	<i>Camelina sativa</i>	366	38720.39	8.23	33.03	100.16	0.032
	<i>Pistacia vera</i>	336	35560.98	6.52	35.84	100.95	0.097
mitocondrial	<i>Zea mays</i>	397	41616.96	8.2	41.58	100.25	0.157

En el modelado de la proteína MDH (figura 4) se señala con color rojo el dominio encontrado en la secuencia de aminoácidos, como anteriormente se menciona.



**Figura 4.** Modelado de la proteína MDH de *M. bombycina*, con el programa SWISS MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) y editada con UCSF-Chimera.

#### IV. DISCUSIÓN

Con las secuencias proporcionadas del transcriptoma de *M. bombycina*, se logró identificar tres secuencias codificantes para la Malato deshidrogenasa (MDH\_1, MDH\_2, MDH\_3), enzimas que están involucradas en el metabolismo CAM<sup>6</sup>. De estas tres secuencias, la MDH\_3, se descartó ya que los análisis bioinformáticos mostraron que es la misma secuencia que MDH\_2. MDH\_1 y MDH\_2, contienen el dominio presente en todas la MDH que es el sitio activo y el sitio de unión para el sustrato (figura 1), este mismo dominio lo presentan todas las MDH Se identificaron cinco motivos bien conservados entre las MDH de *M. bombycina* y de otras especies lo que nos ayuda a identificar la gran similitud que tienen las secuencias de diferentes plantas. Hasta el momento no se han realizado estudios sobre los dominio y motivos en diferentes cactáceas. En el árbol filogenético, se observa que tanto MDH\_1 y MDH\_2 están en el mismo grupo y con los mismos valores, esto es a con son la misma secuencia, en cambio MDH\_1, se encuentra separada de ambas secuencias, pero en el mismo grupo. También se realizó un análisis de los parámetros fisicoquímicos de las secuencias deducidas en aminoácidos (Tabla 1). Todas las secuencias analizadas, tienen en promedio 330 aa, y su PM es entre los 33975 hasta 42405, así mismo su pI es muy variada, aunque se esperaba fue muy parecido debido a función y localización. El modelado hipotético de MDH\_1, tiene el plegamiento y estructura muy similar a todas las MDH reportadas.

#### V. CONCLUSIONES

Se obtuvieron los datos bioinformáticos de *M. bombycina* a partir de la secuenciación de su transcriptoma, específicamente observando resultados en la en el enzima malato deshidrogenasa, la cual es parte importante del metabolismo de esta cactácea.

Se identificaron datos favorables sobre el dominio y motivos, junto a parámetros fisicoquímicos proteicos, estos comparados con plantas de otras familias y especies, ayudando así a diversificar o ampliar el conocimiento de las similitudes que se pueden observar entre sí.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Muestro sincero agradecimiento principalmente al Dr. José Francisco Morales D. de la UAA, por la gran enseñanza que me aportó, transmitiéndome sus conocimientos y animándome siempre a no darme por vencida cuando algo no sale cuando esperamos, siendo este el primer artículo en el que participo. A mis amigos cercanos, Adalid, Ashley y José que me apoyaron emocionalmente para poder seguir concentrada en este proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] . J. Sierra y C. Leonor, "Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan", *Revista digital universitaria*, vol. 12, n.º 1, 2011, art. n.º 000374892.
- [2] X. Yang *et al.*, "The *Kalanchoë* genome provides insights into convergent evolution and building blocks of crassulacean acid metabolism", *Nature Communications*, vol. 8, n.º 1, diciembre de 2017. Accedido el 2 de septiembre de 2022. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01491-7>
- [3] T. D. Geydan y L. M. Melgarejo, "METABOLISMO ÁCIDO DE LAS CRASULÁCEAS", *Acta Biológica Colombiana*, vol. 10, n.º 2, pp. 3–16, 2005.
- [4] O. M. Rollano Peñaloza y P. Mollinedo Portugal, "Análisis bioinformático de Arn-Seq con una perspectiva para Bolivia", *Revista Boliviana de Química*, vol. 34, n.º 2, pp. 50–55, 2017.
- [5] G. Ocampo y R. Rivera-Martínez, "La familia Cactaceae en el Área Natural Protegida Monumento Natural Cerro del Muerto", *Investigación y Ciencia*, vol. 26, n.º 75, pp. 28–37, 2018.
- [6] C. Enríquez-González, Carolina, Cristina Garcidueñas-Piña, Osvaldo A. Castellanos-Hernández, Sergio Enríquez-Aranda, Abraham Loera-Muro, Gilberto Ocampo, Eugenio Pérez-Molphe Balch, and José F. Morales-Domínguez. "De Novo Transcriptome of *Mammillaria bombycina* (Cactaceae) under In Vitro Conditions and Identification of Glyoxalase Genes" *Plants* 11, no. 3: 399, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11030399>.

# BIOPELÍCULAS O APÓSITOS UTILIZADOS EN LA REGENERACIÓN CELULAR

**Sara Martín del Campo Rodríguez**  
Benemérita Universidad autónoma de  
Aguascalientes  
[al271846@edu.uaa.mx](mailto:al271846@edu.uaa.mx)

**Ma. Elena Calixto Olalde**  
Instituto Superior de Irapuato  
[elena.co@irapuato.tecnm.mx](mailto:elena.co@irapuato.tecnm.mx)

## **Resumen:**

Los biopolímeros se han convertido en una herramienta fundamental en el campo de la medicina regenerativa, los avances producidos a partir de su uso han permitido generar un amplio espectro en la formación de películas con la capacidad de innovar tratamientos mejorados para los diferentes tipos de heridas.

En esta búsqueda por apósitos con características más efectivas, ha facultado la siguiente revisión bibliográfica donde se presentan investigaciones acerca de la exploración de apósitos nuevos o combinados a partir de biopolímeros biocompatibles, como alternativas que incrementen la eficacia en los procesos de curación, usando como base sus propiedades de biodegradabilidad, biocompatibilidad y porosidad, para obtener como resultado apósitos que permitan una rápida recuperación en el tratamiento de heridas.

## **Palabras Clave:**

biopolímeros, regeneración celular, ingeniería de tejidos, heridas, eficiencia

## **Abstract:**

Biopolymers have become a fundamental tool in the field of regenerative medicine, the advances produced from their use have allowed the generation of a wide spectrum in the formation of films with the capacity to generate and innovate improved treatments in the treatment of different types of wounds. In this search for dressings with more effective characteristics, it has enabled the following bibliographic review where research is presented on the exploration of new or combined dressings from biocompatible biopolymers, as alternatives that increase the effectiveness of healing processes, using as a base its properties of biodegradability, biocompatibility and porosity, to obtain as a result dressings that allow rapid recovery in the treatment of wounds.

## **Key Words:**

biopolymers, cell regeneration, tissue engineering, wounds, efficiency

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las heridas son un problema de salud que afecta a un amplio nivel de población de todas las edades y de las cuales se necesitan de intervenciones a nivel médico para garantizar un cuidado óptimo de los pacientes que las presentan.

En el caso de México, el nivel de población con heridas crónicas aumenta cada año. De acuerdo con un estudio realizado por el sector salud, las heridas más recurrentes son las lesiones traumáticas (26.6%), seguido de las úlceras de pie diabético afectando al 23.4% de la población. Por dicho motivo, la complejidad y dificultad de estas lesiones causadas por los procesos pausados de cicatrización suponen una carga económica elevada para los sistemas sanitarios, así mismo; estas plantean una disminución significativa y notoria en la calidad de vida de las personas que las padecen.

Actualmente existe una nueva posibilidad muy estudiada en donde se aprovecha la amplia variedad de polímeros y se implementan como biomateriales para usarlos en forma de apósitos, tomando ventajas de las múltiples características de biocompatibilidad y los efectos proliferativos en el tratamiento de heridas los cuales permiten acelerar el proceso celular en

sus distintas etapas de cicatrización. En este sentido, se estriba el interés que se tiene en estos materiales ya que poseen la modalidad de brindar una rápida recuperación de las funciones interrumpidas de protección y regeneración celular, con el principal objetivo de que estos puedan ser predisuestos en el tratamiento de heridas y ser considerados como una clave principal en la terapia de lesiones crónicas para mejorar considerablemente la calidad de vida de los pacientes que las sufren.

## II. PIEL

La piel es el órgano indispensable para la vida humana presentando una amplia variedad de funciones, este sistema tegumentario corresponde a la extensión más grande del cuerpo y forma una barrera física entre el ambiente externo y el medio interno, brindando como resultado funciones de protección para mantenerlo en condiciones ideales (García y Fraile. 2021)

Su composición incluye tres capas anatómicas: epidermis, dermis e hipodermis las cuales se mantienen enlazadas por medio de fibras, permitiendo que estas funcionen en conjunto para proveer funciones complejas como: regulación de temperatura corporal, sensación, excreción, inmunidad, reserva sanguínea y síntesis de vitaminas (Maceo. 2017)

La epidermis es la capa con mayor número de células cuyo espesor permite brindar la mayor parte de protección a la piel del medio que la rodea, la dermis por su parte es la principal encargada de recibir los estímulos, y la hipodermis, esta última contiene un panel de células adiposas que funcionan como las principales reservas energéticas y factores de protección para los órganos.

## II.-HERIDAS

Las heridas son aquellas que se representan como una pérdida de continuidad de la piel o mucosa, producidas ya sea por agentes físicos o químicos. Al generarse este tipo de lesiones en el tejido tisular se desencadenan una serie de signos y síntomas afectos al tipo de trauma que se ha producido, provocando principalmente la separación de los bordes de la piel, dolor, inflamación, rojez o hemorragia (Lucha Fernández et al., 2008).

A pesar de que este tipo de alteraciones a nivel tisular pueden ser clasificadas en diversas categorías dentro del ámbito médico, estas comúnmente son catalogadas conforme al tiempo de evolución que requieren para sanar el área de afección, principalmente aquellas denominadas como heridas crónicas y agudas.

Las llamadas heridas crónicas son interrupciones presentes en el sistema tegumentario que muestran una pérdida de tejido en la superficie epitelial con escasa o nula tendencia a los procesos de curación espontánea, requiriendo de periodos muy prolongados para cumplir con el cierre del epitelio. Estas afecciones, resaltan principalmente ya que sus cicatrizaciones se ven persistentemente interrumpidas sin mostrar avances visibles de reconstrucción celular durante largos periodos de tiempo, demorando hasta un periodo de 6 semanas donde no es posible conllevar un proceso lineal de reparación en el área de afección (Hernández et al., 2014).

Generalmente para estos casos, suele haber un componente endógeno principal, ya sea de origen metabólico o alguna enfermedad que ocasione dicho retraso en el tiempo de curación, donde al tener la ausencia de formación de tejido cicatrizal se fomenta la generación de heridas como lo son: las úlceras vasculares, diabéticas, procesos neoplásicos y principalmente las úlceras por presión (Rodríguez Arias. 2017). Según el estudio publicado por Frykberg et al. (2010), sobre el manejo de las lesiones crónicas, las lesiones más comunes encontradas a nivel población fueron las úlceras por presión, seguidas por las úlceras venosas y las lesiones de pie diabético.

Por contraparte, las heridas denominadas “agudas” son aquellas ocasionadas después de ciertos procedimientos quirúrgicos o traumatismos, ya que; al contrario de las heridas crónicas que presentan una cronología anormal en su proceso de cicatrización, estas toman un periodo mucho menos prolongado aplazándose entre 7 días a un lapso no mayor de 7 semanas según la profundidad de corte a nivel de la dermis o epidermis (Hernandez.2014).

Independientemente de la naturaleza y el tipo de herida o lesión en la piel que alteren la continuidad de la superficie cutánea, se desencadenarán los mecanismos de reparación necesarios empleando los mismos procesos bioquímicos y celulares para generar el cierre de la disrupción lo más rápido que sea posible.

Estas acciones simultaneas las cuales permiten el reemplazo del tejido faltante por tejido cicatrizante, son conocidas comúnmente como “cicatrización” (Benavides J.2008). Las fases identificadas durante esta etapa se dividen básicamente en: inflamatoria, proliferativa y la de remodelación tisular, siendo la primera etapa como una de las más importantes la cual se lleva a cabo entre el primer y segundo día en donde se realiza la limpieza de la herida, así como la reparación tanto de la dermis y la epidermis. Así mismo; durante la fase de migración o proliferación entre el tercer y decimocuarto día los fibroblastos forman el tejido de granulación lo que protege a la herida de daños adicionales.

Se considera el cierre total del tejido o la fase completa de epitelización transcurrido un periodo de entre 15 días hasta 6 meses o un inclusive un año, dando fin a la última etapa conocida como la fase de maduración (Salem Z. et al.,)

### **III. RELACION DE LA INGENIERIA DE TEJIDOS Y MATERIALES**

Las heridas extensas y descontroladas de piel siguen siendo uno de los retos más significativos para el ámbito clínico. Por dicho motivo; se ha procurado llegar a la búsqueda de alternativas que permitan dar respuesta a este problema. Es por ello por lo que, la ingeniería de tejidos o tisular ha surgido como un nuevo campo prometedor para el tratamiento de lesiones cutáneas, el cual su principal objetivo es restaurar y mejorar la función de los tejidos, ya sea generando sustitutos nuevos biocompatibles, o bien mediante la reconstrucción y crecimiento celular, los cuales permitan regenerar las áreas tisulares que han sido dañadas o perdidas por diversas razones. (Rogers, K., 2018)

Este nuevo campo de la medicina regenerativa se ha implementado como una tecnología prometedora para el tratamiento de lesiones cutáneas, posibilitando la sustitución parcial de los aloinjertos, que son tejidos trasplantados de una persona a otra, y que a pesar de que son considerados como una alternativa terapéutica para el tratamiento de lesiones tisulares, su

poca disponibilidad, una posible transmisión de enfermedades y el alto costo del proceso han aumentado la necesidad de implementar mejores técnicas para el cuidado y curación de heridas. (M. Rojas et al., 2020)

En esta implementación de sustitutos de piel, las células son clave para la regeneración y reparación de los tejidos, ya que permite que estos cumplan funciones de matriz extracelular, citoquinas y factores de crecimiento, además de brindar protección y sostén durante la curación de heridas (Chapekar, M., 2000). Para lograr este fin, se deben combinar armoniosamente materiales y componentes que presenten características biodegradables, biocompatibles, estructurales y químicamente estables que permitan ser utilizarlos en tratamientos específicos que garanticen el éxito terapéutico. Si bien, la mayoría de los tratamientos autorizados consisten únicamente en un material sintético (ácido poliláctico, poliglicólico), existe una tendencia actual en seleccionar materiales naturales (alginato, colágeno, fibrina y polímeros combinados) ya que, en líneas generales, tienen la capacidad de ser degradados en el huésped una vez que son implantados.

Muchos grupos de investigación y compañías biotecnológicas se esfuerzan por encontrar el material más indicado que además de cumplir dichos requisitos, sea económico e inteligente. Hoy en día existen “materiales inteligentes”, capaces de liberar un producto interno (fármacos, factores de crecimiento) en funciones de múltiples estímulos como el pH, temperatura y estímulos mecánicos. (M. Hernández et al., 2003)

En esta revisión se analizarán los biopolímeros que han sido empleados en la ingeniería de tejidos implicando el uso de materiales de andamiaje similares a los apósitos que exhiben características de porosidad y la capacidad de absorción de exudados (Hunt y Grover.2010). En este caso, el enfoque principal está basado en materiales obtenidos de la desacetilación química como lo es el quitosano, y polímeros como alginatos, colágeno e hidrogeles cuya eficiencia en combinación de otras sustancias complementarias activas ha permitido la obtención de apósitos combinados los cuales han sido evaluados durante los últimos años con el fin de innovar tratamientos de amplio espectro en el campo de la medicina regenerativa.

#### **IV. EFICIENCIA DE LOS MATERIALES EN EL TRATAMIENTO DE HERIDAS**

La diferenciación e idoneidad de tipos de apósitos han sometido a la ingeniería de tejidos a implementar nuevos materiales multidisciplinarios para tratar enfermedades con el fin de mejorar y optimizar la calidad de vida de los pacientes disminuyendo considerablemente las complicaciones, costos y la notable mejora de las tasas de curación. Las gamas de dichos polímeros representan una nueva forma de tratamientos en los procesos de cicatrización, y curación de heridas, ya que estas afectan a múltiples sectores de la población y además su cuidado corresponde a un desarrollo complejo. Principalmente se buscan aquellos que tengan la facultad de favorecer la limpieza, desbridamiento y formación de tejido de granulación, creando un medio húmedo permanente capaz de estimular la migración epitelial lo que brinde la curación de la herida. (L. Ibarra. 2019)

A fin de conocer el comportamiento en la práctica clínica de diferentes tipos de materiales en el tratamiento de heridas, se han evaluado a los distintos biopolímeros propensos a cumplir

con las características adecuadas para evidenciar que se pueden tratar de opciones terapéuticas viables para el tratamiento de lesiones tisulares agudas, los cuales permitan reducir considerablemente los tiempos de cicatrización aumentando la eficacia del proceso y mejorando como resultado la calidad de vida de las personas con antecedentes de dichos padecimientos. De la misma manera, resulta indispensable tomar en cuenta la eficiencia del tratamiento, ya que estos suponen una alta rentabilidad para los pacientes que lo requieren, así como también deben de cumplir con los aspectos de biocompatibilidad, protección de agresiones físicas, químicas o bacterianas, mantener el lecho de la ulcera continuamente húmedo y principalmente ser de fácil aplicación y retirado.

Es importante mencionar que no existe un apósito que sea adecuado para todos los tipos de heridas, por lo que uno de los aspectos más desafiantes durante el tratamiento es la elección adecuada del material para la curación. La oferta de tratamiento resulta muy amplia y las condiciones suelen ser diferentes para cada paciente, su elección se basa en adaptarlos según las necesidades del paciente, guiándose según el tipo de herida, su apariencia, la cantidad de exudado, los niveles de dolor del paciente y/o signos de infección.

Las características principales de estas películas son específicas para adaptarse al tipo de lesión de cada paciente, sin embargo; se buscan aquellos que tengan la facultad de favorecer la limpieza, desbridamiento y formación de tejido de granulación, creando un medio húmedo permanente capaz de estimular la migración epitelial lo que brinde la curación de la herida; así mismo que sus múltiples combinaciones con otras sustancias resulten inocuas y no peligrosas sin presentar reacciones adyacentes que dañen aún más el tejido expuesto.

A continuación, se hace mención acerca de los principales apósitos que cumplen con dichas características, así como las posibles combinaciones con materiales de andamiaje que han sido evaluadas para potencializar su efecto cicatrizante.

### Quitosano

Una película polimérica está constituida por una delgada capa de polímero la cual recubre materiales, dependiendo del polímero varía su capacidad de retención de humedad, crecimiento microbiano y evitar su oxidación. El quitosano es ampliamente usado en la fabricación de películas ya que es un derivado de la quitina.

En la Fig. 2 se muestra la conformación del quitosano formado por cadenas de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina que se distribuyen aleatoriamente, y se encuentran unidas por enlaces  $\beta$ -(1-4).

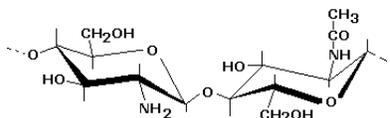


Fig 2. Estructura del quitosano (C. Lárez .2003)

Este se encuentra conformando gran parte de los exoesqueletos de los crustáceos y la pared celular de algunos hongos. (Martinez Correa. 2019), por lo que su proceso de extracción no resulta complicado.

Gracias a lo anterior, este polímero puede ser altamente empleado en distintos campos de la biomedicina debido a que su estructura lineal permite tener buena flexibilidad y transparencia con buena resistencia a las grasa y aceites, además de sus propiedades de biocompatibilidad, baja toxicidad y fácil biodegradabilidad. Así mismo; se ha empleado en el tratamiento de heridas por sus propiedades antibacteriales y hemostáticas que permiten acelerar el proceso de cicatrización ya que promueven la migración de neutrófilos polimorfonucleares, así mismo; induce el proceso de granulación debido a la proliferación de fibroblastos.

Según los resultados de Velazco et., al (2012) a través de estudios experimentales, se mostró la efectividad del quitosano para el tratamiento de pie diabético. Para ello se empleó un paciente de 48 años de edad con diabetes tipo II y se le aplicó un tratamiento a bases de sales de acetato de quitosano, demostrando que la eficacia del cierre de la herida y la aceleración de la epitelización ha brindado buenos resultados en periodos cortos de tiempo, mostrando además que la biodegradabilidad del material es proporcional al cierre de la herida.

En la Fig 3 que se muestra a continuación se visualiza la evolución cronológica de la lesión donde a los 8 días se observa el comienzo de la granulación y el evidente cubrimiento del tendón previamente expuesto.



**Fig 3.** “Evolución cronológica de lesión de pie diabético: A) aspecto inicial, B) 8 días de evolución de tratamiento, C) evaluación a los 15 días, D) Evaluación a los 22 días, E) Aspecto de lesión a los 30 días, F) Aspecto de la lesión a los 45 días” (Velazco et., al 2012)

Así mismo Martínez Sanchez et al., (2014) realizó 4 tratamientos de películas de gel de quitosano con concentraciones de 0.15% y 0.30% a un conjunto de 12 ratones con incisiones de 1cm. La evaluación realizada proporcionó un efecto cicatrizante para los geles de quitosano 0.15 y 0.30% cicatrización en un plazo de 7 días, resultado diferencias significativas entre los tratamientos blanco y control ya que estos proporcionaron un efecto cicatrizante del 0%.

Los resultados anteriores han permitido demostrar que el quitosano en ambas concentraciones puede ser empleados en la regeneración de heridas ya que reducen en un 50% el tiempo de cicatrización normal, por lo tanto; se puede deducir que estos apósitos representan una opción de tratamiento efectiva, accesible, fácil de preparar y sobre todo , el hecho de que proviene de una fuente renovable hace que este material sea muy prometedor

y se considere apto para el medio ambiente en comparación de los productos sintéticos derivados del petróleo (K. G. Cavazos et al., 2020)

Por ende, su implementación puede representar nuevas técnicas terapéuticas en la regeneración directa de tejidos afectados acelerando notablemente los procesos naturales de la reparación de tejidos.

### **Apósitos combinados**

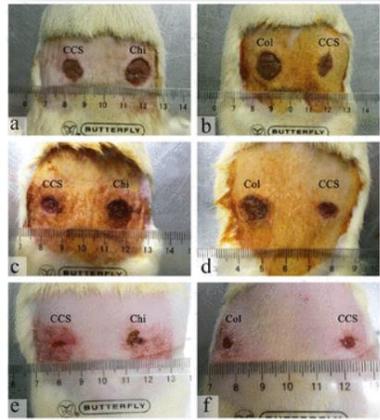
Los apósitos combinados son aquellos centrados en desarrollar películas más eficaces empleando nuevas combinaciones de biomateriales o principios activos que doten de funcionalidades mejoradas a los polímeros empleados tradicionalmente en la cura de heridas, lo que ha permitido potencializar las capacidades de absorción de exudados, propiedades antisépticas y potencializar los procesos de cicatrización de heridas

Por ejemplo, la generación de biomateriales empleando como base el alginato para los procesos de cicatrización de heridas tiene un ritmo acelerado. En los últimos años se han empleado en pacientes con la esperanza de recibir un mejor tratamiento para sus heridas, la versatilidad de los apósitos a base de alginato ha arrojado prometedores resultados tras ensayos tanto in vivo como in vitro y la rentabilidad de su obtención hacen del alginato uno de los favoritos a la hora de elegir el material que podría actuar tanto como soporte como portador de los compuestos bioactivos que tienen que llegar a una herida (Barbu et al., 2021). Según indica Wang et al., (2021) se ha implementado un nuevo apósito de alginato enriquecido con calcio, el cual tiene una capacidad rápida para absorber exudados de 17-20 veces su peso, y puede controlar efectivamente la exudación.

Además, gracias a su capacidad de formación de un gel le permite mantener la herida húmeda, y también puede liberar iones de calcio para promover la hemostasia e inhibir el crecimiento bacteriano. Los estudios han demostrado que gracias a la humedad de las, estas permiten sanar más rápido y tienen menos dolor. Por lo tanto, el apósito de alginato de calcio tiene una buena aplicación.

Así mismo; Zhang et al., (2021) ha diseñado una nueva esponja de quitosano-colágeno (CCS) para posibles aplicaciones de apósitos para heridas. CCS se fabricó con una mezcla de quitosano al 3,0 % con colágeno tipo I al 1,0 % (7:3 (p/p)) mediante liofilización.

Dicho apósito demostró que las tasas de humedad de CCS aumentaron más rápidamente que los grupos de colágeno y esponja en blanco. Los resultados arrojaron que el CCS tenía las características de no toxicidad, biocompatibilidad, buena actividad antibacteriana y retención de agua, así mismo; se evidenciaron signos de una curación notable en el día 14 después de la operación en comparación con las lesiones tratadas solo con colágeno como control negativo además de solo quitosano. La Fig 4 que se muestra a continuación representa el tiempo transcurrido de reepitelización mostrando que el área de la herida en el grupo CCS sanó significativamente en un lapso más corto que en los grupos de quitosano y colágeno.



**Fig 4.** “Análisis cuantitativo del área de cicatrización de la herida cubierta con diferentes apósitos donde: Día 3: (a), Día 7(c) (d), Día 14: (e), (f). Los resultados muestran que las áreas de herida de grupo CCS en los días 3,7 y 14 son menores que las áreas de los apósitos de quitosano y colágeno” (Zhang et al., 2021)

También se ha informado que el emplear polímeros naturales prometedores en combinación con el uso de biomateriales naturales como el *aloe vera* y la *miel*, se produce un hidrogel novedoso que podría aplicarse para curar heridas. Por ejemplo, Saberian et al., (2021) elaboraron cuatro grupos de hidrogel a partir de una combinación de *Alginato de Sodio* y *quitosano* con extracto de *Aloe vera* y *miel* en concentraciones óptimas. Según los resultados se muestra que el hidrogel posee una estructura porosa con cavidades cuyo tamaño permite las condiciones adecuadas para los procesos de adhesión, migración y proliferación celular. Adicional a ello, sus propiedades físicas y estructurales pueden ser muy útiles para la cicatrización de heridas debido a que se conduce a la formación de una estructura biocompatible que pueden ser utilizadas en futuras investigaciones para la reparación de tejidos, específicamente en el uso de heridas expuestas y extensas.

Gracias a estas nuevas combinaciones de polímeros y principios activos, se ha desarrollado productos comerciales dentro del mercado empleando materiales secundarios como principales aliados para el tratamiento de heridas crónicas bajo diferentes concentraciones.

## V. CONCLUSIÓN

A pesar de que el desarrollo de la tecnología de apósitos, asociado a la valoración holística de los pacientes con heridas, ha sido favorecedora y exitosa en la mayoría de los casos, es importante considerar que no existen biopelículas adaptables que sean adecuadas para todos los tipos de heridas, sin embargo, si existen mejoras significativas en la implementación de biopolímeros que contribuyen eficientemente a los procesos de cicatrización de heridas.

## REFERENCIAS

- [1] García Dorado J., Fraile Alonso P. (2021). Anatomía y Fisiología de la Piel. Medicina Familiar y Comunitaria. XXIV (3): 156.e1–156.e13
- [2] Maceo Alice V. (2017). Anatomía y Fisiología de la Cresta de Fricción en la piel Adulta. *El libro de Referencias de las Huellas:* 2-5

- Lucha Fernandez V., Muñoz Mañez V., Formes Pujalte B. (2008). La cicatrización de Heridas. *Enfermería Dermatologica*, (3): 8-10.
- [3] Hernández Lorenzo, Piedad Maria, Hernández Cano, Rosa María, & Soria Suárez, María Isabel. (2014). Heridas crónicas atendidas en un servicio de urgencias. *Enfermería Global*, 13(35), 23-31
- [4] Rodríguez Arias, C. A. (2017). Heridas y Cicatrización. *Revista de la sociedad Española de Heridas*, 9(2), 7–9.
- [5] FRYKBERG RG, DRIVER VR, CARMAN D, LUCERO B, BORRIS-HALE C, FYLLING CP, RAPPL LM, CLAUSEN PA. (2010). Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: a prospective case series. *Ostomy Wound Manage.* 56(6):36-44.
- [6] Benavides Joaquin. (2008). Reparación de Heridas cutáneas. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y cirugía Dermatologica.* 16(1), 29-30.
- [7] Salem Z Christian, Pérez Juan A., Henning Enrique L, Uherek Fernando P, Schultz O Carlos, Internos Jean Michel Butte B, González Patricio F. (2000). Heridas Conceptos Generales. 14, 90-99.
- [8] Rogers, K. (2018). *tissue engineering. Encyclopedia Britannica* <https://www.britannica.com/science/tissue-engineering>
- [9] Mauricio Rojas, Daniel Solera, Carolina Herrera, José Vega Baudrit. (2020). REGENERACIÓN DEL ÓRGANO CUTÁNEO MEDIANTE INGENIERÍA DE TEJIDOS. *MOMENTO*, 60, 67–95. <https://doi.org/10.15446/mo.n60.82752>
- [10] Chapekar, M. S. (2000). *Tissue engineering: Challenges and opportunities. Journal of Biomedical Materials Research*, 53(6), 617–620. doi:10.1002/1097-4636(2000)53:6<617::aid-jbm1>3.0.co;2-c
- [11] Rosa M. Hernández, Alicia R. Garcón, Manoli Igartúa, José L. Pedraza M. (2003). Ingeniería Tisular: Retos y Realidades. *Vitae*, 10(2), 46–51. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981005.pdf>
- [12] Nicola C. Hunt, Liam M. Grover. (2010). Encapsulación celular mediante geles de biopolímeros para medicina regenerativa, Springer Verlag, 32 (6), 733-742. DOI 10.1007/s10529-010-0221-0
- [13] Ibarra Lorente. (2019). Estrategia terapéutica de las heridas crónicas: uso racional del material de curas. 19, 1-3
- [14] E. Martínez-Correa, M. A. Osorio-Delgado, L. J. Henao-Tamayo, C. I. Castro-Herazo. (2019). Clasificación Sistemática de Apósitos: Una Revisión Bibliográfica. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica.* 41, 5-28. Doi.org/10.17488/RMIB.41.1.1
- [15] K. G. Espinosa-Cavazos, A. Sáenz-Galindo, A. O. Castañeda-Facio. (2020). Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. UAC
- [16] Barbu, A., Neamtu, B., Zăhan, M., Iancu, G. M., Bacila, C., & Mireșan, V. (2021). Current Trends in Advanced Alginate-Based Wound Dressings for Chronic Wounds. *Journal of Personalized Medicine*, 11(9), 890. <https://doi.org/10.3390/jpm11090890>
- [17] Wang, C., Su, S., Gao, F., Lei, P., Zhong, D., & Hu, Y. (2021). A new waterproof, breathable, bacteriostatic, low-cost dressing system with a decreased number of dressing changes in primary total hip arthroplasty: a feasibility study. *Reserch Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-551094/v1>
- [18] Saberian, M., Seyedjafari, E., Zargar, S. J., Mahdavi, F. S., & Sanaei-rad, P. (2021). Fabrication and characterization of *alginate/chitosan* hydrogel combined with *honey* and *aloe vera* for wound dressing applications. *Journal of Applied*

## SÍNTESIS DE PELÍCULAS DELGADAS CDS POR DEPÓSITO DE BAÑO QUÍMICO.

**Arely Patricia Mejía Mejía**  
Tecnológico Nacional de México  
Campus Querétaro  
Av. Tecnológico s/n esq. Gral. Mariano  
Escobedo. Colonia Centro Histórico C.P.  
76000, Querétaro, Qro  
[arelypatriciamejiamejia@gmail.com](mailto:arelypatriciamejiamejia@gmail.com)

**Mónica Balvanera Ortuño López**  
Tecnológico Nacional de México  
Campus Querétaro  
Av. Tecnológico s/n esq. Gral. Mariano  
Escobedo. Colonia Centro Histórico C.P. 76000,  
Querétaro, Qro.  
[monica.ol@queretaro.tecnm.mx](mailto:monica.ol@queretaro.tecnm.mx)

**Resumen-** Se analiza el mecanismo de crecimiento en la película de CdS por depósito de baño químico (CBD), a partir de datos experimentales particulares basados en la temperatura, tiempos de permanencia y composición. El análisis se sustenta de fuentes de información documentada, obtenidos por la experimentación e investigación. El patrón de búsqueda y de la selección de la información fue composición del baño químico, el mecanismo de crecimiento de la película y las propiedades del material para determinar las condiciones experimentales necesarias de composición, tiempo y temperatura de reacción para la obtención de la película de CdS.

**Palabras clave** — CdS, mecanismos de crecimiento, depósito de baño químico, películas delgadas.

**Abstract** — The growth mechanism in the CdS film by chemical bath deposition (CBD) is analyzed from particular experimental data based on temperature, residence times and composition. The analysis is based on documented sources of information, obtained by experimentation and research. The search pattern and the selection of the information was the composition of the chemical bath, the film growth mechanism and the properties of the material to determine the necessary experimental conditions of composition, reaction time and temperature to obtain the film of CdS.

**Keywords** — CdS, growth mechanisms, chemical bath deposition, thin films.

### I. INTRODUCCIÓN

El origen del presente proyecto parte de la siguiente pregunta de investigación ¿Cómo influye el tiempo y la composición en el crecimiento de la película de CdS? La respuesta a esta pregunta se deduce a partir de la experimentación y el análisis basados en el control de temperatura, tiempo de depósito y reactivos adecuados para producir el crecimiento de la película.

La técnica utilizada para síntesis se llama Deposito de baño químico (CBD), en la cual las películas delgadas semiconductoras son depositadas en sustratos sumergidos en soluciones acuosas diluidas. Generalmente se obtienen películas delgadas de CdS, por estos métodos, debido principalmente a que son simples de implementar y de bajo costo. Las propiedades de la película de CdS dependen de sus parámetros de crecimiento, la uniformidad, y la buena adherencia sobre el sustrato, y los proyectos de investigación al respecto, están centrados la obtención de materiales con mejores propiedades estructurales, eléctricas y ópticas, y evaluar la potencialidad de su aplicación en dispositivos opto electrónicos de mayor rendimiento.(Peña-Cabrera, 2015)

Una de las áreas de interés de esta tecnología, es la implementación de fuentes alternas de energía limpia con características de eficiencia suficiente y de bajo costo. Muchos grupos de

investigación se han interesado por el estudio de las películas de CdS para un futuro prometedor en el campo de la conversión de energía fotovoltaica. El desarrollo de celdas solares de película delgada es elección viable para reemplazar el uso de celdas solares a base de Si policristalino y monocristalino.

En la actualidad la celda CdTe (Teluro de Cadmio) y CdS (Sulfuro de Cadmio), es uno de los competidores ante las celdas de silicio, siendo el segundo a nivel comercial en el mundo (CENER, 2013) por sus procesos de fabricación, propiedades ante la degradación solar y mejor resistencia a condiciones climatológicas.

Investigaciones se han realizado para explotar el potencial que tienen los materiales semiconductores binarios, ternarios o cuaternarios, varios artículos informan sobre celdas solares de alta eficiencia basadas en estructuras CdS/CdTe, CdS/OdTe, CdS/CuInSe<sub>2</sub> y CdS/Cu(In, Ga)Se<sub>2</sub> empleando películas de CdS como capas de ventana. (Sandoval, 2009; Hurtado, 2010; Ortuño, 2013; Sánchez, 2016).

Para la preparación de películas delgadas de CdS por deposición por baño químico (CBD), básicamente se lleva a cabo reacciones de precipitación controladas que se producen en una solución acuosa. Así dos o más reactivos reaccionan produciendo una mezcla homogénea, de manera que por efecto de la temperatura en un tiempo determinado forma como producto un precipitado de un compuesto semiconductor. Esto es lo que da origen a la formación de una película sobre la superficie del sustrato, que se sumerge en la solución, y a la vez de la superficie del recipiente. Por lo tanto, el proceso CBD se basa en la descomposición de la tiourea en una disolución alcalina que contiene sales de cadmio y en el control de los parámetros que influyen en el crecimiento del material para obtener CdS.

Previas investigaciones (Ilieva et al., 1999) nos indican que existen tres mecanismos que propician el crecimiento del material.

- 1- Reacción de los elementos atómicos en la superficie del sustrato
- 2- Aglomeración de coloides formados en la disolución por reacción homogénea
- 3- Combinación de los mecanismos anteriores.

El resultado del crecimiento de la película delgada se presenta homogénea, de superficie lisa y uniforme, reflectante y adherente. Uno de los factores clave del proceso dependen directamente de factores controlados como son: el tiempo de depósito, la temperatura del baño, el ph, la concentración de los reactivos y el tipo de agitación. (AVILÉS, 2008)

Por otro lado, el espesor dependerá del tiempo de deposición, la temperatura del baño influye en la razón de crecimiento del material, ya que favorece la obtención de la energía necesaria para alcanzar el valor de activación de la solución.

La composición del baño químico, así como la cinética de crecimiento han sido reportadas en la literatura, es por ello que existen varias recetas y técnicas funcionales en la actualidad utilizadas para obtención de películas de CdS dependiendo del compuesto de los reactivos seleccionados para la producción de iones de Cd y S. La elección de los tiempos de depósito depende de la velocidad de los reactivos se vayan adhiriendo al sustrato y al espesor de la capa de CdS que se desea obtener.

El objetivo general de este presente trabajo, fue estudiar el crecimiento de películas delgadas de CdS en función de las propiedades macroscópicas y ópticas de los materiales sintetizados.

Para alcanzar este objetivo, se propuso realizar depósitos en el baño químico, a temperatura constante, y su caracterización óptica. Considerando la preparación de la solución y los parámetros de deposición que se tomaron en cuenta, se realizó una comparación.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología aplicada para la elaboración del depósito está basada en la búsqueda sistemática de datos e información documental. Se han utilizado fuentes de apoyo como: artículos e informes publicados, organismos internacionales, e instituciones de investigación y desarrollo.

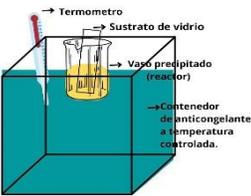
La información recaudada y revisada se compara y somete a un análisis fundamentado en la experimentación, a partir de lo cual se desarrolló lo siguiente:

### Síntesis de la película de CdS

Las síntesis se realizaron por CBD, empleando soluciones acuosas de diversos reactivos y formar 100 ml de solución. Se utilizaron 20 sustratos de vidrio como referencia para formar la película de CdS. La temperatura de reacción es de 90°C, pasado de un tiempo de 15, 30, 45, 60 y 75 min de depósito, en 20 sustratos de prueba con una cantidad de tiourea distinta. En la tabla 1 se muestran los componentes y las condiciones de baño químico que mejor funcionaron para la síntesis.

En el proceso de depósito, el vaso precipitado con la solución fue colocado dentro del tanque con anticongelante de temperatura controlada de 90°C y los sustratos fueron sumergidos en el vaso. (ver Figura 1.)

**Tabla 1.** Componentes base, concentración de iones y condiciones del baño químico.

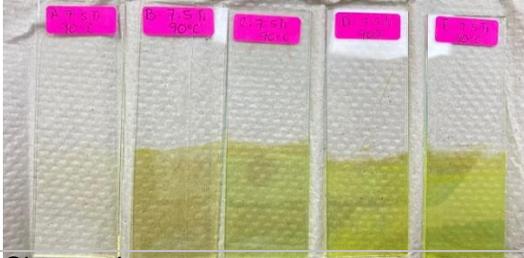
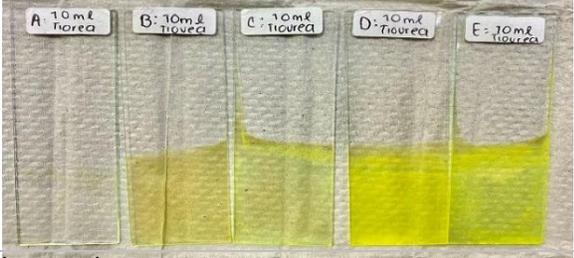
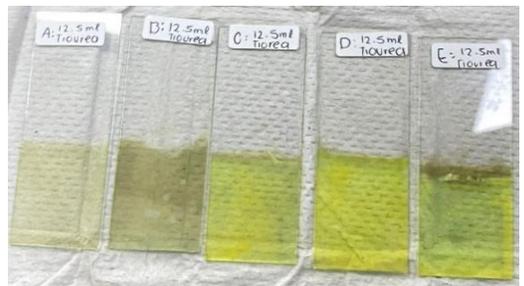
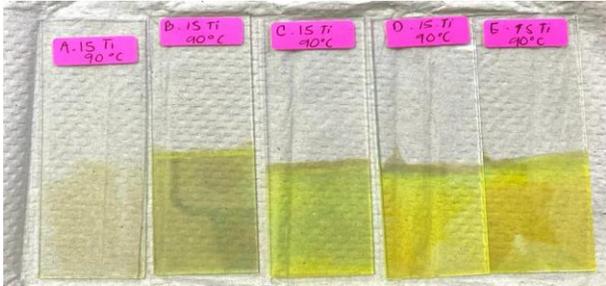
<b>Componente base</b>			
<i>Buffer pH – 10</i> $C_6H_5O_7Na_3$ $KOH$ $CH_4N_2S$			
<b>Concentración de iones</b>			
<b>Reactivos</b>	<b>Concentración de (mmoles/L)</b>		
$CdCl_2 \rightarrow Cd^{+2}$	0.1		
$KOH \rightarrow OH^{+1}$	1		
$C_6H_5O_7Na_3$	1		
$CH_4N_2S^{-2} \rightarrow S^{-2}$	1		
<b>Condiciones del Baño químico</b>			
<b>Películas delgada CdS</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Fig. 1 Esquema de técnica CBD</b>
7.5 ml Tiourea	(15, 30,45,60, 75)min	90 ° C	
10 ml Tiourea			
12.5 ml Tiourea			
15 ml Tiourea			

El instrumento empleado para la caracterización óptica fue Espectrofotómetro UV-Vis Hach DR6000(EUV). Esta espectroscopía permite medir la intensidad de un haz de luz en el rango UV-Vis, absorbido o transmitido después de haber pasado por la muestra, con el pudimos cuantificar la transmitancia y la absorbancia de las muestras, en dicho intervalo. (Morales, 2009). La transmitancia de la película se puede controlar fácilmente por el espesor. (R. S. Kapadnis, S. B. Bansode, A. T. Supekar, P. K. Bhujbal, S. S. Kale, 2020)

### III. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

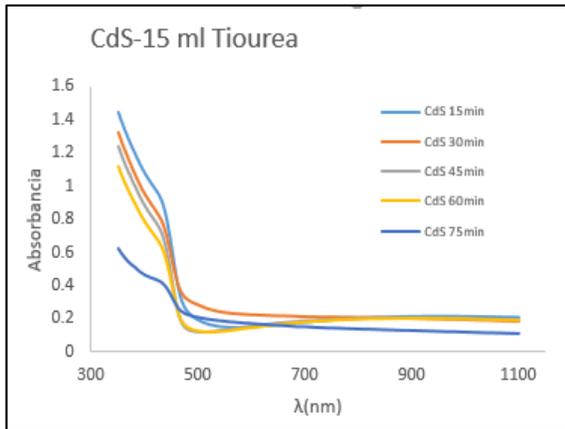
Las características macroscópicas de las películas se estudiaron: el color, la adhesión y el grosor. En la tabla 2. se puede mostrar las características de la película de acuerdo con tiempo y la cantidad de Tiourea, así como también imágenes donde se muestra como a medida que aumenta el tiempo de depósito aumenta el espesor de las películas. El espesor de la película delgada depende de la temperatura, concentraciones iniciales, pH del baño y el tiempo de depósito. (Fuyi Chen, 2008; J González-Chan, 2019)

**Tabla 2.** Características macroscópicas de la película delgada de CdS con distintas cantidades de tiourea y distintas series de Tiempo.

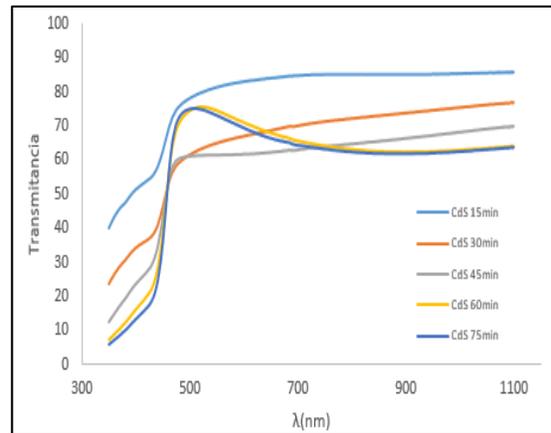
Características macroscópicas	
<p>Serie de 7.5 ml de Tiourea</p>  <p>Observaciones: Películas homogéneas, transparentes, reflejantes y de tonalidad ahumada.</p>	<p>Serie de 10 ml de Tiourea</p>  <p>Observaciones: Películas delgadas, altamente transparentes, reflejantes y de color amarillo.</p>
<p>Serie de 12.5 ml de Tiourea</p>  <p>Observaciones: Películas homogéneas, altamente transparentes, reflejantes y de color marrón desvanecido.</p>	<p>Serie de 15 ml de Tiourea</p>  <p>Observaciones: Películas delgadas homogéneas, altamente transparentes, reflejantes y de color amarillo mostaza.</p>

### Propiedades ópticas

La caracterización de óptica de las películas se realizó mediante la técnica de espectroscopia UV-Visible, en el intervalo de longitud de onda entre 300 nm y 1100 nm, bajo condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica. En las figuras 2 y 3 se muestran respectivamente los espectros de absorción y transmisión de la serie de películas de 15 ml de Tiourea. Se observa la influencia del tiempo de depósito en dichas propiedades, siendo mayor la transmisión de la luz de dicho rango del espectro, conforme la película tiene menos tiempo de depósito, es decir, es más delgada. Un efecto contrario se aprecia en las gráficas de absorción, siendo mayor la absorbancia conforme las películas se hacen más gruesas (mayor tiempo de depósito).



**Figura 2.** Grafica de absorción muestra el borde de absorción característico a CdS alrededor de 500 nm.



**Figura 3.** Grafica de transmitancia se muestra como los materiales son transparentes por encima de 500 nm.

La transmitancia de las películas varía también con la cantidad de tiourea, nos arroja una gráfica que tiene mayor porcentaje de transmitancia. Por otro lado, podemos observar en las figuras 2 que las películas tratadas a 90°C con 15 ml de tiourea presentan bordes de absorción alrededor de 500 nm, el cual es característico para dicho material.

#### IV. CONCLUSIÓN

Se lograron obtener películas delgadas de CdS mediante la técnica CBD con diferentes proporciones de Tiourea y tiempos de depósito. Se estudió el índice de crecimiento de las películas de CdS, a partir del análisis en relación con la composición química y las propiedades ópticas. Lo que más influyó para lograr la determinación de crecimiento fue la experimentación, el acceso a las fuentes de información, el análisis cuidadoso y sistemático de los datos experimentales de la síntesis y la caracterización óptica de las películas de CdS ya que, a partir de ello, se obtuvieron datos suficientes para lograr las generalizaciones alcanzadas en los resultados del proyecto.

#### V. RECONOCIMIENTO

Expreso mi agradecimiento al Tecnológico nacional de México campus Querétaro, al departamento de metalmecánica y a la Doc. Mónica Balvanera Ortuño López por las facilidades, el apoyo para la realización de este proyecto y promover la investigación a los estudiantes.

## REFERENCIAS

- [1] R. S. Kapadnis, S. B. Bansode, A. T. Supekar, P. K. Bhujbal, S. S. Kale, S. R. J. and H. M. P. (2020). Cadmium Telluride/Cadmium Sulfide Thin Films Solar Cells: A Review. *Revista de Revision*, 0, 10.
- [2] Ortuño, M., Ochoa, R., Sandoval, M., Sotelo, M., Flores, M. y Ramírez, R. (2013). Studies on the properties of CdS films deposited from ph-controlled growth solutions. *Journal of Materials Research*,  
[3] Vol. 16, 937-943.
- [4] Ilieva M., Diminova-Malinovska D., Ranguelov B., Markov I., High temperature electrodeposition of CdS thin films on conductive glass substrates, *Journal of Physics: Condensed Matter* 11 (1999) 10025.
- [5] Peña L. (2015). Desarrollo y caracterización de películas delgadas semiconductoras para potenciales aplicaciones en celdas solares fotovoltaicas. Tesis del Centro de Investigación en Materiales Avanzados (unidad Monterrey).
- [6] AVILÉS, A. I. O. (2008). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN FACULTAD DE INGENIERÍA DEPÓSITO Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DELGADAS DE CdS CRECIDAS POR BAÑO QUÍMICO BAJO EL EFECTO DE ROTACIÓN DEL SUSTRATO TESIS PRESENTADA POR: ANDRÉS IVÁN OLIVA AVILÉS INGENIERO FÍSICO MÉRIDA, YUCATÁ. [http://termodinamicaexperimental.org/images/Tesis/Tesis-Licenciatura\\_Oliva-Avils-AI.pdf](http://termodinamicaexperimental.org/images/Tesis/Tesis-Licenciatura_Oliva-Avils-AI.pdf)
- [7] CENER. (2013). Tecnología Fotovoltaica de CdTe de First Solar: Evaluación Medioambiental, de Salud y Seguridad. Fundación Chile, 56.
- [8] R. S. Kapadnis, S. B. Bansode, A. T. Supekar, P. K. Bhujbal, S. S. Kale, S. R. J. and H. M. P. (2020). Cadmium Telluride/Cadmium Sulfide Thin Films Solar Cells: A Review. *Revista de Revision*, 0, 10.

## REGISTRO DE ECTOMICORRIZAS E INOCULACIÓN EN PLANTAS DE ENCINOS EN EL ANP CERRO DEL CUBILETE

**Jessica Urbiola Montes**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Silao-Irapuato km 12.5 El Copal,  
36821 Irapuato, Gto.

[yessica.urbiola@gmail.com](mailto:yessica.urbiola@gmail.com)

**Francisco Alejo Iturvide**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Silao-Irapuato km 12.5 El Copal, 36821  
Irapuato, Gto.

[francisco.ai@irapuato.tecnm.mx](mailto:francisco.ai@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — Los hongos micorrízicos presentan una simbiosis con las plantas aumentando la absorción de elementos nutritivos. Mediante el muestreo de 10 rodales en el ANP Ecocubilete durante los años 2021 y 2022; se identificó un total de 22 ejemplares micorrízicos siendo la familia Russulaceae la que presentó la mejor variedad y distribución de las 5 familias encontradas. Lo que indica que es una familia bien adaptada a las condiciones del área de muestreo. Durante el año 2022 no se registró ningún ejemplar, esto debido a la poca humedad de la temporada. Se espera que durante el periodo de agosto-septiembre se pueda continuar con el estudio.

**Palabras clave** — Micorriza, simbiosis, hongos.

**Abstract** — Mycorrhizal fungi present a symbiosis with plants, increasing the absorption of nutritional elements. Through the demonstration of 10 stands in the ANP Ecocubilete during the years 2021 and 2022; A total of 22 mycorrhizal specimens were identified, being the Russulaceae family the one that presented the best variety and distribution of the 5 families found. This indicates that it is a family well adapted to the conditions of the test area. During the year 2022 no specimen was produced, this due to the low humidity of the season. It is expected that during the August-September period the study can continue.

**Keywords** — Mycorrhiza, symbiosis, fungi.

### I. INTRODUCCIÓN

Las micorrizas representan la asociación entre algunos hongos (micobiontes) y las raíces de las plantas (fitobiontes). En las simbiosis mutualistas de este tipo, los hongos se benefician con los nutrientes sintetizados por la planta y a su vez acarrean minerales del suelo para cederlos a la raíz [1]. Se reconoce a las ectomicorrizas (ECM) como una asociación de intercambio benéfico para ambos organismos [2]. Las ectomicorrizas son comunes en suelos moderadamente ácidos y ricos en materia orgánica, tanto en regiones boreales y templadas como tropicales, por lo que se ubica en casi todos los ecosistemas del mundo [3].

Debido a gran variedad y distribución de los hongos micorrízicos surge la necesidad de realizar el registro y listado de ectomicorrizas presentes en plantas de encinos del ANP Ecocubilete, con el objetivo de identificar la importancia ecológica de las ectomicorrizas encontradas, así como, inocular raíces de encinos y comparar los ejemplares micológicos.

## II. MARCO TEÓRICO

La mayoría de las micorrizas son asociaciones mutualistas "equilibradas" en las que el hongo y la planta intercambian los productos necesarios para su crecimiento y supervivencia. En la asociación ectomicorrízicos el hongo desarrolla una estructura laberíntica a través del apoplasto del córtex de la raíz, llamada red de Hartig, donde se lleva a cabo la transferencia de nutrientes entre las células fúngicas y vegetales [4].

El hongo obtiene carbohidratos y otras sustancias orgánicas resultantes de la fotosíntesis efectuada por la planta, mientras que ésta obtiene agua, fósforo, potasio y nitrógeno, entre otros, así como protección contra patógenos, además de extender su superficie de absorción por la redes miceliales bajo el suelo, e incremento en la longevidad de las raíces [2].

Estudios de campo han estimado que 10 a 15% de la producción total de los fotosintatos de los árboles en los bosques es transferido a los simbioses fúngicos. Los componentes estructurales de la simbiosis ECM incluyen i) las raíces modificadas, que contienen tejidos vegetales y fúngicos, ii) las estructuras fúngicas reproductivas, y iii) el micelio externo que incluye hifas absorbentes, cordones miceliales y rizomorfos [5].

En general, las especies del género *Quercus* están asociados con hongos ectomicorrízicos al influir en su supervivencia ya que promueve el crecimiento de la planta no sólo por arriba del suelo sino también del sistema radicular [6]. Recientemente, en algunos viveros se ha empezado a utilizar hongos ectomicorrízicos con el objetivo de incrementar la supervivencia y tasas de crecimiento de los árboles en el vivero y en el campo [7]. Esto podría permitir a las plántulas puedan mantener un mejor estado nutricional y responder al estrés ambiental del sitio de plantación [6].

En un estudio realizado por Dickie y colaboradores (2002) [8], se observó altas concentraciones de P y N, altas tasas de germinación de semillas y establecimiento de plántulas de encinos ubicadas cerca de otra especie de *Quercus*, presumiblemente debido a la simbiosis micorrízica.

Es significativa la función de las ectomicorrizas en los ecosistemas forestales y relevante el papel que desempeñan las especies de hongos con los hospederos particulares para el establecimiento de las plántulas, crecimiento de los árboles e interconexiones entre las raíces, lo que en conjunto influye de manera importante en la transferencia de nutrientes en el suelo, mantenimiento del bosque y regulación de la coexistencia de diferentes elementos de la comunidad vegetal y fúngica [2].

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

El actual trabajo se realizó en el ANP EcoCubilete ubicada en el municipio de Silao, Gto. dentro de las coordenadas 21°01'21.2"N 101°21'33.3"W, donde se marcaron 10 rodales en el área forestal, con un encino principal por cada rodal rodeado de dos circunferencias completas de encinos garantizando que las raíces micorrizadas que se extrajeron para cada muestra se encontraran asociadas al encino de interés. La metodología se dividió en tres diferentes fases: fase de campo, fase de laboratorio e inoculación de raíces.

#### a) Fase de campo:

Colecta y almacenamiento: se realizaron 3 colectas en los puntos de muestreo en los meses junio y julio de los años 2021 y 2022. En cada uno de los muestreos se tomó material fotográfico de cada ejemplar (hongos macromicetos) en su forma natural, así como la recolección de características morfológicas y las coordenadas. Posteriormente los ejemplares fueron removidos del sustrato con ayuda de una pala.

Identificación morfológica: una vez colectados los ejemplares, se procedió a realizar su identificación morfológica con ayuda de guías de identificación y se elaboraron fichas de registro.

Colecta de esporas: para la colección de esporas se siguió el método de Pérez, E et al., (2003) [9]. Se tomaron impresiones de esporas con cinta adhesiva, visualizando dichas impresiones al microscopio con ayuda de agar-agua y petrolato sobre un portaobjetos.

#### b) Fase de laboratorio

Tinción y observación de esporas: Una vez colectadas las esporas se llevaron al laboratorio del Instituto Tecnológico de Irapuato y utilizando el método de Pérez, E et al., 2003 [9] las láminas se tiñeron directamente con azul de metileno y rojo congo preparado en agua y cubiertas con cubreobjeto. Los hongos colectados se identifican hasta especie con la ayuda de claves ilustradas.

Desecación: posteriormente de la identificación de los ejemplares colectados, estos se secaron de acuerdo con el método utilizado por Covacevich (2017) [10] con aire caliente a 55 °C y una vez deshidratados se empacaron en bolsas plásticas o cajas de papel para su posterior estudio microscópico y corroboración de la identificación.

#### b) Propagación y reproducción.

Preparación de estacas y colecta de bellotas: En el muestreo del año 2021 se cortaron estacas de 15 a 18 cm, se colocaron en agua, posteriormente en tierra y enraizaste y bajo las condiciones necesarias, se les dio mantenimiento a lo largo del año, para el año 2022 se pretendió coleccionar bellotas.

Inoculación de raíces

La inoculación de raíces no se llevó a cabo debido a la poca abundancia de hongos en el periodo de muestreo y por el limitado tiempo de investigación.

**IV. RESULTADOS**

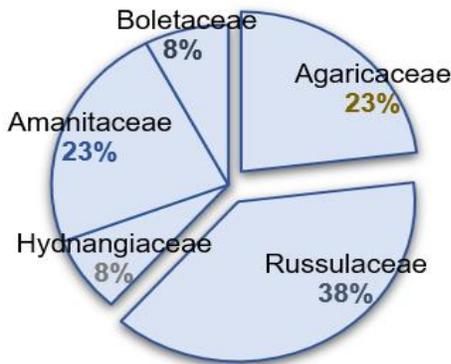
Del total de los hongos encontrados en los puntos de muestreo durante el año 2021 se identificaron un total de 10 especies que, de acuerdo con la literatura, presentan simbiosis ectomicorrízica y 3 que aún están en investigación. En la (Tabla 1) se muestra que dichas especies están distribuidas en un total de 5 familias y 7 géneros respectivamente. En cuanto al año 2022 no se registró ningún hallazgo de hongos.

**Tabla 1:** Listado de ejemplares ectomicorrízicos encontrados en el año 2021.

No. Rodal	Familia	Género	Especie	No. Ejemplares	Ectomicorrízico
2	Agaricaceae	Lepiota	<i>Lepiota excoriata</i>	1	Posible
5			<i>Lepiota clypeolaria</i>	1	Posible
3			<i>Lepiota clypeolaria</i>	1	Si
1		Agaricus	<i>Agaricus campestris</i>	1	Posible
3	Russulaceae	Russula	<i>Russula brevipes</i>	1	Si
10			<i>Russula brevipes</i>	1	Si
4			<i>Russula brevipes</i>	1	Si
8			<i>Russula sanguínea</i>	1	Si
6			<i>Russula lepida</i>	1	Si
4			<i>Russula sardonía</i>	1	Si
7		Lactarius	<i>Lactarius indigo</i>	1	Si
6			<i>Lactarius indigo</i>	1	Si
9	Hydnangiaceae	Laccaria	<i>Laccaria amethystyna</i>	4	Si
8	Amanitaceae	Amanita	<i>Amanita gemmata</i>	1	Si
1			<i>Amanita gemmata</i>	1	Si
9			<i>Amanita vaginata</i>	1	Si
2			<i>Amanita rubescens</i>	1	Si
10			<i>Amanita rubescens</i>	1	Si
8	Boletaceae	Boletus	<i>Xerocomus chrysenteron</i>	1	Si
<b>Total:</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>13</b>	<b>22</b>	

De acuerdo con la (Tabla 1) y la (Fig. 1) la familia que presentó mayor abundancia fue Russulaceae con dos géneros; Russula siendo el género más numeroso con 4 especies y el género Lactarius con una especie, representando un 38% de total de las especies ectomicorrízicas seguido de la familia Agaricaceae con un 23% con presencia de dos géneros; Lepiota, con dos especies, y Agaricus con una especie. Las familias menos abundantes fueron Boletaceae y Hydnangiaceae con un género y una especie, que en porcentaje representaron el 8% cada una.

**Fig. 1:** Familias según su porcentaje de abundancia



En cuanto a los rodales (Tabla 2) el rodal numero 8 fue el mejor representado con un total de 3 familias, 3 géneros y 3 especies, mientras que los rodales 5 y 7 fueron lo que presentamos menor diversidad con 1 familia, 1 genero y 1 especie cada uno.

**Tabla 2:** Familias, géneros y especies por rodal.

Rodal	Familia	Genero	Especies	Ejemplares
1	2	2	2	2
2	2	2	2	2
3	2	2	2	2
4	1	1	2	2
5	1	1	1	1
6	1	2	2	2
7	1	1	1	1
8	3	3	3	3
9	2	2	2	5
10	2	2	2	2
<b>Total</b>				<b>22</b>

Las estacas obtenidas del año 2021 no desarrollaron raíz hasta el momento. La colecta de bellotas durante el muestreo del presente año también se vio afectada dadas las condiciones ambientales por lo que a la fecha no se pudo continuar la fase de inoculación y colecta de bellotas.

## V. DISCUSIÓN

La diversidad conocida en el estado de Guanajuato según lo publicado por CONABIO (2012) [11] de los Basidiomicetes se conocen 111 especies en 14 órdenes, 35 familias y 64 géneros, de los cuales el más abundante es el género *Russula*, con nueve especies. dicha publicación se relaciona con los resultados obtenidos siendo *Russula* el género más abundante. Lo que nos indica que el área de muestreo presenta las condiciones óptimas de clima, humedad y suelo necesarias para que este género pueda fructificar. además, puede llegar a ser un género con un alto potencial para la exitosa inoculación de raíces.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Dado que la temporada de lluvias se retrasó durante el verano del año 2022, la humedad no fue la suficiente y no se encontró registro micológico. Se espera que durante este periodo de agosto-septiembre se pueda recurrir a la colecta de bellotas para poder continuar con el estudio posteriormente.

## VII. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y al director del proyecto Francisco Alejo por el apoyo otorgado.

## REFERENCIAS

- [1] S. L. Camargo-Ricalde, N. M. Montaña, C. J. De la Rosa-Mera, and S. A. Montaña-Arias, "Micorrizas: una gran unión debajo del suelo," *Revista Digital Universitaria*, vol. Volumen 13, 7, 2012.
- [2] v. M. Bandala and L. Montoya, "Ectomicorrizas, asociaciones benéficas entre hongos y raíces de árboles en el suelo de nuestros bosques," *INECOL, Instituto de ecología a. c.*, 2017.
- [3] J. Pérez-Moreno and D. J. Read, "Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza," *Interciencia*, vol. INCI v.29 n.5, 2004.
- [4] M. Brundrett, "Diversidad y clasificación de las asociaciones de micorrizas," *Biological Reviews* vol. volumen 79 , número 3, pp. 473 - 495, 2004.
- [5] M. Brundett, N. Bougher, B. Dell, T. Grove, and N. Malajczuk, "Trabajar con micorrizas en la silvicultura y la agricultura," *Centro Australiano para la Investigación Agrícola Internacional*, p. 374
- [6] D. Olivera-Morales, S. Castillo-Argüero, P. Guadarrama, J. Ramos-Zapata, J. Álvarez-Sánchez, and L. Hernández-Cuevas, "Establecimiento de plántulas de *Quercus rugosa* neoinoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares en un bosque templado de México," *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, vol. 89, pp. 115-121, 2011.

- [7] A. Carrera-Nieva and G. F. López-Ríos, "Manejo y evaluación de ectomicorrizas en especies forestales," *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, vol. vol. 10, núm. 2,, pp. 93-98, 2004.
- [8] I. Dickie, R. Koide, and S. KC, "Influences of established trees on mycorrhizas, nutrition, and growth of *Quercus rubra* seedlings," *Ecological Monographs*, vol. 72, pp. 505-521, 2002.
- [9] E. Pérez, R. Santos, A. Montiel, F. Isea, M. Marín, and L. Sandoval, "Método para el muestreo de esporas de hongos en una plantación de guayabo (*Psidium guajava* L.)," *Revista de la Facultad de Agronomía*, vol. 20(1), pp. 52-62, 2003.
- [10] F. Covacevich, "HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES: Muestreo de suelo para determinación de actividad y diversidad de hongos micorrízicos arbusculares. En: Metodología de muestreo de suelo y ensayos a campo," E. INTA., Ed., ed, 2017.
- [11] R. Medel-Ortiz, M. A. López-Ramírez, and J. García-Alvarado, *La Biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado*, I. d. E. d. G. d. E. Guanajuato., ed., 2012. [Online]. Available.

# MATERIALES LUMIDISCENTES PARA EL REVELADO DE HUELLAS DACTILARES EN CRIMINALISTA.

**Osornio Hernández Monserrat**  
Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Cerro de las campanas s/n, Centro Universitario,  
C.P. 76010 Santiago de Querétaro, Qro.  
[mosornio09@alumnos.uaq.mx](mailto:mosornio09@alumnos.uaq.mx)

**Rodríguez García Carlos Eduardo**  
Universidad Autónoma de Coahuila  
Facultad de Ciencias Físico Matemáticas,  
Prof. David Berlanga S/N Edif. A. Unidad  
Camporredondo, Saltillo, Coah C.P. 25000  
[crodriguezgarcia@uadec.edu.mx](mailto:crodriguezgarcia@uadec.edu.mx)

**Resumen** — El siguiente informe documenta el proceso de síntesis del material luminiscente de aluminato de estroncio dopado con europio y disprosio y se evalúa su aplicación para la detección de huellas dactilares latentes en diferentes superficies de contacto. Este material se sintetiza mediante el método de combustión y muestra una luminiscencia residual duradera. Las partículas de polvo se caracterizan mediante espectrofotometría de fotoluminiscencia. Este fósforo se aplicó a huellas dactilares frescas depositadas en superficies de contacto no porosas: plástico, vidrio y aluminio. Tanto el revelado de huellas como las mediciones fotoluminiscentes mostraron resultados favorables.

**Palabras clave** — Luminiscencia, huellas-dactilares, aluminato.

**Abstract** — The following report documents the synthesis process of dysprosium europium doped strontium aluminate phosphor and evaluates its application for latent fingerprint detection on different contact surfaces. This material is synthesized by combustion and shows a long-lasting afterglow. The powder particles are characterized by photoluminescence spectrophotometry. This material was applied to revealed fresh fingerprints deposited on non-porous contact surfaces: plastic, glass, and aluminum. Both fingerprint development and photoluminescent measurements showed favorable results.

**Keywords** — Luminescence, fingerprint, aluminates.

## I. INTRODUCCIÓN

Los materiales luminiscentes son de gran relevancia debido a variedad de aplicaciones como la iluminación de estado sólido, sensores de temperatura y dispositivos de visualización; así como el etiquetado biológico, administración de fármacos, biosensores y terapia fotodinámica [1]. De igual manera se destaca su gran relevancia en el campo de la ciencia forense para la detección de huellas dactilares.

Las huellas dactilares son una de las formas más importantes de evidencia física en investigaciones criminales. La detección y comparación de estas huellas es la técnica biométrica más utilizada para la identificación personal, debido a su singularidad, permanencia, universalidad y buena capacidad de almacenamiento [2]. Una huella dactilar se compone de secreciones de sudor transferidas a un sustrato, de la que se obtiene una impresión del patrón de la cresta [3].

Los patrones de las crestas de los dedos son características permanentes de cada persona, ya que se forman profundamente en la piel, es posible observar espirales, arcos y bucles [2,3].

Para revelar estas marcas dactilares, se utilizan métodos físicos, químicos y ópticos; la elección de la técnica depende de los constituyentes de las huellas y del tipo de superficie [2]. Nanopartículas con metales como ZnO, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, CdSe/ZnS, CdS y óxido de europio han tenido aplicaciones potenciales en el desarrollo de revelado de huellas dactilares. Sin embargo, la mayoría requieren una síntesis compleja. Por esta razón, se opta por la aplicación de los aluminatos de elementos alcalinoterreos dopados con iones Eu<sup>2+</sup>, Dy<sup>3+</sup> [1].

El aluminato de estroncio se puede sintetizar por combustión, por método de estado sólido o por método de co-precipitación hidrotermal. En el presente reporte, se documenta el desempeño del aluminato de estroncio dopado con europio y disprosio SrAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>:Eu<sup>2+</sup>, Dy<sup>3+</sup> para visualizar huellas dactilares sobre diferentes superficies no porosas.

## II. MARCO TEÓRICO

Los materiales luminiscentes, también llamados fósforos, emiten luz tras la absorción de energía de una fuente de excitación. Se pueden clasificar de acuerdo al tiempo de decaimiento de emisión. Para largos tiempos, se conoce como fosforescencia, mientras que para tiempos cortos se le llama fluorescencia [2].

La fluorescencia emite luz por debajo de la radiación térmica 600 °C de forma espontánea, la duración media de la emisión es del orden menor a  $1 \times 10^{-8}$ s. Por su parte, la fosforescencia posee un tiempo de emisión mayor a  $1 \times 10^{-8}$ s, depende de la temperatura y su emisión de fotones es paulatina [4].

Los materiales luminiscentes también pueden clasificarse de acuerdo a sus mecanismos de emisión. La conversión descendente (downconversion) se da cuando un material es excitado con fotones de alta energía (luz UV) y se producen fotones de menor energía (luz visible); si el material se excita con fotones de baja energía (luz infrarroja) y produce fotones de alta energía (UV o luz visible), el material se considera como fósforo de conversión ascendente o upconversion [2].

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Síntesis de aluminato de estroncio dopado con europio y disprosio por combustión, aluminato verde fosforescente

Para la síntesis se pesaron 1.875 g de nitrato de aluminio, 0.530 g de nitrato de estroncio, 0.011 g de nitrato de europio pentahidratado (III), 0.024 g de cloruro de disprosio y 3.902 g de urea. Se colocaron 3 ml de agua destilada en un vaso de precipitado y se agregaron todos los reactivos siendo el último la urea; se mezclaron por agitación magnética hasta que se encontraron completamente disueltos. Finalmente se tapó el vaso de precipitado con un vidrio de reloj y se calentó a 650° C durante 10 minutos.

### B. Tratamiento térmico

La "ceniza" blanca resultante se molió con mortero hasta obtener un polvo. Se realizó un prensado de pastilla manual y se sometió a un tratamiento térmico con atmósfera de N<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>

(95%/5%) a 1050°C durante tres horas. Se dejó enfriar el horno toda la noche y se extrajo la pastilla para molerla nuevamente resultando un polvo luminiscente con emisión verde.

### C. Revelado de huellas dactilares

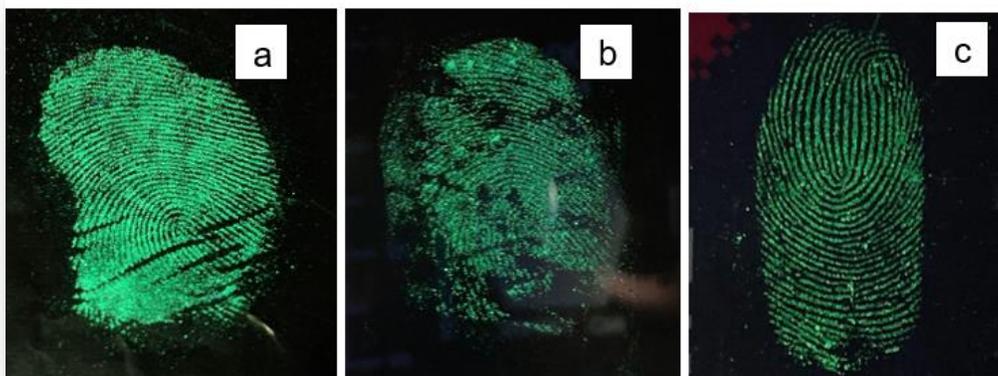
Para el revelado de huellas dactilares, se imprimió la huella en las superficies elegidas (papel aluminio, plástico y vidrio), luego se dejó caer el polvo luminiscente sobre la huella dactilar latente y se retiró el exceso suavemente con un hisopo; por último, se incidió la luz de una lámpara y se tomaron fotografías [2].

## IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS



**Fig. 1.** Fotografía del aluminato de estroncio después de síntesis por combustión y antes del tratamiento térmico.

En la figura 1 se observa el material previo al tratamiento térmico; el material emite un color verde debido a su composición y a que está siendo excitado con una lámpara de luz ultravioleta de 365 nm.

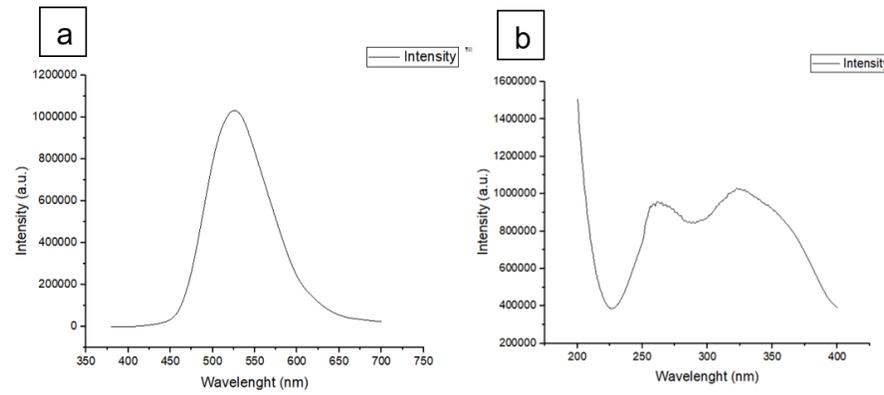


**Fig. 3.** Revelado de huellas dactilares con aluminato de estroncio en diferentes superficies a) papel aluminio, b) vaso de precipitado y c) tarjeta de crédito en la oscuridad instantes después de haber sido excitados.

El revelado de huellas dactilares presentó bastante nitidez y contraste, no fue difícil captar los detalles en cámara ni identificar las partes de huella. Hay tres zonas que se revelan: marginal, central y bacilar. En este caso el donante fue un hombre hispano de 27 años, estudiante de Ingeniería Física.

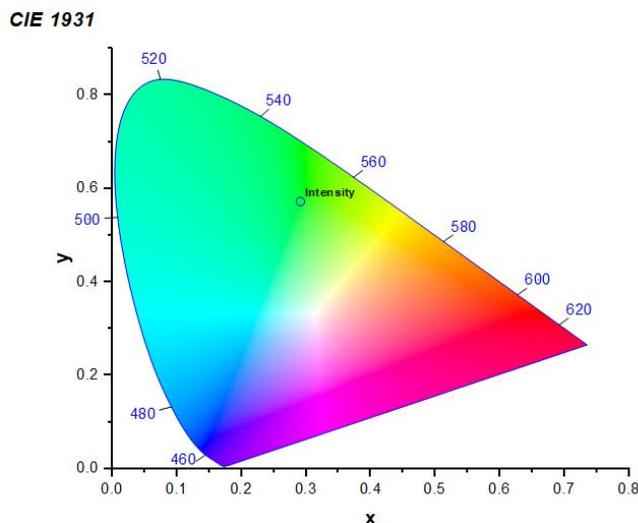
De acuerdo a los lineamientos de Integración, Consulta y Actualización del Registro de Huellas Dactilares, el Sistema Automatizado de Identificación Dactilar (AFIS) es una herramienta informática que integra imágenes de huellas dactilares, palmares y latentes y las coteja con el Registro Nacional de Huellas Dactilares.

Para verificar si dos huellas dactilares corresponden a la misma persona clasifican y analizan los patrones de la huella y se asigna a un conjunto determinado; el matching (coincidencia) de ambas huellas, las compara y encuentra el grado de similitud entre dos vectores de características cuyas componentes representan a los detalles de cada huella [5].



**Fig. 4. a)** Espectro de emisión de  $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$  irradiando con 345 nm.

**b)** Espectro de emisión de  $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$  observando la longitud de emisión de 535 nm.



**Fig.5.** Diagrama de cromaticidad del espacio de color CIE 1931

En la figura 4 se observa el pico más alto (517 - 535 nm) y la lectura de mayor intensidad (1033429 a.u.) se encontraba en 527 nm. Se utilizó el software OrginLab 2022b para graficar con las longitudes de onda correspondientes, obteniendo los espectros que se muestran en la figura 4, y el diagrama de cromaticidad que muestra donde se encuentra la muestra en el espacio de color (figura 5).

## **V. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

$\text{Eu}^{2+}$  actúa como centro de luminiscencia y su transición luminiscente es  $4f65d1 \rightarrow 4f7$ . Todos los materiales luminiscentes de los grupos de aluminato dopados con Eu muestran un espectro de emisión dentro de la región azul-verde [1,6].

Las transiciones 5d - 4f de los iones de tierras raras dependen de la simetría, la coordinación, la covalencia, la longitud del enlace, el tamaño del sitio y la intensidad del campo cristalino en el que residen. La coactivación de  $\text{Dy}^{3+}$  contribuye a los centros de captura del material, al tiempo y la intensidad del resplandor residual, lo que hace que la duración del resplandor sea mucho más larga y más intensa [6].

La investigación se ha centrado en los métodos de síntesis del fósforo de aluminato de estroncio dopado con  $\text{Eu}^{2+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$  debido a su banda de emisión verde que está relacionada con la función de eficiencia luminosa o función sensible al ojo [1].

La importancia del método de síntesis de materiales fosforescentes radica en la determinación de las características del tamaño de las partículas, las propiedades de resplandor y la eficiencia cuántica fluorescente. La síntesis por combustión tiene la ventaja de controlar morfología y tamaño, además de ser rápida y de bajo costo [1].

## **VI. CONCLUSIONES**

Fue sintetizado con éxito el aluminato de estroncio con emisión verde, y el revelado de huellas dactilares en diferentes superficies, comprobando su actividad luminiscente.

Se busca un método que optimice el revelado de huellas y facilite su identificación, el cual debe ser reproducible y potencialmente no destructivo. En el ámbito de los materiales luminiscentes, se requiere una larga vida útil de las emisiones dentro de una amplia gama de aplicaciones, es por ello que se siguen estudiando los materiales fosforescentes verdes.

## **VII. AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Ciencias Físico Matemáticas de la Universidad Autónoma de Coahuila por permitirme realizar esta estancia.

Así mismo, agradezco al Dr. Carlos Eduardo Rodríguez García por su asesoría brindada y a Joshua Omar Carranza, José Abisaid Martínez Mata, Oscar Iván Gómez Zavala y David Alejandro Espinoza Salinas por compartir sus conocimientos.

## REFERENCIAS

- [1] R. E. Rojas-Hernandez, F. Rubio-Marcos, M. A. Rodriguez, J. F. Fernandez. Long lasting phosphors:  $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu, Dy}$  as the most studied material. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.06.081> [Consultado en 2022].
- [2] D. Chávez, C. R. García, J. Oliva y L. A. Díaz-Torres. "A review of phosphorescent and fluorescent phosphors for fingerprint detection", *Ceramics International*. Vol 47, Issue 1, pp 10-41. Disponible en: A review of phosphorescent and fluorescent phosphors for fingerprint detection - ScienceDirect [consultado en 2022].
- [3] S. Cadd, et al., Fingerprint composition and aging: A literature review, *Sci. Justice*, Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.scijus.2015.02.004> [Consultado en 2022].
- [4] J. I. Ruíz Martínez. Estudio del material luminiscente  $\text{SrAl}_2\text{O}_4: \text{Eu, Dy}$  como revelador de huellas dactilares latentes [PhD Tesis]. Universidad Autónoma de Coahuila, Coahuila, México, 2019 [Consultado en 2022].
- [5] Integración, Consulta y Actualización del Registro de Huellas Dactilares, (CNI-REHD-1.0) 2010.
- [6] V. Vitola, D. Millers, I. Bite, K. Smits & A. Spustaka. Recent progress in understanding the persistent luminescence in  $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu, Dy}$ , *Materials Science and Technology*, 35:14, 1661-1677, 2019 [Consultado en 2022].

## NEST-SITE CHARACTERISTICS, DIET, AND ACTIVITY PATTERNS OF *SCIURUS OCULATUS* IN A MIXED FOREST

**Ximena Zamora Prieto**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Municipio de  
Colón, Querétaro, México.

[ximena.zamorapr@smail.astate.edu](mailto:ximena.zamorapr@smail.astate.edu)

**Dr. Nicolás Ramos Lara**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Municipio de  
Colón, Querétaro, México.

[nramoslara@astate.edu](mailto:nramoslara@astate.edu)

**Abstract**—Studying the behavior, and activity patterns of tree squirrels provides essential components for their biological and ecological information. We examined activity patterns including daily habits, diet, nesting behavior, and their connections with the habitat of the Mexican squirrel *Sciurus oculatus* in an oak-pine forest located in Querétaro, from April to July. Dreys and trees measurements were obtained using respective equipment, and ethograms were used for tracking activity and behavior of squirrels. New evidence of activity patterns of *S. oculatus* was found such as nesting equally in pines and oaks, branching nesting at the top section of canopy, sexual behavior, morning behavior mostly by arboreal traverse, food storage and a diet composed mainly of pine seed. It is intended to prove the theoretical information mentioned about this species in different studies, as well as addressing the role of *S. oculatus* in the habitat by adding new ecological information and establishing the bases for further research.

**Keywords**—Activity patterns, ecological, *Sciurus oculatus*, dreys, ethograms

### I. INTRODUCTION

The biological information of most known animals came from studies made on their activity patterns for better understanding the ecological processes that the animal community uses in response to the environment [2]. Analyzing animal behavior by determining their daily habits regarding foraging, survival, reproduction, parenting, drives, hibernation, and nesting provide the necessary information for tracking activity patterns that establish specific descriptions for an effective wildlife management [12]. A wide variety of species are known to opt for nesting as their survival model like amphibians, reptiles, birds, and in the case of mammals, tree squirrels.

Particularly, tree squirrels construct ground nests, tree cavity dens, or leaf nests, also known as dreys [13]. The variation between nest types depends on the species of the squirrel, the geographic location, and environmental factors. Tree squirrels and members of the family Sciuridae are associated with the creation of dreys [6], which is the specific name given to a spherical nest usually composed by twigs, spines, leaves, grass, and sometimes moss [5]. Nests are structures built with the purpose of effectively providing shelter, especially when mating and parenting, and protection against life threats from climatic conditions or predation [18]. Therefore, nest-sites are assessed to the habitat suitability and availability of resources,

which are factors aimed to be analyzed in order to obtain detailed ecological information about their nesting behavior in mixed forests.

Temperate forests are habitats highly preferred by animals with arboreal habits, such as grey squirrels, to which the Peters' squirrel (*Sciurus oculatus*) is part of. This particular squirrel is an endemic species to Mexico relatively large, around 530 to 560 mm, with a distinctive eye-ring, and sightings records indicate that it has a distribution within the Trans-Mexican neovolcanic belt [11]. *S. oculatus* is a diurnal and herbivore organism, meaning that its diet consists of food such as acorns, pine cones, fruits, tree seeds, strobili, and even bark [11]. In 2016, *Sciurus oculatus* was assessed as "Least concern" by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of Threatened Species, due to its presumed large population and wide distribution [1]. On the other hand, in Mexico it is federally listed as "subject to special protection" [17]. Therefore, ecological information existing about *S. oculatus* is scarce, which is required for the conservation and control of threatened populations of tree squirrels.

Studying activity patterns of arboreal squirrels, using an ethogram, by setting functional categories for recording animal behavior with observations includes entries like temperature, physical description, diet, tree preferences, and behavior, that will allow researchers to quantify the information recorded [4]. This is an effective approach for interpreting animal behavior contributing to the ecological domain by determining factors such as nesting behavior, condition of nest-sites, habitat use, connections to the environment, seasonal variations, effects in animal fitness, and species interactions. Lack of specific details about their nesting behavior and activity patterns lead us to find it as a study opportunity for filling these gaps.

We predicted that nests would be built close to the trunk, below the forest canopy, and oriented in the opposite direction of the wind, seeking for stability and avoiding any disturbances such as wind or rain disruptions. Regarding nest trees, it is expected a result with significant preference for *Quercus* with larger basal diameter and higher canopy cover, including multiple interlocked trees that should increase food availability, nest materials, mobility options, and even protection against predation. Our prediction points that foraging would be the most common behavior observed, particularly looking for pine seeds, because of the reduced food availability during the dry season. Also, it is predicted higher occurrences of squirrel sightings during mornings and afternoons before dusk, when daily temperatures are lower.

## II. MATERIALS AND METHODS

*Study area*- The study was conducted in an oak-pine forest with an average temperature that ranges from 12 C° to 23 C° and high levels of humidity [3]. This area, called *Bosque de las Hojas*, is a privately protected forest located in Cadereyta, Querétaro, México (20° 51' 30.2"N 99°35'43.5"W). This forest is composed of tree species such as *Pinus leiophylla*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *Quercus polymorpha*, *Q. laurina*, *Q. greggii*, *Q. affinis*, *Q.*

*lusitanica*, *Q. crassifolia*, *Q. mexicana*, and other vegetation like apple trees (*Malus domestica* Borkh) spread over the area.

*Nests*- From April to August, we searched for both fresh and dry nests within the study area. All the trees with a drey were marked with orange paint at the trunk base to avoid counting the same nest multiple times. The data recorded for each nest included height, measured with a Haglöf electronic clinometer, nest materials, nest condition, support, position, and aspect obtained with a compass.

*Nest tree*- Measures for nest trees are constituted by distance of nest-trunk, nest tree species, tree condition, and distance between nest tree and the nearest tree. Basal diameters of trees were measured using a tape measure, considering a tree basal diameter  $\geq 12$  cm, while canopy cover (at 0 m) was calculated with a GRS densitometer. Location coordinates were obtained using a GPS unit in UTM format.

*Squirrel sightings*- When it comes to squirrel sightings, using an ethogram we recorded entries like temperature and moisture (calculated with a hygrometer), the time and weather, place of first sighting (branch, tree trunk, ground, etc), tree species where the squirrel was located, and physical description considering squirrel species, coloration, and sex, as well as the sighting location coordinates, and diet if squirrel was seen eating. Also, different behavior levels were assessed such as foraging, eating, arboreal traverse, running, grooming, scratching, climbing, descending, carrying food or materials, alert, and sexual behavior. These observations were made in a time lapse no longer than 10 minutes per squirrel and they were recorded chronologically.

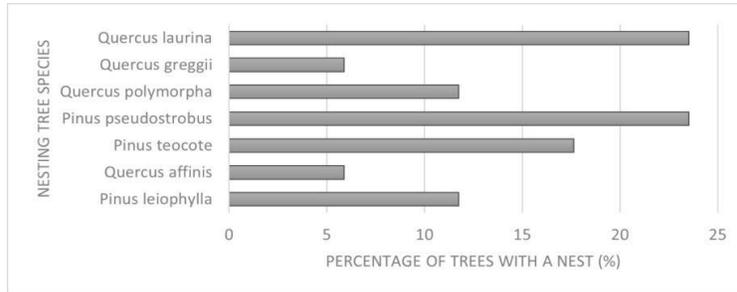
*Statistical analysis*- We used circular analyses for squirrel activity and nest orientation. Chi-square tests were used for the position, support and orientation of nests on the tree canopy, as well as for the genus identification of nest trees and squirrel sightings

### III. RESULTS

*Nests*- We measured a total of 17 dreys. Most nests (76.48%) were located at the top section of the tree crown, whereas 23.52% constitutes dreys equally constructed in the middle and bottom position ( $\chi^2 = 6.35$ ,  $df=2$ ,  $P=0.041$ ). Regarding nest condition, most nests were dry (70.59%), and the minority of them were fresh (29.41%). As for nest support, most nests (64.71%) were placed in branches, whereas 35.29% were placed in forks ( $\chi^2 = 0.72$ ,  $df=1$ ,  $P=0.386$ ). In the case of nest height, the average is 13.36 m (range= 26-4.5 m), while the average of distance nest-trunk is 3.44 m (range= 0-5.63 m). Nest orientation analysis ( $P = 0.122$ ) presents irrelevant preferences. When it comes to nest materials, oak leaves was the most used resource (52.9%), followed by pine needles (35.3%), and mixed materials (11.8%).

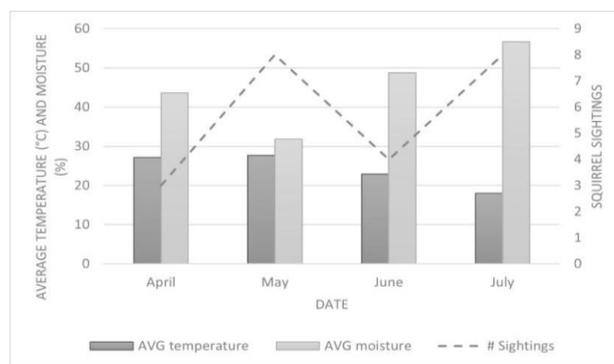
*Nest trees*- Dreys were equally found in oak (47.05%) and pine (52.95%) trees ( $\chi^2 = 0.029$ ,  $df=1$ ,  $P=0.864$ ). However, the data analysis pointed out the preference for *Pinus pseudostrobus* (23.52%) and *Quercus Laurina* (23.52%) as the most used nest trees equally (**Fig. 1**). Average basal diameter of nest trees was 51.52 cm ( $\pm 15.22$  SD; range= 81-31.3 cm), while tree height average is 16.86 m (range= 10-33.1 m), and distance to the nearest tree

average is 5.79 m. For interlocked trees in respect to the nest tree, the average is 6.53, and 74.68% as canopy cover average respectively.



**Fig. 1.** Trees species used for nesting.

**Activity patterns-** The total of squirrels spotted was 23 and they were all identified as *S. oculatus*, of which 2 were melanistic while the rest of squirrels seen presented gray coloration. The record of major squirrel encounters was on May in a time lapse between 7:00 and 12:00 with a total of 7 squirrels spotted when the temperature reached an average of 24.64°C and 40.72% of moisture. The significant variation of sightings on May, in comparison to the other months, is due to a mating chase witnessed, which included multiple squirrels interacting at the same time (**Fig. 2**). It was determined that the mean of squirrels sightings is 11:07 (Rayleigh'R test= 0.725,  $P < 0.0001$ ) (**Fig. 3**). The majority of sightings were in branches (47.83%), leading to establish arboreal traverse (31.5%) and climbing (16.43%) as the most common behaviors, followed by descending tree (12.32%) and mating chase behavior (8.212%), whereas foraging, ground walking, running, scratching, grooming, loafing, carrying food, alert, standing on ground, resting, and pooping reached low percentages ( $\leq 5.47\%$ ). When it comes to the diet, pine cones and strobili were recorded during April as the only source of food. By May, traces of apples eaten were found along to pine cones, while the food consumed during June included pine cones, apples, and mushrooms, in addition to *Cupressus sp.* seeds by July.



**Fig. 2.** Average of temperature and moisture vs percentage of squirrel sightings by month.

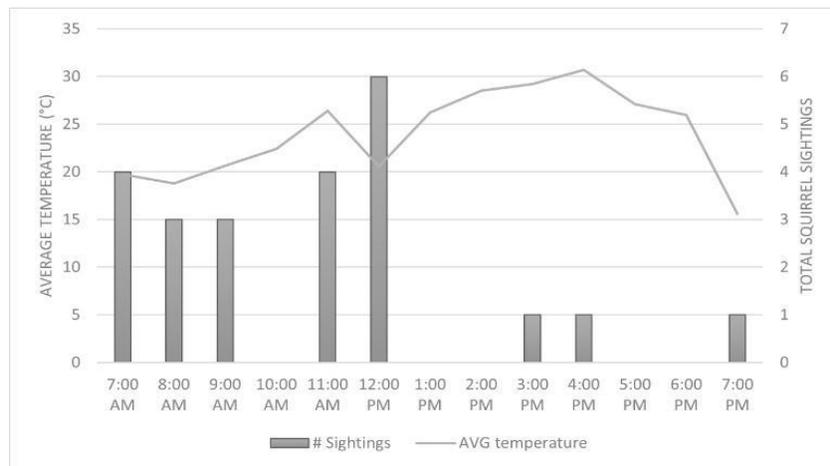


Fig. 3. Analysis for activity time of squirrels during a day.

#### IV. DISCUSSION

It was expected a nest position close to the trunk by the lower area of the canopy and with a specific direction, but results showed the opposite and the preferential irrelevance when it comes to orientation. In contrast to the prediction, *S. oculatus* prefer nesting in branches at the top section of the canopy, indicating their inclination for canopy density, tree interconnections, and sunlight access, which facilitates food search and mobility [14]. This means that this squirrel prioritizes canopy density and sunlight access rather than protection against aerial predation.

Contrary to our prediction, squirrels did not show a preference for nesting in either oak or pine trees. The given explanation relies on as it is easier to find food from a *Pinus*, it also represents a waste of energy for searching and transferring nesting materials from oaks, while *Quercus* provide the nesting materials required, but it produces food that perish in a short time making it less convenient [20,8]. As predicted, *S. oculatus* used relatively large and high trees, along with the prediction stating a tendency for nesting in high canopy cover areas and with multiple interlocked trees, which was also supported. This confirms that nesting in larger, taller, and denser trees provide a significant level of stability to the nest and protection against environmental disturbances, as well as it facilitates food availability, nest materials, and mobility [16,9].

In support to our predictions, arboreal traverse was determined as the most constant behavior. As it was expected, *S. oculatus* spend most of the time foraging due to the hard conditions for finding food during dry season, which is a common behavior included in arboreal traverse according to previous studies [16,10]. Moreover, it was confirmed that *S. oculatus* fed primarily of pine seed as a result of scarce food availability, and evidence showed that strobili, green apples, mushrooms, and even other seeds were added to the diet list during dry season, supporting the information stated in other studies [11,15]. Although the information about *S. oculatus* diet is limited, there is evidence of squirrels storing apples in branches, which was

an unknown behavior attributed to *S. oculatus* until now, as it is thought to be a consistent behavior recorded more for temperate squirrels, according to different sources [15,19].

It was predicted that squirrels would have more activity in the mornings and afternoons, when the temperature tends to be lower and moisture higher during daylight. However, results indicate that *S. oculatus* presents major activity between 7:00 and 12:00 in the morning, meaning that the prediction was partially supported. Results suggest less activity after midday and before dusk. Studies determine that morning behavior is directly related to squirrels sharing habitat with other tree squirrel species [16,7], but there was no record of maintaining this constant behavior on *S. oculatus* without the presence of sympatric tree squirrels as *S. oculatus* is the only squirrel species found in the forest. Warmer areas of the forest, where trees are slightly more dispersed and the sun had more access, turned out to have favorable conditions for finding squirrels. However, male squirrels with scrotal testes and a couple of females were spotted only in denser and colder areas with water source nearby, and in some occasions after midday, during mating chases. This information plays a key role as part of the unknown activity patterns about sexual behavior for the species.

## V. CONCLUSION

We examined and quantified *S. oculatus* behavior, diet, and activity patterns emphasizing in nesting. Studying activity patterns of this species provided answers to the scarce information about its ecology such as its diet of pine seeds during dry season, evidence of food storage, and morning behavior, as well as its nesting equally in pine or oak tree and the observations on sexual behavior. *S. oculatus* has particular daily habits and nesting behavior related proportionally to the climatic conditions. Further research is needed like diet during wet season, timing and conditions for reproductive season, the presence of sympatric species, the status discrepancy between SEMARNAT and the Red List, among other factors about tree squirrels in neotropical forests for improving their conservation and correct management.

## VI. ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Trejo family that allowed us to conduct this study in their property, and for their valuable work for maintaining *El Bosque de las Hojas* protected. We also thank José Pablo Torres Campos and Diego Emilio Aznar Cruz for their suggestions and aid in the field collecting data, and data analysis.

## REFERENCES

- [1] Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I., Lacher, T. & Vázquez, E. (2016). *Sciurus oculatus*. The IUCN Red List of Threatened Species: e.T20017A22246721. Retrieved from <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T20017A22246721.en>
- [2] Astiazarán, A., Gallina, S., Delfin-Alfonso, C. A. (2020). *Activity patterns of arboreal mammals in a tropical rain forest in México*. *Therya*, Vol. 11(2): 225-231.
- [3] Biodiversidad Mexicana. (2017). *Bosques Templados*. Retrieved from: <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/bosqueTemplado>
- [4] Braude, S., Crews, J., Stephenson, C., Clardy, T. (2002). *The Ethogram and Animal Behavior Research*. Book, Section 2, pag. 13- 23.
- [5] British Red Squirrel (BRS). (2022). Forum of conservation in UK. Retrieved from <http://www.britishredsquirrel.org/grey-squirrels/dreys-nests/>
- [6] Craig, S., Selonen, V., Koprowski, J. (2016). *Grey squirrel nesting ecology and the use of nest sites in European population management*. In book: *The Grey Squirrels: Ecology & Management of an Invasive Species in Europe* (pp.349-368) Ch. 18.
- [7] Derge, K. L., & Yahner, R. H. (2000). *Ecology of Sympatric Fox Squirrels (Sciurus Niger) and Gray Squirrels (S. Carolinensis) at Forest-Farmland Interfaces of Pennsylvania*. *The American Midland Naturalist*, 143(2), 355–369. <http://www.jstor.org/stable/3083058>
- [8] Gregory, S. C., Vander Haegen, W. M., Chang, W. Y., West, S. D. (2010). *Nest Site Selection by Western Gray Squirrels at Their Northern Range Terminus*. *The journal of wildlife management*, 74(1), 18-25.
- [9] Halloran, M. E & Bekoff, M. (1994) *Nesting Behaviour of Abert Squirrels (Sciurus aberti)*. *International journal of behavioral biology*, 97(3), 236-248.
- [10] Koprowski, J. L. (1991). *Response of Fox Squirrels and Gray Squirrels to a Late Spring-Early Summer Food Shortage*. *Journal of Mammalogy* 72(2), 367–372.
- [11] Monterrubio-Rico, T. C., Guido-Lemus, D., Charre-Medellín, J. F., Zavala-Paramo, M. G., Padilla-Jacobo, G., Cano-Camacho, H., Leon-Paniagua, L. (2013). *Nuevos registros de la ardilla de Peters Sciurus oculatus (Peters 1863) para Michoacán y primera genotipificación molecular de la especie*. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(2): 304-316. ISSN 0065-1737. Retrieved from <https://www.scielo.org.mx/pdf/azm/v29n2/v29n2a4.pdf>
- [12] Nasanbat, B., Ceacero, F., Ravchig, S. (2021). *A small neighborhood well-organized: seasonal and daily activity patterns of the community of large and mid-sized mammals around waterholes in the Gobi Desert, Mongolia*. *Front Zool* 18, Ch. 25.
- [13] Palmer, G., Koprowski, J., Pernas, A. (2013). *Nest tree and site selection of an introduced population of red-bellied squirrels (Sciurus aureogaster)*. *Journal of Mammalogy*. 94. 1274-1281.
- [14] Parker, T.S. & Nilon, C.H. (2008) *Gray squirrel density, habitat suitability, and behavior in urban parks*. *Urban Ecosyst* 11, 243–255.
- [15] Ramos-Lara, N., & Cervantes, F.A. (2011). *Ecology of the Mexican Red-Bellied Squirrel (Sciurus aureogaster) in Michacán, México*. *The Southwestern Naturalist*, 56(3): 400-403.

- [16] Ramos-Lara, N., & López-González, C. A. (2017). *Niche segregation between *Sciurus aureogaster* and *S. oculatus* in a disturbed forest in central Mexico*. Journal of Mammalogy, 98(6).
- [17] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo*. Gobierno de México. Retrieved from <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4254/semarnat/semarnat.htm>
- [18] Steenhof, K. & Newton, I. (2007). Assessing Nesting Success and Productivity. Raptor research and management techniques, ch. 11, 181-192. Retrieved from <https://raptorresearchfoundation.org/wp-content/uploads/2021/11/Chapter-11.pdf>
- [19] Wauters, L.A., Tosi, G., Gurnell, J. (2002). *Interspecific competition in tree squirrels: do introduced grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) deplete tree seeds hoarded by red squirrels (*S. vulgaris*)?*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 51, 360 – 367.
- [20] Wauters, L., Tosi, G., Gurnell, J. (2005). *A review of the competitive effects of alien grey squirrels on behaviour, activity and habitat use of red squirrels in mixed, deciduous woodland in Italy*. Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy, 16(1).

## CLASIFICACIÓN DE GALAXIAS

**Julieta Díaz Azúa**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Carr. a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, 76140  
Santiago de Querétaro, Qro.  
[julietad542@gmail.com](mailto:julietad542@gmail.com)

**Josué de Jesus Trejo Alonso**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Carr. a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, 76140  
Santiago de Querétaro, Qro.  
[josue.trejo@uaq.edu.mx](mailto:josue.trejo@uaq.edu.mx)

**Resumen** —Se realiza una clasificación de diez cúmulos de galaxias clasificados como cúmulos sublumínicos en rayos X, generando una base de datos que posteriormente servirá para la creación de una red neuronal que clasifique galaxias de forma automática, cabe mencionar que para la obtención de resultados estadísticos se utiliza el programa R, estos resultados son pieza clave para obtener relaciones importantes que existen entre la morfología de la galaxia y características del cúmulo, un ejemplo primordial fue la observación de que la mayoría de los cúmulos estudiados contienen en mayor cantidad galaxias tipo lenticular y en cantidades muy pequeñas galaxias tipo espirales, creemos que esto es debido al tipo de objetos estudiados ya que, según estudios en la literatura, son objetos jóvenes dinámicamente.

**Palabras clave** — morfología, cúmulo, galaxia

**Abstract** — Classification of galaxies of ten different galaxy clusters is performed, generating a database that will later serve for the creation of a neural network that classifies galaxies automatically, it is worth mentioning that the application of R is used to obtain statistical results, These results are key to obtain important relationships that exist between the morphology of the galaxy and cluster characteristics, a prime example was the observation that most of the clusters studied contain more lenticular galaxies and very small quantities of spiral galaxies.

**Keywords** — morphology, cluster galaxy

### I. INTRODUCCIÓN

Los cúmulos de galaxias son los objetos masivos más grandes del Universo ligados gravitacionalmente. Usualmente son clasificados de acuerdo al número de galaxias que tienen ( $> 50$  miembros), o a su masa ( $> 10^{14}M_{\odot}$ ) o a su emisión en rayos X producida por el medio intracumular (ICM, por sus siglas en inglés IntraCluster Medium) [1]. Sin embargo, algunos trabajos han puesto en duda esta última clasificación encontrando cúmulos de galaxias muy masivos que no poseen un ICM detectable con los telescopios que se tienen actualmente [2].

Una manera de poder atacar este problema es a través de la relación morfología-densidad [3], la cual establece que, dentro de un cúmulo de galaxias, la parte central cuenta con más galaxias del tipo tardío que galaxias tempranas y entre más hacia las periferias del cúmulo

nos acercamos, esta relación va cambiando a lo opuesto, es decir, entre más fuera del centro estamos encontramos más galaxias espirales que galaxias elípticas.

Entonces, para poder verificar esto, se necesita un clasificador automático de galaxias, debido a que las clasificaciones a ojo resultan imprácticas y sesgadas.

Con el desarrollo de la inteligencia artificial llegaron las redes neuronales, que son herramientas poderosas para este objetivo. Las redes neuronales son llamadas así debido a que simulan el comportamiento del cerebro humano y sus componentes principales son: capas de entrada, capas ocultas y capas de salida. Las capas ocultas se componen de neuronas y de conexiones ponderadas, que varían de acuerdo al objetivo de cada problema. Toda red neuronal requiere de un entrenamiento previo, es decir, se debe tener una base de datos confiable para obtener los resultados deseados.

Para este proyecto se va a construir dicha base de datos, por lo que se tendrán que descargar imágenes de galaxias que pertenezcan a cúmulos previamente seleccionados para después poder clasificarlas de la base de datos de SDSS (*Sky Digitized Sky Survey*, [4]). Después se hará un estudio estadístico de la muestra. Dicho resultado, será la base del clasificador automático posterior.

## II. MARCO TEÓRICO

La morfología de las galaxias es un producto de cómo se formaron las galaxias. A pesar de los avances en instrumentación y la explosión de datos, la morfología clásica de las galaxias (es decir, la clasificación morfológica visual al estilo de Hubble y otros) no ha perdido su relevancia.

Finalmente, estudios profundos con el Telescopio Espacial Hubble han ampliado estudios morfológicos mucho más allá del reino de las galaxias cercanas que dominaron los primeros catálogos.

Como objetos extensos en lugar de fuentes puntuales, las galaxias muestran una amplia variedad de formas, algunos debido a estructuras intrínsecas, otros debido a la forma en que la galaxia está orientada a la línea de visión. Como clasificación general tendremos galaxias espirales (ver Fig.1), lenticulares (ver Fig.2) y elípticas (ver Fig.3). Las orientaciones aleatorias y la amplia variedad de distancias son los principales factores eso puede complicar las interpretaciones de la morfología de las galaxias. Si pudiéramos ver cada galaxia a lo largo de su eje principal de rotación, y desde la misma distancia, entonces comparaciones más justas serían posibles. Sin embargo, las morfologías que se ven en las galaxias de frente también pueden ser a menudo reconocido en galaxias más inclinadas. Es sólo para las más altas inclinaciones que la morfología cambia de una estructura radial frontal a una estructura vertical.

Estudios de cambios de longitud de onda Doppler en los espectros de objetos de disco (como regiones HII y luz estelar integrada) revelan que los discos giran diferencialmente. Si una galaxia es espiral, el disco es generalmente donde se encuentran los brazos y también donde se encuentra la mayor parte de la materia interestelar.

Los anillos son características prominentes en algunas galaxias. A menudo definido por la formación estelar reciente. Los anillos pueden ser rasgos completamente cerrados o pueden ser

parciales o abiertos, estos últimos llamados "pseudo". Los anillos interiores son características de escala intermedia que a menudo envuelve la barra en una galaxia barrada. Los anillos exteriores son características grandes y de bajo brillo superficial.

Las lentes son características, generalmente hechas de estrellas viejas, que tienen un gradiente de brillo poco profundo. interior a un borde afilado. Se ven comúnmente en la clase S0 en forma de disco de Hubble. Los lentes pueden ser redondos o de forma ligeramente elíptica. [5].

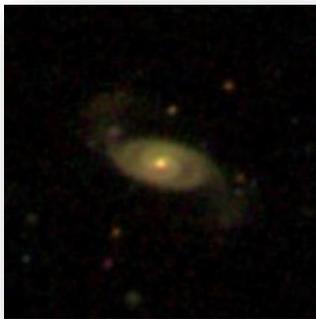


Fig 1. Galaxia espiral



Fig 2. Galaxia lenticular



Fig 3. Galaxia elíptica

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

La primera etapa consiste en la lectura y comprensión de artículos a cerca de morfología de galaxias[5] y cúmulos galácticos[6] , así como el entrenamiento visual para poder identificar a simple vista el tipo de galaxia a partir de imágenes, este entrenamiento se basa en entrar a la página de GalaxyZoo (<https://www.zooniverse.org/projects/zookeeper/galaxy-zoo/>), en donde se encuentra gran cantidad de imágenes que son clasificadas por el mismo usuario esto ayuda a acostumbrar al ojo a los patrones comunes que se podrán observar en las galaxias.

Obtener el catálogo de cúmulos de galaxias sublumínicas en rayos X a partir del servidor Vizier, para este paso se entra al servidor de Vizier (<https://vizier.u-strasbg.fr/viz-bin/VizieR>) y se obtienen los catálogos de diez cúmulos distintos.

Al obtener los catálogos la siguiente etapa es la obtención de las imágenes de la página SDSS(*Sky Digitized Sky Survey*) usando un código en shell.

Al tener las imágenes ya descargadas se comienza con la clasificación, es una clasificación general entre galaxias lenticulares, elípticas y espirales.

Una vez teniendo la clasificación completa se hace un análisis estadístico del porcentaje de galaxias lenticulares, elípticas y espirales, por cúmulo.

Se sacan conclusiones generales respecto a los datos estadísticos.

#### IV. RESULTADOS

A partir de las bases de datos generadas para cada cúmulo, se realizaron gráficas comparando la ascensión recta (RA) vs la declinación (DEC), de esta forma podemos apreciar la ubicación de cada tipo de galaxia en los cúmulos.

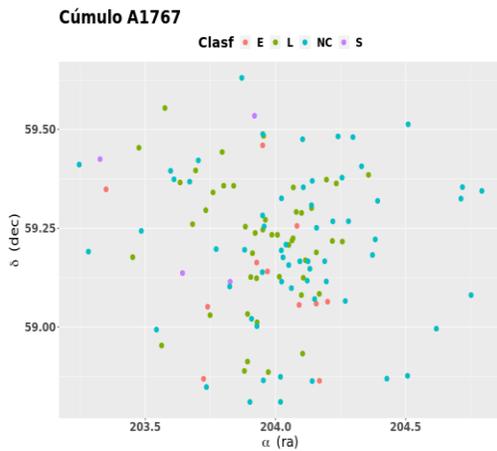


Fig 4. Gráfica ra vs deg cúmulo A1767

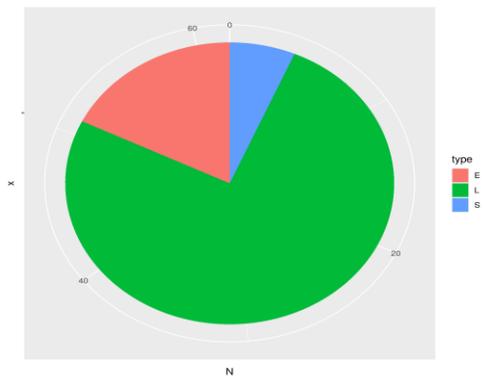


Fig 5. Análisis estadístico A1767

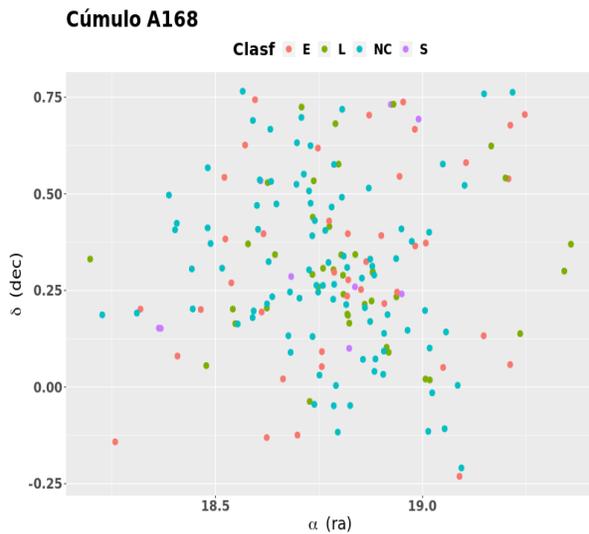


Fig 6. Gráfica ra vs dec cúmulo A168

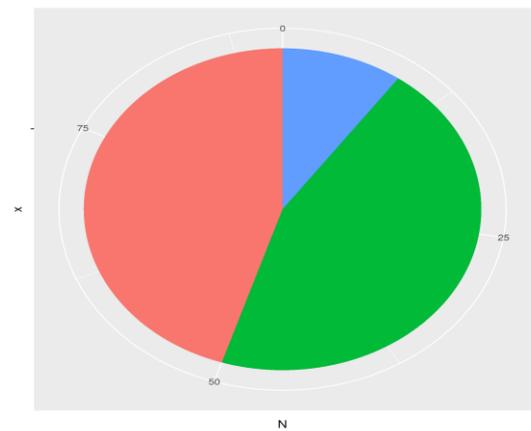


Fig 7. Análisis estadístico A168

## V. DISCUSIÓN

En el proceso de clasificación de galaxias fue posible notar cómo los cúmulos estudiados tienen una su mayoría galaxias lenticulares.

Para que un cúmulo cumpla la relación morfología densidad debe contener más galaxias elípticas en su centro y siendo más lejana la distancia al centro se encontrarán más galaxias espirales.

Se analizó la gráfica  $r_a$  vs  $dec$  para el cúmulo A1767(ver Fig 4.) y se puede notar como esta relación se hace posible, a pesar de que se tiene un bajo porcentaje de ambas galaxias se puede notar que en su centro hay más galaxias elípticas que espirales, otra cosa importante a mencionar es el hecho de que se clasificaron solo la mitad de las galaxias por cúmulo, esto quiere decir que las galaxias no clasificadas pueden formar parte de la estadística tanto para las elípticas o para las espirales y hacer más notoria la relación mencionada.

Para el caso del cúmulo A168(Ver Fig 6.) es complicado analizar el comportamiento de sus galaxias ya que están bastante dispersas, pero sabiendo que la mitad de las galaxias las tenemos sin clasificar no podemos negar el hecho que de igual manera cumpla con la relación.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El estudio de la morfología de galaxias da un panorama muy grande de cómo estas características nos llevan a información sobre su formación, su historia y a la vez información sobre otros objetos celestes. En este trabajo se estudiaron diversos cúmulos de galaxias elegidos aleatoriamente y se pudo notar como tienen características comunes, así como se pudo comprobar que la mayoría de ellos cumplen con la relación morfología-densidad que nos lleva a profundizar en este y otros estudios.

Las bases de datos generadas serán pieza clave para futuros trabajos, por ejemplo la programación de una red neuronal que realizará la tarea de clasificación de maneta automática.

## VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro y al CONACyT por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] Bahcall, N. A. 1998. Symposium-International Astronomical Union. 179, 317.
- [2] Trejo-Alonso, J. J. et al. 2014. MNRAS. 441, 776.
- [3] Dressler, A. 1980. ApJ. 236, 351.
- [4] Blanton, M. R., Bershad, M. A., Abolfathi, B., Albareti, F. D., Prieto, C. A., Almeida, A., ... & Jullo, E. (2017). Sloan digital sky survey IV: Mapping the Milky Way, nearby galaxies, and the distant universe. *The Astronomical Journal*, 154(1), 28.
- [5] Buta, R. J. (2011). *Galaxy morphology*. arXiv preprint arXiv:1102.0550.
- [6] Popesso, P., Biviano, A., Böhringer, H., Romaniello, M., & Voges, W. (2005). RASS-SDSS galaxy cluster survey-III. Scaling relations of galaxy clusters. *Astronomy & Astrophysics*, 433(2), 431-445.

## INDICADORES DE RESTAURACIÓN ECOLÓGICA.

**Angela Elizabeth Peña Barrientos**

Universidad Autónoma de Coahuila  
Facultad de Ciencias Químicas  
Blvd. Venustiano Carranza S/N,  
C.P. 25280 Saltillo, Coahuila  
[Pena-a@uadec.edu.mx](mailto:Pena-a@uadec.edu.mx)

**Sandra Milena Gelviz Gelvez**

Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Instituto de Investigación de Zonas Desérticas  
De Altair 200, C.P. 78377 San Luis Potosí,  
S.L.P.  
[Sandra.gelviz@uaslp.mx](mailto:Sandra.gelviz@uaslp.mx)

**Resumen** Debido al alto grado de deterioro de los diferentes ecosistemas, derivado principalmente de actividades antrópicas, y a la pérdida de propiedades emergentes en los ecosistemas (resistencia y resiliencia) se han establecido diferentes estrategias para favorecer la recuperación de la estructura, diversidad y funciones ecosistémicas. Dentro de las estrategias implementadas se encuentra la reforestación, el saneamiento y la restauración ecológica, entre otras. La importancia de este tipo de estrategias ha sido ampliamente reconocida, sin embargo, una vez implementadas es imperante la evaluación del éxito y/o modificación de las acciones con el fin de evaluar el efecto y/o reorientar las acciones realizadas, lo cual ha sido poco atendido. Estos resultados son parte de un proyecto más amplio y nosotros solo evaluamos el efecto de la restauración ecológica en la diversidad funcional de escarabajos coprófagos y en el suelo (propiedades físico químicas de suelo y concentración de contaminantes) en el estado de San Luis Potosí. Se consideraron tres condiciones: restaurado, referencia y conservado. Se fotografiaron y pesaron 240 individuos de escarabajos estercoleros con el fin de realizar las medidas de los diferentes rasgos funcionales en cada condición. Se realizó una salida para toma de muestras de suelo para caracterización de propiedades químicas y concentración de metales (Cr, Ni, As y V). En cuanto a la concentración de metales en los sitios restaurados y de referencia se obtuvo una mayor concentración de Cr en comparación con los sitios conservados, para los demás metales no se obtuvieron diferencias entre condiciones ni valores superiores a los reportados por la NOM 047.

**Palabras clave** Restauración ecológica, indicadores, suelo, escarabajos, diversidad funcional.

**Abstract** — Due to the high degree of deterioration of the different ecosystems, derived mainly from anthropic activities, and the loss of emerging properties in the ecosystems (resistance and resilience), different strategies have been established to favor the recovery of the structure, diversity and ecosystem functions. Among the strategies implemented are reforestation, sanitation and ecological restoration, among others. The importance of this type of strategies has been widely recognized, however, once implemented, the evaluation of the success and/or modification of the actions is imperative in order to evaluate the effect and/or reorient the actions carried out, which has been little attended. These results are part of a larger project and we only evaluated the effect of ecological restoration on the functional diversity of dung beetles and on the soil (physicochemical soil properties and pollutant concentration) in the state of San Luis Potosí. Three conditions were considered: restored, reference and preserved. 240 individuals of dung beetles were photographed and weighed in order to measure the different functional traits in each condition. An exit was made to take soil samples for characterization of chemical properties and concentration of metals (Cr, Ni, As and V). Regarding the concentration of metals in the restored and reference sites, a higher concentration of Cr was obtained compared to the preserved sites, for the other metals no differences were obtained between conditions or values higher than those reported by NOM 047.

**Keywords** — Ecological restoration, indicators, soil, beetles, functional diversity.

## I. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas tienen propiedades emergentes (resistencia y resiliencia) que permiten la respuesta ante cualquier disturbio tanto natural como antrópico. Sin embargo, una vez sobrepasado el umbral de resistencia es imperante la implementación de acciones que permitan recuperar estas propiedades (1).

En este sentido la restauración ecológica busca favorecer la recuperación de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas. Pero es importante, que una vez implementadas las estrategias de restauración ecológica se monitoreen diferentes componentes del ecosistema (flora, fauna, suelo).

Algunos estudios se han enfocado en plantas. Sin embargo, en la recuperación faunística influyen otros factores como la conectividad, el paisaje u otros factores bióticos que pueden verse favorecidos producto de las acciones de restauración ecológica implementadas (2). Adicionalmente diferentes factores químicos del suelo pueden limitar la respuesta de la flora y la fauna por lo cual deben ser considerados de gran importancia. En este sentido la concentración de metales en el suelo puede explicar una restauración poco eficiente.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el estado de San Luis Potosí en el municipio de Villa Hidalgo. El sitio tiene una precipitación promedio anual de 350 mm y una temperatura media anual de 18.6°C. La vegetación se compone principalmente de matorrales xerófilo, rosetófilo y casicaule con predominio de *Larrea tridentata*, *Prosopis laevigata*, *Bouteloua gracilis*, *Muhlenbergia phleoides*, *Distichlis spicata* entre otros (3).

Para este trabajo, buscamos tres condiciones asociadas a la recuperación del ecosistema: restaurado (en el que se implementaron obras de conservación de suelo y siembra de *Prosopis laevigata* y *Opuntia senopetala*), conservado (donde no ha habido acciones de uso de suelo por más de 50 años) y referencia (adyacentes al sitio restaurado, pero donde no se implementaron acciones de restauración). Las acciones de restauración fueron implementadas durante 2010.

### A. Caracterización de las propiedades físico – químicas de Suelo

El muestreo se llevó a cabo en el mes de Julio de 2022. Para cada condición se establecieron 3 parcelas de 10 x 10 metros, cada parcela tuvo una separación de 100 m entre sí. En cada parcela se tomaron 5 submuestras de suelo, una en cada esquina y la quinta en el centro de la parcela, formando así una muestra compuesta. Las submuestras se tomaron a una profundidad de 5 cm y cada una contenía aproximadamente 200 g de suelo las cuales fueron colocadas en una bolsa hermética previamente rotulada con fecha, número de muestra y condición (restaurado, referencia y conservado). Posteriormente se llevaron al laboratorio de suelo del Instituto de Investigación en Zonas Desérticas de la UASLP para la determinación de características fisicoquímicas de suelo como MO, N, P y

C (las cuales están en análisis). Posteriormente de cada una de las muestras se tomaron 5 gr para análisis de metales pesados (Cr, Ni, As y V) por medio de un espectrofotómetro de fluorescencia de rayos X.

### B. Medidas morfo-funcionales de escarabajos estercoleros

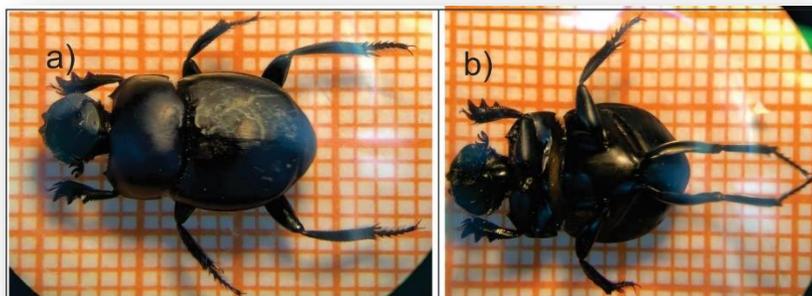
Para las medidas morfo-funcionales se consideró la especie de *Canthon humectus* debido a que esta especie fue registrada en las tres condiciones y presenta más de 20 individuos por condición. Los individuos utilizados para realizar las mediciones morfo-funcionales fueron capturados con trampas de caída (con y sin cebo) dentro de la tesis de la estudiante Melisa Rodríguez Medina quien se encuentra cursando la maestría en Ciencias Agropecuarias LGAC manejo en recursos bióticos en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. De cada individuo se tomaron fotografías para medición de atributos funcionales como: longitud parta posterior, longitud de la pata anterior y ancho de la cabeza, tórax y abdomen, además se registró la biomasa de los individuos.

### C. Análisis de resultados

Para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre condiciones para concentración de metales se realizaron pruebas de varianza Kruskal Wallis debido a que los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad y se realizó una prueba de Tukey para ver si existen diferencias entre condiciones.

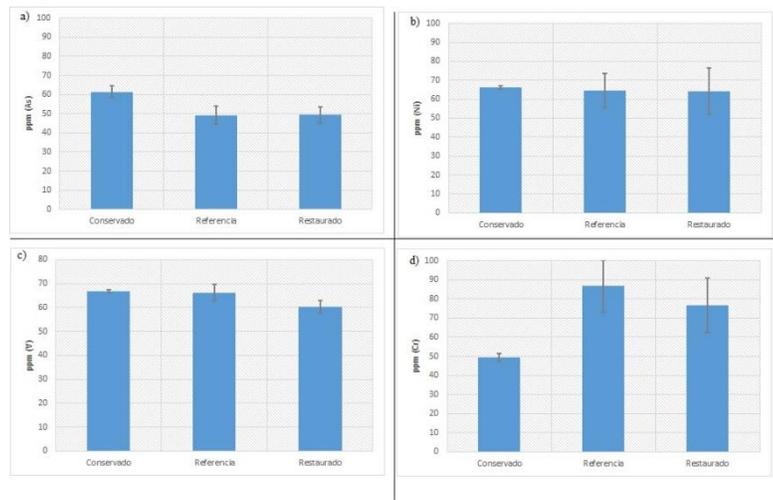
## III. RESULTADOS

En cuanto a los avances de las mediciones de atributos funcionales de las especies de escarabajos estercoleros se fotografiaron 240 individuos correspondientes a cuatro subespecies de *Canthon humectus* (Figura 1). Con estas fotos se espera realizar las mediciones de atributos funcionales (trabajo que aún se está desarrollando).



**Figura 1.** Vista de *Canthon* a) vista dorsal y b) vista ventral tomadas para cálculos de diversidad funcional de escarabajos coprófagos en tres condiciones (conservado, referencia y restaurado) en el estado de San Luis Potosí

En cuanto a la concentración de metales pesados entre condiciones se registraron diferencias estadísticamente significativas para Cr ( $H= 11.46$ ;  $p= 0.003$ ) las diferencias estuvieron dadas por las comparaciones entre sitios conservado y los sitios restaurados y conservado y los sitios de referencia. Para contenido de As no se registraron diferencias estadísticamente significativas ( $H= 5.125$ ,  $p=0.077$ ), donde los sitios conservados presentaron mayor concentración de este metal. La concentración de Ni fueron ligeramente similares entre condiciones ( $H=0.9136$ ,  $p=0.63$ ). Para V no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $H=2.063$ ;  $p= 1.149$ ), donde la menor concentración de V se registró en sitios restaurados (Figura 2).



**Figura 2** Concentración de arsénico (As) a), níquel (N) b), vanadio (V) c) y cromo (Cr) d) en sitios conservados, de referencia y restaurados.

Con respecto a las concentraciones de metales pesados registrados en la norma 147 (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) los niveles de arsénico en las muestras analizadas superan los niveles de referencia para tierras de uso agrícola, mientras que otros metales como el níquel, vanadio y cromo se encuentran por debajo de los niveles máximos de referencia.

#### IV. CONCLUSIONES

Es muy importante integrar diferentes componentes de la diversidad, así como diferentes formas de analizarla, ya que esto puede mejorar el entendimiento sobre la respuesta que tienen diferentes especies a diferentes condiciones.

Al integrar diferentes componentes (bióticos y abióticos) en la evaluación del éxito de la restauración se puede tener un panorama de como diferentes organismos y especies van respondiendo a las acciones de restauración ecológica en los ecosistemas.

Los escarabajos estercoleros son un grupo biológico altamente sensibles a perturbaciones, por lo que una comprensión completa de las interacciones de estos en los diversos ecosistemas tiene como resultado un mejor aprovechamiento de su incorporación en ecosistemas a restaurar. La concentración de metales pesados puede ser una fuerte

limitante en el éxito de restauración de ecosistemas que se encuentran modificados por acciones antrópicas, por lo cual debería de explorarse más este tema.

## V. RECONOCIMIENTOS (AGRADECIMIENTOS)

Se agradece al Dr Cesar Arturo Ilizaliturri Hernández por la asesoría en el análisis de metales pesados; Axel Chávez Mendoza, Melissa Rodriguez Medina, Victoria Gómez Hinojosa, José Andrés Gómez Siller por el apoyo científico y técnico en la elaboración de este proyecto. También se agradece a la Universidad Autónoma de Coahuila por el apoyo económico recibido y la oportunidad de participar en esta estancia de investigación, así como al comité organizador del Verano de la Ciencia Región Centro 2022 y al Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

## REFERENCIAS

- [1] Audino, L. D., Louzada, J., Comita, L. (2014). Dung beetles as indicators of tropical forest restoration success: Is it possible to recover species and functional diversity? *Biological Conservation*, 169, 248–257. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.11.023>
- [2] Brudvig, L. A. (2010). The Restoration of Biodiversity: Where Has Research Been and Where Does It Need to Go? *American Journal of Botany*, 98, 549–558. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000285>.
- [3] NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Disponible en: [http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat\\_ssa1-2004.pdf](http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf) [Consultado en agosto 2022].

# “DISEÑO DE COMPÓSITOS EN ESTADO HIDROGEL PARA APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS”

**Ana Daniela Barba Padilla**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Avenida Universidad 940, Ciudad Universitaria,  
20100 Aguascalientes, Ags.  
[al210722@edu.uaa.mx](mailto:al210722@edu.uaa.mx)

**Jesús Alejandro Claudio Rizo**

Universidad Autónoma de Coahuila,  
Facultad de Ciencias Químicas  
Blvd. Venustiano Carranza S/N, República  
Oriente, 25280 Saltillo, Coah.  
[jclaudio@uadec.edu.mx](mailto:jclaudio@uadec.edu.mx)

**Resumen** — Las redes organometálicas (MOF) consisten en iones metálicos con ligantes orgánicos como aminoácidos unidos entre sí covalentemente, los cuales se distribuyen en una red polimérica conocida como hidrogel. En este trabajo se presenta la caracterización fisicoquímica y la actividad biotecnológica de compósitos de hidrogel específicamente los que contienen MOFs de calcio y se evalúan las distintas interacciones con tres tipos distintos de aminoácidos (fenilalanina, triptófano e histidina).

**Palabras clave** — Redes organometálicas, hidrogel, compósito.

**Abstract** — Organometallic frameworks (MOF) consist of metal ions bonded together, which are distributed in a polymeric network known as a hydrogel. In this work, the physicochemical characterization, and the biotechnological activity of hydrogel composites, specifically those containing the calcium ion, are presented, and the different interactions with three different types of amino acids (phenylalanine, tryptophan, and histidine) are evaluated.

**Keywords** — Organometallic frameworks, hydrogel, polymeric network.

## I. INTRODUCCIÓN

Un hidrogel es una red tridimensional conformada de cadenas flexibles de polímeros que absorben cantidades considerables de agua. Estos polímeros tienen características bien conocidas, como ser hidrofílicos, blandos, elásticos e insolubles en agua, además de que se hinchan en presencia de ella, aumentando apreciablemente su volumen mientras mantienen la forma hasta alcanzar el equilibrio físico y/o químico.<sup>1</sup>

Las redes metal-orgánicas (MOF) son materiales cristalinos y porosos que pueden atrapar compuestos dentro de sus cavidades moleculares, lo que les da una amplia gama de aplicaciones en el almacenamiento y separación de gases, la captura de carbono y en la catálisis de reacciones químicas, entre otras.<sup>8</sup>

En este trabajo se utilizará el colágeno de origen porcino para la elaboración de matrices poliméricas junto con los MOFs de calcio los cuales, nos otorgan grandes beneficios en el área biomédica como lo es para la liberación controlada de fármacos, la regeneración de tejido, entre otros, al igual que en el área agrícola.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

La elaboración de compósitos en estado hidrogel consta de 2 etapas:

### A. Caracterización fisicoquímica

- 1) Prueba de reticulación: En un tubo Falcón de 15 mL introducir un hidrogel por triplicado de cada uno (colágeno, goma guar y MOFs de calcio (II) con triptófano, histidina y/o fenilalanina). Para obtener el blanco, introducir 1 mL de colágeno con 200  $\mu$ L de PBS por triplicado.

Añadir 1 mL de solución de ninhidrina (indicador) al 1% en masa, pH 5.5 y buffer de sustrato, añadir 3 mL de H<sub>2</sub>O y llevar al vortex. Introducir los tubos a baño seco de 90° C durante 2 hrs, después de ese tiempo esperar a enfriar a temperatura ambiente y llevar nuevamente al vortex.

Tomar 200  $\mu$ L de cada tubo, agregarlos en una placa de 96 pozos (200  $\mu$ L por pozo) y leer a 560 nm en el espectrofotómetro. Calcular el porcentaje de reticulación.

- 2) Prueba de hinchamiento máximo: Se pesaron los hidrogeles de 1 en 1 y colocarlos en tapas para dejar secando durante 48 hrs, volver a pesar y calcular el porcentaje de hinchamiento máximo.
- 3) Microestructura por microscopia electrónica de barrido: Tomar tres hidrogeles de cada uno e introducir en un tubo Falcón de 50mL y llenar a 30 mL de agua des-ionizada, cerrar y agitar levemente durante 10 minutos. Pasando este tiempo colar los hidrogeles y repetir el procedimiento dos veces más, obteniendo como resultado tres lavados. Después del tercer lavado, sacar los hidrogeles y dejar secando durante 48 hrs.
- 4) Perfiles de degradación: Preparar una solución de HCl con agua para obtener el un pH de 5.5 similar al pH fisiológico, y a su vez preparar PBS. 1x (no estéril) para simular el pH de 7, similar al de las plantas. En un tubo Falcón de 50 mL, agregar 30 mL de cada solución (4 tubos de HCl y 4 tubos de PBS 1x).

Pesar tres hidrogeles juntos recién salidos de la placa y después adicionarlos a cada tubo, obteniendo 4 con pH ácido y 4 con pH básico. Pesar durante 15 días y calcular la variación de masa por día.

### B. Caracterización de actividad biotecnológica

- 1) Encapsulamiento de células vegetales y medición de germinación de semillas de tomate: Lavar semillas de tomate para inyectarlas en dos tipos de hidrogeles, uno de goma guar y otro con almidón, incubar durante 4 hrs. Sacar de la incubadora y sacar los hidrogeles con mucho cuidado para colocarlas dentro de botecitos con solución nutritiva y evaluar su crecimiento durante 15 días.
- 2) Prueba de liberación: Elaborar hidrogeles en una placa de 24 pozos, donde la mitad tenga solución celular y la otra mitad sea el blanco. Colocar los hidrogeles en tubos

Falcón y adicionar PBS 1x (no estéril) a los tubos, e incubar durante 10 días. Durante los 10 días, tomar 200  $\mu$ L, colocarlos en una placa de 96 pozos y leer la absorbancia a 558 y 447 nm en el espectrofotómetro.

- 3) Ensayo de actividad metabólica: Tomar dos placas de 96 pozos, lavar con solución antiséptica y secar totalmente. En cada placa poner 100  $\mu$ L de lixiviado por triplicado (3 pozos por tubo) y agregar otros tres pozos con 10 mL de PBS 1x estéril como blanco.

Adicionar 100  $\mu$ L de cultivo de fibroblastos porcinos, tapar cajas e incubar. Después de 24 hrs sacar una caja y adicionar 10  $\mu$ L de solución de medición de actividad metabólica (MTT) a todos los pozos e incubar 2 hrs a 37° C. Si las células están activas se formarán cristales morados. Pasando las 2 hrs quitar 50  $\mu$ L del sobrenadante sin llevarse los cristales y adicionar 100  $\mu$ L de 2-propanol para disolver los cristales y agitar dos minutos la placa. Leer a 560 nm y calcular la actividad metabólica, para la placa de 48 hrs repetir el procedimiento.

- 4) Ensayo de proliferación celular: En tubos eppendorf de 2 mL lavados con solución antiséptica, colocar 1 mL de los lixiviados de goma guar. Para el blanco agregar 1 mL de PBS 1x estéril y agregarlo a otro tubo eppendorf.

Agregar 1 mL de solución de fibroblastos a todos los tubos, llevar al vortex e incubar a 37°C por 48 horas. Después de las 48 horas, centrifugar en la micro-centrifuga por 15 minutos, decantar y agregar 1 mL de PBS 1x estéril al botón celular, y repetir el procedimiento. Decantar y congelar el botón celular. Después de congelar el botón celular, agregar 300  $\mu$ L de fluoresceína a 300ppm, llevar al vortex e incubar durante 3 horas a 37°C, agregar 1 mL de PBS 1x estéril y centrifugar durante 15 minutos, decantar y colocar el botón celular en un portaobjetos, dejar secando durante 40 minutos en la incubadora. Observar en microscopio de epifluorescencia para identificar las poblaciones celulares.

Los materiales utilizados en el laboratorio fueron los siguientes: Incubadora de temperatura constante ECOSHEL, mini agitadora con incubación VWR, baño en seco para 30 tubos Thermo Fisher Scientific, espectrofotómetro Multiskan Sky Thermo Fisher Scientific, autoclave SK101C, campana de extracción, centrifugadora E8 LW Scientific y vortex.

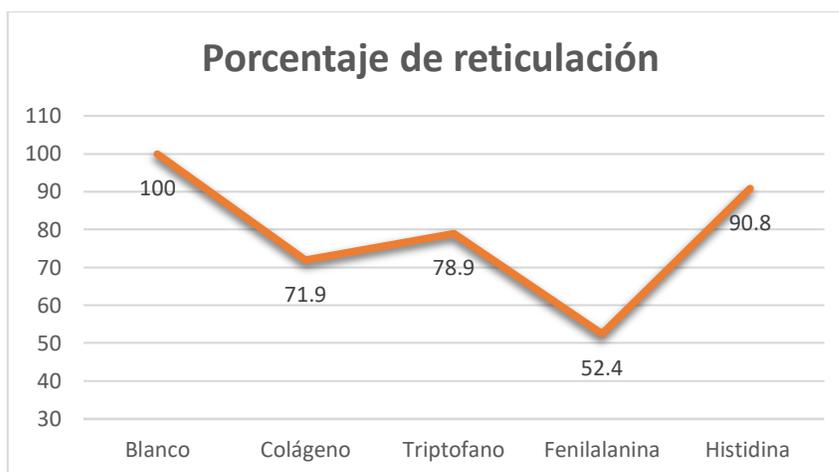
### III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### Caracterización fisicoquímica

##### A. Prueba de reticulación:

Con la finalidad de conocer la capacidad de reticulación de los compósitos de hidrogel junto con los MOF de calcio distribuidos en este polímero, se realizó esta prueba para evaluar las reacciones químicas por las que los polímeros se unen para formar una especie de red. En la figura 1 se puede observar que la matriz polimérica que contiene

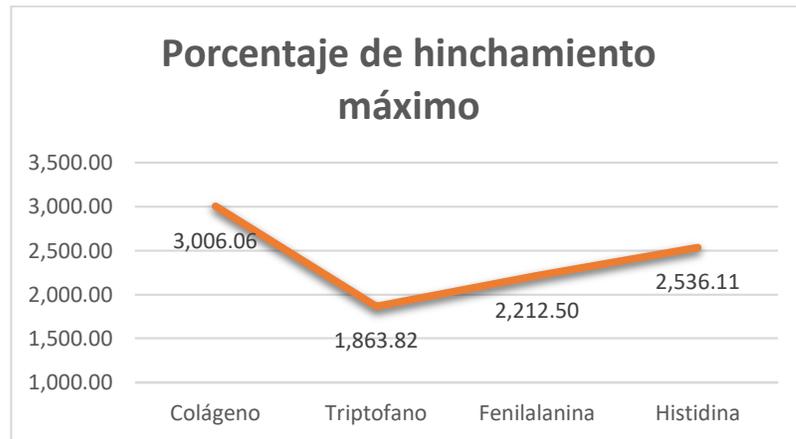
MOF basado en fenilalanina cuenta con un porcentaje de reticulación del 52.4 %,siendo el porcentaje más bajo, mientras que el hidrogel que contiene el MOF basado en histidina tiene un porcentaje de reticulación del 90.8 %, esto es debido a las propiedades de cada aminoácido, la histidina por ejemplo es un aminoácido hidrofílico, es decir que tiene tendencia a asociarse con el agua, mientras que el triptófano y la fenilalanina son aminoácidos hidrofóbicos, es decir que tienen tendencia a repeler el agua, sabiendo esto podemos decir que la histidina fue el aminoácido más soluble mientras que la fenilalanina fue el aminoácido menos soluble.



**Fig. 1** Porcentaje de reticulación de los distintos aminoácidos

#### B. Prueba de Hinchamiento máximo

La propiedad más importante que tienen los hidrogeles es el índice de hinchamiento, el cual es una medida de la cantidad de fluido que puede adsorber el hidrogel en su interior.<sup>2</sup> Como ya se mencionó anteriormente la histidina es un aminoácido polar cargado positivamente, lo que permite que la matriz polimérica tenga la propiedad de ser soluble en solventes polares como lo es el agua y así poder tener la capacidad de adsorber el agua e incrementar o disminuir el tamaño de la matriz polimérica, mientras que el triptófano y la fenilalanina son aminoácidos apolares, debido a su poca interacción con el agua. Se realizó esta prueba con el propósito de poder conocer que aminoácido beneficia más la capacidad de hinchamiento de las matrices poliméricas, observando la figura 2, podemos ver que una vez más la histidina es el aminoácido que cuenta con el porcentaje más elevado, mientras que el triptófano cuenta con un porcentaje de hinchamiento máximo disminuido que los demás, esto es debido a que los polímeros tienen grupos hidrofílicos que pueden adsorber agua, como se explicó anteriormente

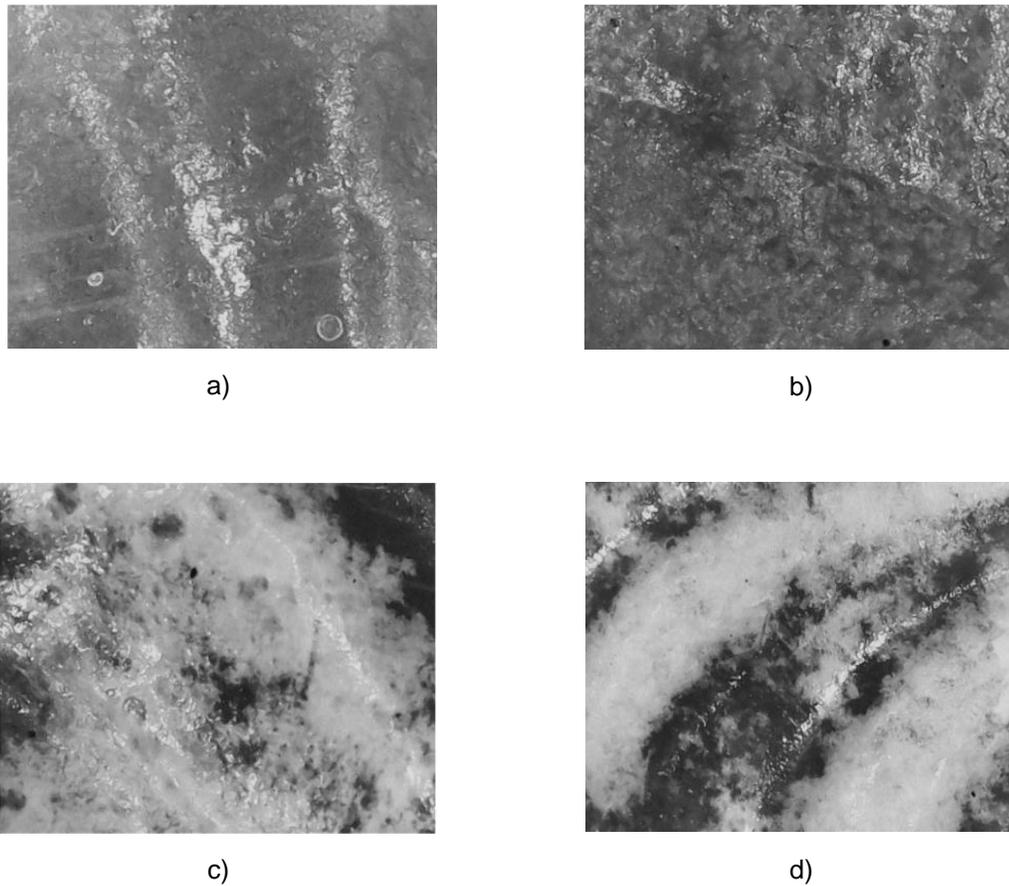


**Fig. 2** Porcentaje de hinchamiento máximo de los distintos aminoácidos

### C. Microestructura por microscopia electrónica de barrido

El microscopio electrónico de barrido (SEM, Scanning Electron Microscope) es un instrumento muy versátil, permite la observación y caracterización superficial de materiales orgánicos e inorgánicos, dando información morfológica y de composición química rápida, eficiente y simultáneamente del material analizado. Su versatilidad está dada en su alta resolución y apariencia tridimensional de las imágenes, producto de su gran profundidad de foco.<sup>3</sup>

En la figura 3 se presentan las distintas macrografías de hidrogeles secos, donde podemos observar la morfología de hidrogeles de colágeno y goma guar con sus respectivos aminoácidos, en la primera imagen se contemplan matrices granulares y algunas fibras, estas se forman debido al colágeno. La segunda imagen el triptófano presenta regiones más granulares y porosas, al igual que la presencia de algunas fibras, mientras que, en la tercera y cuarta imagen, la histidina y la fenilalanina presentan aún más porosidad y granulación, lo que permite a los hidrogeles tener más difusión de nutrientes y aumentar la adhesión celular



**Fig. 3** a) Imagen de colágeno- GG, b) Imagen de red con Ca -Tryptófano, c) Imagen de red con Ca – Histidina y d) Imagen de red con Ca – Fenilalanina.

#### D. Perfiles de degradación

Degradación es cualquier cambio indeseable en las propiedades, que ocurre después de que el material ha sido puesto en servicio. En el caso de los polímeros la degradación puede afectarlos física, química y (o) mecánicamente. Se puede hablar de los efectos separados del calor, la radiación, las sustancias químicas y la energía mecánica. <sup>6</sup>

En este caso se utilizaron dos sustancias químicas para medir la degradación de las matrices poliméricas, en la figura 4 se observan dos graficas que representan los dos medios usados para esta prueba, en el medio ácido se utilizó un pH de 5.5, mientras que en el medio básico se utilizó un pH de 7.

Teniendo en cuenta los resultados podemos notar que en el medio ácido el aminoácido que más se degradó fue la histidina, mientras que en el medio básico el

aminoácido que más se degradó fue el triptófano, esto es debido a los distintos pH de los aminoácidos, que producen que se hidrolicen y así degradarse

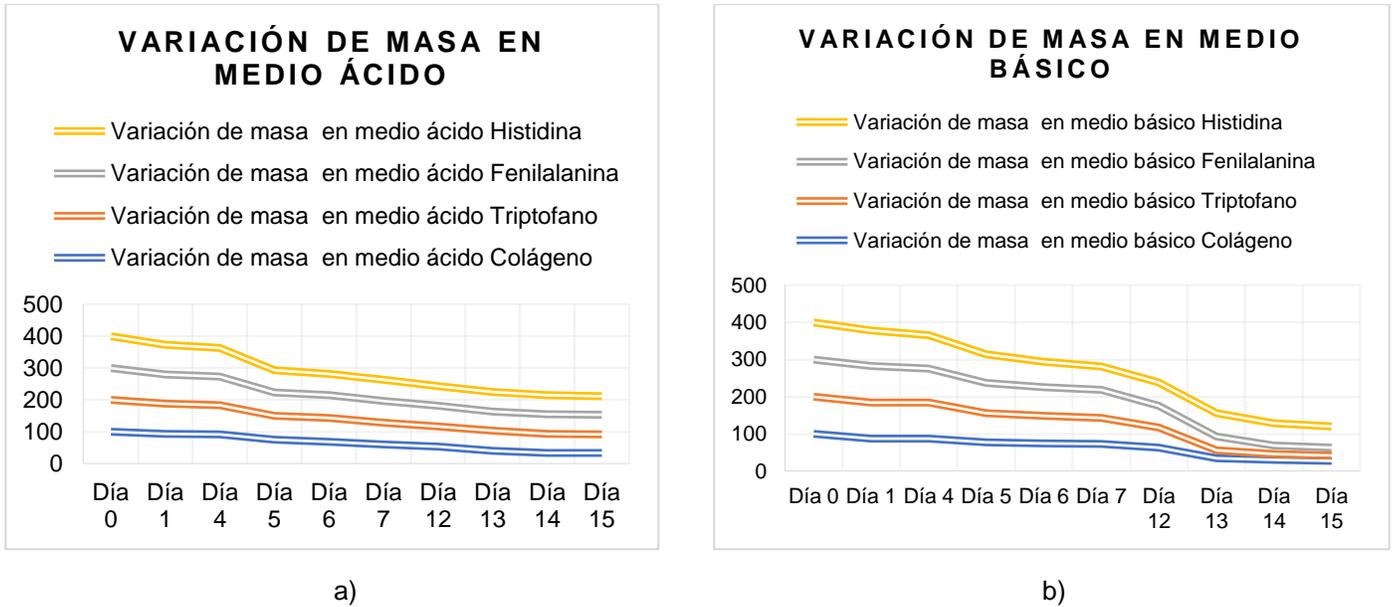


Fig. 4 a) Variación de masa en medio ácido y b) Variación de masa en medio básico

### Caracterización de actividad biotecnológica

#### A. Encapsulamiento de células vegetales y medición de germinación de semillas de tomate

En esta prueba se utilizaron dos tipos de hidrogeles (goma guar y almidón), con el propósito de identificar en que medio las semillas de tomate germinaban con más rapidez, en la figura 5 se observan las semillas desde el día 5 de Julio del 2022 donde fueron encapsuladas dentro de un hidrogel con goma guar y otro con almidón, siendo colocadas con solución nutritiva para evaluar su crecimiento durante 15 días.

Para el día 15 de Julio del 2022, pasando 10 días, las semillas comenzaron a germinar únicamente en los hidrogeles de almidón, esto es debido a que esta fuente de material alimenticio es consumida durante el metabolismo de las plantas, como alimento cuando las plantas están bajo estrés, o bien como fuente de energía en la germinación de las semillas y en las primeras etapas de las plántulas. <sup>4</sup>

Como se puede observar en la figura 6 los hidrogeles de almidón con triptófano, fenilalanina e histidina ayudaron a la germinación de estas semillas en únicamente 10 días.



a)



b)

**Fig. 5** a) Encapsulamiento de semilla de tomate con goma guar y b) Encapsulamiento de semilla de tomate con almidón



a)



b)



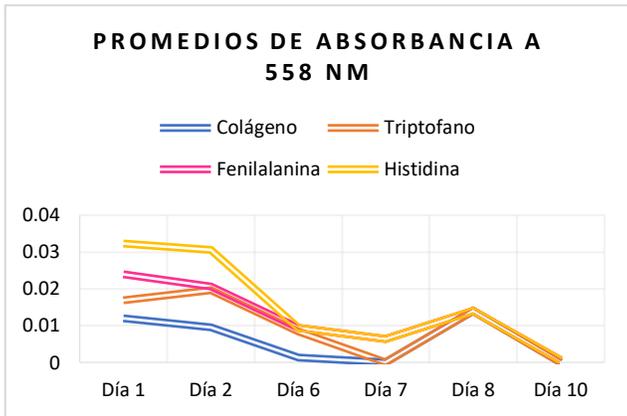
c)

**Fig. 6** a) Semilla germinada con almidón y triptófano, b) Semilla germinada con almidón y fenilalanina y c) Semilla germinada con almidón e histidina.

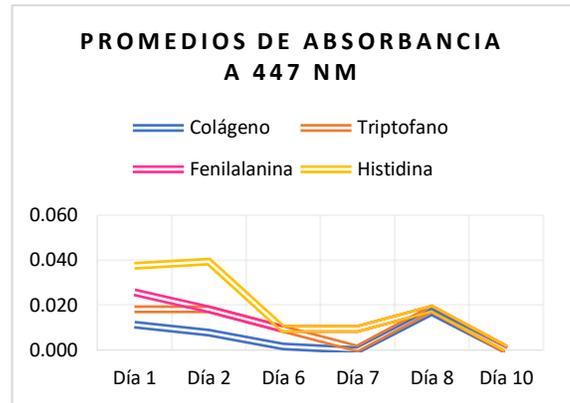
## B. Prueba de liberación

El propósito de esta prueba fue medir en que formulación se beneficia más la liberación de células, esta prueba se midió durante 10 días a distintas absorbancias para así poder identificar que aminoácido promueve en mayor cantidad la liberación de células, como

podemos observar en la figura 7 los resultados fueron muy variados, ya que los dos primeros días, la histidina presento mayor absorbancia que los demás aminoácidos en ambas gráficas, pero conforme pasaron los días la fenilalanina presento una absorbancia mayor a la de los demás aminoácidos, esto quiere decir que entre mayor absorbancia se presenta, se liberan más células.



a)



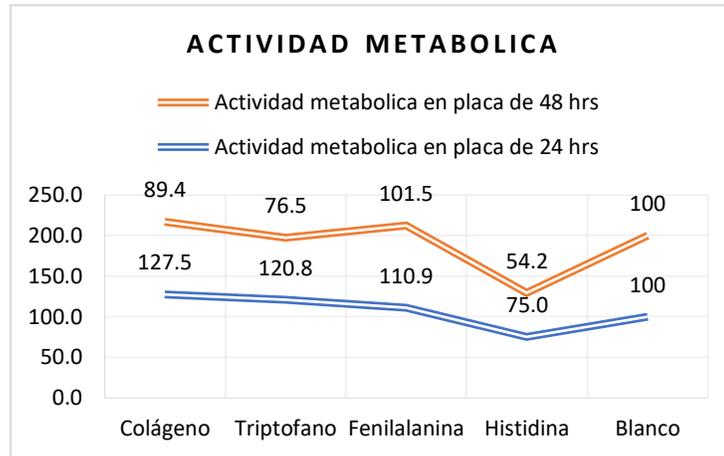
b)

**Fig. 7** a) Promedios de absorbancia a 558 nm y b) Promedios de absorbancia a 447 nm

### C. Ensayos de actividad metabólica.

La actividad metabólica está definida como “la suma de todos los cambios químicos que tienen lugar en la célula a fin de proporcionar energía y componentes básicos a los procesos esenciales de esta, incluso la síntesis de moléculas nuevas y la descomposición y eliminación de otras moléculas.”<sup>5</sup>

En la figura 8 se observan las absorbancias de la placa de 24 horas y la de 48 horas donde podemos decir que la fenilalanina presento absorbancias más elevadas por lo que no hay citotoxicidad, por consiguiente, hay mayor actividad y mejora el metabolismo.



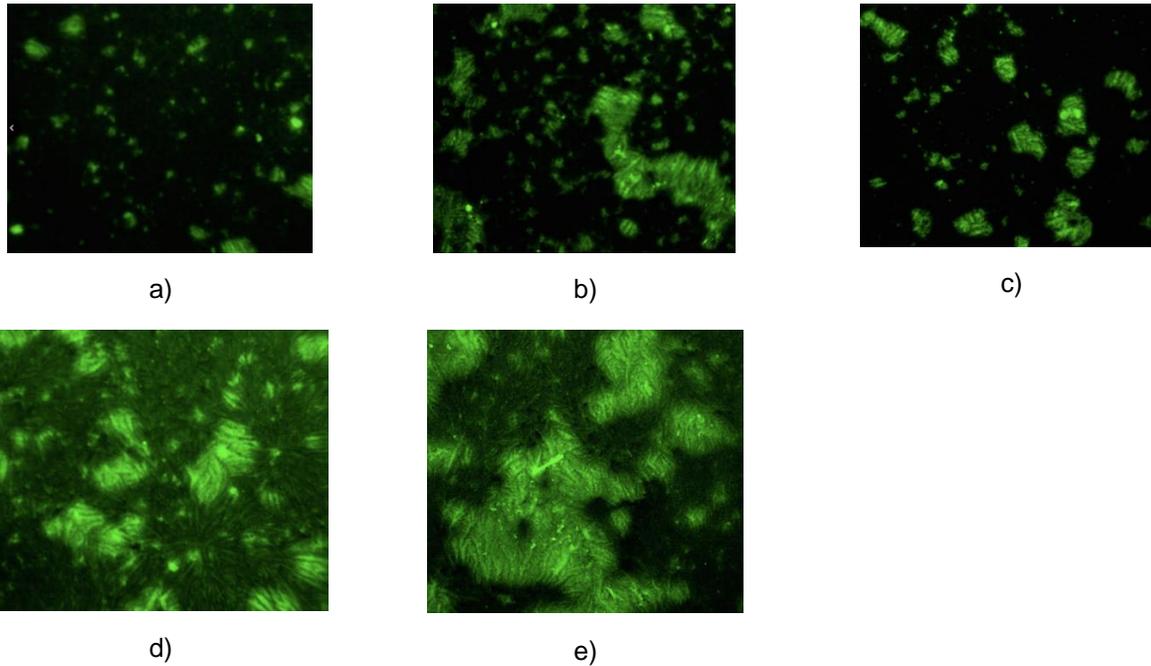
**Fig. 8** Actividad metabólica de fibroblastos

#### D. Proliferación celular

La proliferación celular se define como el aumento del número de células como resultado del crecimiento y la multiplicación celular.<sup>7</sup>

En esta prueba se trabajaron con fibroblastos, células que contribuyen a la formación de tejido conectivo, es decir que soporta y conecta otros tejidos, estas células se colocaron en varios medios, tanto con aminoácidos, como con colágeno porcino y PBS (buffer) para así poder observar en que medio las células proliferaban en mayor cantidad.

Observando la figura 9 podemos ver que hubo crecimiento celular en todos los medios, pero en mayor cantidad con histidina y triptofano, esto es debido a que la histidina ayuda al crecimiento y la reparación de cualquier tipo de tejido y por otro lado el triptofano es un aminoácido esencial para el crecimiento en los bebés y producción de proteínas, músculos, enzimas y neurotransmisores del cuerpo.



**Fig. 9** a) Colágeno, b) Fenilalanina, c) PBS, d) Histidina y e) Triptófano

#### IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las matrices poliméricas junto con los marcos organometálicos distribuidos en esta presentan una gran cantidad de propiedades importantes las cuales pueden ser aplicadas a distintas áreas y proporcionar grandes cambios en bastantes zonas.

En este trabajo se evaluaron las distintas caracterizaciones tanto fisicoquímicas como biotecnológicas de los hidrogeles compuestos con MOF, los cuales nos permitieron ver las diversas estructuras de cada aminoácido y como cada una de ellas aporta algo distinto.

#### V. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento al Doctor Jesús Alejandro Claudio Rizo y a la Universidad Autónoma de Coahuila, por el apoyo otorgado para la realización de la estancia del verano de la ciencia región centro 2022.

#### REFERENCIAS

- [1] Katime D., Katime O., Katime I.A. Los materiales inteligentes de este milenio: los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones. Servicio editorial de la Universidad del país Vasco. 2004. Capítulos 1; 7, 15-20, 121-228.
- [2] Ramirez, Arnaldo, Benítez, José Luis, Rojas de Astudillo, Luisa, & Rojas de Gáscue, Blanca. (2016). Materiales polimeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante ftir, dsc, meb y met. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 36(2), 108-130. Recuperado en 28 de julio de 2022, de

[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S025569522016000200002&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025569522016000200002&lng=es&tlng=es)

- [3] Greta Hanako Rosas Saito. (2021). *Microscopía electrónica de barrido y microanálisis de elementos del Clúster Científico y Tecnológico BioMimic®*. 2021, de Instituto de Ecología, A.C. INECOL Sitio web: <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2013-06-05-10-34-10/17-ciencia-hoy/723-microscopia-electronica-de-barrido-y-microanalisis-de-elementos-del-cluster-cientifico-y-tecnologico-biomimic>
- [4] Anónimo. (2021). ¿Qué es el almidón? 2021, de Instituto de Ecología, A.C. INECOL Sitio web: <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/2017-06-26-16-35-48/17-ciencia-hoy/1376-que-es-el-almidon>
- [5] Anónimo. (2021). Metabolismo celular. 2021, de Instituto Nacional del Cáncer de los Institutos Nacionales de la Salud de EE. UU. Sitio web: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/metabolismo-celular>
- [6] Beatriz Posada Bustamante. (2019). La degradación de los plásticos. *Revista Universidad Eafit*, No 94, 20.
- [7] Anónimo. (2020). Proliferación celular. 2020, de Instituto Nacional del Cáncer de los Institutos Nacionales de la Salud de EE. UU. Sitio web: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/proliferacion-celular>
- [8] Prof. Satoshi Horike et al.; "A New Dimension for Coordination Polymers and Metal–Organic Frameworks: Towards Functional Glasses and Liquids"; *Angewandte Chemie International Edition*; 2019

## CLASIFICACIÓN DE GALAXIAS

**Héctor de Jesús García Escamilla**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Carr. a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños,  
76140 Santiago de Querétaro, Qro.  
[hectoreinstein13@gmail.com](mailto:hectoreinstein13@gmail.com)

**Josué de Jesús Trejo Alonso**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Carr. a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, 76140  
Santiago de Querétaro, Qro.  
[josue.trejo@uaq.edu.mx](mailto:josue.trejo@uaq.edu.mx)

**Resumen** — El objetivo de este proyecto fue trabajar en la clasificación de galaxias de acuerdo a su morfología para con ello llevar a cabo un análisis de la relación morfología-densidad. Para ello se usó las bases de datos Vizier de la Universidad de Strasbourg para obtener la información referente a la muestra de cúmulos sublumínicos en rayos X (número de miembros, masa, radio, entre otras), clasificados como AXU según Popesso et al 2007, y para las imágenes y los datos espectroscópicos, se usó el Sloan Digital Sky Survey DR13. Posteriormente, de la muestra inicial, se tomaron solamente los 10 cúmulos/grupos con más miembros, esto para asegurar una muestra estadísticamente significativa. La mitad de las galaxias miembro de estos cúmulos fueron clasificadas a ojo. Esto permitió el analizar en gráficas hechas en R no solo las posiciones, sino también el cómo estaban distribuidas espacialmente de acuerdo a su morfología. El resultado fue que la clasificación final concuerda de buena manera con la relación morfología-densidad, la cual nos dice que la proporción de galaxias espirales irá en aumento conforme nos alejamos del centro, mientras que con las elípticas y lenticulares sucede todo lo contrario.

**Palabras clave** — Relación morfología-densidad, Rayos X, miembros, cúmulos AXU.

**Abstract** — The goal of this project was to work on the classification of galaxies according to their morphology and with that carry out an analysis of the morphology-density relation. To achieve the aforesaid purpose, it was used the Vizier database of the Strasbourg University in order to obtain the information corresponded to the sample of X ray subluminoous clusters (number of members, mass, radius, etc.), classified as AXU clusters by Popesso et al 2007, and for the images and the spectroscopic data, it was used the Sloan Digital Sky Survey DR13. Subsequently, from the initial sample, it was taken only the clusters with the biggest amount of members, so as to make sure a statistically significant sample. Thanks to that, it was possible in R language to graphically survey not only the positions of the galaxies, but also how they were spatially distributed with respect to their morphology. The result was that the final classification fits well enough with the morphology-density relation, which affirms that the further one is from the center, the greater proportion one has of spiral galaxies, while with the lenticular and elliptical galaxies it happens completely the opposite.

**Keywords** — Morphology-density relation, X-rays, members, AXU clusters.

### I. INTRODUCCIÓN

Existen diversas formas de definir a un conjunto de galaxias como cúmulo. Una es por la masa ( $> 10^{14}M_{\odot}$ ), otra por el número de galaxias miembro ( $> 50$  miembros) y la más controvertida es por la intensidad en la emisión de rayos X, los cuales son emitidos por el llamado medio intracumular (ICM, por sus siglas en inglés *IntraCluster Medium*) [1], mismo que es un gas extremadamente caliente (del orden de los 100 megakelvin) que se encuentra en el espacio entre galaxias, dentro de un cúmulo.

A día de hoy existe información extensa acerca de los cúmulos de galaxias con alta emisión de rayos-X. Sin embargo, no sucede lo mismo con los cúmulos AXU, precisamente debido a

que una gran parte de la comunidad astrofísica no los considera cúmulos, a pesar de llegar a ser muy masivos [2].

Para resolver este problema, nosotros usaremos la relación morfología-densidad [3], que es una característica distintiva de todos los cúmulos conocidos. El objetivo es demostrar que nuestros conjuntos AXU satisfacen dicha relación, es decir, que en ellos la proporción de galaxias espirales aumenta conforme nos alejamos del centro y viceversa con las galaxias elípticas y lenticulares. Con esto, se daría evidencia sustanciosa de que los cúmulos no necesariamente deben tener alta emisión de rayos X.

Para conseguirlo, primero crearemos una base de datos de una muestra de galaxias clasificadas a ojo, lo cual a su vez nos dará suficiente material para en un futuro entrenar a una red neuronal, misma que automatizará el proceso de clasificación. Esto posibilitará el análisis del resto de galaxias en nuestra población (los cúmulos AXU estudiados por Popesso en 2007 [4]), accediendo así a resultados más completos y por ende, más confiables.

## II. MARCO TEÓRICO

Los cúmulos de galaxias son los objetos masivos más grandes del Universo ligados gravitacional y que cumplen con el teorema del virial. Dentro de ellos tenemos a los diferentes tipos de galaxia, que se dividen primeramente en espiral, lenticular y elíptica. [1]



**Fig. 1.** Imagen de una galaxia espiral [5].



**Fig. 2.** Imagen de una galaxia elíptica [6].



**Fig. 3.** Imagen de una galaxia lenticular [7].

Las espirales tienen como principal característica los brazos alrededor de un núcleo, las lenticulares tienen un bulbo o foco en el centro mucho más brillante que su alrededor, mientras que las elípticas son más homogéneas que las anteriores y tienen una forma entre elíptica y circular.

Un punto importante a considerar es que las morfologías reales de las galaxias pueden ser ligeramente deformadas cuando la imagen llega a la Tierra, a causa de la orientación de la galaxia a la línea de visión (puede que los brazos de una espiral no sean visibles por estar la galaxia “acostada”) y de la distancia a la cual se encuentra (puede que el bulbo sea tan pequeño en comparación con el resto de la galaxia lenticular, que cuando llega a nosotros, el bulbo es casi indetectable).

Por otro lado, las redes neuronales son modelos computacionales que simulan el comportamiento del cerebro humano, el cual aprende con la experiencia [8]. Su estructura requiere de 3 tipos de capas – de entrada, oculta, y de salida. La primera recibe la información, ya sea de archivos de input o de sensores electrónicos. La capa de salida envía información directamente al mundo exterior, a un procesador secundario, o a otros dispositivos como un sistema de control mecánico. Entre estas dos capas puede haber muchas capas ocultas, las cuales se componen de neuronas con conexiones ponderadas, que varían de acuerdo al propósito de cada problema [9].

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

El primer objetivo a cumplir fue el entender los conceptos técnicos de nuestro tema, para lo cual leímos el artículo sobre morfología de galaxias [10] y otro acerca de cúmulos galácticos [11].

La información acerca de los cúmulos AXU del artículo del 2007 de Popesso fue obtenida de la base de datos de Vizier, específicamente los datos del número de galaxias miembro, así como sus coordenadas RA (*right ascension*) and DEC (*declination*). Con esto, pasamos a hacer uso del Sloan Digital Sky Survey (SDSS), el cual es un estudio astronómico con enorme reputación internacional. Dentro del SDSS llegamos a la sección Spectroscopic

Search, en la cual introdujimos los datos obtenidos de Vizier, lo que nos regresó las coordenadas de las posibles galaxias miembros del cúmulo en cuestión.

Después, se descargaron las imágenes de estos posibles miembros de la data release 13 del SDSS a través de un código realizado de propia creación en la terminal de Shell Linux.

Posteriormente, hicimos un filtro para reconocer a los verdaderos miembros por medio de un análisis de cáusticas. Para lo anterior, se construyó un código de Python que pudiera hacer el proceso de forma automática y continua.

Ahora tocaba el turno de clasificar las galaxias a ojo, para lo cual trabajamos de forma aleatoria solo con el 50% de los miembros de cada cúmulo. La información recaba en este último proceso nos sirvió para construir una base de datos, con las cuales se realizó un estudio estadístico para determinar el porcentaje de cada tipo de morfología.

Esto nos permitió hacer gráficas en R que pudieran mostrar las posiciones y la clasificación de ese 50% de galaxias.

Con el objetivo de percibir si se cumplía la relación morfología-densidad en nuestros cúmulos, diferenciamos mediante colores a los 3 tipos de morfologías en las gráficas, pudiendo así analizar la distribución y la proporción de las galaxias.

#### IV. RESULTADOS

Las gráficas en R compararon las coordenadas de ascensión recta (RA) vs la declinación (DEC), es decir, nos daban una imagen de las ubicaciones en el cielo de las galaxias estudiadas, así como de la clasificación de cada una.

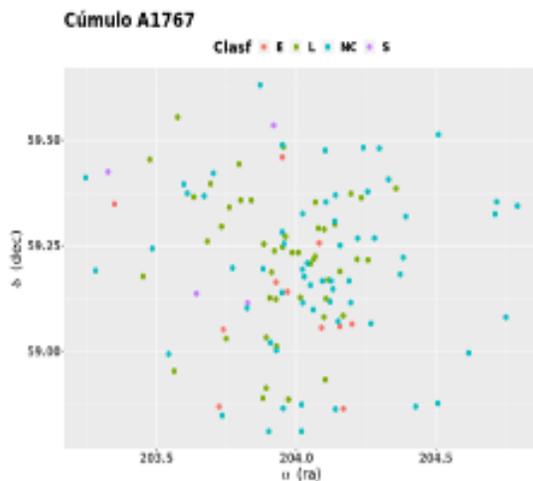


Fig. 4. Gráfica del cúmulo A1767

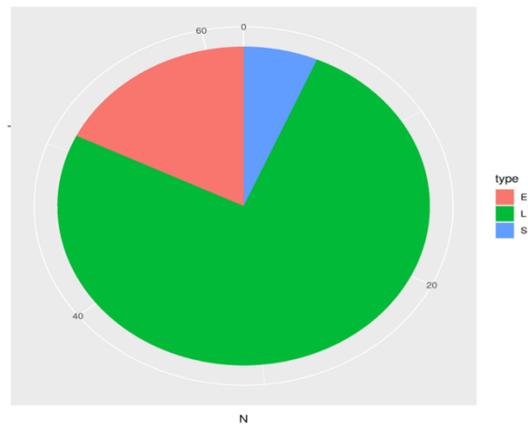
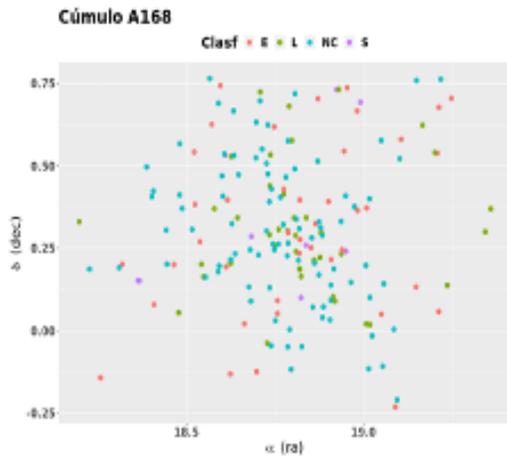
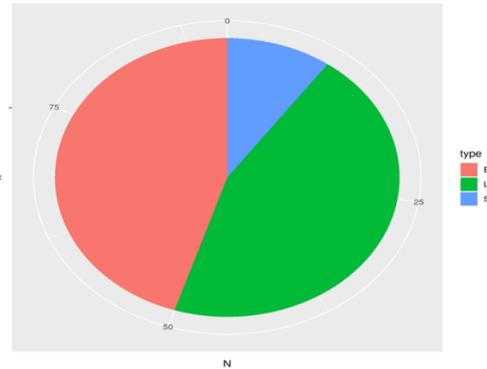


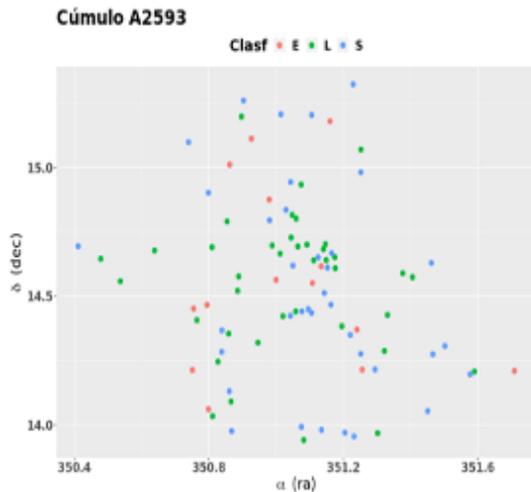
Fig. 5. Análisis estadístico de A1767



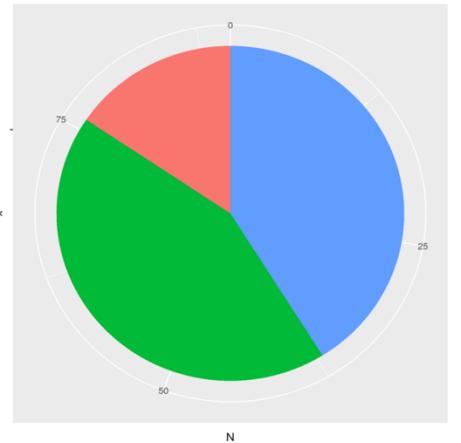
**Fig. 6.** Gráfica del cúmulo A168



**Fig. 7.** Análisis estadístico de A168



**Fig. 8.** Gráfica del cúmulo A2593



**Fig. 9.** Análisis estadístico de A2593

## V. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

El primer punto a discutir es que en todos los cúmulos analizados tuvimos un mayor porcentaje de galaxias lenticulares que elípticas o espirales. En un principio se creía que podría deberse a una incorrecta clasificación a ojo de la muestra de 50%. Sin embargo, sucedió que dos de los tres cúmulos cumplen en buena medida con la relación morfología-densidad, por lo que nuestra clasificación es muy probable que sea correcta, al menos en un gran porcentaje. Específicamente, tenemos lo siguiente:

- a. En el cúmulo A1767, además de cumplirse la relación ya mencionada, fue el cúmulo con el menor porcentaje de galaxias espirales y elípticas (ver Fig. 4).

- b. El cúmulo A168 es el que se podría debatir con más fuerza si realmente cumple con la relación o no, por lo que se tendría que esperar a que la clasificación sea del 100% para llegar a una conclusión (ver Fig. 6).
- c. Finalmente, para el cúmulo A2593 tenemos que es el que cuenta con mayor cantidad de galaxias espirales y en el que más fácilmente se nota la relación morfología-densidad (ver Fig. 8).

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El hecho de que nuestros resultados ofrezcan argumentos fuertes a favor de que los cúmulos de galaxias no necesariamente deben tener una fuerte emisión de rayos X abre un abanico de opciones para futuros estudios sobre los grupos AXU, que a día de hoy no son tan estudiados, y sobre todo, acerca de cuáles son las razones de sus diferencias con los cúmulos más conocidos. Esto podría llevar a descubrimientos acerca del origen del medio intracumular, el causante de los rayos X que se emiten desde las galaxias.

Particularmente, nuestro siguiente trabajo irá directamente enfocado a la automatización de las clasificaciones mediante una inteligencia artificial, entrenada por la base de datos obtenida en el presente proyecto.

## VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Agradezco enormemente al Conacyt y a la Universidad Autónoma de Querétaro por generar esta iniciativa del verano de la ciencia y hacer que cada vez más universitarios se interesen por la investigación científica. Además, les doy las gracias a mis familiares y amigos cercanos por siempre brindarme su apoyo y consejos, sin los cuales jamás habría podido tener la fuerza para superarme y querer dar lo mejor de mí. Y sobre todo a mi asesor Josué de Jesús Trejo Alonso, por ser un profesor comprometido con su trabajo, que siempre está ahí para hacerte un mejor estudiante, pero sobre todo por creer en mí y darme la confianza para ser parte de este proyecto. Mi gratitud eterna para todos ustedes.

## REFERENCIAS

- [1] Bahcall, N. A. 1998. Symposium-International Astronomical Union. 179, 317.
- [2] Trejo-Alonso, J. J. et al. 2014. MNRAS. 441, 776.
- [3] Dressler, A. 1980. ApJ. 236, 351.
- [4] Popesso, P., Biviano, A., Böhringer, H., & Romaniello, M. (2007). RASS-SDSS galaxy cluster survey-V. The X-ray-underluminous Abell clusters. *Astronomy & Astrophysics*, 461(2), 397-410.
- [5] NASA, ESA & The Hubble Heritage-ESA/Hubble Collaboration (2011, December 16). Spiral Galaxy. [https://www.nasa.gov/multimedia/imagegallery/image\\_feature\\_2132.html](https://www.nasa.gov/multimedia/imagegallery/image_feature_2132.html)
- [6] NASA, ESA & The Hubble Heritage Team (2008, March 23). Elliptical Galaxy. [https://www.nasa.gov/multimedia/imagegallery/image\\_feature\\_299.html](https://www.nasa.gov/multimedia/imagegallery/image_feature_299.html)
- [7] ESA/Hubble & NASA (2014, October 31). Hubble Sees a Galaxy on the Edge. <https://www.nasa.gov/content/goddard/hubble-sees-a-galaxy-on-the-edge>
- [8] Maind, S. B., Wankar, P. (2014). Research paper on basic of artificial neural network. *International Journal on Recent and Innovation Trends in Computing and Communication*, 2(1), 96-100.
- [9] Tkacz, G., Hu, S. (1999). Forecasting GDP growth using artificial neural networks (No. 1999-3). Bank of Canada.
- [10] Buta, R. J. (2011). *Galaxy morphology*. *arXiv preprint arXiv:1102.0550*.
- [11] Popesso, P., Biviano, A., Böhringer, H., Romaniello, M., & Voges, W. (2005). RASS-SDSS galaxy cluster survey-III. Scaling relations of galaxy clusters. *Astronomy & Astrophysics*, 433(2), 431-445.

# DISEÑO DE COMPÓSITOS EN ESTADO HIDROGEL PARA APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS

**Juan Carlos Martín Coronado**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Centro de Ciencias Básicas  
Av. Universidad #940  
C.P. 20131, Aguascalientes, Aguascalientes  
[al227153@edu.uaa.mx](mailto:al227153@edu.uaa.mx)

**Jesús Alejandro Claudio Rizo**

Universidad Autónoma de Coahuila  
Facultad de Química  
Blvd. Venustiano Carranza #935  
C.P. 25280, Saltillo, Coahuila  
[jclaudio@uadec.edu.mx](mailto:jclaudio@uadec.edu.mx)

**Resumen** — Se elaboraron hidrogeles semi-interpenetrados de colágeno y goma guar, a algunos de los cuales se le añadieron MOF en base a molibdeno y los aminoácidos histidina, triptófano y fenilalanina. Se evaluaron sus propiedades fisicoquímicas y estructurales, así como su actividad biológica mediante el uso de fibroblastos y la germinación de jitomate. Se habla de los diversos usos de los MOF y los hidrogeles. Se miden reticulación e hinchamiento máximo. Se observan los fenómenos de degradación y de liberación de fibroblastos. Se observó la estructura de los geles al microscopio electrónico. Se obtuvieron lixiviados y se cultivaron fibroblastos en estos, observando su actividad metabólica a 24 y 48 horas, también se observó proliferación celular en el microscopio de fluorescencia.

**Palabras clave** — Hidrogel, MOF, colágeno, semi-IPN.

(Ayudan a a identificar los temas o aspectos principales del trabajo y son importantes para su indexación en bases bibliográficas. Deben ser de tres a cinco palabras clave, y pueden incluirse frases cortas que describan tópicos significativos del documento.)

**Abstract** — Semi-interpenetrated hydrogels of collagen and guar gum were synthesized, to some of which MOFs based on molybdenum and the amino acids histidine, tryptophan and phenylalanine were added. Its physicochemical and structural properties were evaluated, as well as its biological activity using fibroblasts and tomato germination. The various uses of MOFs and hydrogels are discussed. Crosslinking and maximum swelling are measured. The phenomena of degradation and release of fibroblasts are observed. The structure of the gels was observed under an electron microscope. Leachates were obtained and fibroblasts were cultured in them, observing their metabolic activity at 24 and 48 hours, cell proliferation was also observed in the fluorescence microscope.

**Keywords** — Hydrogel, MOF, collagen, semi-IPN.

## I. INTRODUCCIÓN

El colágeno provee integridad a las estructuras tisulares y las células generalmente reconocen este, la proteína más abundante en la matriz extracelular de los animales [1] [2]. La estructura fibrilar del colágeno se caracteriza por modificaciones postraduccionales que permiten la formación de entrecruzamientos intermoleculares e interfibrilares. Así, el colágeno entrecruzado ha sido utilizado para preparar matrices para reparación e ingeniería tisulares al incrementar su estabilidad y controlar su degradación [3]. Por sus características, incluyendo permeabilidad, sus propiedades viscoelásticas, porosidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad, los hidrogeles suelen ser aplicados para reparar y regenerar tejidos

dañados, así como para la liberación controlada de medicamentos [1] [4]. De manera paralela a su uso farmacológico, se ha propuesto el uso de hidrogeles como método de riego con ahorro de agua, para la transfección de genes, la remediación de suelos, la optimización de la fotosíntesis y la liberación gradual de agroquímicos y micronutrientes, incluso aprovechando cambios de pH ocasionados por estrés [5] [6] [7] [8].

Cabe aclarar que un hidrogel se define como una red polimérica altamente entrecruzada con la capacidad de absorber grandes cantidades de agua y microestructura característica que permite la difusión y liberación de componentes exógenos dentro y fuera de la matriz. Particularmente, las redes semi-interpenetradas (semi-IPN) consisten en una mezcla de polímeros en la cual uno de ellos está entrecruzado en presencia de un polímero lineal, siendo materiales que pueden ser preparados fácilmente a partir del colágeno reticulado en presencia de polímeros hidrofílicos [9]. Se ha utilizado goma guar [10] y derivados de esta [11] para crear hidrogeles con colágeno.

Los MOF (Metal Organic Frameworks), consistentes en iones (o grupos) metálicos y ligandos orgánicos son una nueva clase de materiales cristalinos porosos con un área superficial extremadamente grande, porosidad bien definida y ajustable, diversas estructuras cristalinas, controlabilidad composicional, funcionalización versátil y la capacidad de acomodar catalizadores a nanoescala. Sus usos incluyen la separación de gases, almacenamiento de energía electroquímica, adsorción de gases, catálisis, tratamiento de aguas, producción de combustibles solares, liberación controlada de medicamentos, como biosensores y su actividad antibiótica, entre otros [10] [12]. La biocompatibilidad de los MOF depende de su composición química. Aquí se garantiza al usar el metal traza Mo, y aminoácidos, moléculas endógenas del organismo [13].

En este trabajo, se elaboraron geles en base a colágeno, goma guar y diversos MOF, a la vez que se analizaron sus características fisicoquímicas y estructurales, y se realizaron pruebas relevantes para su aplicación, haciendo énfasis en las áreas médica y agrícola. Se plantea que la adición de MOF incrementará el entrecruzamiento y la porosidad de los geles, esto último incrementando su actividad biológica.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

Para elaborar los geles de matriz colágeno con goma guar (colGG) semi-IPN y MOF disperso, se añadieron 10 mg del MOF correspondiente (molibdeno con triptófano (MoTrip), fenilalanina (MoFen) e histidina (MoHis)) a 3 mL de agua y se vortizó, añadiendo inmediatamente 8 mL de colágeno previamente purificado, vortizando nuevamente. Se añade 1 mL de esta mezcla por pocillo a una placa de 24 pozos. Se añadieron 30  $\mu$ L de HDI, 150  $\mu$ L de solución de goma guar, se mezcló, se agregaron 200  $\mu$ L de PBS 10x, se cubrió con Parafilm y se incubó por al menos 4 horas, pero menos de 24.

Para medir la reticulación, se utilizó el método de la ninhidrina, descrito en [14] y la ecuación (1).

$$R = [A/A_0] * 100\% \quad (1)$$

Donde:

R = Reticulación (%)

A = Absorbancia de la muestra a 567 nm

A<sub>0</sub> = Absorbancia del blanco a 567 nm

Se pesó un grupo de hidrogeles elaborados con cada MOF, más un grupo control de ColGG, recién elaborados y después de un secado de 48 horas, con la finalidad de encontrar el porcentaje de hinchamiento máximo. Esto se hizo mediante la ecuación (2):

$$H = \left[ \frac{m_0 - m}{m} \right] * 100\% \quad (2)$$

Donde:

H = Hinchamiento máximo (%)

M<sub>0</sub> = Masa inicial (gr)

M = Masa seca (gr)

Geles con 48 horas de secado fueron llevados al microscopio electrónico, para su análisis y se utilizaron las pruebas de viabilidad y proliferación celulares descritas en [10]. A su vez, se evaluó el proceso de degradación de los hidrogeles en dos medios, uno neutro (pH=7) de PBS 1x y otro con pH=5.5, simulando la piel. Para esto, se sumergieron 3 geles de cada tipo en 30 mL de medio, pesando los geles durante 15 días, observándose la variación de masa.

Por otro lado, se prepararon 3 geles de cada tipo, más 3 con matriz de colágeno-almidón (sustituyendo la goma guar con almidón), insertando en cada gel 2 semillas de jitomate e incubando solamente 3 horas, antes de colocar en solución nutritiva y dejar para germinar. De manera similar, se añadió 100 µL de cultivo de fibroblastos a 3 geles de cada tipo, comparando con 3 blancos. Tras incubar 3 horas, se colocaron 3 geles en 30 ml de PBS 1x y se incubaron por 10 días, leyendo 3 repeticiones de 200 µL a 558 y 447 nm cada día.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó el porcentaje de reticulación de los geles mediante su A<sub>567</sub>, mostrándose los resultados de esta prueba en la tabla 1. Se observó una mayor reticulación en todos los geles en que se usó MOF, particularmente en el ColGG-MoTrip, que tuvo una reticulación total. Por otro lado, los resultados de hinchamiento se expresan en la tabla 2. Se observa que los hidrogeles son capaces de almacenar hasta 3660 veces su peso en agua, lo que es útil si se piensa usarlos para irrigación. Asimismo, se estudió la estructura de los geles secos mediante microscopía electrónica, observándose una mayor porosidad en todos los geles elaborados con MOF. Las imágenes obtenidas se aprecian en la figura 1.

En cuanto a la degradación de los geles, los ColGG y ColGG-MoTrip a un pH=7 se habían degradado completamente tras 13 días, mientras que al día 14 se había degradado también el ColGG-MoHis a pH=7 y al día 15 el ColGG-MoFen a pH=7. Salvo el ColGG-MoHis a pH=5, que conservó 40.78% de su peso original, todos los geles conservaron menos del 5% de su

peso original al final de la medición. La variación de peso a lo largo de los días se muestra en la figura 2. Los resultados coinciden con lo reportado previamente en [10], donde se menciona que los geles se degradan completamente tras 14 días. El que los geles se degraden implica que estos no serán contaminantes.

La viabilidad celular se determinó a 24 y 48 horas mediante la prueba de MTT, obteniéndose los resultados de la tabla 3. Conforme al criterio establecido en [10], un 60% de viabilidad celular es el mínimo para considerar el material como no-citotóxico. Todos los geles superaron este umbral, conservando la viabilidad de los fibroblastos. Con respecto a la liberación, se observaron las absorbancias a 558 y 447 nm de la muestra durante varios días, mostrándose los resultados en la figura 3.

En la figura 4 se muestra un gel con semillas. Se espera que el hidrogel contribuya al desarrollo de estas, pues ya se ha comprobado el potencial de MOF ricos en N y P como fertilizantes [15]. A su vez, los aminoácidos tienen diversos beneficios para la planta, además de permitir la síntesis de proteínas. Específicamente, los usados intervienen en el metabolismo alcaloide y protegen a la planta contra plagas y estrés, teniendo el triptófano la función adicional de ser precursor de auxinas y fitoalexinas, y la fenilalanina interviniendo en la producción de ácido salicílico y la prevención de enfermedades y estrés [16].

Finalmente, se obtuvieron lixiviados de los diversos geles y se cultivaron fibroblastos en estos, así como en un control de PBS. La proliferación celular se observó en el microscopio de epifluorescencia, identificándose poblaciones celulares. En todos los geles se observó una proliferación mayor al control, y en algunos se llega a observar la formación de fibras, particularmente en el colGG y en el colGG-MoTrip, que es donde se desarrollaron mejor los fibroblastos. Cabe mencionar que este resultó de los más porosos en la microscopía electrónica, lo que nos ayuda a establecer una relación entre porosidad y actividad biológica. Las fluoromicroscopías se observan en la figura 5.

**Tabla 1.** Reticulación

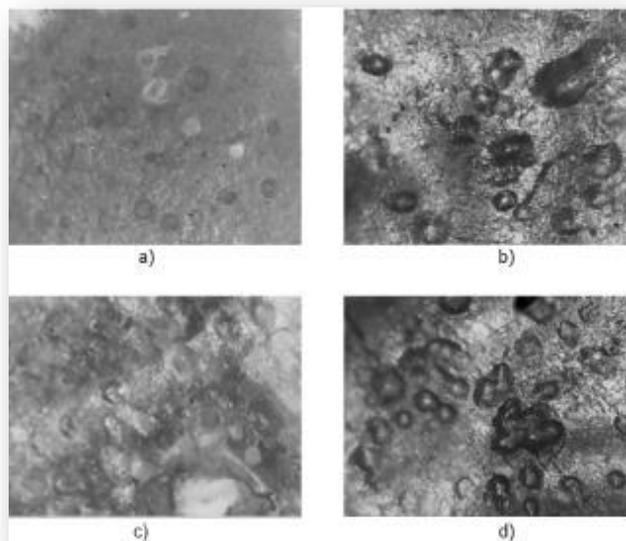
	<b>A<sub>567</sub> promedio</b>	<b>Reticulación (%)</b>
<b>Blanco</b>	0.189	N/A
<b>ColGG</b>	0.161	85.19
<b>ColGG-MoTrip</b>	0.201	100.00
<b>ColGG-MoHis</b>	0.167	88.36
<b>ColGG-MoFen</b>	0.173	91.71

**Tabla 2.** Hinchamiento máximo

	<b>Peso original (gr)</b>	<b>Peso seco (gr)</b>	<b>Hinchamiento máximo (%)</b>
<b>ColGG</b>	1.746	0.063	2671.43
<b>ColGG-MoTrip</b>	2.258	0.060	3663.33
<b>ColGG-MoHis</b>	1.104	0.056	1871.43
<b>ColGG-MoFen</b>	2.258	0.060	3663.33

**Tabla 3.** Actividad metabólica de fibroblastos.

	<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>
<b>ColGG</b>	69.53%	100%
<b>ColGG-MoTrip</b>	96.77%	83.39%
<b>ColGG-MoHis</b>	71.95%	81.43%
<b>ColGG-MoFen</b>	81.33%	87.30%



**Figura 1.** Micrografías de geles. a) ColGG, b) ColGG-MoTrip, c) ColGG-MoHis y d) ColGG-MoFen.

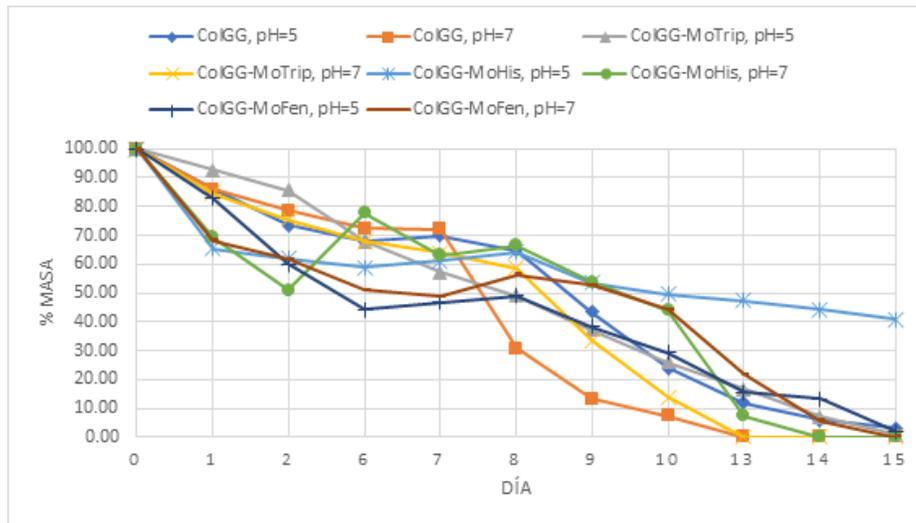
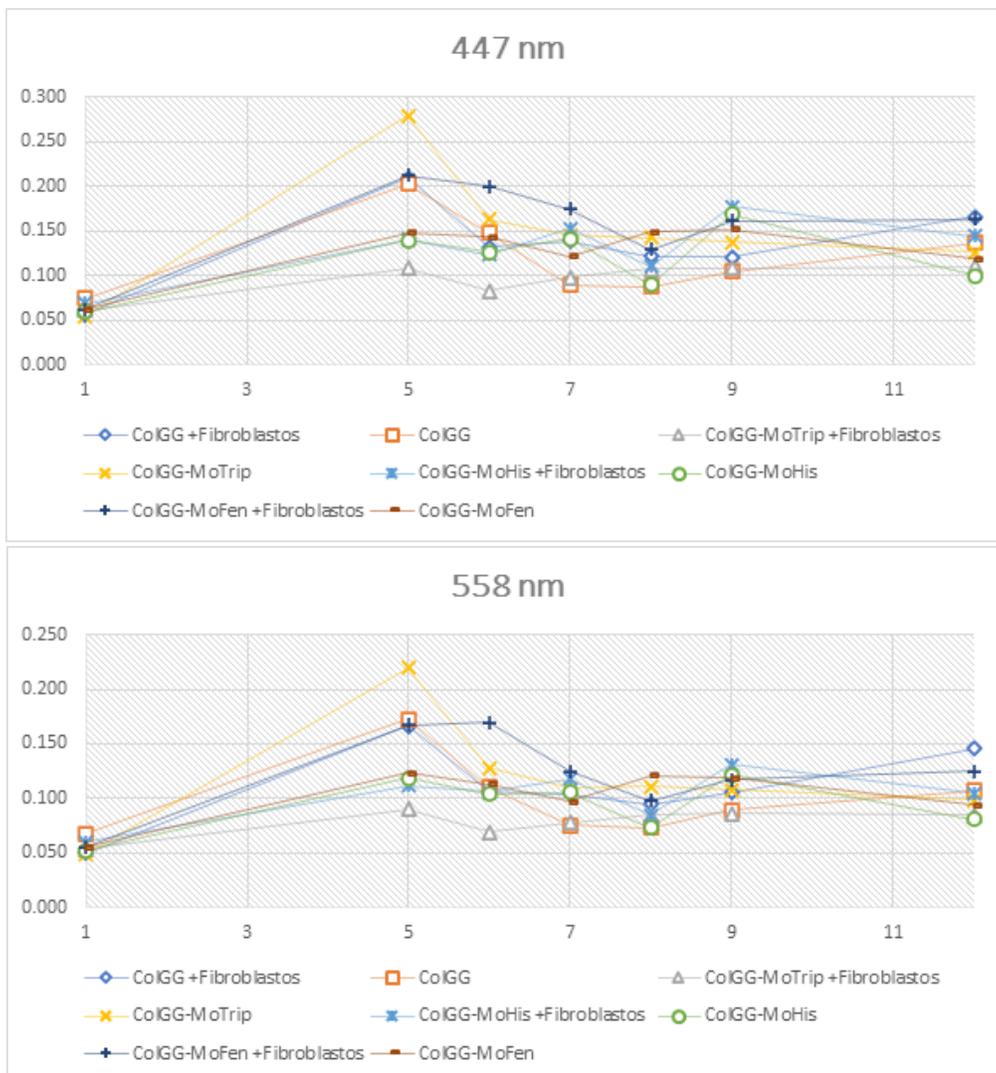


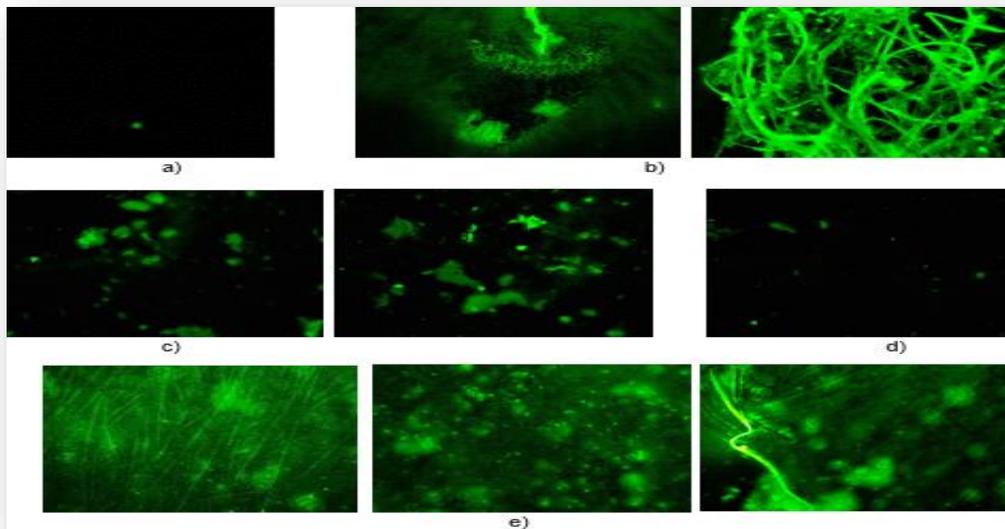
Figura 2. Degradación de los geles.



**Figura 3.** Liberación, absorbancia a 447 y 558 nm.



**Figura 4.** Semillas de jitomate embebidas en gel para germinación.



**Figura 5.** Proliferación celular de fibroblastos en a) PBS y lixiviados de b) ColGG, c) colGG-MoFen, d) colGG-MoHis y e) colGG-MoTrip

#### IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los hidrogeles obtenidos tienen características satisfactorias. El gel colGG-MoTrip es el más prometedor, pues tiene reticulación total, el mayor hinchamiento máximo (junto al colGG-MoFel) y la mayor actividad metabólica, manteniendo la mayor viabilidad celular y una proliferación excelente.

#### V. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento a la UAA por el apoyo económico otorgado y a la UAdeC por acogerme en sus instalaciones para esta estancia.

## REFERENCIAS

- [1] K. Abbasi, R. E. Ashtiani, M. Abdolahi, M. Hosseini, R. S. Soufdoost, M. Alam y S. Fani Hanifeh, «Effect of Collagen/Ibuprofen Hydrogel in Wound Healing: An In Vivo Study,» *Advances in Material Science and Engineering*, pp. 1-7, 2022.
- [2] A. P. G. Castro, P. Laity, M. Shariatzadeh, C. Wittkowske, C. Holland y D. Lacroix, «Combined numerical and experimental biomechanical characterization of soft collagen hydrogel substrate,» *Biomaterials Synthesis and Characterization*, vol. 27, nº 79, 2016.
- [3] Y. H. Chun, S.-K. Park, E. J. Kim, H. J. Lee, H. Kim, W.-G. Koh, G. Fernandes Cunha, D. Myung y K.-S. Na, «In vivo biocompatibility evaluation of in situ-forming polyethylene glycol-collagen hydrogels in corneal defects,» *Scientific Reports*, vol. 11, nº 1, pp. 1-10, 2021.
- [4] J. Hwang, E. K. An, W. Zhang, H. J. Kim, Y. Eom y J. O. Jin, «Dual-functional alginate and collagen-based injectable hydrogel for the treatment of cancer and its metastasis,» *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 20, nº 245, pp. 1-16, 2022.
- [5] N. Singh, S. Agarwal, A. Jain y S. Khan, «3-Dimensional cross linked hydrophilic polymeric network “hydrogels”: An agriculture boom,» *Agricultural Water Management*, vol. 253, 2021.
- [6] S. Nassaj Bokharaei, B. Motesharezedeh, H. Etesami y E. Motamedi, «Effect of hydrogel composite reinforced with natural char nanoparticles on improvement of soil biological properties and the growth of water deficit-stressed tomato plant,» *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 223, 2021.
- [7] W. Tanan, J. Panichpakdee, P. Suwanakood y S. Saengsuwan, «Biodegradable hydrogels of cassava starch-g-polyacrylic acid/natural rubber/polyvinyl alcohol as environmentally friendly and highly efficient coating material for slow-release urea fertilizers,» *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 101, pp. 237-252, 2021.
- [8] C. Xu, L. Cao, M. Bilal, C. Cao, P. Zhao, H. Zhang y Q. Huang, «Multifunctional manganese-based carboxymethyl chitosan hydrogels for pH-triggered pesticide release and enhanced fungicidal activity,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 262, 2021.
- [9] J. E. Gutiérrez Reyes, J. A. Claudio Rizo y M. Caldera Villalobos, «Diseño de Hidrogeles de Redes Semi-IPN de Colágeno-Goma Xantana para Aplicaciones en Ingeniería Tisular,» de *Foro de Ingeniería e Investigación en Materiales*, Morelia, 2021.
- [10] M. Caldera Villalobos, D. A. Cabrera Munguía, J. J. Becerra Rodríguez y J. A. Claudio Rizo, «Tailoring biocompatibility of composite scaffolds of collagen/guar gum with metal-organic frameworks,» *RSC Advances*, nº 12, pp. 3672-3686, 2022.
- [11] R. Murali, T. Ponrasu, K. Chermadurai y P. Thanikaivelan, «Biomimetic hybrid porous scaffolds immobilized with platelet derived growth factor-BB promote cellularization and vascularization in tissue engineering,» *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 104A, pp. 388-396, 2015.
- [12] J. W. Yoon, J. H. Kim, C. Kim, H. W. Jang y J. H. Lee, «MOF-Based Hybrids for Solar Fuel Production.,» *Advanced Energy Materials*, vol. 11, nº 2003052, 2021.
- [13] J. A. Claudio Rizo, L. F. Cano Salazar, T. E. Flores Guía y D. A. Cabrera Munguía, «Estructuras metal-orgánicas (MOFs) nanoestructuradas para la liberación controlada de fármacos,» *Mundo Nano*, vol. 14, nº 26, pp. 1e-29e, 2021.
- [14] J. A. Claudio Rizo, N. G. Hernández Hernández, L. F. Cano Salazar, T. E. Flores Guía, F. N. de la Cruz Durán, D. A. Cabrera Munguía y J. J. Becerra Rodríguez, *Journal of Applied Polymer Science*, p. e49739, 2020.
- [15] M. Anstoetz, N. Sharma, M. Clark y L. H. Yee, «Characterization of an oxalate-phosphate-amine metal-organic framework (OPA-MOF) exhibiting properties suited for innovative applications in agriculture,» *Journal of Materials Science*, vol. 51, pp. 9239-9252, 2016.
- [16] Tradecorp, «Los aminoácidos en la agricultura,» 2017. [En línea]. Available: <https://tradecorp.mx/los-aminoacidos-en-la-agricultura/>. [Último acceso: Julio 2022].

# POLIAMINAS Y LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE ASTAXANTINA EN HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS.

**Kevin Herrera Márquez**

Universidad Autónoma de Coahuila  
Carretera Torreón-Matamoros KM 7,5, Cd  
Universitaria, Torreón Coah.  
[kevinherrera@uadec.edu.mx](mailto:kevinherrera@uadec.edu.mx)  
[hresendiz@uadec.edu.mx](mailto:hresendiz@uadec.edu.mx)

**Laura Valdés Santiago**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato-Silao km 12.5 Col. El Copal  
C.P. 36821 Irapuato, Gto.  
[laura.vs@irapuato.tecnm.mx](mailto:laura.vs@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — La astaxantina es un potente antioxidante natural, de la familia de los carotenoides, que protege frente a la oxidación, un proceso involucrado con el envejecimiento y en el desarrollo de diversas enfermedades. La astaxantina es producida *Haematococcus pluvialis*. Las poliaminas son moléculas alifáticas nitrogenadas de bajo peso molecular con grupos amino; la importancia de estas moléculas reside en que se relacionan con numerosos procesos celulares, por lo que se hipotetizó que la utilización de las poliaminas estimularía el crecimiento de *H. pluvialis* biosíntesis de astaxantina. El presente trabajo se centró en el crecimiento y la producción de astaxantina así como la importancia de la incorporación de diversas poliaminas por sus características bioquímicas en procesos celulares de crecimiento, desarrollo y en la respuesta a condiciones de estrés.

**Palabras clave** — antioxidante, pigmento, carotenoide, putrescina, espermidina.

**Abstract** — Astaxanthin is a powerful natural antioxidant, from the carotenoid family, which protects against oxidation, a process involved in aging and in the development of various diseases. Astaxanthin is produced by *Haematococcus pluvialis*. Polyamines are low molecular weight nitrogenous aliphatic molecules with amino groups; The importance of these molecules lies in the fact that they are related to numerous cellular processes, for which it was hypothesized that the use of polyamines would stimulate the growth of *H. pluvialis* biosynthesis of astaxanthin. The present work focused on the growth and production of astaxanthin as well as the importance of the incorporation of various polyamines due to their biochemical characteristics in cellular processes of growth, development and in the response to stress conditions.

**Keywords** — antioxidant, pigment, carotenoid, putrescina, spermidine

## I. INTRODUCCIÓN

*Haematococcus pluvialis* es bien conocida por su alto contenido en Astaxantina que presentan sus quistes de resistencia. La *Astaxantina* es segregada como una manera de proteger el fotosistema cuando la célula percibe que las condiciones no son favorables y desencadena la respuesta de enquistamiento. La *Astaxantina* protege del daño oxidativo que pudiera ocasionarle al fotosistema una radiación de alta energía como la radiación UV. Algunos ejemplos de condiciones desfavorables son la radiación de alta energía, aumento de

la salinidad, aumento del daño oxidativo al fotosistema, baja disponibilidad de nutrientes o desecación (1).

Hasta ahora no se ha reportado el efecto de las poliaminas sobre el crecimiento y síntesis de astaxantina en *H. pluvialis*. Se ha encontrado que las poliaminas modulan la conformación cuádruplex en la región promotora y afectan la expresión de genes como c-myc, c-fos, p21 y p53 (12, 13). En este trabajo se aplicaron putrescina y espermidina exógena a cultivos en fase verde de *H. pluvialis*, se midió crecimiento, síntesis de clorofila y producción de astaxantina. Adicionalmente se diseñaron oligonucleótidos en dos genes involucrados en la síntesis de astaxantina para posteriores análisis de qRT-PCR y así analizar si las poliaminas afectan su expresión.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de la cepa de estudio y condiciones de cultivo

La microalga *Haematococcus pluvialis* (CIB68); fue obtenida de la colección de microalgas de CIBNOR. La cepa en su forma microzoide y palmeloide, fue crecida Medio Basal Bold (BMM) (2) y poliaminas (Putrescina a 0.1 mM y 0.5 mM, Spermidina a 0.1 mM), con la finalidad de conseguir su reproducción y la posterior producción de astaxantina. El proceso para obtener las mejores condiciones de cultivo de *H. pluvialis* inicio con la evaluación de la intensidad de luz para el crecimiento con tres repeticiones por cada tratamiento de cultivo a 2000 luxes que equivalen a  $32.07 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Los cultivos se realizaron en tubos de Ensaye con capacidad de 30 mL, con 1.6 mL de medio BBM y con un inóculo de 0.4 mL de  $1.5 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$ . Estos se mantuvieron en una cámara que fue montada con cartón y tiras de luz SMD LED Flexible Strips, con un periodo de luz de 24hrs.

Preparación de Ensayo 1 de Putrescina a 0.1 mM, Putrescina a 0.5 mM y Spermidina a 0.1 mM: Se preparó a partir de un stock de Putrescina de 250 mM, se esterilizó el stock por medio de un filtro de jeringa Acrodisc Premium 25 mm Syringe Filter. En 3 tubos de ensaye de 30 mL, se le agrego 1.6 mL de BBM y 0.4 mL de inóculo de  $1.5 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$  siendo estos nuestros controles. Posteriormente en 3 tubos de ensaye de 30 mL se agregaron 1,6 mL de BBM con putrescina a 0.1 mM y 0.4 mL de inóculo a  $1.5 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$  siendo estas nuestras replicas con tratamiento.

### Quantificación de crecimiento celular y quantificación de clorofila.

El crecimiento celular de los ensayos y controles se midió cada tercer día con el uso de una cámara de Neubauer. Se llevo a cabo la quantificación de Clorofila de acuerdo con lo establecido por Arredondo y Voltolina (3), se tomó una alícuota de 500  $\mu\text{L}$  de controles y ensayos y se pasaron a tubos Falcón de 15 mL para después aforarlos a 5 mL. Se centrifugó la muestra a 5000 rpm por 10 min. Se decantó y se cubrió con papel aluminio para evitar fotoxidación. Se añadió 3 mL de acetona al 90% y se agitó en vortex por 30 segundos para permitir la extracción de pigmentos. Se sónico en baño de hielo dos ciclos durante 5 min y

se dejó reposar la muestra 24 hrs a 4° C. Se sónico en las mismas condiciones y se centrifugo a 5000 rpm por 10 min. De la muestra tomamos el sobrenadante que contenía el extracto de pigmentos para leer en un espectrofotómetro calibrado con acetona al 90% con celdilla de cuarzo a unas longitudes de 664 y 647.

### **Inducción y extracción de la astaxantina.**

Inducción de la síntesis de astaxantina. Para con los bioensayos para la inducción a la caratenogenesis en *H. pluvialis*; se utilizó la inducción con altas intensidades de luz y limitación de nutrientes según lo establecido por Nava (4) en 6 tubos de ensaye de 30 mL con una intensidad de 10000 luxes equivalente a  $160.37 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2} \cdot\text{s}^{-1}$ , utilizando SMD LED Flexible Strips. La luz led fue colocada alrededor de una cámara de cartón montada permitiendo de esta manera que la luz pudiera llegar a cada uno de los tubos de ensaye. El ensayo se extendió por 4 días.

Cualificación de la astaxantina. El método utilizado según lo establecido por Nava (5), en donde se tomó 3 mL de los cultivos y se contó en cámara de Neubauer para tener el número de células presentes en cada cultivo. Se centrifugó a 9000 rpm por 15 min a 10 °C, para formar una pastilla celular, se decantó el sobrenadante y se agregó 1 mL de agua destilada estéril para su sonicación a 2 revoluciones por 90 segundos. Se centrifugó las muestras nuevamente en las mismas condiciones, se decantó y se agregó 1 MI de agua destilada estéril.

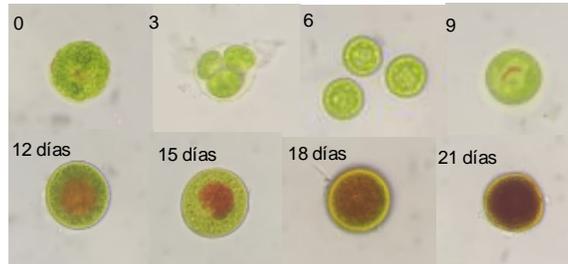
Se llevó a cabo el rompimiento celular por medio de congelación con nitrógeno líquido, posteriormente descongelaron en baño de agua, este procedimiento se repitió 3 veces. Se agrego 1 mL de metanol grado HPLC en cada muestra y se dejó reposar por 24 hrs a 4°C. Se descongeló las muestras y se tomó una muestra de cada una para su determinación cualitativa a 475 nm en UV-Vis.

### **Diseño de oligonucleótidos para ensayo de qRT-PCR.**

Para el diseño de oligonucleótidos para qRT-PCR se utilizó la página de NCBI utilizando uno de los genes involucrados en la síntesis de astaxantina de interés de *H. pluvialis* siendo este: AF305430 y como control 18s.

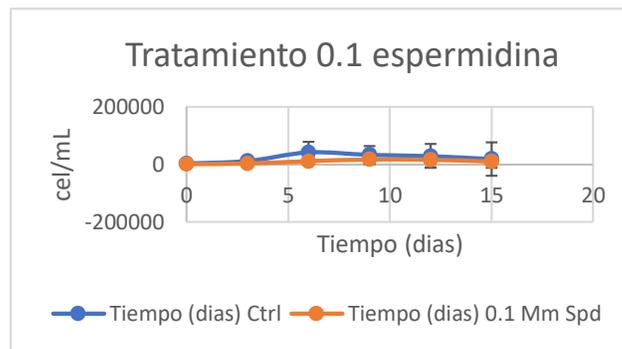
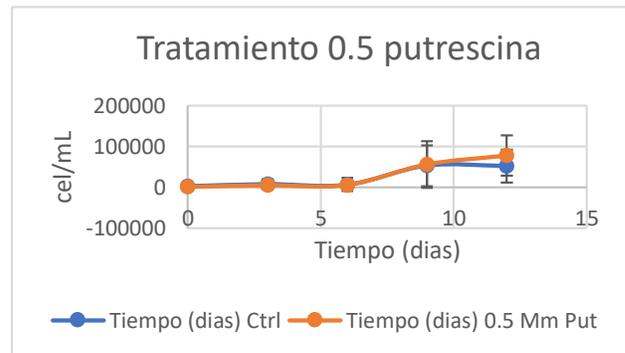
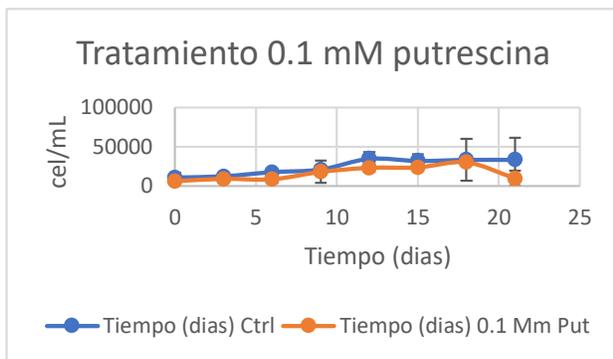
### III- RESULTADOS

#### Morfología de *H. pluvialis* y efecto de la putrescina y la espermidina sobre el crecimiento de *H. pluvialis*.



**Imagen 1-** Ciclo de vida de *H. pluvialis* en tratamiento de putrescina 0,1 mM cuando se trasplantan cultivos viejos en medio fresco, las células se dividen para formar células flageladas dentro de la pared celular madre. germinación, las células flageladas se asientan y se convierten en células nuevas.

Se encontraron diferencias no significativas entre el control y el tratamiento con 0.1mM de putrescina, celular, aunque se puede notar que el tratamiento va por debajo del crecimiento del control y en los días 18 y 21 ya hay una gran caída por parte del tratamiento, lo que nos indica que el cultivo entró en fase de muerte (Grafica 1 y 2).



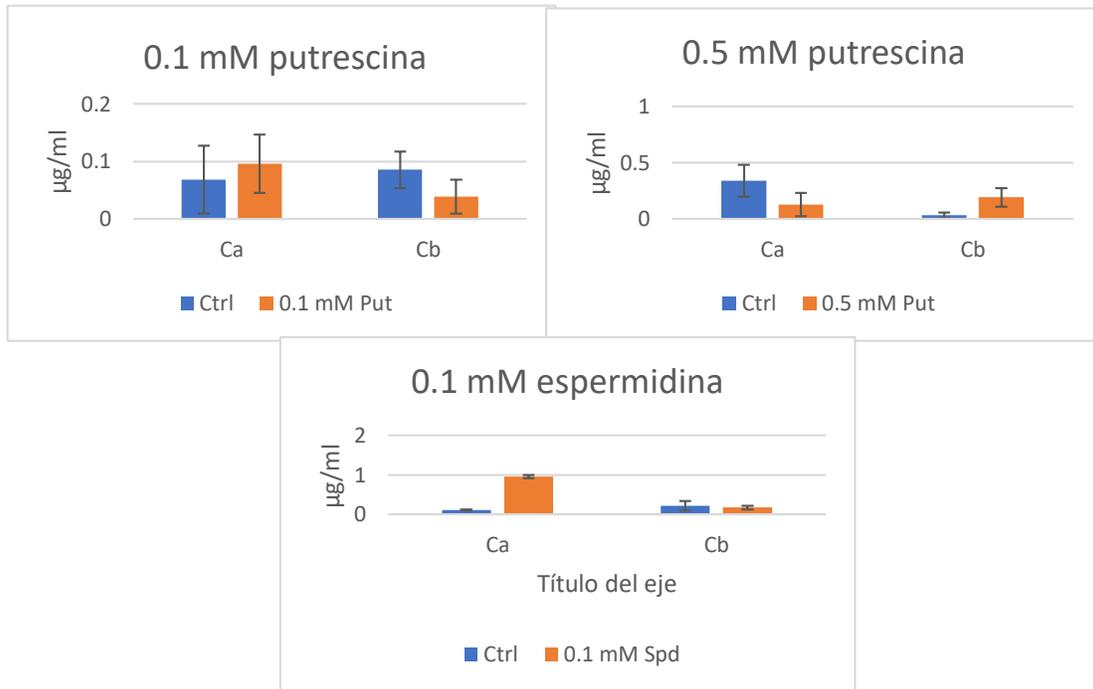
**Grafica 1, 2 y 3-** Crecimiento de la microalga *H. pluvialis* en medio BBM con 0.1 mM y 0.5 mM de putrescina ( $\text{cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), y 0.1 mM de espermidina con intensidad de luz de  $32.07 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ . Las barras verticales indican el error estándar.

Durante el ensayo del tratamiento de 0.5 mM de putrescina, el crecimiento celular estuvo muy por debajo del tratamiento anterior, lo que dice que la microalga tardó en adaptarse al medio

y al día 6 comenzó su fase exponencial de manera que duro así hasta el día 9 y quedo en fase estacionaria. Bajo estas condiciones no se apreciaron diferencias significativas (Figura 2)

En el gráfico 3 se observa que no hay diferencias significativas del control comparativamente con el tratamiento con espermidina 0.1 mM.

**i. Efecto de la putrescina y la espermidina sobre la producción de clorofila.**



**Gráfica 4-** Datos del tratamiento 0.1 mM putrescina mediante fórmulas para la obtención de Ca y Cb, obtenidos al medir Absorbancia 664 y 647 en espectrofotómetro.

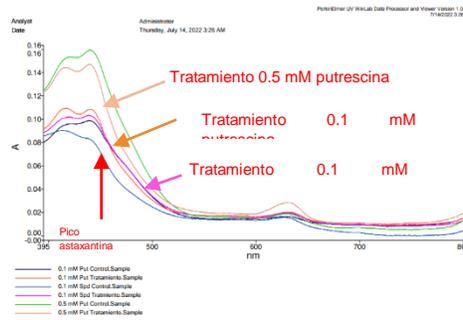
**Gráfica 5-** Datos del tratamiento 0.5 mM putrescina mediante fórmulas para la obtención de Ca y Cb, obtenidos al medir Absorbancia 664 y 647 en espectrofotómetro.

**Gráfica 6-** Datos del tratamiento 0.1 mM espermidina mediante fórmulas para la obtención de Ca y Cb, obtenidos al medir Absorbancia 664 y 647 en espectrofotómetro.

**Efecto de la putrescina y la espermidina sobre la producción de astaxantina.**

Los pigmentos pueden absorber la luz específicamente en la región ultravioleta (UV) y el espectro visible, el resto se transmite o refleja. Por la estructura química de la astaxantina y la presencia de enlaces conjugados se puede identificar y cuantificar con las técnicas espectrofotométrica. Este carotenoide absorbe entre 250 y 550 nm, presentando un pico máximo en 476 nm (6).

**Grafica 7.-** Datos de tratamientos leídos en UV/Visible



En la gráfica 7 Se pueden observar 3 picos (derecha – izquierda) clorofila, astaxantina y carotenoides desconocidos. En el tratamiento 0.5 mM Putrescina se presenta el mayor pico de astaxantina en comparación de los otros tratamientos y el tratamiento que presentó el menor pico de astaxantina fue el 0.1 mM Spermidina.

**Diseño y selección de oligonucleótidos para qRT-PCR y tamaño de bandas esperada.**

Para el diseño de los oligos para el gen *Haematococcus pluvialis phytoene synthase mRNA*, *partial cds* y como control el gen que codifica la región ribosomal 18s se copió en formato FASTA la cadena del gen.

En NCBI primer designing tool se pegó el formato FASTA del gen de interés y solamente se modificó los parámetros de desnaturalización de los oligonucleótidos.

La página arrojó los resultados de los posibles oligonucleótidos y se eligió los mejores pares de oligonucleótidos dependiendo de los parámetros de: tiempo de desnaturalización del

Primer pair 1									
	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GAGCTAATACGCGTATATCCCGA	Plus	25	7	31	62.15	48.00	8.00	3.00

*Ilustración 5 Control*

*Ilustración 6 Gen de interés*

oligonucleótido, porcentaje G y C y self complementary.

Las secuencias de los primers seleccionadas para el gen control 18s son:

FORWARD: GAGCTAATACGCGTATATCCCGA

REVERSE: AAGCCCGGCTGGCCTTTTAT

Las secuencias de los primers seleccionados para amplificar el gen *Haematococcus pluvialis phytoene synthase mRNA*, *partial cds* son:

FORWARD: GGATTTGCATAAGATCGAT

REVERSE: AAGCCCGGCTGGCCTTTTAT

## VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Durante el ciclo de vida de *H.pluvialis* se presentaron diferentes morfologías (Imagen 1), se observaron las fases de morfología que son microsoide (0 días), macrosoide (9 días), palmeloide (18 días) y aplanoespora (21 días). De acuerdo a las gráficas 1, 2 y 3, la putrescina 0.1 y 0.5 mM, así como la espermidina 0.1 mM no estimularon el crecimiento de la fase verde, resultados contrarios a lo encontrado por González Ibarra, (2021) quien observó que la poliamina putrescina estimuló el crecimiento en la microalga, lo cual podría explicarse por el volumen de trabajo que manejaron y las condiciones ambientales que fueron distintas a las de este estudio A nivel fisiológico, la adición de poliaminas exógenas estimula el crecimiento de varias microalgas. Participan en la estabilidad de los cloroplastos, facilitan el transporte de CO<sub>2</sub>, ayudan a la eficiencia de la fotosíntesis durante condiciones de estrés por sequía, salino e hipoxia. Se ha asociado el consumo de putrescina con la síntesis de clorofila (7). Para la clorofila, en los datos obtenidos en las gráficas 4-6 se puede apreciar la diferencia entre cada tratamiento, dando por visto que el tratamiento 0.1 mM espermidina obtuvo una mayor concentración de Clorofila A, y el tratamiento 0.5 mM putrescina tiene mayor concentración de Clorofila B. En los datos obtenidos en la prueba del efecto de los tratamientos en la producción de astaxantina mostraron que el tratamiento 0.5 mM putrescina tuvo la mayor presencia de astaxantina, comparado con su control, mientras que 0.1 mM espermidina presenta el menor pico de presencia comparativamente con el tratamiento control. Esto indica que la putrescina podría estar estimulando la síntesis de astaxantina, mientras que la espermidina reprime la producción.

## VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La adición de poliaminas no estimulo el crecimiento bajo nuestras condiciones experimentales, la putrescina exógena a una concentración de 0.5 mM estimuló la producción de astaxantina de *H.pluvialis*. Se requieren hacer mas ensayos para determinar la función de las poliaminas en *H. pluvialis*.

## VIII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

A la Dra. Laura Valdés Santiago, que no permitió pertenecer a su proyecto y a su laboratorio, por su guía en el proceso de la estancia, así como su orientación y apoyo incondicional. A la Dra. Alejandra Sarahí Ramírez Segovia por su tiempo y dirección en la inducción y cuantificación de astaxantina.

A la Universidad Autónoma de Coahuila y Facultad de Ciencias Biológicas por el apoyo que se nos dio para llevar a cabo el verano de investigación.

## REFERENCIAS

- [1] Cuero Amú, K. J., Domínguez Castillo, J. A., Espitia Sánchez, K. D., & Fuentes Cañón, L. A. (2019). Efecto de los factores de estrés acetato de sodio, alta irradianza y color de luz sobre la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*.
- [2] Bischoff, H.W. & Bold, H.C. (1963): Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. - University of Texas Publications 6318: 1-95. - modified according to Starr, R.C. & Zeikus, J.A. (1993): UTEX - The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. - J. Phycol. 29(supplement S2): 1- 106. Andersen, R.A. (ed.) (2005): Algal culturing techniques, 578pp, Elsevier Academic Press, London.
- [3] Vega, B. O. A., & Lobina, D. V. (2017). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal
- [4] [dbank.jp/cgi-bin/detail.cgi?id=VCA0002](http://dbank.jp/cgi-bin/detail.cgi?id=VCA0002)
- [5] Beatriz Nava Gómez (2017) Optimización del crecimiento y producción del carotenoide astaxantina por la microalga *Haematococcus* sp. En diferentes condiciones de cultivo (Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- [6] Beatriz Nava Gómez (2017) Optimización del crecimiento y producción del carotenoide astaxantina por la microalga *Haematococcus* sp. En diferentes condiciones de cultivo (Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- [7] Japanese Conference on the Biochemistry of Lipids (2008). LipidBank Recuperado el 2015, de Carotenoid. Astaxanthin: [http:// lipidbank.jp/cgi-bin/detail.cgi?id=VCA0002](http://lipidbank.jp/cgi-bin/detail.cgi?id=VCA0002)
- [8] Beigbeder, A., Vavadakis, M., Navakoudis, E., & Kotzabasis, K. (1995). Influence of polyamine inhibitors on light-independent and light-dependent chlorophyll biosynthesis and on the photosynthetic rate. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-biology*, 28, 235-242. DOI:10.1016/1011-1344(95)07113-G

# ENCAPSULAMIENTO Y DETERMINACIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD DE LOS PRINCIPALES FITOQUÍMICOS DEL SUBPRODUCTO DE BETABEL

**Paola Lizeth Ortiz Olvera**

Universidad Autónoma de Coahuila  
Facultad de Ciencias Químicas  
Blvd. Venustiano Carranza 935, República  
C.P. 25280 Saltillo, Coah.  
[paolaortiz@uadec.edu.mx](mailto:paolaortiz@uadec.edu.mx)

**Miriam Aracely Anaya Loyola**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales-Campus Juriquilla  
Av. de las Ciencias S/N, Delegación  
C.P. 76230, Juriquilla, Qro.  
[aracely.anaya@uaq.mx](mailto:aracely.anaya@uaq.mx)

**Resumen** — En este trabajo se evaluó el rendimiento de encapsulación de compuestos bioactivos presentes en el subproducto liofilizado de betabel (*Beta vulgaris*) haciendo uso de la técnica de gelificación iónica para su conservación y aplicación en beneficio a la salud humana; esto con la finalidad de ofrecer una alternativa de uso al residuo generado a partir de la elaboración del jugo de betabel (bagazo).

**Palabras clave** — Betabel, Compuestos Bioactivos, Gelificación Iónica.

**Abstract** — In this work, the encapsulation performance of bioactive compounds present in the freeze-dried by-product of beet (*beta vulgaris*) was evaluated using the ionic gelation technique for its conservation and application for the benefit of human health; this with the purpose of offering an alternative use for the waste generated from the production of beet juice (bagasse).

**Keywords** — Beet, Bioactive Compounds, Ionic Gelation.

## I. INTRODUCCIÓN

El betabel (*beta vulgaris*) también conocido como remolacha, es un tubérculo utilizado en la industria alimentaria como aditivo o colorante en diversos productos, siendo este también un alimento consumido tradicionalmente en la dieta cotidiana, ya que este es rico en compuestos bioactivos (Flores et al., 2020) los cuales aportan múltiples beneficios a la salud humana; considerándolo una mina de oro en antioxidantes.

Su consumo se presenta principalmente en ensaladas y jugos y este puede ser crudo o cocido. Al ser consumido en jugos, el subproducto resultante es descartado y con ello la mayoría de estos compuestos, también denominados fitoquímicos; dentro de los cuales podemos encontrar betalaínas, polifenoles, nitratos y flavonoides, además de minerales de suma importancia como el fósforo, hierro, calcio y vitamina C (Ayala, 2019).

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados hidrosolubles responsables de brindar la coloración característica al betabel, y las cuales podemos clasificar en dos grupos: betacianinas, que brindan coloraciones rojo-violeta y las betaxantinas, que por su parte proporcionan tonalidades amarillo-naranja (Gandía et al., 2010); tienen actividad antioxidante y son sustancias relacionadas con la prevención del desarrollo de distintos tipos de cáncer, además de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares (Martínez et al., 2008; Azeredo, 2009); sin embargo, son inestables a la luz, el pH, el aire y la temperatura (Flores, 2020). Por lo que para evitar su degradación el encapsulado es una alternativa tecnológica que puede preservar las concentraciones y funciones de los compuestos bioactivos del

subproducto de betabel, además de permitir la liberación específica de una manera progresiva y controlada ante ciertas condiciones.

La técnica denominada “gelificación iónica mediante goteo” consiste en la inmersión de gotas de un polisacárido y un ion de carga opuesta como lo es el  $\text{Ca}^{2+}$ , obteniendo así que el compuesto de interés quede recubierto por una membrana semisólida de alginato cálcico el cual es insoluble pero permeable (Rodríguez et al., 2003). El objetivo de este estudio fue encapsular el subproducto liofilizado de betabel y determinar la biodisponibilidad de sus principales fitoquímicos.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El encapsulado del subproducto de betabel liofilizado se llevó a cabo en tres etapas:

### 1-. Preparación de soluciones

- a. Agente sellante. Se preparó una solución de lactato de calcio al 2% ajustando el pH a 7 con HCl (Fig.1).
- b. Agente encapsulante. Se preparó alginato de sodio al 1%, la cual se mezcla con el 1% del subproducto momentos antes de comenzar a encapsular (Fig. 2).



**Fig. 1-** Solución de lactato de calcio 2%



**Fig. 2-** Solución de alginato de sodio 1% mezclado con el subproducto de betabel.

2-. *Encapsulado.* La solución de alginato de sodio es calentada a una temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$  con agitación controlada para mantenerla fluida. Se usó de una jeringa estéril *BD plastipak* con una ajuga 21G x 32mm y una capacidad de 3mL para dejar caer y suspender gota por gota la mezcla de alginato de sodio y subproducto de betabel en la solución de lactato de calcio a temperatura ambiente; por un lapso de 1min. Se dejan en suspensión por 30 segundos manteniendo la agitación constante (Fig. 3). Pasado el tiempo se retiraron las perlas de la solución y fueron filtradas en un embudo Büchner al vacío, para posteriormente ser secadas.

Para estimar el rendimiento de subproducto encapsulado se tomó lectura de la solución remanente de lactato de calcio en un espectrofotómetro UV-VIS *Thermo Spectronic Genesys 20* a una longitud de onda de 490nm para betaxantinas y 538nm para betacianinas (Fig.4).

### 3-. Secado/liofilizado de las perlas



**Fig. 3-.** Perlas inmersas en la solución de lactato de calcio 2%



**Fig. 4-.** Celdas desechables con la solución de lactato de calcio 2% después de encapsular

a. **Deshidratado por aire forzado:** Las perlas fueron esparcidas uniformemente sobre hojas de silicona antiadherente en las charolas del deshidratador por aire forzado y secadas a una temperatura de 32°C por 1 hora (Fig.5).

b. **Liofilizado:** Las perlas fueron divididas y esparcidas en tamices para ser secadas por liofilización a 1 atm de presión y -5.5 °C (Fig.6).



**Figura 5.** Perlas secadas en aire forzado



**Figura 6.** Perlas secadas en liofilizadora

**4.Extracción y cuantificación de betalaínas totales.** Una muestra de 1 g de perlas deshidratadas y una muestra de 0.01 g de perlas liofilizadas se colocaron en tubos y se les agregaron 5 mL de agua destilada a cada uno, ajustando el pH=7 con HCl; se agitaron usando un vortex durante 2 min, dejándose reposar 5 min y se volvieron a agitar en vortex durante 3 min.

Los tubos conteniendo las perlas en agua se centrifugaron 15min a 4000 rpm y se tomaron 2.5 mL del sobrenadante midiendo su absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 490nm y 538nm. Este proceso se repitió haciendo la extracción en agua a pH=3. Para el cálculo de contenido de betalaínas totales, se realiza según lo descrito por Castellanos-Santiago y Yahia (2008) haciendo uso de las lecturas obtenidas en el UV-VIS.

## II. RESULTADOS

Para llegar a un método estandarizado de encapsulado del subproducto de betabel, se hicieron pruebas del proceso de gelificación iónica mediante goteo con distintas variantes (Cuadro 1), esto con la finalidad de obtener un mejor rendimiento de encapsulación y preservar de mejor manera los compuestos de interés siendo la variante 5 el método seleccionado. En todos los diferentes tratamientos se usó 1% de subproducto de betabel liofilizado en relación al peso de la solución de alginato de calcio.

Dentro de los métodos de secado usados para preservar el subproducto encapsulado en las perlas de alginato y conservar los compuestos bioactivos y la vida de anaquel, la liofilización como se esperaba conservó mejor a las betalaínas, y las perlas obtenidas y secadas por este método tuvieron un mayor peso (Cuadro 2).

Con la finalidad de conocer cómo es que se llevaría a cabo la liberación controlada de betalaínas estas son diluidas en agua destilada a un pH de 3 para simular el pH del estómago (tabla 3) y un pH de 7 simulando las condiciones de la boca y el intestino (tabla 4) y se lleva a cabo el cálculo con método previamente mencionado notándose una cantidad mayor de betalaínas totales en las perlas liofilizadas

## IV. CONCLUSIONES

La mezcla de alginato, lactato y subproducto de betabel con mejor acción encapsulante fue el tratamiento 5, que al ser secado por liofilizado permitió conservar una mayor concentración de betalaínas independientemente del pH en el que se trabaje la liberación de estos compuestos bioactivos. Sin embargo, las cantidades liberadas son bajas y aun no hay estudios que indiquen si estas podrán traer un beneficio notorio a la salud humana desconociendo de igual manera si habrá algún cambio al aumentar la cantidad de subproducto agregado.

**Cuadro 1.** Diversos tratamientos usados para lograr la máxima encapsulación de subproducto de betabel.

Lote	Alginato	Subproducto de betabel	Aceite	Sellador	Tiempo en la solución	Abs lactato residual a 490nm	Abs lactato residual a 538nm
1	Solución al 2%	SPB 1%	Mezclado con el subproducto de betabel	CaCl <sub>2</sub> 2% pH no controlado	N/A	N/A	N/A
2	Solución al 1%	SPB 1%	No	CaCl <sub>2</sub> 2% pH=7	36min proceso 30min reposo	0.043 A	0.864 A
3	Solución al 1%	SPB 1%	No	CaCl <sub>2</sub> 2% pH=7	10min	0.085 A	0.106 A
4	Solución al 1%	SPB 1%	No	Lactato de calcio 2% pH=7	20min	0.106 A	0.130 A
		SPB 1%			10min	0.087 A	0.111 A
		SPB 1%			20min	0.088 A	0.111 A
5	Solución al 1%	SPB 1%	No	Lactato de calcio 2% pH=7	30min	0.098 A	0.124 A
					1min proceso 30 s reposo	0.054 A	0.067 A
6	Solución al 1%	SPB 1%	Si	Solución lactato de calcio 2% pH=7 y aceite vegetal (1:1)	1min proceso 30s reposo	N/A	N/A
7	Solución al 1%	SPB 1%	Si	Solución lactato de calcio 2% pH=7 y aceite vegetal (10:1)	1min proceso 30s reposo	0.080 A	0.091 A

**Cuadro 2.** Peso final de las perlas deshidratadas encapsulando al subproducto de betabel

Método	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Humedad contenida (%)	Sólidos totales (%)
Deshidratado	91	1.8669	97.95%	2.35%
Liofilizado	91	2.8653	96.85%	3.15%

**Cuadro 3.** Efecto del método de secado y pH en la concentración final de betalainas en las perlas con

Método de secado	pH	Betacianinas (mg/g)	Betaxantinas (mg/g)	Betalainas totales (mg/g)
Aire forzado	3	0.0092	0.0052	0.0144
Liofilizado	3	0.2016	0.1122	0.3139
Aire forzado	7	0.0077	0.0063	0.0141
Liofilizado	7	0.2016	0.1122	0.3139

subproducto de betabel encapsulado.

### III. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro y al CONACyT por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] Flores-Mancha, M. A., Ruíz-Gutiérrez, M. G., Sánchez-Vega, R., Santellano-Estrada, E., & Chávez-Martínez, A. (2020). "Characterization of Beet Root Extract (*Beta vulgaris*) Encapsulated with Maltodextrin and Inulin", *Molecules*, 25(23), 5498. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25235498>
- [2] Tirado, R. A. A. (2020). Desarrollo de un gel enriquecido con subproducto de betabel.
- [3] Martínez-Navarrete, N., Vidal, M. D. M. C., & Lahuerta, J. J. M. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad dietética*, 12(2), 64-68.
- [4] Gandía-Herrero, F., Escribano, J., & García-Carmona, F. (2010). Structural implications on color, fluorescence, and antiradical activity in betalains. *Planta*, 232(2), 449-460.
- [5] Flores Mancha, M. A. (2020). *Efecto de la adición de extracto de betabel, (beta vulgaris) liofilizado sobre las características fisicoquímicas, actividad antioxidante, contenido y estabilidad de betalainas y polifenoles en yogurt batido* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Chihuahua).
- [6] Rodríguez-LLimos A.C, Chiappetta D, Szeliga M.E, Fernández A, Bregni C. Micropartículas de alginato conteniendo paracetamol. *Ars Pharmaceutica*,44:4;333- 342,2003.
- [7] Castellanos-Santiago E, E M Yahia (2008) Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 56: 5758-5764.

# EFEECTO DE LA CÓPULA REGULADA Y EJERCICIO EN LA PLASTICIDAD CEREBRAL DE LA RATA HEMBRA

**Ailed Cecilia Méndez Guerrero**

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad  
de Ingeniería–Campus Aeropuerto  
Carretera a Chichimequillas s/n, Querétaro,  
76140, México.

[amendez30@alumnos.uaq.mx](mailto:amendez30@alumnos.uaq.mx)

**Raúl Gerardo Paredes Guerrero**

Universidad Nacional Autónoma de México,  
ENES Unidad Juriquilla,  
Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro,  
76230, México.

[rparedes@unam.mx](mailto:rparedes@unam.mx)

**Resumen** — El comportamiento sexual desencadena respuestas neuroendocrinas que conllevan a cambios plásticos en el cerebro en diferentes especies. Cuando la rata hembra controla el ritmo de interacciones sexuales, los cambios plásticos y conductuales en el apareamiento se presentan en mayor medida que cuando la cópula no se regula. En este estudio se busca evaluar los efectos producidos por la cópula regulada y el ejercicio en la neurogénesis. Las ratas fueron sometidas a resonancia magnética para evaluar los cambios neuroplásticos y se evaluó su actividad física en rueda de ejercicio. El grupo de ejercicio-pacing presentó mayor actividad física el día de cópula en comparación del grupo de ejercicio. Los resultados indican que la cópula aumenta la cantidad de ejercicio en la rata.

**Palabras clave** — Pacing, conducta sexual, neurogénesis, resonancia magnética.

**Abstract** — Sexual behavior triggers neuroendocrine responses that lead to plastic changes in the brain in different species. When the female rat controls the rhythm of sexual interactions, plastic and behavioral changes in mating occur to a greater extent than when copulation is not regulated. In this study, we aimed to evaluate the effects produced by regulated copulation and exercise on neurogenesis. Rats were submitted to magnetic resonance imaging to evaluate neuroplastic changes and their physical activity was evaluated in an exercise wheel. The exercise-pacing group presented greater physical activity on the day of copulation compared to the exercise group. The results indicate that copulation increases the amount of exercise in the rat.

**Keywords** — Pacing, sexual behavior, neurogenesis, magnetic resonance.

## I. INTRODUCCIÓN

La conducta sexual ha sido estudiada en varias especies, uno de los propósitos es favorecer a incrementar eficiencia reproductiva de los animales identificando procesos que ayuden a aumentar el número de crías. Por otro lado, los estudios de la conducta sexual han ayudado para identificar cambios hormonales y sustancias fisiológicas encargadas de regular las fases reproductivas y así tener un mejor control de estas variables. La investigación en esta área de la neurobiología abre paso a conocer mejor los mecanismos involucrados en la reproducción tanto de animales como humana, lo cual permite a su vez la resolución de problemáticas actuales como infertilidad y la generación de nuevos métodos anticonceptivos.

Una forma de conocer más a fondo los cambios conductuales en distintas especies es analizar los cambios en la conformación de las estructuras cerebrales y en su funcionalidad. En este estudio se evaluarán los cambios plásticos producidos en la rata mediante resonancia magnética y a través de técnicas inmunoquímicas se cuantificará la cantidad de nuevas neuronas en el bulbo olfativo accesorio, amígdala medial posterodorsal (MeApd), porción posteromedial del núcleo del lecho de la estría terminal (BNSTpm), porción ventrolateral del

núcleo ventromedial del hipotálamo (VMHvl) y en el área preóptica medial (mPOA). Además, se busca analizar la cantidad de actividad física de las ratas a lo largo del estudio para observar sus efectos en la neuroplasticidad. La evaluación mediante inmunquímica se encuentra actualmente en proceso y no forma parte del presente escrito.

## II. MARCO TEÓRICO

Las ratas tienen diversos comportamientos específicos durante el apareamiento. Dichos comportamientos se pueden dividir en proceptivos y receptivos. Los comportamientos proceptivos son mostrados por las hembras en celo, para atraer y facilitar la monta del macho, entre ellos se incluyen saltos, carreras cortas y agitación de orejas. La receptividad se presenta cuando hay reflejo de lordosis en respuesta a una monta por parte de un macho, se asocia con los aspectos consumatorios de una interacción sexual [1]. La olfacción es crucial para la expresión del comportamiento sexual en los roedores.

En hembras de distintas especies de mamíferos, los estímulos recibidos durante el apareamiento han demostrado iniciar una serie de respuestas neuroendocrinas y conductuales importantes para la reproducción. Cuando se les permite a las ratas regular el ritmo de las interacciones sexuales (pacing), como suele presentarse en condiciones naturales y seminaturales, los cambios plásticos cerebrales se ven incrementados y las conductas aversivas en el apareamiento se ven reducidas [2]. El pacing representa un mecanismo conductual donde las hembras maximizan la estimulación genitosensorial necesaria para inducir cambios neuroendocrinos y se ha visto que induce un estado de recompensa positiva, aumenta la liberación de la hormona luteinizante, la oxitocina y la prolactina [3]. Se ha demostrado que el pacing induce neurogénesis en la zona subventricular, vía rostral migratoria y el sistema del bulbo olfativo [4]. También se ha visto que promueve la llegada de más neuronas recién nacidas en la capa de células internas (gránulos) del bulbo olfatorio accesorio y en el bulbo olfatorio principal de las ratas hembra adultas [5]. El ejercicio también produce neurogénesis, varios estudios han investigado la cinética de los efectos del ejercicio sobre la proliferación celular y la neurogénesis. Las investigaciones han demostrado que 10 días de carrera sobre ruedas aumentan la génesis celular en roedores alojados individualmente [6].

La resonancia magnética (RM) se utiliza ampliamente en la investigación básica y clínica para mapear la organización estructural y funcional del cerebro. Los agentes de contraste son utilizados para mejorar el contraste de los tejidos blandos, y así posibilitar la visualización de las pistas neuronales y la mejora de la capacidad de la RM para proporcionar información funcional a diferentes escalas temporales. La RM potenciada por manganeso con inyección sistémica de  $MnCl_2$  se ha aplicado recientemente para la obtención de imágenes cerebrales funcionales en roedores sin sujeción [7]. Puede utilizarse para el estudio de la conectividad anatómica. El  $Mn^{2+}$  inyectado localmente es captado por las células, puede ser transportado a los terminales sinápticos, liberado al espacio extracelular y posteriormente captado de nuevo por otras neuronas, lo que permite trazar vías neuronales [8]. Cuando se administra de forma sistémica, el  $Mn^{2+}$  llega al cerebro y entra en las células a través de los canales de  $Ca^{2+}$  activados por voltaje [9], para luego ser transferido trans-sinápticamente. La

acumulación del manganeso en el interior de las células, así como en el espacio extracelular circundante, es proporcional a la actividad neuronal.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### A. Rata

Los sujetos de este estudio son ratas hembra de la cepa Wistar perteneciente a la especie *Rattus norvegicus* (Fig. 1). Con un peso de 200 a 250g. Fueron obtenidas de la colonia local del Instituto de Neurobiología de la UNAM y fueron designadas de forma aleatoria a uno de los 5 grupos: a) Ejercicio (n=4), b) Ejercicio y Pacing (n=4), c) Pacing (n=4), d) Campo Abierto (n=4), e) Control (n=3). Las cuales fueron ovariectomizadas y almacenadas cada grupo en una caja, en un cuarto de ciclo invertido 12/12 h luz-oscuridad.. Se indujo receptividad y proceptividad sexual administrando benzoato de estradiol (25 µg/rata) y progesterona (1 mg/rata), respectivamente 48 h y 4 h antes de la hora destinada para la copulación. Como estímulo se usaron machos sexualmente expertos, los cuales recibieron 3 sesiones de cópula para adquirir experiencia sexual con hembras estímulo que no forman parte del estudio. Los machos que eyacularon una vez en cada sesión se consideran expertos y hábiles para el experimento.

#### B. Rueda de ejercicio

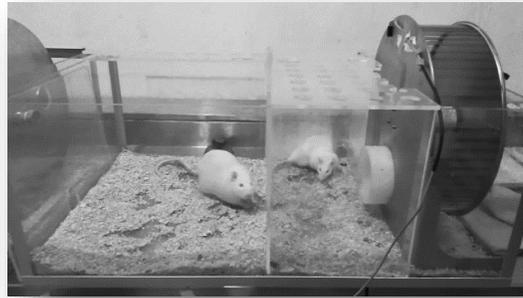
Para las sesiones de ejercicio de los grupos de ejercicio y ejercicio-pacing las ratas fueron colocadas de forma individual en cajas equipadas con rueda de actividad para rata marca Panlab de 36 cm de diámetro. El multicontador Panlab LE3806 registra la cantidad de vueltas en ambas direcciones de la rueda cada 6 min durante 1 h. Los datos se exportaron a un archivo .xlsx y se convirtieron de vueltas a metros con la Ec1.

$$\text{metros} = \pi(0.36)(\text{Num. De vueltas}) \quad (1)$$

Las ratas del grupo ejercicio tuvieron acceso a la rueda durante 1h por día, 5 días a la semana. De igual forma, las ratas del grupo ejercicio-pacing fueron colocadas en la caja de ejercicio durante 1h por 5 días a la semana. El día 4 de cada semana se cambió la caja normal de ejercicio por la caja de cópula equipada con rueda de ejercicio para medir la actividad física de la rata y conducta sexual.



**Fig. 1.** Ejemplar de rata Winstar hembra adulta.



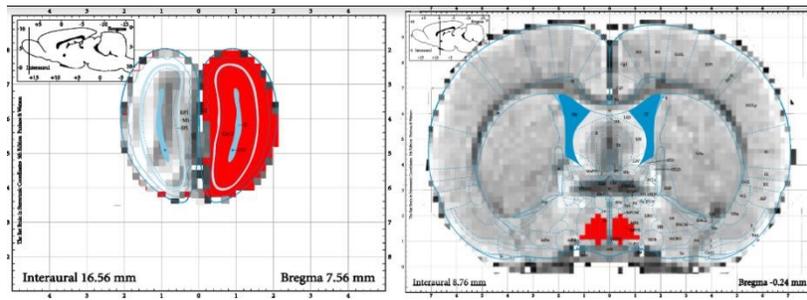
**Fig. 2.** Fotografía de sesión de cópula-ejercicio. Se observa el macho en el lado izquierdo de la imagen y la hembra en el lado derecho de la caja donde se encuentra la rueda de ejercicio.

### C. *Pacing*

La caja de cópula regulada consiste en una caja transparente de acrílico (40 cm x 60 cm x 40 cm) dividida en dos partes iguales por una pared de acrílico con un agujero pequeño donde, debido al tamaño, solo la hembra puede atravesar de un lado a otro; lo cual le permite regular la interacción sexual con el macho. En las sesiones de cópula, se colocó primeramente al macho en un compartimiento de la caja de cópula regulada durante 5 min y después se colocó la hembra en el otro compartimiento de la caja. En las sesiones de ejercicio-pacing la hembra se colocó en el compartimiento equipado con rueda de ejercicio (Fig. 2); de esta forma la hembra tiene la posibilidad de intercalar la cópula y el ejercicio a lo largo de la sesión. Una vez colocada la hembra en la caja se comenzó a tomar el tiempo. Cada sesión de cópula tuvo 1 hora de duración. Para evaluar la conducta sexual se cuantificó la cantidad de eventos copulatorios (montas, intromisiones y eyaculaciones), latencias entre dichos eventos y el tiempo que tardó la hembra en regresar al compartimiento del macho después de que este haya eyaculado.

### D. *Resonancia magnética*

Las ratas fueron inyectadas vía subcutánea con MnCl<sub>2</sub> diluido en solución salina (16 mg/kg/10 ml) 24 h antes de la toma de resonancia magnética. Para inmovilizar a los animales durante la toma de resonancia magnética, las ratas se anestesiaron con isoflurano (4.0% inducción, 1.8% mantenimiento). La obtención de imágenes se realizó en un resonador magnético Bruker's PharmaScan® de 7 teslas, con orificio de 16 cm de diámetro. La frecuencia respiratoria del animal fue monitoreada a lo largo de la sesión de escaneo.



**Fig. 3.** Ejemplo de imagen obtenida por resonancia magnética en la cual se utilizan máscaras para el análisis de las estructuras de interés.

### *E. Perusión*

Después de realizar la resonancia magnética, los grupos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobarbital y fueron sometidos a una perfusión transcardiaca. Los cerebros fueron extraídos y preservados en una solución de sacarosa al 30% para ser utilizados en las pruebas inmunoquímicas. Lo cual actualmente se encuentra en proceso y por ende, no se describe en este escrito.

### *F. Pruebas estadísticas*

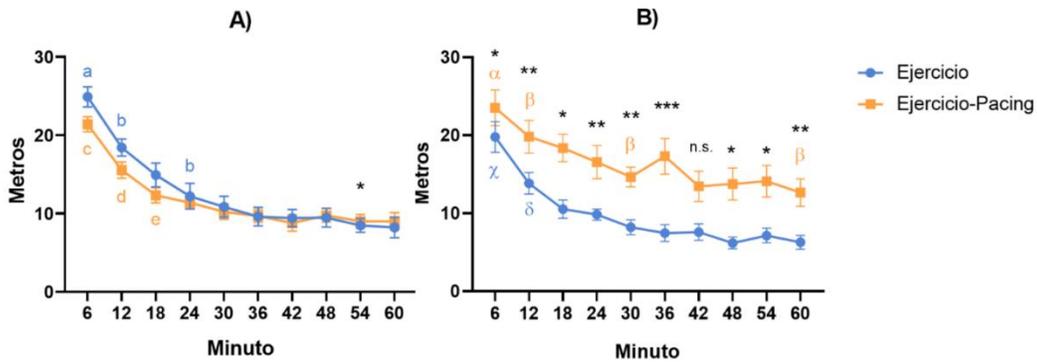
Las pruebas estadísticas fueron realizadas en MATLAB R2020b. Teniendo una  $n < 30$  y habiendo aplicado la prueba de Shapiro-Wilk se determinó que los datos de ambos grupos no tienen una distribución normal, por lo cual se utilizaron pruebas no paramétricas. Se aplicó la prueba U de Mann Whitney comparar los grupos de ejercicio y ejercicio-pacing, y la prueba de Friedman para obtener las diferencias en cada grupo. Posteriormente una prueba Post-hoc de Tukey. En todos los casos una diferencia significativa fue considerada cuando  $p < 0.05$ .

## **IV. RESULTADOS**

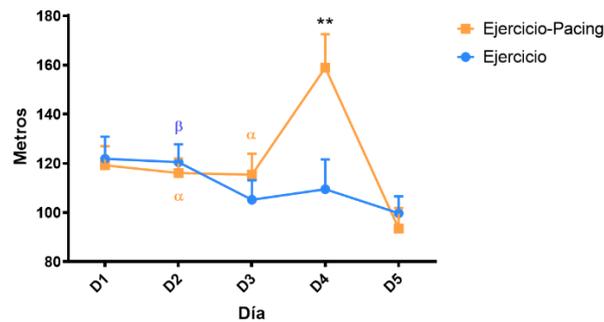
En la Fig. 4 se observa que la cantidad de metros recorridos disminuye a lo largo de la sesión en ambos grupos. Los datos indican que en el día 4 el grupo de ejercicio-pacing presentó mayor cantidad de metros recorridos a lo largo de la sesión con respecto al grupo de ejercicio.

El análisis estadístico para los datos de cada día de la semana mostró que la cantidad de metros recorridos en el día de cópula-ejercicio (día 4) es mayor con respecto a las ratas de solo ejercicio. Además, en el grupo de ejercicio-pacing la cantidad de actividad física en el día 4 es mayor a la de los demás días de la semana. Nota: El día 5 no fue considerado en la prueba de Friedman.

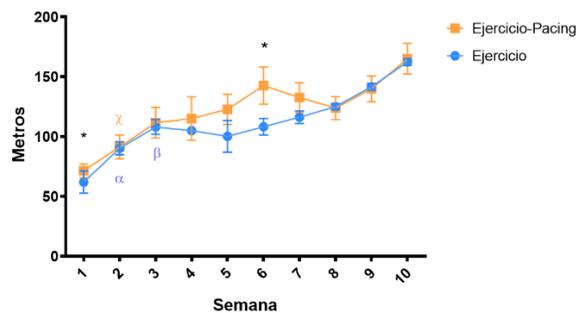
En los datos comparativos de las 10 semanas (Fig. 6) se observa un aumento en la cantidad de ejercicio en ambos grupos. El grupo de ejercicio-pacing presentó una mayor cantidad de actividad con una media diaria de  $\bar{x}=121$  m, mientras que el grupo de ejercicio presentó una media de  $\bar{x}=111$  m.



**Fig. 4.** Comparación de la actividad física a lo largo de la sesión. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001. n.s.=No significativo. (A) Día 1, a=Diferencia con minuto 30, 36, 48 y 54. b= Diferencia con minuto 54 y 60. c= Diferencia con minuto 30, 36, 42, 54 y 60. d=Diferencia con minuto 30, 42 y 60. e=Diferencia con minuto 60. (B) Día 4, α=Diferencia con minuto 18, 24, 36, 42, 48 y 54. β= Diferencia con minuto 48 y 54. γ= Diferencia con minuto 18, 24, 30, 36, 48 y 54. δ=Diferencia con minuto 36. ε= Diferencia con minuto 24 y 36.



**Fig. 5.** Gráfica de comparación Ejercicio y Ejercicio-Pacing a lo largo de la semana, \*\* p<0.01. α=Diferencia con día 4. β= Diferencia con día 3.



**Fig. 6.** Comparación de la actividad física a lo largo de las 10 semanas \*p<0.05. α=Diferencia con semana 4 y 9. β= Diferencia con semana 9. γ= Diferencia con semana 6, 7 y 8.

## V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Con los datos obtenidos se puede observar que hay mayor cantidad de metros recorridos en el día 1 y 2 con respecto a los demás días de la semana. Esto debido probablemente a que la rata presenta mayor cansancio a lo largo de la semana y en el día 1, después de

descansar dos días, esta vuelve a recuperar su ritmo de ejercicio. Hay mayor actividad física total semanal en el grupo de ejercicio pacing. En ambos grupos se puede observar que, al inicio de la sesión, la actividad es alta al inicio y decrementa conforme pasa el tiempo. En el grupo de ejercicio-pacing, la cantidad de ejercicio a lo largo de la semana se mantiene más constante a lo largo de la semana. La cantidad de ejercicio es mayor en el grupo Ejercicio-Pacing en el día 4, mientras que en los otros días la diferencia en la cantidad de metros recorridos es menor.

## VI. CONCLUSIONES

A partir de los resultados del estudio se puede afirmar que la cópula aumenta significativamente la cantidad de ejercicio en la rata. Es de esperarse que al final del estudio se observe mayor cantidad de cambios plásticos en las ratas que además de copular hicieron ejercicio. Aún hacen falta estudios para conocer más a fondo el por qué la cópula incrementa la cantidad de actividad física de la rata. Los análisis mediante imagen de resonancia magnética y por inmunquímica determinarán si hay diferencias significativas en cuanto a los cambios plásticos en los grupos del estudio.

## VII. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Instituto de Neurobiología de la UNAM, a la Universidad Autónoma de Querétaro y al comité organizador por hacer este programa posible. También quiero agradecer al Dr. Paredes por darme la oportunidad de estar en el laboratorio y a Alejandro Aguilar, Julissa Mendoza y Armando Cornejo por todo el aprendizaje brindado a lo largo de la estancia.

## REFERENCIAS

- [1] Paredes, R. G., & Vazquez, B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research*, 105(1), 117–127. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(99\)00087-x](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(99)00087-x)
- [2] Erskine, M. S., Lehmann, M. L., Cameron, N. M., & Polston, E. K. (2004). Co-regulation of female sexual behavior and pregnancy induction: an exploratory synthesis. *Behavioural Brain Research*, 153(2), 295–315. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.01.026>
- [3] Blake, C., & Sawyer, C. (1972). Effects of Vaginal Stimulation on Hypothalamic Multiple-Unit Activity and Pituitary LH Release in the Rat. *Neuroendocrinology*, 10(6), 358–370. <https://doi.org/10.1159/000122107>
- [4] Corona, R., Larriva-Sahd, J., & Paredes, R. G. (2011). Paced-Mating Increases the Number of Adult New Born Cells in the Internal Cellular (Granular) Layer of the Accessory Olfactory Bulb. *PLoS ONE*, 6(5), e19380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019380>
- [5] Arzate, D., Portillo, W., Corona, R., & Paredes, R. (2013). Repeated paced mating promotes the arrival of more newborn neurons in the main and accessory olfactory bulbs of adult female rats. *Neuroscience*, 232, 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.12.014>

- [6] Allen, D. M., van Praag, H., Ray, J., Weaver, Z., Winrow, C. J., Carter, T. A., Braquet, R., Harrington, E., Ried, T., Brown, K. D., Gage, F. H., & Barlow, C. (2001). Ataxia telangiectasia mutated is essential during adult neurogenesis. *Genes & Development*, 15(5), 554–566. <https://doi.org/10.1101/gad.869001>
- [7] Berkowitz, B. A., Roberts, R., Goebel, D. J., & Luan, H. (2006). Noninvasive and Simultaneous Imaging of Layer-Specific Retinal Functional Adaptation by Manganese-Enhanced MRI. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(6), 2668. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-1588>
- [8] Canals, S., Beyerlein, M., Keller, A., Murayama, Y., & Logothetis, N. (2008). Magnetic resonance imaging of cortical connectivity in vivo. *NeuroImage*, 40(2), 458–472. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.12.007>
- [9] Lee, J. H., Silva, A. C., Merkle, H., & Koretsky, A. P. (2005). Manganese-enhanced magnetic resonance imaging of mouse brain after systemic administration of MnCl<sub>2</sub>: Dose-dependent and temporal evolution of T<sub>1</sub> contrast. *Magnetic Resonance in Medicine*, 53(3), 640–648. <https://doi.org/10.1002/mrm.20368>

# ESTUDIO DE SEMICONDUCTORES PARA APLICACIÓN A MATERIALES TERMOELÉCTRICOS

**Alberto García Martínez**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería-Campus Aeropuerto  
Carr. a Chichimequillas s/n  
C.P. 76140, Querétaro, Qro.  
[agarcia266@alumnos.uaq.mx](mailto:agarcia266@alumnos.uaq.mx)

**José Alonso López Miranda**

Facultad de Ingeniería-Campus Aeropuerto  
Carr. a Chichimequillas s/n  
C.P. 76140, Querétaro, Qro.  
[alonso.lopez@uaq.mx](mailto:alonso.lopez@uaq.mx)

**Resumen** — En este trabajo se realiza una introducción a los compuestos semi-Heusler ScAuPb, ScPtBi, LaPtBi, LuPtSb y LaPtSb como materiales novedosos para su estudio como termoeléctricos, exponiendo propiedades generales de cada compuesto obtenidas dentro de estudios previos en los últimos años. Con ayuda del software de Quantum Espresso se minimiza el parámetro de red de los 5 materiales ajustando a la ecuación de Birch-Murnaghan donde en su mayoría se encontraron en acuerdo con los valores experimentales.

**Palabras clave** — Semi-Heusler, termoeléctricos, Quantum Espresso, Birch-Murnaghan.

**Abstract** — In this work we introduce the half-Heusler materials ScAuPb, ScPtBi, LaPtBi, LuPtSb and LaPtSb as novel materials to be studied as thermoelectrics, presenting overall properties of every compound obtained from previous research during recent years. With the aid of the Quantum Espresso Software the lattice parameter of the 5 materials was minimized fitting with the Birch-Murnaghan equation where nearly all of them are in agreement with their respective experimental values.

**Keywords** — Half-Heusler, thermoelectrics, Quantum Espresso, Birch-Murnaghan.

## I. INTRODUCCIÓN

Los compuestos Heusler fueron descubiertos a principios del siglo pasado, en 1903, por Fritz Heusler cuando observó que el material  $\text{Cu}_2\text{MnAl}$  mostraba un comportamiento ferromagnético a pesar de que ninguno de sus componentes es magnético de forma independiente[1]. Son materiales de la forma  $\text{X}_2\text{YZ}$  donde X, Y son metales de transición y Z es un elemento del grupo p. Estos presentan propiedades de un semiconductor al contar con 18 o 24 electrones de valencia, dando lugar a un ancho de banda energética de 0 a 4 eV [1, 2]. Los compuestos semi-Heusler son una variación de los compuestos Heusler donde ahora su forma es  $\text{XYZ}$  usando el mismo tipo de elementos, pero además en lugar de ser de la clasificación  $\text{L2}_1$  ahora cambian a ser  $\text{C1}_b$ . Presentan propiedades de un semiconductor al contar con 18 o 24 electrones de valencia dando lugar a anchos de banda de 0 a 4 eV. En general el elemento X se encuentra en la posición  $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$ , el elemento Y en la posición  $(\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4})$  y los átomos de Z en  $(0, 0, 0)$  [2, 3, 4].

Desde su descubrimiento a principios del siglo pasado, los compuestos Heusler han sido estudiados de manera extensa por todas las propiedades estructurales, electrónicas, mecánicas, magnéticas, termodinámicas, ópticas o propiedades dinámicas llamativas que demuestran, las cuáles se pueden llegar a presentar de manera múltiple dando lugar a

compuestos multifuncionales como por ejemplo un material ferromagnético con propiedades de superconductor, o presentar inversión de bandas para ser un aislante topológico junto con buenas características como termoelectrico, con esto es evidente pensar que se pueden derivar materiales con múltiples funcionalidades que pueden ser aplicados de manera inmediata en áreas relacionadas a la energía o dentro de las tecnologías más nuevas como la espintrónica, lo cual nos lleva a querer realizar una caracterización completa de los materiales para saber si un compuesto semi-Heusler es aplicable dentro de varias de estas áreas al mismo tiempo . [1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. Los compuestos Heusler han sido estudiados para ser empleados en diferentes áreas como son la espintrónica, con los materiales cuaternarios ZrTiRhGe, ZrTiRhSn, ZrTiRhAl gracias a su comportamiento de semimetales ferromagnéticos; los semi-Heusler ternarios como el NaCrAs cuentan con esta misma aplicación dentro de la espintrónica o los compuestos Heusler Li<sub>2</sub>CaC, Li<sub>2</sub>SrC que presentan propiedades aplicables en el área de la óptica; además los materiales Heusler Ru<sub>2</sub>TiGe, Ru<sub>2</sub>TiSn y Ru<sub>2</sub>TiSi que presentan anchos de banda alrededor de 0.2 eV y conductividades térmicas de valor cercano a 0.1 W/mK para su aplicación como termoelectricos [4, 11, 12, 13, 14].

Los compuestos semi-Heusler han sido estudiados para aplicaciones como termoelectricos debido a que estos favorecen estructuras de átomos pesados, anchos de banda estrechos (menores a 1 eV), una buena relación entre el costo de manufactura, abundancia de elementos constitutivos no tóxicos, propiedades mecánicas, estabilidad y eficiencia térmica, así como la posibilidad de tener un buen funcionamiento en el régimen de temperatura hasta los 1200 K, siendo así los semi-Heusler XNiSn, XCoSb, ZFeSb y ZrCoBi donde X = Ti, Zr, Hf y Z = Nb, Ta y los más utilizados. Los materiales semi-Heusler cuentan con una conductividad térmica de red más alta comparada con otras aleaciones, la cual es compensada por una conductividad electrónica alta. La forma en la que se estudian ambas propiedades es a través de la estructura electrónica de bandas y la dispersión de fonones del material, por lo que cualquier proceso de caracterización debe considerar estos aspectos [15-20].

En particular, los materiales ScAuPb, ScPtBi, LuPtSb, LaPtSb, LaPtBi han sido estudiados principalmente a través de simulación computacional apoyada en DFT y en las ecuaciones de transporte de Boltzmann en ambientes como VASP, Wien2K o Quantum Espresso, pero en ciertos casos se ha hecho tanto computacional como experimentalmente con la síntesis de películas delgadas del material para obtener sus propiedades electrónicas, vibracionales y termoelectricas. En su estudio computacional han sido trabajados tanto con aproximación de densidad local (LDA por sus siglas en inglés), así como con la aproximación de gradiente generalizado (GGA por sus siglas en inglés) para el cálculo de interacción de intercambio y correlación pero nunca de forma simultánea mas que en el caso del LuPtSb [8, 21, 22, 23, 28, 29, 37, 39, 41, 45].

## II. MARCO TEÓRICO

La figura de mérito  $ZT$  es una cantidad adimensional que indica la eficiencia de un material termoeléctrico cantidad que entre más grande, mejor será el rendimiento. La figura de mérito se define como:

$$ZT = \frac{S^2 \sigma}{\kappa} T \quad (1)$$

Donde  $S$  es el coeficiente Seebeck,  $\sigma$  es la conductividad eléctrica,  $\kappa$  es la conductividad térmica que incluye la contribución de la red y la electrónica y,  $T$  es la temperatura absoluta. Han surgido varios métodos para buscar mejorar este valor como convergencia de bandas, confinamiento cuántico o con nanoingeniería, así como la simulación computacional apoyada en la teoría funcional de la densidad [19, 20, 24, 25, 26].

La ecuación de Birch-Murnaghan es una ecuación de estado que ayuda a aproximar el valor del parámetro de red a partir del volumen de la celda unitaria, así como el módulo volumétrico. La ecuación se define como:

$$E = E_0(V) + \frac{BV}{B'(B' - 1)} \left[ B \left( 1 - \frac{V_0}{V} \right) + \left( \frac{V_0}{V} \right)^{B'} - 1 \right] \quad (2)$$

Donde  $E_0$  es la energía de equilibrio,  $B$  es el módulo volumétrico,  $V_0$  es el volumen por celda unidad de equilibrio y  $B'$  es la primera derivada de  $B$  con respecto a la presión [9, 27].

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar todos los cálculos de las propiedades electrónicas, vibracionales y termoeléctricas de los compuestos a estudiar se usará el programa de software libre Quantum Espresso (QE) empleando Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) apoyados en la aproximación de densidad local LDA y la aproximación del gradiente generalizado GGA [5,6].

Para calcular el parámetro de red de cada material, primero se tiene que hacer una optimización geométrica para calcular la energía de corte de las ondas, así como obtener los puntos  $k$  que nos darán el tamaño del mallado de la zona de Brillouin. Una vez que se tengan estos parámetros se utilizará la ecuación de estado de Birch-Murnaghan para ajustar el valor del parámetro de red de acuerdo a la energía base del sistema [6, 9, 27].

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. ScAuPb

Este material tiene una estructura cristalina FCC dentro del grupo F43m y se puede entender cómo 3 subredes FCC entrelazadas [28, 29]. Cuenta con un parámetro de red de 6.61 Å [28] y un volumen de 491.92 Å<sup>3</sup> [29].

De las constantes de elasticidad del material, se concluye con el criterio de Born-Huang que tiene estabilidad mecánica. Cuenta con un módulo de Young mayor al módulo volumétrico indicando una dureza del compuesto, además de que es dúctil y anisotrópico, así como que cuenta con estabilidad dinámica. Tiene una densidad aproximada de 10,300  $\frac{kg}{m^3}$  [28, 29].

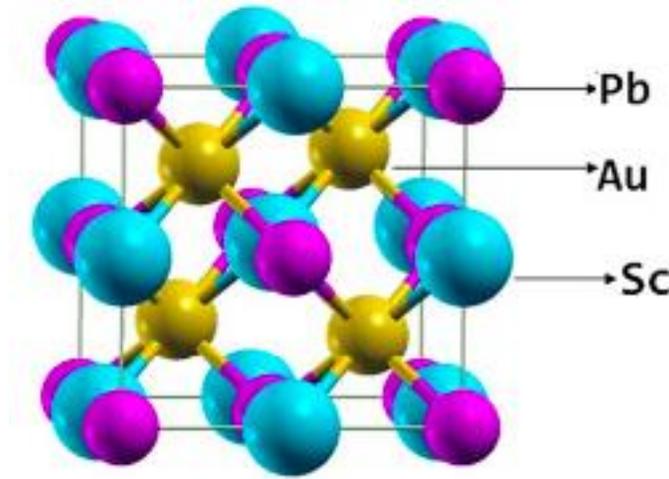


Fig. 1. Estructura cristalina de ScAuPb [28].

Tiene un ancho de banda prohibida indirecto por lo que se considera un semiconductor de ancho de banda estrecho con un valor entre 0.06 y 0.23 eV [28], además de contar con una energía de cohesión de 15.69 eV [29]. Cuenta con propiedades ópticas isotrópicas debido a su estructura cúbica; absorbe fotones por debajo de 1 eV y llega a su absorción máxima alrededor de los 8 eV, la región del UV.

A través de estudios termoeléctricos se observa un valor de coeficiente de Seebeck que aumenta con la temperatura dentro de un rango de 0 a 1200 K tomando valores desde 25  $\mu\frac{V}{K}$  hasta 150  $\mu\frac{V}{K}$ , teniendo una conductividad eléctrica  $\sigma/\tau$  que también aumenta con la temperatura siendo su valor inicial  $2.25 \cdot 10^{19} \Omega/m_S$  hasta  $3.5 \cdot 10^{19} \Omega/m_S$ , llevando a tener una figura de mérito ZT de 0 a 8 dentro del mismo rango de temperatura [29].

Después de varios estudios computacionales, se ha encontrado que este compuesto se encuentra muy cerca de la frontera entre ser aislante trivial o topológico dependiendo de los potenciales de aproximación que se utilizan dentro de la metodología de las simulaciones, intercambiando el valor de  $E_{\Gamma_6} - E_{\Gamma_8}$  entre un valor positivo y negativo [30-32]. Se puede modificar el material cambiando su parámetro de red a través de presión para que se comporte como un aislante topológico o con ciertos métodos de crecimiento de películas delgadas [31, 33].

### B. ScPtBi

Este compuesto tiene una estructura cristalina FCC dentro del grupo F43m y se puede entender como 3 subredes FCC entrelazadas [28, 30]. Además, tiene un parámetro de red de 6.56 Å [6] y un volumen de 282.30 Å<sup>3</sup> [35].

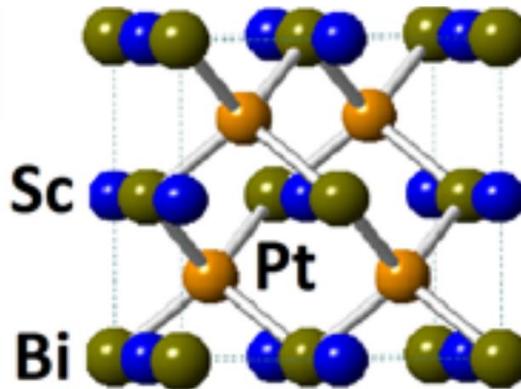


Fig. 2. Estructura cristalina de ScPtBi [34].

De acuerdo con sus constantes elásticas y el criterio de Born-Huang se concluye que este material cuenta con estabilidad mecánica además de tener una energía de formación negativa resultando en una viabilidad de síntesis química; teniendo un módulo de Young mayor al módulo volumétrico indica que es un compuesto duro, además de ser resistente a deformaciones plásticas [35] es dúctil y anisotrópico; por último, cuenta con una buena estabilidad dinámica [37].

Se considera como un aislante topológico gracias a que tiene un valor negativo en la relación  $E_{\Gamma_6} - E_{\Gamma_8}$  entre -0.7 y -0.9 generando una inversión de bandas [31], además de que se clasifica como un semiconductor con ancho de banda cero al analizar su estructura de bandas [33, 36].

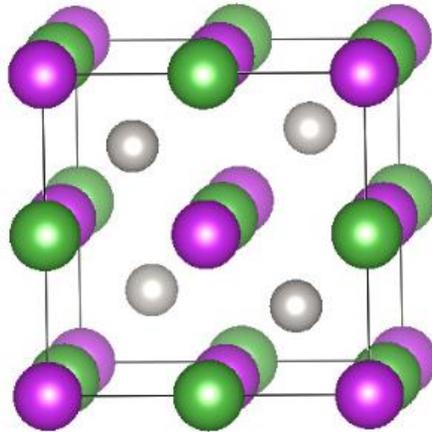
Este material presenta propiedades atractivas dentro del área de la magnetoresistencia con su síntesis de cristales individuales consiguiendo un parámetro de red un poco diferente al teórico (6.50 Å), donde tiene una magnetoresistencia y resistividad  $\rho_{xx}$  dependiente de la temperatura al estar dentro de un campo magnético transversal a la corriente de 1 T a 10 T, aumentando conforme la temperatura disminuye y el campo crece de acuerdo a ser un material con un ancho de banda cero llevando a su posible aplicación como sensor magnético, además de presentar alta movilidad electrónica aún a temperatura ambiente [34]. Dentro de un campo magnético paralelo a la corriente que se aplica al material, se observa un fenómeno característico de un semimetal topológico llamado anomalía quiral magnética lo cual podría ser relevante para su aplicación en el supercómputo [36].

En estudios termoeléctricos se observa un coeficiente de Seebeck que aumenta con la temperatura llegando a un valor máximo de 163.81  $\mu\frac{V}{K}$ ; tiene una conductividad eléctrica que

disminuye lentamente conforme aumenta la temperatura llegando a un valor de  $3.4 \Omega/m$  a 1200 K; en contraste, la conductividad térmica electrónica incrementa considerablemente conforme la temperatura aumenta y la conductividad térmica de la red se comporta de manera similar a la eléctrica. Estas características llevan a que se tenga una figura de mérito entre 0 a 0.41 dentro del rango de 0 a 1200 K [37, 38].

### C. LaPtBi

LaPtBi es un material con una estructura cristalina FCC dentro del grupo F43m y se puede entender como 3 subredes FCC entrelazadas [39, 40].



**Fig. 3.** Estructura cristalina de LaPtBi [40].

Donde en la figura anterior los átomos de La son de color verde, los átomos de Pt son los color gris, y los átomos de Bi son color morado [39, 40]. Tiene un parámetro de red de  $6.82 \text{ \AA}$  y un volumen de celda convencional de  $317.21 \text{ \AA}^3$  [40].

Apoyado en las constantes elásticas del material y usando el criterio de Born-Huang se sabe que cuenta con estabilidad mecánica, al mismo tiempo de ser dúctil y duro, así como tiene estabilidad dinámica [40].

Cuenta con un valor negativo de la relación  $E_{\Gamma_6} - E_{\Gamma_8}$  entre -0.65 y -0.86 resultado de una inversión de bandas, además de tener un ancho de banda prohibida cero entonces se considera un aislante semimetal [33] volviéndose aislante topológico cuando se le aplica un esfuerzo uniaxial de estiramiento [30, 41].

LaPtBi ha sido estudiado como material termoeléctrico donde presenta un valor máximo del coeficiente de Seebeck de  $185 \mu\frac{V}{K}$  y una figura de mérito ZT de 0.52 a temperatura ambiente [41]. Su resistencia eléctrica  $R$  aumenta conforme disminuye la temperatura, lo cual es esperado de un semimetal tomando valores desde  $16 m\Omega$  hasta  $25 m\Omega$  yendo de temperatura ambiente a 0.9 K, punto donde el material se empieza a comportar como un superconductor

al contar con una resistencia de 0 [42]. La resistividad eléctrica  $\sigma$  se comporta igual a  $R$  yendo de  $1.2 \text{ m}\Omega \text{ cm}$  a temperatura ambiente, a  $2 \text{ m}\Omega \text{ cm}$  en 0 K; también cuenta con coeficiente de Hall positivo en todo este rango dando a entender que los agujeros son los principales acarreadores de carga [43].

#### D. LuPtSb

Este compuesto tiene una estructura cristalina FCC dentro del grupo F43m que se entiende como 3 redes FCC intercaladas [44]. Tiene un parámetro de red de  $6.46 \text{ \AA}$  y un volumen de celda de  $269.59 \text{ \AA}^3$  [33, 44].

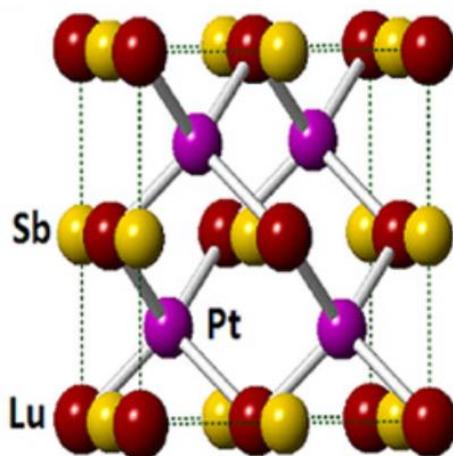


Fig. 4. Estructura cristalina de LuPtSb [44].

A través de un estudio de la dispersión de fonones se sabe que tiene estabilidad dinámica, aún cuando el material se somete a presión [44].

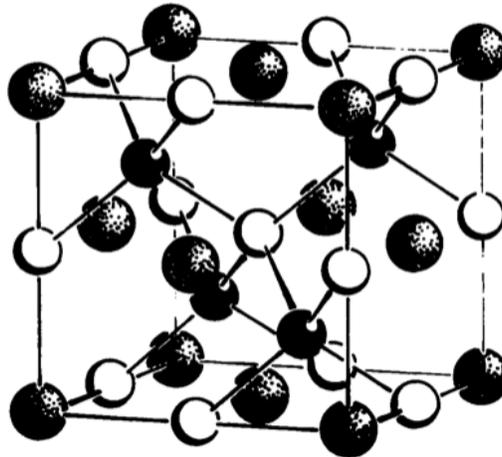
Cuenta con un valor cercano al cero de la cantidad  $E_{\Gamma_6} - E_{\Gamma_8}$  pero con varios estudios se ha concluido que es un aislante semimetal [4, 19] con un ancho de banda cero a menos que haya presencia de una presión sobre el material [45].

Dentro de sus propiedades magnéticas, cuenta con un cambio de fase de semiconductor a metal en su resistividad eléctrica  $\rho_{xx}$  en ausencia de campo externo, partiendo de un valor de  $2.2 \mu\Omega\text{m}$  a temperatura ambiente, teniendo un máximo de  $4.9 \mu\Omega\text{m}$  a 150 K, para después bajar a  $3.9 \mu\Omega\text{m}$  acercándose a 0 K. La resistividad Hall  $\rho_{xy}$  se comporta de manera lineal con respecto a un campo magnético externo perpendicular de -5 T a 5 T dando a entender que los portadores de carga son los huecos [44]. Su magnetoresistencia en presencia de un campo de -8 T a 8 T aumenta conforme se reduce la temperatura llegando a un máximo en 150 K, donde vuelve a cambiar de comportamiento a temperaturas menores [44].

En análisis termoeléctricos aplicando una compresión al material, se observa que su desempeño mejora considerablemente. Con una compresión del 6\% su coeficiente de Seebeck llega hasta  $350 \mu \frac{V}{K}$  estando a 900 K, así como una conductividad eléctrica  $\sigma$  de  $5 \cdot 10^3 \frac{S}{m}$ , llegando a un valor máximo de 1.5 en la figura de mérito ZT [45].

### E. LaPtSb

Dicho compuesto se acomoda en una estructura cristalina FCC perteneciente al grupo F43m que se interpreta como 3 redes FCC entrelazadas [23, 33].



*Fig. 5. Estructura cristalina de LaPtSb [47].*

En la figura el elemento La son los átomos blancos, los átomos de Pt son los color negro, y los de Sb son los que se encuentran en las esquinas [47]. Tiene un parámetro de red de 6.88 Å y un volumen de  $325.66 \text{ \AA}^3$  [23, 33].

Este material tiene un ancho de banda directo con valor de 0.23 eV, además de no contar con inversión de bandas [23]. A temperatura ambiente cuenta con un coeficiente de Seebeck de hasta  $450 \mu \frac{V}{K}$  para una configuración del tipo p, donde además puede llegar a presentar figuras de mérito ZT de 1.3 hasta 2.2 dependiendo de la concentración de portadores de carga [23]. Adicionalmente, tiene una resistividad pequeña estando a 2 K de  $27.81 \mu\Omega\text{cm}$  y una resistividad de  $107.62 \mu\Omega\text{cm}$  a temperatura ambiente lo cual está de acuerdo con un comportamiento metálico [48].

### F. Minimización del parámetro de red.

Para realizar la optimización geométrica se utilizó una energía de corte de 300 eV, así como un mallado  $12 \times 12 \times 12$  para la primera zona de Brillouin. Junto con el uso de la aproximación GGA, los pseudopotenciales utilizados eran del tipo Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) [41].

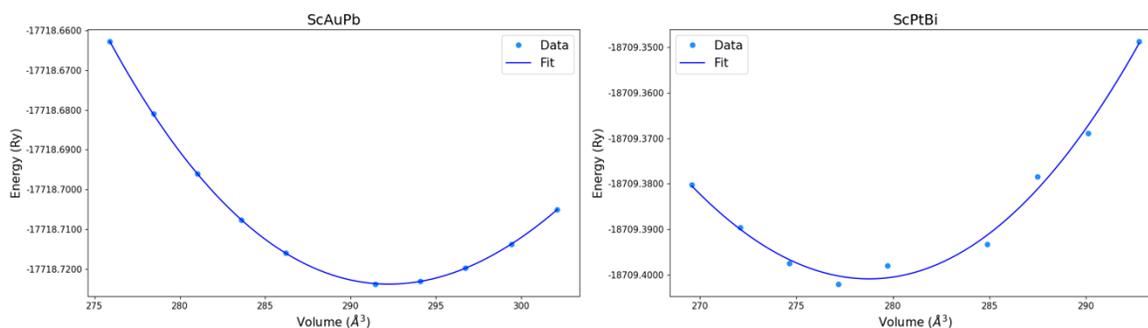
En la figura 6 podemos observar la minimización obtenida dados los valores anteriores. Como se puede observar, los compuestos ScAuPb, ScPtBi y LaPtSb logran converger a un valor dentro del rango de cálculo de  $\pm 0.1 \text{ \AA}$  dado el parámetro experimental, pero para los materiales LaPtBi y LuPtSb observamos que se obtienen valores cercanos al límite de estas condiciones. En la siguiente tabla se incluye el error obtenido para cada parámetro de red calculado.

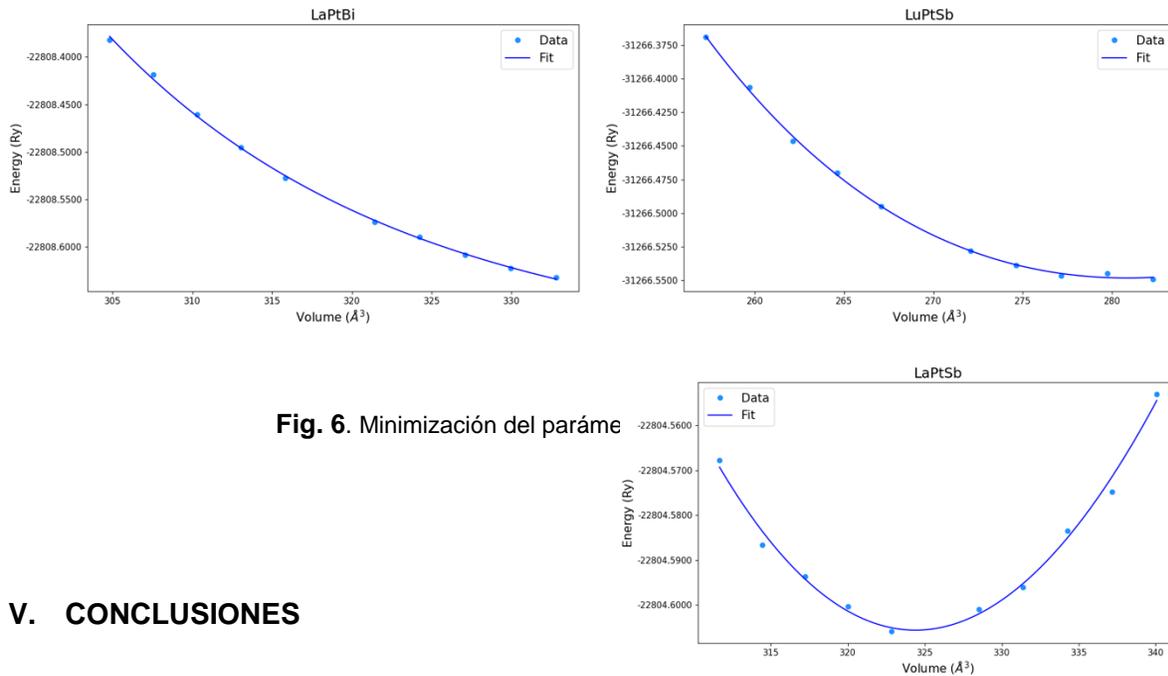
**Tabla 1.** Comparación del parámetro de red calculado con experimental.

	ScAuPb	ScPtBi	LaPtBi	LuPtSb	LaPtSb
Experimental (Å)	6.61	6.56	6.83	6.46	6.88
Computacional (Å)	6.63	6.53	7.03	6.55	6.87
Error (%)	0.3	0.46	2.92	1.39	0.15

En la tabla 1 se incluye el error absoluto obtenido para cada parámetro de red calculado.

De esto se puede concluir que la aproximación GGA, el pseudopotencial PBE o la combinación de ambos en la minimización del parámetro de red de los materiales LaPtBi y LuPtSb no es la adecuada y se tienen que buscar otras alternativas. En cuanto a los otros compuestos, vemos que hay concordancia con los valores experimentales reportados en la literatura.





**Fig. 6.** Minimización del paráme

## V. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos podemos ver que la herramienta de Quantum Espresso es una muy capaz para realizar los cálculos necesarios para predecir las propiedades de un material si se dan los parámetros iniciales adecuados, además de que se ve la relevancia de estos 5 compuestos semi-Heusler no solo en cuanto a su aplicación en termoelectrónicos, sino que también pueden presentar características atractivas dentro de otras áreas de la ciencia de materiales. A partir de este punto es que se pueden realizar los cálculos de las estructuras electrónicas y vibracionales de dichos compuestos para realizar su caracterización, así como valorar su figura de mérito dentro del rango de temperatura ambiente hasta los 1200 K. Todo esto se realiza dentro del ambiente de Quantum Espresso y con ayuda de los mismos métodos de aproximación utilizados con la minimización del parámetro de red.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo se contó con el apoyo de Luis A. Aguilar, Alejandro de León, y Jair García del Laboratorio Nacional de Visualización Científica Avanzada.

## REFERENCIAS

- [1] Graf, T., Felser, C., & Parkin, S. S. (2011). Simple rules for the understanding of Heusler compounds. *Progress in solid state chemistry*, 39(1), 1-50.
- [2] 51. Yan, B., & Zhang, S. C. (2012). Topological materials. *Reports on Progress in Physics*, 75(9), 096501.

- [3] Muhammad, I., Zhang, J. M., Ali, A., Rehman, M. U., & Muhammad, S. (2020). Structural, mechanical, thermal, magnetic, and electronic properties of the RhMnSb half-Heusler alloy under pressure. *Materials Chemistry and Physics*, 251, 123110.
- [4] Rached, H. (2021). Prediction of a new quaternary Heusler alloy within a good electrical response at high temperature for spintronics applications: DFT calculations. *International Journal of Quantum Chemistry*, 121(12), e26647.
- [5] Babalola, M.I., & Iyozor, B.E. (2019). A search for half metallicity in half Heusler alloys. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 491, 165560.
- [6] Gulebaglan, S. E., & Dogan, E. K. (2021). Investigation of structural, electronic, and dynamic properties of half-Heusler alloys XCuB (X= Ti, Zr) by first principles calculations. *Crystal Research and Technology*, 56(1), 2000116.
- [7] Jezierski, A. (2019). Electronic structure, magnetic, optical and thermodynamic properties of Ni<sub>2</sub>Mn<sub>1-x</sub>RexSn and NiMn<sub>1-x</sub>RexSn Heusler alloys—ab-initio study. *Journal of Alloys and Compounds*, 803, 153-164.
- [8] Nowak, B., & Kaczorowski, D. (2013). Nonmetallic behaviour in half-Heusler phases YPdSb, YPtSb and LuPtSb. *Intermetallics*, 40, 28-35.
- [9] Özdemiř, E. G., & Merdan, Z. (2019). Theoretical calculations on half-metallic results properties of FeZrX (X= P, As, Sb and Bi) half-Heusler compounds: density functional theory. *Materials Research Express*, 6(8), 086102.
- [10] Singh, S., & Kumar, R. (2017). Ab-initio calculations of elastic constants and thermodynamic properties of LuAuPb and YAuPb half-Heusler compounds. *Journal of Alloys and Compounds*, 722, 544-548.
- [11] Alqurashi, H., Haleoot, R., & Hamad, B. (2022). First-principles investigations of Zr-based quaternary Heusler alloys for spintronic and thermoelectric applications. *Computational Materials Science*, 210, 111477.
- [12] Krishnaveni, S., & Sundareswari, M. (2018). Band gap engineering in ruthenium-based Heusler alloys for thermoelectric applications. *International Journal of Energy Research*, 42(2), 764-775.
- [13] Mesbah, S., Houari, M., Boufadi, F. Z., Bouadjemi, B., Lantri, T., Bentata, S., & Ameri, M. (2021). Full Heusler alloys, with high absorption coefficient, insight into the optical properties of Li<sub>2</sub>CaC and Li<sub>2</sub>SrC. *Solid State Communications*, 328, 114238.
- [14] Rostami, M., Abedi, M., Amantorkaman, P., & Kanjouri, F. (2020). DFT+ U study of the bulk and (001), (110) and (111) surfaces of NaCrAs half-Heusler alloy with hydrogen adsorption for spintronics applications. *Vacuum*, 175, 109278.

- [15] Barczak, S. A., Quinn, R. J., Halpin, J. E., Domosud, K., Smith, R. I., Baker, A. R., & Bos, J. W. G. (2019). Suppression of thermal conductivity without impeding electron mobility in n-type XNiSn half-Heusler thermoelectrics. *Journal of Materials Chemistry A*, 7(47), 27124-27134.
- [16] He, J., & Tritt, T. M. (2017). Advances in thermoelectric materials research: Looking back and moving forward. *Science*, 357(6358), eaak9997.
- [17] Quinn, R. J., & Bos, J. W. G. (2021). Advances in half-Heusler alloys for thermoelectric power generation. *Materials Advances*, 2(19), 6246-6266.
- [18] Rogl, G., Yubuta, K., Romaka, V. V., Michor, H., Schafner, E., Grytsiv, A., & Rogl, P. (2019). High-ZT half-Heusler thermoelectrics, Ti<sub>0.5</sub>Zr<sub>0.5</sub>NiSn and Ti<sub>0.5</sub>Zr<sub>0.5</sub>NiSn<sub>0.98</sub>Sb<sub>0.02</sub>: Physical properties at low temperatures. *Acta Materialia*, 166, 466-483.
- [19] Shi, X. L., Zou, J., & Chen, Z. G. (2020). Advanced thermoelectric design: from materials and structures to devices. *Chemical Reviews*, 120(15), 7399-7515.
- [20] Xu, N., Xu, Y., & Zhu, J. (2017). Topological insulators for thermoelectrics. *npj Quantum Materials*, 2(1), 1-9.
- [21] Hosseinzadeh, F., Boochani, A., Elahi, S. M., & Ghorannevis, Z. (2020). Vanadium effect on the electronic and thermoelectric properties of ScPtBi compound. *International Nano Letters*, 10(3), 225-234.
- [22] Narimani, M., & Nourbakhsh, Z. (2017). Topological phase, structural, electronic, thermodynamic, and optical properties of XPtSb (X= Lu, Sc) compounds. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 102, 121-129.
- [23] Xue, Q. Y., Liu, H. J., Fan, D. D., Cheng, L., Zhao, B. Y., & Shi, J. (2016). LaPtSb: a half-Heusler compound with high thermoelectric performance. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(27), 17912-17916.
- [24] Bendahma, F., Mana, M., Terkhi, S., Cherid, S., Bestani, B., & Bentata, S. (2019). Investigation of high figure of merit in semiconductor XHfGe (X= Ni and Pd) half-Heusler alloys: Ab-initio study. *Computational Condensed Matter*, 21, e00407.
- [25] Elahmar, M. H., Rached, H., & Rached, D. (2021). The half metallic feature at high temperature of the novel half-Heusler alloys and their [100] oriented layered superlattices: A DFT investigations. *Materials Chemistry and Physics*, 267, 124712.
- [26] Shakouri, A. (2011). Recent developments in semiconductor thermoelectric physics and materials. *Annual review of materials research*, 41, 399-431.
- [27] Thakore, B. Y., Vahora, A. Y., Khambholja, S. G., & Jani, A. R. (2014). Structural and Vibrational Properties of Manganese Sulfide. In *Solid State Phenomena* (Vol. 209, pp. 186-189). Trans Tech Publications Ltd.

- [28] Sharma, S. K., & Ansari, K. (2020). A computational study of phase stability, electronic structure, vibrational and semiconducting properties of ScAu-based half-Heusler alloys. *Physica B: Condensed Matter*, 588, 412172.
- [29] Abraham, J. A., Sharma, R., Ahmad, S., & Dey, A. (2021). DFT investigation on the electronic, optical and thermoelectric properties of novel half-Heusler compounds ScAuX (X= Si, Ge, Sn, Pb) for energy harvesting technologies. *The European Physical Journal Plus*, 136(10), 1091.
- [30] Feng, W., Xiao, D., Zhang, Y., & Yao, Y. (2010). Half-Heusler topological insulators: A first-principles study with the Tran-Blaha modified Becke-Johnson density functional. *Physical Review B*, 82(23), 235121.
- [31] Chadov, S., Qi, X., Kübler, J., Fecher, G. H., Felser, C., & Zhang, S. C. (2010). Tunable multifunctional topological insulators in ternary Heusler compounds. *Nature materials*, 9(7), 541-545.
- [32] Lin, S. Y., Chen, M., Yang, X. B., Zhao, Y. J., Wu, S. C., Felser, C., & Yan, B. (2015). Theoretical search for half-Heusler topological insulators. *Physical Review B*, 91(9), 094107.
- [33] Al-Sawai, W., Lin, H., Markiewicz, R. S., Wray, L. A., Xia, Y., Xu, S. Y., & Bansil, A. (2010). Topological electronic structure in half-Heusler topological insulators. *Physical Review B*, 82(12), 125208.
- [34] Hou, Z., Wang, Y., Liu, E., Zhang, H., Wang, W., & Wu, G. (2015). Large low-field positive magnetoresistance in nonmagnetic half-Heusler ScPtBi single crystal. *Applied Physics Letters*, 107(20), 202103.
- [35] Majumder, R., & Mitro, S. K. (2020). Justification of crystal stability and origin of transport properties in ternary half-Heusler ScPtBi. *RSC advances*, 10(61), 37482-37488.
- [36] Pavlosiuk, O., Jezierski, A., Kaczorowski, D., & Wiśniewski, P. (2021). Magnetotransport signatures of chiral magnetic anomaly in the half-Heusler phase ScPtBi. *Physical Review B*, 103(20), 205127.
- [37] Goyal, M., & Sinha, M. M. (2021). Effect of spin-orbital coupling on the electronic, mechanical, thermoelectric, and vibrational properties of XPtBi (X= Sc and Y): A first-principles study. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 153, 110024.
- [38] Kaur, K., Dhiman, S., & Kumar, R. (2017). Emergence of thermoelectricity in Half Heusler topological semimetals with strain. *Physics Letters A*, 381(4), 339-343.
- [39] Ning, S., Huang, S., Zhang, Z., Zhang, R., Qi, N., & Chen, Z. (2020). High thermoelectric performance of topological half-Heusler compound LaPtBi achieved by hydrostatic pressure. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 22(26), 14621-14629.
- [40] Hossain, M. S., & Hossain, M. M. (2021). Structural, mechanical, thermodynamic, electronic and optical characteristics of LaPtBi half-Heusler compound from first principles analyses. *Ferroelectrics*, 585(1), 118-127.

- [41] Ding, G., Gao, G. Y., Yu, L., Ni, Y., & Yao, K. (2016). Thermoelectric properties of half-Heusler topological insulators MPtBi (M= Sc, Y, La) induced by strain. *Journal of Applied Physics*, 119(2), 025105.
- [42] Goll, G., Marz, M., Hamann, A., Tomanic, T., Grube, K., Yoshino, T., & Takabatake, T. (2008). Thermodynamic and transport properties of the non-centrosymmetric superconductor LaBiPt. *Physica B: Condensed Matter*, 403(5-9), 1065-1067.
- [43] Jung, M. H., Yoshino, T., Kawasaki, S., Pietrus, T., Bando, Y., Suemitsu, T., & Takabatake, T. (2001). Thermoelectric and transport properties of CeBiPt and LaBiPt. *Journal of Applied Physics*, 89(11), 7631-7633.
- [44] Hou, Z., Wang, Y., Xu, G., Zhang, X., Liu, E., Wang, W., & Wu, G. (2015). Transition from semiconducting to metallic-like conducting and weak antilocalization effect in single crystals of LuPtSb. *Applied Physics Letters*, 106(10), 102102.
- [45] Huang, S., Liu, X., Zheng, W., Guo, J., Xiong, R., Wang, Z., & Shi, J. (2018). Dramatically improving thermoelectric performance of topological half-Heusler compound LuPtSb via hydrostatic pressure. *Journal of Materials Chemistry A*, 6(41), 20069-20075.
- [46] Lin, H., Wray, L. A., Xia, Y., Xu, S., Jia, S., Cava, R. J., & Hasan, M. Z. (2010). Half-Heusler ternary compounds as new multifunctional experimental platforms for topological quantum phenomena. *Nature materials*, 9(7), 546-549.
- [47] Wenski, G., & Mewis, A. (1986). REPtX compounds with structures related to AIB<sub>2</sub>- and MgAgAs-type (RE= Y, Rare earth element; X= P, As, Sb). *Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials*, 176(1-2), 125-134.
- [48] Du, D., Lim, A., Zhang, C., Strohbeen, P. J., Shourov, E. H., Rodolakis, F., ... & Kawasaki, J. K. (2019). High electrical conductivity in the epitaxial polar metals LaAuGe and LaPtSb. *APL Materials*, 7(12), 121107.

## BIOPELÍCULAS UTILIZADAS EN LA REGENERACIÓN CELULAR

**Ana Paola Hernández Rodríguez**  
Universidad Autónoma de Coahuila  
Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad  
Universitaria.  
Ejido El Águila, C.P. 27276, Torreón, Coahuila.  
[rodriguez-ana@uadec.edu.mx](mailto:rodriguez-ana@uadec.edu.mx)

**Ma. Elena Calixto Olalde**  
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato - Silao km 12.5, C.P. 36821,  
Irapuato, Guanajuato.  
[elena.co@irapuato.tecnm.mx](mailto:elena.co@irapuato.tecnm.mx)

### **Resumen:**

Los biopolímeros se han convertido en una herramienta indispensable para el desarrollo de la ingeniería de tejidos y el campo de la medicina regenerativa ya que su amplio espectro ha permitido implementar nuevas técnicas para la generación de apósitos enfocados al tratamiento de diferentes tipos de heridas. Esta revisión se centra en la biodiversidad de biopelículas que pueden ser empleadas en base a sus características tales como: biocompatibilidad, equilibrio de la humedad o la capacidad de absorción, permitiendo llevar a cabo un proceso de cicatrización correcto y, por lo tanto; una regeneración celular exitosa. Para este caso, se ha resumido la literatura de varios apósitos como hidrogeles y celulosa con respecto a su eficiencia en el tratamiento de heridas.

### **Palabras Clave:**

biopolímeros, regeneración celular, ingeniería de tejidos, heridas, eficiencia, hidrogel, celulosa

### **Abstract:**

Biopolymers have become an indispensable tool for the development of tissue engineering and the field of regenerative medicine, since their broad spectrum has allowed the implementation of new techniques for the generation of dressings focused on the treatment of different types of wounds.

This review focuses on the biodiversity of biofilms that can be used based on their characteristics such as: biocompatibility, moisture balance or absorption capacity, allowing a correct healing process to be carried out and, therefore; successful cell regeneration. For this case, the literature of various dressings such as hydrogels and cellulose has been summarized with respect to their efficiency in treating wounds.

### **Key Words:**

biopolymers, cell regeneration, tissue engineering, wounds, efficiency, hydrogel, cellulose

## **I. INTRODUCCION**

Según un estudio realizado por la industria de la salud mexicana, el número de pacientes con heridas crónicas aumenta anualmente, y las heridas más frecuentes son las traumáticas (26.6 %), seguidas de las úlceras de pie diabético, que afecta al 23.4 % de la población. Por tal motivo, la complejidad y la dificultad de cicatrización de determinadas lesiones se produce un declive en el nivel de vida de los pacientes afectados por dichas heridas debido a esto una nueva posibilidad para la regeneración celular ha sido ampliamente investigada en los últimos años es la realización de biomateriales utilizados como apósitos como los son los hidrogeles y celulosa, aprovechando sus propiedades de biocompatibilidad y efectos proliferativos en tratamientos de cicatrización de heridas, permitiendo acelerar los procesos celulares durante las etapas de cicatrización. En este sentido, estos materiales tienen la capacidad de mejorar y modificar las propiedades estructurales en la cicatrización de heridas, lo que puede considerarse la clave principal en el tratamiento de heridas crónicas para mejorar significativamente la calidad de vida de los pacientes que la padecen.

## II.-PIEL

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano el cual realiza una gran variedad de funciones que incluyen la protección frente a agresiones externas, la termorregulación, la absorción de radiaciones ultravioleta y la producción de vitamina D. (D. Guarrín, et al., 2013) Asimismo, las funciones inmunológicas de la piel son de gran importancia, ya que la protegen contra los efectos nocivos del medio ambiente externo e interno. (Matejuk, A., 2017).

Las tres capas por las que está compuesta la piel: la epidermis, la dermis y la capa de grasa, también conocida como hipodermis o tejido conectivo subcutáneo, cada una de estas capas tiene funciones específicas: "La epidermis es la encargada de proteger el cuerpo del ambiente, la dermis de la regulación térmica y de recibir los estímulos externos y la hipodermis que se encarga de aislar los órganos internos ante cualquier agresión" (E. Martínez et al., 2020)

## II.-HERIDAS

Una herida se define como una interrupción en la continuidad del revestimiento epitelial de la piel o la mucosa como resultado de un daño físico, químico, mecánico y/ o térmico (Ling-Chuan et al., 2018). Este tipo de disrupción de estructuras anatómicas y funcionales normales se pueden clasificar dentro de múltiples categorías, sin embargo; a continuación, se mencionan algunas de las más comunes según su tiempo de curación.

Una herida aguda puede ser el resultado de daños mecánicos por colisiones repentinas, contundentes y/o agudas con objetos duros (Zahedi P et al., 2010), presenta un tiempo de evolución menor de 30 días y sigue un proceso de reparación ordenado, obteniendo de esta manera una curación completa en donde se restaura la integridad anatómica y funcional del tejido inicialmente lesionado dentro de un tiempo adecuado. En cambio, las heridas denominadas "crónicas" son aquellas lesiones provocadas como resultado de enfermedades concretas como la diabetes, tumores y severas contaminaciones fisiológicas (Zahedi P. et al 2021) de forma que no siguen un proceso de reparación normal, y se estancan en alguna fase de la cicatrización sin llegar a restaurar la integridad anatómica ni funcional del tejido lesionado, sobrepasando así un periodo de seis semanas del cierre de la herida (Wallace HA.2022) Dichas disrupciones a niveles distintos de corte en la epidermis conllevan a un proceso de reemplazo del tejido faltante por tejido cicatrizante, conocido comúnmente como la "cicatrización", el cual es una reacción natural a la lesión tisular. (Valencia Basto.2010)

"La cicatrización de lesiones es un proceso importante pero complicado en humanos y animales ya que es un proceso multifacético impulsado por fases sucesivas pero superpuestas que incluyen la fase de hemostasia/inflamatoria, la fase de proliferación y la fase de remodelación. " (Wang P.H. et al., 2018) Las fases de inflamación (3 a 6 días), proliferación (4 a 14 días) y remodelación (8 días hasta 1 año), corresponden a los eventos secuenciales que ocurren a través de la interacción de procesos dinámicos complejos mediados por proteínas solubles, células sanguíneas y células encargadas de la proliferación celular para el restablecimiento del tejido lesionado después del inicio de la lesión tisular para restaurar el tejido dañado. (Castellanos Ramírez et al., 2014)

### III. RELACIÓN DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS Y MATERIALES

La necesidad de la regeneración tisular a través de los años ha estado buscando nuevas alternativas en la medicina que cumplan con los requisitos adecuados abriendo camino a la ingeniería de tejidos. La ingeniería tisular o de tejidos aplica las áreas de la ingeniería y de las ciencias de la salud aplicando de manera sustancial sus principios para el progreso de estructuras biológicas, con el resultado de producir tejidos que permitan regenerar, conservar o perfeccionar el desempeño del tejido u órgano dañado (Orive, G., et al 2003).

Algunos de los principios primordiales de la ingeniería tisular es la unificación de células vivas con un soporte ya sea natural o sintético para la elaboración de una matriz 3D que sea eficaz, ordenado y mecánicamente semejante o mejor que el tejido que se busca remplazar. (Pérez P., et al 2017).

Esta área ha fomentado y visibilizado a los estudios de investigación en las ciencias de la salud, de los cuales actualmente se han demostrado ser factibles con resultados aprobados, enfocados en la rehabilitación y reparación de heridas, además de estar más centrados en los tejidos esenciales como: óseo, piel, cartílago, etc. (Sabino M., et al 2017). Para la generación de los tejidos antes mencionados se requiere de un material que ejerza de suplante de la "matriz extracelular" del tejido de origen, por esta razón se utilizan diversos biomateriales de los cuales los más utilizados son los sintéticos y biológicos. Los biomateriales sintéticos son producidos en laboratorios por medio de procesos industriales de los que destacan: los polímeros, los metales, los de origen cerámico y los nanocompósito. En cuanto a los biomateriales biológicos son aquellos que se obtienen mediante productos encontrados en la naturaleza ya sean de origen mineral, vegetal o animal como lo son el colágeno, la fibrina, la agarosa, el quitosano, el alginato, entre otros (Serrato O., et al 2015).

### IV. EFICIENCIA DE LOS MATERIALES EN EL TRATAMIENTO DE HERIDAS

Los apósitos se consideran una nueva forma de entender la cicatrización de heridas y el proceso de curación. Frecuentemente, las heridas crónicas son uno de los principales motivos de consulta en la práctica médica, y, por tanto, su cuidado ha demostrado ser un desarrollo complejo con la intervención de muchos factores.

Actualmente, la mayor parte de la información disponible sobre los apósitos evalúa su comportamiento, concentrando todos los esfuerzos para seleccionar de forma adecuada, eficaz y eficiente los materiales a utilizar. En general, buscar aquellas capacidades que favorezcan la limpieza, el desbridamiento y la formación de tejido de granulación, creando un ambiente permanentemente húmedo que estimule la migración epitelial, favoreciendo así la cicatrización de heridas. (L. Ibarra. 2019).

Para comprender el comportamiento en la práctica clínica de diferentes tipos de materiales en el tratamiento de heridas, se evaluaron diferentes biopolímeros que pudieran cumplir con propiedades apropiadas para demostrar que podrían ser opciones terapéuticas viables para el tratamiento de lesiones. Esto puede reducir mucho el tiempo de curación, aumentar la eficiencia del proceso y así mejorar la calidad de vida de las personas con estos antecedentes médicos. Asimismo, se debe considerar la eficiencia del tratamiento, ya que estos son altamente rentables para los pacientes que necesitan tratamiento y deben cumplir con

aspectos como biocompatibilidad, agresividad física, química o bacteriana, mantener húmedo el lecho de la úlcera, y lo más importante; son fáciles de aplicar y quitar.

Es fundamental mencionar que ningún apósito es adecuado para todos los tipos de heridas, por lo que uno de los aspectos más desafiantes del proceso de tratamiento es elegir el material de cicatrización adecuado. Las opciones de tratamiento son amplias y a menudo diferentes para cada paciente, y su selección se basa en ajustes a las necesidades del paciente, según el tipo de herida, apariencia, cantidad de exudado, nivel de dolor del paciente y/o signos de infección.

A continuación, se resumen los principales materiales de andamiaje que cumplen con las características adecuadas.

### 1) Celulosa

La celulosa es un polisacárido que contiene el biopolímero elemental encontrado en la naturaleza. Es una de las moléculas principales que componen la pared celular de una planta. La celulosa está compuesta por glucosa en forma lineal, también conocida como anhidroglucosa se encuentra unida así misma (Naomi, R., et al 2020) por  $\beta$ -1,4 enlaces glucosídicos con residuos de celobiosa como una unidad repetitiva con diferentes grados de polimerización (Bai, F., et al 2019).

El uso de la celulosa se ha visto limitado al sector industrial a pesar de sus diferentes partículas celulósicas las cuales originan materiales de diversas microestructuras y propiedades que pueden resultar beneficiosas en la biomedicina debido a su compatibilidad con el tejido humano además de sus propiedades semi cristalinas que permiten la observación en busca de anomalías en las heridas. (Seddiqi, H. et al 2021). De acuerdo con los resultados de según Thomas D. et al (2020) en la evaluación in vitro con el uso de macrófagos crudos en los ensayos in vitro aplicando una película de alginato modificado con aloe vera y nano cristales de celulosa. Las películas se prepararon con el metodo fundición con solvente para esto se preparó una solución de Na ALG al 1% en agua desionizada, se añadió un 15% de miel también se agregó agente plastificante, después 5% de solución CaCl<sub>2</sub>. Los resultados obtenidos demuestran una superior biocompatibilidad y las excelentes propiedades antimicrobianas necesarias para la cicatrización de heridas gracias a las características proporcionadas por los materiales del alginato de miel, aloe vera y los nano cristales de celulosa.

### 2) Hidrogel

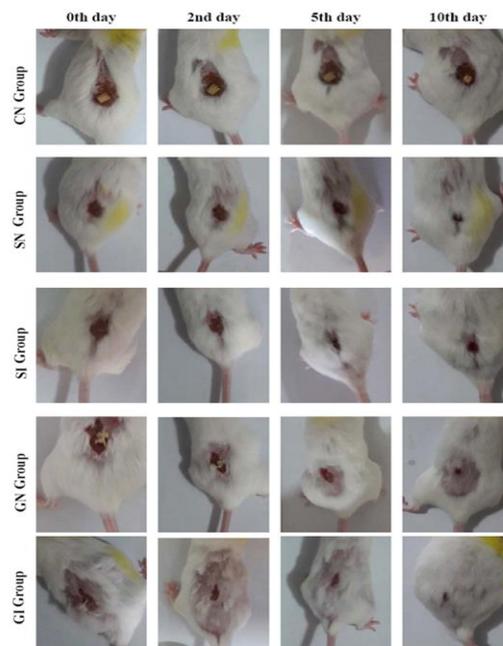
El hidrogel es un compuesto 3D de polímeros hidrofílicos, los cuales se forman por la retención de agua (Pan, Z. et al., 2021) pueden ser obtenidos mediante biomateriales naturales como lo son el alginato, quitosano, ácido hialurónico, entre otros; o a través de materiales sintéticos como lo es el alcohol polivinílico, poliacrilamida, etc. (Su J. et al ,2021

Los hidrogeles han sido utilizados no solo como una barrera física contra infecciones para impedir que las bacterias y el oxígeno penetren en la herida, además son un apósito para lesiones los cuales están compuestos de 90% de agua (Zeng, D. et al.,2021). Debido a la gran cantidad de agua que contienen resulta beneficiosos para la hidratación de las heridas,

dando una sensación refrescante y calmante en la zona afectada, lo cual ayuda a una considerable reducción del dolor para los pacientes. Una adecuada cicatrización de las lesiones e indolora puede incrementar la calidad de vida alrededor de todo el mundo, para obtener este objetivo constantemente se busca innovar en el campo de la biomedicina esto mediante la creación de apósitos combinados, se propone que los apósitos para heridas de hidrogel puedan ocupar un papel fundamental en el perfeccionamiento del cuidado de las heridas (Opt V. et al., 2020).

De acuerdo con los resultados según Rafati Z., et al., 2019 en los estudios clínicos experimentales los cuales consistieron en acelerar el proceso de curación de las heridas y el mantenimiento de la humedad en esta misma. Se demostró la calidad de recuperación celular en el tejido de ratones tratado con apósito para heridas de hidrogel con clara de huevo cargada con miel/poli(alcohol vinílico)/bionanocompuesto de arcilla. Las heridas de los ratones del grupo SN y SI fueron infectados con *Staphylococcus aureus* y tratados con una película esterilizada de hidrogel bionanocompuesto S5, mientras que en el grupo CN (grupo de control) fueron tratadas con avanzados apósitos comerciales para el último grupo GN y GI las lesiones de los roedores fueron cubiertas por la cantidad adecuada del hidrogel bionanocompuesto G5. El hidrogel bionanocompuesto cargado de miel demostró sus excelentes habilidades en mantener una región húmeda en la superficie de las heridas y su capacidad en el proceso para acelerar el proceso de regeneración celular.

En la **Fig.4** se observa el progreso de curación de la herida y la comparación de cicatrización en las heridas en los animales seleccionados.



**Fig. 4** Aspectos macroscópicos de las heridas de los animales seleccionados de los grupos CN, SN, SI, GN y GI durante el proceso de cicatrización de heridas (Rafati, Z., et al 2019).

Así mismo Kim M. et al., 2020 realizó cuatro apósitos de hidrogeles antimicrobianos a base de PVA y difloretohidroxycaramalol derivados del alga parda *Ishige okamurae* en diferente porcentaje de peso los cuales fueron 0,025 %, 0,05 %, 0,1 % y 0,2 % en peso de DPHC los cuales fueron utilizados en seis ratones con una incisión de 5mm de diámetro y fueron observados durante 14 días. El hidrogel 0,1% en peso de DPHC obtuvo buenos resultados debido a su rápida reepitelización en comparación con los otros grupos, además de contener efectos antioxidantes y promover la regeneración del folículo capilar.

Los resultados obtenidos en ambos estudios clínicos experimentales demostraron la excelente calidad de los apósitos de hidrogel donde el alcohol polivinílico actuó como biopolímero base en el tratamiento de la aceleración cicatrizal de las heridas, estos resultados concluyen que los apósitos de hidrogel combinados tienen un gran potencial para el tratamiento de heridas agudas infectadas y no infectadas, además se sugieren como apósitos combinados funcionales en prácticas.

## V.CONCLUSIONES

Se analizaron dos biopelículas la celulosa y el hidrogel, esto debido a que se buscaban aquellos que cumplieran con las condiciones de humedad para favorecer el crecimiento del tejido epitelial, en el caso de la celulosa Thomas D, et al en 2020 emplearon un método en el que aplicaron un nano cristales de celulosa combinados con alginato y aloe vera, esto es bastante distinto a lo que se venía manejando por ejemplo desde la década de los 90s el empleo de la celulosa con fines de regeneración de tejidos ha sido a partir de celulosa bacteriana y el método más empleado ha sido por medio de la síntesis de este material, existen distintas evidencia de ellos en los trabajos de Krasteva et al, 2017, R Portela, Et al 2019 así como Ross, et al, 1991, entre otros. Los hidrogeles han sido empleados últimamente debido a la gran cantidad de agua que contienen y que permiten una mayor movilidad y representan una barrera que impide el paso de bacterias a la zona afectada, Rafati Z, et al 2019 empleó apósitos en ratones para verificar la eficiencia de estos apósitos que fue altamente efectiva, el material principal de estos apósitos empleados fue la miel, existe una gran diversidad de estudios de hidrogeles y que varían en el método y el material, existen de plata iónica Vázquez H, Miraval M, Caballero P, 2018 realizaron investigaciones acerca de hidrogel de plata iónica, encontrando pequeñas diferencias entre el uso de distintos apósitos y el de hidrogel de plata iónica en enfermos de diabetes, no encontraron distinciones en el uso de otros apósitos y el de plata iónica para heridas venosas o úlceras de presión.

Los apósitos de hidrogel representan una gran ventaja frente a tratamientos anteriores como lo eran las pastas de dextranómero Colin D, Kurring PA, Yvon C., hicieron un análisis diferenciado de este material con apósitos de hidrogel amorfo en pacientes con úlceras por presión indicando que la reducción de la zona de la herida de los apósitos fue de 35% mientras que de la pasta solo del 7%.

Finalmente podemos concluir que los estudios expuestos en esta investigación demuestran la eficiencia de las biopelículas, en especial los apósitos de hidrogel, que como vemos han sido objeto de diversos estudios empleados principalmente en pacientes a diferencia de los aquí expuestos que han sido en animales, pero que han mostrado un avance significativo en

el tratamiento de las heridas cutáneas de difícil tratamiento como son el pie diabético o las úlceras por presión.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Agradezco por su apoyo y dedicación otorgados a los organizadores del 24 Verano de la Ciencia Región Laguna, a la Universidad Autónoma de Coahuila y al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato

## REFERENCIAS

- [1] Guarín-Corredor, C., Quiroga-Santamaría, P., & Landínez-Parra, N. S. (2013). Wound healing process of skin, endogenous fields related and chronic wounds. *Revista Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia*.
- [2] Matejuk, A. (2017). Skin Immunity. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 66(1), 45–54. doi:10.1007/s00005-017-0477-3
- [3] Martínez-Correa, E., Osorio-Delgado, M. A., Henao-Tamayo, L. J., & Castro-Herazo, C. I. (2020). Systemic Classification of Wound Dressings: a Review. *Mexican Journal of Biomedical Engineering*, 41(1), 5-28. Retrieved from <http://www.rmib.mx/index.php/rmib/article/view/918>
- [4] Ling-Chuan Hsu, Bou-Yue Peng, May-Show Chen, Bahruddin Thalib, Muhammad Ruslin, Tran Dang Xuan Tung, Hsin-Hua Chou, Keng-Liang Ou. (2018). The potential of the stem cells composite hydrogel wound dressings for promoting wound healing and skin a. regeneration: In vitro and in vivo evaluation, *Wiley Periodicals*. DOI: 10.1002/jbm.b.34118
- [5] Zahedi, P., Rezaeian, I., Ranaei-Siadat, S. O., Jafari, S. H., & Supaphol, P. (2010). “A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers for Advanced Technologies*”, 21(2), 77-95.
- [6] Wallace HA, Basehore BM, Zito PM. Wound Healing Phases. 2022 Jun 21. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29262065.
- [7] Basto, C. V. (2010). Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. *Investigaciones Andina*, 12(20), 85-98.
- [8] Wang, P. H., Huang, B. S., Horng, H. C., Yeh, C. C., & Chen, Y. J. (2018, February 1). Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.11.002>
- [9] Diana Karina Castellanos Ramírez, David Gonzales Villordo, Laura Josefina Gracia Bravo (2014). Manejo de heridas. *Cirujano General*, 36(2), 112–120. ISSN.1405-0099
- [10] Carlos Valencia Basto (2010). CICATRIZACIÓN: PROCESO DE REPARACIÓN TISULAR. APROXIMACIONES TERAPÉUTICAS. *Investigaciones Andina*, 12(20), 85-98. ISSN 0124-8146
- [11] Orive, G., Hernández, R. M., Garcón, A. R., Igartúa, M., & Pedráz, J. L. (2003). Ingeniería tisular: retos y realidades. *Vitae*, 10(2), 46-51
- [12] Pérez-Puyana, V. M., Carreño Carmona, I., Romero García, A., & Guerrero Conejo, A. F. (2017). Uso de biopolímeros para la elaboración de andamios con aplicación en ingeniería tisular.
- [13] serrato Ochoa, D., Aguilar, R. N., & Méndez, A. A. (2015) Ingeniería de tejidos. Una nueva disciplina en medicina regenerativa Tissue engineering. A new discipline in regenerative medicine.
- [14] Ibarra Lorente. (2019). Estrategia terapéutica de las heridas crónicas: uso racional del material de curas. 19, 1-3

- [15] Naomi, R., Bt Hj Idrus, R., & Fauzi, M. B. (2020). Plant-vs. Bacterial-derived cellulose for wound healing: A review. *International journal of environmental research and public health*, 17(18), 6803.
- [16] Bai, F. W., Yang, S., & Ho, N. W. Y. (2019). Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass. In *Comprehensive Biotechnology* (pp. 49–65). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00150-6>
- [17] Seddiqi, H., Oliaei, E., Honarkar, H., Jin, J., Geonzon, L. C., Bacabac, R. G., & Klein-Nulend, J. (2021, March 1). Cellulose and its derivatives: towards biomedical applications. Cellulose. Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03674-w>
- [18] Thomas, D., Nath, M. S., Mathew, N., R, R., Philip, E., & Latha, M. S. (2020). Alginate Film Modified with Aloe Vera Gel and Cellulose Nanocrystals for Wound Dressing Application: Preparation, Characterization and In vitro Evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 101894. doi:10.1016/j.jddst.2020.101894
- [19] Pan, Z., Ye, H., & Wu, D. (2021, March 1). Recent advances on polymeric hydrogels as wound dressings. *APL Bioengineering*. American Institute of Physics Inc. <https://doi.org/10.1063/5.0038364>
- [20] Su, J., Li, J., Liang, J., Zhang, K., & Li, J. (2021, October 1). Hydrogel preparation methods and biomaterials for wound dressing. *Life*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/life11101016>
- [21] Zeng, D., Shen, S., & Fan, D. (2021). Molecular design, synthesis strategies and recent advances of hydrogels for wound dressing applications. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 30, 308–320. doi:10.1016/j.cjche.2020.12.005
- [22] Opt Veld, R. C., Walboomers, X. F., Jansen, J. A., & Wagener, F. A. D. T. G. (2020, June 1). Design Considerations for Hydrogel Wound Dressings: Strategic and Molecular Advances. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*. Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2019.0281>
- [23] Rafati, Z., Sirousazar, M., Hassan, Z. M., & Kheiri, F. (2019). Honey-Loaded Egg White/Poly(vinyl alcohol)/Clay Bionanocomposite Hydrogel Wound Dressings: In Vitro and In Vivo Evaluations. *Journal of Polymers and the Environment*. doi:10.1007/s10924-019-01586-w
- [24] Kim, M. S., Oh, G. W., Jang, Y. M., Ko, S. C., Park, W. S., Choi, I. W., ... Jung, W. K. (2020). Antimicrobial hydrogels based on PVA and diphloretohydroxycarmalol (DPHC) derived from brown alga *Ishige okamurae*: An in vitro and in vivo study for wound dressing application. *Materials Science and Engineering C*, 107. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110352>
- [25] Vázquez H, Miraval M, Caballero P, 2018, Apósito de Hidrogel con plata iónica para heridas abiertas, Informe de evaluación técnica sanitaria, No 02.
- [26] Krasteva, P. V., Bernal-Bayard, J., Travier, L., Martin, F. A., Kaminski, P. A., Karimova, G., Fronzes, R., & Ghigo, J. M. (2017). Insights into the structure and assembly of a bacterial cellulose secretion system. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01523-2>

# VARIACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ARILO DE *PITHECELLOBIUM DULCE* EN POLVO Y COMO GALLETA

**Nelly Bibiana Trejo Domínguez**  
Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería-Campus Aeropuerto  
Carr. a Chichimequillas s/n  
C.P. 76140, Querétaro, Qro.  
[ntrejo01@alumnos.uaq.mx](mailto:ntrejo01@alumnos.uaq.mx)

**Jorge Luis Chávez Servín**  
Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Av. de las Ciencias s/n, Nuevo Juriquilla  
C.P. 76230, Querétaro, Qro.  
[jorge.chavez@uaq.mx](mailto:jorge.chavez@uaq.mx)

**Resumen** — *Pithecellobium dulce* es un árbol nativo de México que proporciona un fruto para el consumo humano considerado una excelente fuente de proteínas y fibra. Además, se utiliza de forma etnomedicinal en problemas gastrointestinales gracias a sus compuestos bioactivos, principalmente los fenólicos. Se ha observado que estos compuestos tienen efecto antioxidante, antiinflamatorio, hepatoprotector, entre otros. Estos compuestos pueden oxidarse por elevadas temperaturas, luz y la actividad acuosa. Este trabajo presenta la variación de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de la semilla de *Phithecellobium dulce* utilizada como materia prima para la fabricación de una galleta, utilizando la materia prima y agua, secando a 40°C en un horno eléctrico con circulación forzada de aire.

**Palabras clave** — Compuestos fenólicos, capacidad antioxidante total, espectrofotometría.

**Abstract** — *Pithecellobium dulce* is a mexican native tree that provides a fruit for human consumption considered as an excellent source of protein and fiber. It is also used ethnomedicinally in gastrointestinal problems due to its bioactive compounds, mainly phenolic compounds. It has been observed that these compounds have an antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective effect, among others. These compounds can be oxidized by elevated temperatures, light, and water activity. This work presents the variation of the phenolic compounds and the antioxidant capacity of powdered *Phithecellobium dulce* seeds used as raw material for the manufacture of a cookie, using the raw material and water, drying at 40°C in an electric oven with forced air circulation.

**Keywords** — Phenolic compounds, total antioxidant capacity, spectrophotometry.

## I. INTRODUCCIÓN

El árbol *Pithecellobium dulce* es nativo de México, es conocido en algunas localidades como guamúchil, humúchil o pizán. Es considerado una buena fuente de proteína, grasas e hidratos de carbono. Además, presenta propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, probablemente debidas en parte a los compuestos fenólicos que se han reportado en diversos estudios como por ejemplo, ácido caféico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido protocatecuico, apigenina, catequina, daidzeína, kaemferol, luteolina, quercetina, miricetina, naringina y rutina (Vargas-Madriz et al. 2020).

## II. MARCO TEÓRICO

### A. *Pithecellobium dulce*

El nombre *Pithecellobium* es el género al que pertenece este árbol, proviene del griego *Pithekos* que significa “*arete del mono*” por la forma enroscada que tienen algunos frutos, y el nombre de la especie dulce proviene del latín que hace referencia al sabor característico del arilo (fruto) (Parrota 1991). *P. dulce* pertenecen a la familia de las leguminosas y subfamilia de Mimosoideae, son especies del género *Pithecellobium* que consta de 100 a 200 especies (Srinivas et al. 2018). Su ubicación natural comprende áreas tropicales de México como Tamaulipas, San Luis Potosí, Hidalgo, Querétaro, Jalisco, Veracruz, Yucatán, Baja California, Sonora y Chiapas, también en partes del sur del continente americano como Venezuela, Colombia, y Honduras (Parrota, 1991).

Desde tiempos antiguos la dieta de los seres humanos se basaba en alimentos naturales; sin embargo, actualmente la dieta se caracteriza de manera general por un exceso de consumo de energía a partir de grasas saturadas (Evia and Roberto 2018). La literatura menciona la utilización del arilo como remedios tradicionales, principalmente para problemas gastrointestinales (Monroy and Colín 2004). En base a esto se han realizado investigaciones científicas para determinar los compuestos fitoquímicos de la planta y sus efectos farmacológicos para beneficio de la salud humana (Rao et al. 2018).

### B. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos contienen un o más anillos aromáticos (fenil) unidos a uno o varios hidroxilos (OH), estos provienen del metabolismo secundario de las plantas, donde su función principal es de fitoalexinas, pigmentación y características sensoriales en las plantas (Maestro-Durán et al., 1993; Peñarrieta et al., 2014). Además de ser compuestos importantes para las plantas, también se caracterizan por su capacidad como antioxidantes naturales y son incorporados a la dieta humana (Porrás-Loaiza and López-Malo 2009). Todos los compuestos fenólicos son diferentes en su estructura por lo que se catalogan dependiendo la solubilidad, y la cantidad de anillos fenólicos que contienen (Valencia-Avilés et al. 2016). Se clasifican de acuerdo a su estructura química en flavonoides o no flavonoides; y dentro del grupo de flavonoides se encuentran las antocianidinas, antocianos, flavanoles, flavonoles, taninos o proantocianidinas; mientras que en el grupo de no flavonoides se encuentran los ácidos fenólicos, ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, estilbenos, resveratrol (Valls et al., 2000).

Para poder estudiar el efecto de esta planta es usual realizar experimentos *in vitro* e *in vivo*. El material vegetal posterior a la recolección se suele secar y moler para conservarlo mejor y analizar sus componentes. En el estudio de modelos animales se requieren de preparaciones como infusiones o galletas. En este caso se utiliza como materia prima la semilla de *Pithecellobium dulce* en polvo a la cual se le añade agua para formar una masa compacta que posteriormente se seca en un horno a 40°C. El objetivo del verano de

investigación fue observar la variación de los valores de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de la semilla de *Phithecellobium dulce* utilizada como materia prima para la fabricación de una galleta, utilizando la materia prima y agua, formando una masa y secando a 40°C en un horno eléctrico con circulación forzada de aire.

### III. METODOLOGÍA

La muestra vegetal se recolectó en la localidad de Jalpan de Serra, Querétaro, México, en la temporada primavera-verano 2022. Los árboles fueron identificados por el especialista del herbario “Dr. Jerzy Rzedowski” de la FCN. Posteriormente a la cosecha, la muestra vegetal se sometió a secar en un horno con ventilación forzada 40°C hasta obtener peso constante. La muestra seca se molió utilizando una criba de 0.5 mm. Posteriormente se tomaron 2 g de muestra tamizada y se rehidrató con 2 mL de agua para formar una galleta hecha solo con la muestra vegetal. Se sometió nuevamente a secado a 40°C. Para los análisis se realizaron extracciones a partir de la materia prima en polvo y de la galleta. Se realizaron los extractos de alcohol y agua al 100%. Para la extracción se utilizaron 0.2 g o 2 g de muestra en 5 mL de solvente (tabla 1). En la muestra A se utilizó agua y en muestra B metanol puro, con agitación continua utilizando un vórtex durante 10 min. Posteriormente la muestra se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min y se tomó el sobrenadante el cual se filtró utilizando un papel filtro de 0.45 micras. El material resultante se liofilizó y las muestras se almacenaron a -80°C. Este procedimiento se realizó para la obtención de un total de cuatro muestras presentadas en la tabla 1.

**Tabla 1.** Muestras

Muestra	Soluto	Solvente
Muestra A	0.2 g de galleta	5 mL de agua
Muestra B	0.2 g de galleta	5 mL de metanol puro
Muestra C	0.2 g de muestra vegetal seca	5 mL de agua
Muestra D	2 g de muestra vegetal seca	5 mL de agua

#### A. Determinación de compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) en todos los extractos se determinó utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al. 1999). La ecuación para la curva de calibración obtenida fue  $y = 0.0037x + 0.026$ ,  $r^2 = 0.9926$ . Los valores de CFT se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de extracto liofilizado (mg GAE / 100 g EL).

#### B. Flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales (TFC) se determinó mediante un método colorimétrico (Zhishen et al. 1999). La ecuación para la curva de calibración fue  $y = 0.0025x + 0.0275$ ,  $r^2 = 0.9965$ . Los resultados se expresaron en mg de (+) - equivalentes de catequina por 100 g de extracto liofilizado (mg EC / 100 g EL).

#### C. *Taninos condensados*

Los taninos condensados se determinaron por el método de vainillina (Deshpande and Cheryan 1985). La curva de calibración obtenida fue  $y = 0.1497x + 0.0039$ ,  $r^2 = 0.9944$ . Los resultados se expresaron en mg de (+) - equivalentes de catequina por 100 g de extracto liofilizado (mg EC / 100 g EL).

#### D. *2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo*

Se realizó el ensayo de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) según lo informado por (Dewanto et al. 2002). En este método la curva de calibración fue igual a  $y = -0.0012x + 0.9217$ ,  $r^2 = 0.9875$ . La capacidad antioxidante se expresa en  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de trolox / g de extracto liofilizado ( $\mu\text{mol}$  de TE / g de EL).

#### E. *Poder antioxidante reductor férrico*

Se realizó un ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP) basado en un método anterior (Benzie and Strain 1996). La ecuación obtenida para la curva de calibración fue  $y = 0.0037x - 0.0329$ ,  $r^2 = 0.9945$ . La capacidad antioxidante se informa como  $\mu\text{mol}$  de TE / g de EL.

#### F. *Capacidad antioxidante equivalente trolox*

El ensayo de capacidad antioxidante equivalente trolox (TEAC), también llamada ABTS, se llevó a cabo de acuerdo con el método establecido por (Van Den Berg et al. 1999). En este método se obtuvo la siguiente ecuación de curva de calibración  $y = -0.001x + 0.674$ ,  $r^2 = 0.9211$ . La capacidad antioxidante se expresa como  $\mu\text{mol}$  TE / g EL.

### IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para la realización de este estudio fue necesario el uso del software GraphPad Prism®. En la tabla 2 se puede observar los promedios de compuestos fenólicos totales, flavonoides, taninos condensados y la capacidad antioxidante determinada por DPPD, FRAP y TEAC.

**Tabla 2.** Comparación de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de las muestras de arilo de *P. dulce*.

Extracto	CFT	Flavonoides totales	Taninos condensados
	(mg GAE / 100 g EL)	(mg EC / 100 g EL)	(mg EC / 100 g EL)
Muestra A	9134 ± 377.3 <sup>a</sup>	66.67 ± 32.98 <sup>a</sup>	8.637 ± 0.8531 <sup>a</sup>
Muestra B	6054 ± 678.5 <sup>b</sup>	333.3 ± 149.5 <sup>b</sup>	5.994 ± 0.1889 <sup>b</sup>
Muestra C	3518 ± 415.3 <sup>c</sup>	-	2.550 ± 0.5363 <sup>c</sup>
Muestra D	-	5787 ± 1588 <sup>c</sup>	-

#### Capacidad Antioxidante

Extracto	DPPH	FRAP	TEAC
	(µmol TE / g EL)	(µmol TE / g EL)	(µmol TE / g EL)
Muestra A	28701 ± 995.5 <sup>a</sup>	16356 ± 1513 <sup>a</sup>	25156 ± 2052 <sup>a</sup>
Muestra B	29560 ± 644.5 <sup>b</sup>	26985 ± 1025 <sup>b</sup>	2689 ± 65.66 <sup>b</sup>
Muestra C	9123 ± 1041 <sup>c</sup>	8738 ± 1489 <sup>c</sup>	26658 ± 96.15 <sup>c</sup>
Muestra D	-	-	-

Los resultados se describen como el promedio ± una desviación estándar (DE). Letras diferentes por columna describen diferencias significativas mediante prueba de t Student,  $n = 3 \times 3$  y  $p < 0.05$ .

El análisis indica que los valores de la capacidad antioxidante total difieren en los resultados de los diferentes métodos realizados en cada muestra de *P. dulce*, así como entre estas. Podemos observar una tendencia de menor cantidad de compuestos en un extracto acuoso, por ejemplo, en los CFT en cada método utilizado con excepción del ensayo de TEAC de manera que, el extracto metanólico se presenta como el óptimo para encontrar cuantitativamente mayor cantidad de compuestos correspondientes a cada método. Así, la determinación de los diferentes solventes logra diversificar la cantidad de estos como lo mencionan otros autores (Vargas-Madriz et al. 2020), además las revisiones del tema indican que no existe un método cuantitativo universal y simple para determinar exactamente la capacidad antioxidante (Prior, Wu and Schaich 2005).

La medición de la CAT se hace relevante porque integra el potencial antioxidante como expresión principal de la actividad de uno o varios biocompuestos presentes al mismo tiempo (Apak et al. 2016).

## V. CONCLUSIONES

Las características biológicas de cada planta y fruto generan diversas cantidades de moléculas esenciales, como las proteicas, lipídicas e hidratos de carbono que influyen en la extracción o en la determinación cuantitativa de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante. Es así que, el método de extracción y el proceso del soluto, como lo es el tipo de secado ya sea variando la temperatura o la humedad e incluso el tiempo de exposición, es fundamental para lograr un buen resultado.

## VI. RECONOCIMIENTOS

Este trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Jorge Luis Chávez Servín y el asesoramiento del Mtro. Ángel Félix Vargas Madriz a quienes agradezco el apoyo brindado, así como a la Universidad Autónoma de Querétaro por las facilidades y apoyo otorgado durante esta estancia.

## REFERENCIAS

- [1] Vargas-Madriz ÁF, Kuri-García A, Vargas-Madriz H, et al (2020) Phenolic profile and antioxidant capacity of *Pithecellobium dulce* (Roxb) Benth: a review. *J Food Sci Technol* 57:4316–4336. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04453-y>
- [2] Parrotta JA (1991) *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. Guamuchil. In: *Bioecología de Árboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales*. p 5
- [3] Srinivas G, Geeta H, Shashikumar J, Champawat (2018) A review on *Pithecellobium dulce* : A potential medicinal tree. *Int J Chem Stud* 6:540–544
- [4] Evia B, Roberto J (2018) México y el reto de las enfermedades crónicas no transmisibles. El laboratorio también juega un papel importante. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 65:4–17
- [5] Monroy R, Colín H (2004) El guamúchil *Pithecellobium dulce* ( Roxb .) Benth , un ejemplo de uso múltiple. *Madera y Bosques* 10:35–53
- [6] Rao BG, Samyuktha P, Ramadevi D, Battu H (2018) Review of literature: phyto pharmacological studies on *pithecellobium dulce*. *J Glob Trends Pharm Sci* 9:4797–4807
- [7] Maestro-Durán R, León R, Ruiz-Gutiérrez V (1993) Los compuestos fenólicos en la autodefensa de los vegetales. *Aceites y Grasas* 44:365–369
- [8] Peñarrieta JM, Tejeda L, Mollinedo P, et al (2014) Phenolic compounds in food. *Boliv J Chem* 31:68–81
- [9] Porrás-Loaiza A., López-Malo A (2009) Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *TSIA* 3:121–134
- [10] Valencia-Avilés E, Ignacio-Figueroa I, Sosa-Martínez E, et al (2016) Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas Polyphenols: antioxidant and toxicological properties

- [11] Valls J, Lampreave M, Nadal M, Arola L (2000) Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Aliment equipos y Tecnol* 19:119–124
- [12] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- [13] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555–559
- [14] Deshpande SS, Cheryan M (1985) Evaluation of Vanillin Assay for Tannin Analysis of Dry Beans. *J Food Sci* 50:905–910. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb12977.x>
- [15] Dewanto V, Wu X, Adom K, Liu HR (2002) Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *J Agric Food Chem* 50:3010–3014. <https://doi.org/10.1021/jf0115589>
- [16] Benzie IFF, Strain JJ (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma ( FRAP ) as a Measure of “ Antioxidant Power ”: The FRAP Assay. *Anal Biochem* 76:70–76
- [17] Van Den Berg R, Haenen GRMM, Van Den Berg H, Bast A (1999) Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity ( TEAC ) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem* 66:511–517
- [18] Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302. Review. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- [19] Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., Capanoglu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement: II. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed mode (electron transfer (ET)/HAT) and lipid peroxidation assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04743>

## HISTORIA EVOLUTIVA DE LAS ALDOLASAS TIPO I, SUBFAMILIA ALDOLASAS NAL.

**Kenya Jazive Villanueva Garcia**

Tecnológico Nacional de México en Celaya  
Antonio García Cubas 600, Fovissste  
C.P. 38010, Celaya, Gto.  
[villanueva.kenya7@gmail.com](mailto:villanueva.kenya7@gmail.com)

**Bernardo Pérez Zamorano**

Arkansas State University Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, km 17.5  
C.P. 76270. Querétaro, Qro.  
[bperezamorano@astate.edu](mailto:bperezamorano@astate.edu)

**Resumen** — La reconstrucción de secuencias ancestrales es un método que implica la obtención de ancestros hipotéticos, por lo que, podría servir como guía para identificar los cambios que se han generado. En esta investigación, se presenta la reconstrucción de la historia evolutiva de la subfamilia de las enzimas N-acetilneuraminato liasa, NAL aldolasa, un grupo de aldolasas de clase I dependientes de piruvato. Este grupo proporciona una excelente perspectiva de cómo la evolución puede moldear una reacción química y un pliegue proteico para trabajar en diferentes vías metabólicas.

**Palabras clave** — Historia evolutiva, aldolasas, enzimas, ancestros, bioinformática.

**Abstract** — The reconstruction of ancestral sequences is a method that involves obtaining hypothetical ancestors, so it could serve as a guide to identify the changes that have been generated. In this research, the reconstruction of the evolutionary history of the subfamily of enzymes N-acetylneuraminate lyase, NAL aldolase, a group of class I pyruvate-dependent aldolases, is presented. This group provides excellent insight into how evolution can shape a chemical reaction and protein fold to work in different metabolic pathways.

**Keywords** — Evolutionary history, aldolases, enzymes, ancestors, bioinformatic.

### I. INTRODUCCIÓN

La selección natural es, probablemente la principal fuerza evolutiva que impulsa el cambio en los seres vivos (Futuyma, 2005). Charles Darwin en su libro “El Origen de las Especies” propuso esta teoría en 1859, la cual nos habla, entre otras cosas, que la variabilidad es una característica heredable que poseen las especies, dando como resultado que un individuo tenga diferente expresión de su genotipo y donde la selección natural también toma lugar.

Anteriormente para estudiar la categorización de las proteínas y las reacciones bioquímicas se basaban en criterios catalíticos y estructurales, pero esto limita la aparición de nuevas actividades enzimáticas a partir de las antiguas; y, por lo tanto, en los últimos años se ha observado que una investigación evolutiva, en lugar de una donde únicamente toman en cuenta criterios estructurales y catalíticos, son más altas las probabilidades de obtener con éxito una modificación de la actividad enzimática de una proteína.

En este trabajo nuestro punto de partida son las enzimas NAL aldolasas, son enzimas ( $\beta/\alpha$ ) de 8 barriles que logran la creación y ruptura de enlaces C-C formando una base de Schiff como intermediario con un residuo de lisina en el centro activo.

La bioinformática permite investigar, desarrollar y aplicar herramientas informáticas y computacionales para poder acceder y mejorar el manejo de datos biológicos. (Cuesta, 2011). Esto, combinado con los avances en la teoría evolutiva y la explosión de la tecnología computacional, se ha podido lograr investigaciones que tengan un mayor entendimiento de los orígenes, la evolución y la distribución de la vida, así como de sus biomoléculas. (Pauling and Zuckerkandl, 1963)

## II. MARCO TEÓRICO

### A. *Historia evolutiva*

A través del campo de estudio de la evolución de proteínas se pueden conocer los factores genéticos implicados en la evolución de estructuras enzimas homólogas (Smith,1970)

Al llevar a cabo comparaciones estructurales entre proteínas que realizan la misma función en diversos organismos se observa que presentan homología estructural a pesar de que su secuencia difiere determinada cantidad de aminoácidos

### B. *Reconstrucción de secuencias ancestrales*

Uno de los objetivos principales del estudio de la evolución molecular es obtener información sobre la estructura y función de las proteínas que han existido a lo largo del tiempo utilizando como herramienta la reconstrucción de secuencias ancestrales (Chang, Ugalde, & Matz,2005)

La reconstrucción de secuencia permite poner a prueba tanto la hipótesis de la especialización a partir de un rol general, así como la pérdida de una actividad específica. (Chang & Donoghue, 200)

## III. METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo se hizo una serie de actividades de índole bioinformático de manera cronológica, ya que una dependía del resultado de la posterior. Consistió en 3 etapas, en las cuales, se corrobora que la nomenclatura de las enzimas estuviera correcta y en caso de que hubiera alguna alteración cambiarla en la base de datos, después de continuo con una actualización de los números EC (Enzyme Commission Numbers) de las enzimas y por ultimo se realizó una búsqueda de secuencias de cada una de las enzimas.

### a) Corroboración de nomenclatura

A partir del programa principal ExPasy que es el portal de recursos bioinformáticos de la SIB Swiss Institute of Bioinformatics, nos redirigió al program ENZYME que es un almacén de información de la nomenclatura de enzimas. Se basa principalmente en las recomendaciones del Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB) y describe cada tipo de enzima caracterizada para la que se ha proporcionado un número E.C. Donde se corrobora que la nomenclatura estuviera correcta.

### b) Actualización del E.C. de enzimas

En el mismo programa descrito anteriormente, ENZYME, se actualizaron los números E.C., para tener integra la base de datos en su totalidad, así posteriormente empezar con la búsqueda de las secuencias.

#### c) Búsqueda de secuencias

Se realizaron búsquedas bioinformáticas para cada enzima utilizando la herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST) en la base de datos de proteínas no redundantes del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI). Cada ejecución de BLAST se delimitó a mil secuencias para cada dominio de vida (Archaea, Bacteria y Eukarya). En algunos casos, se usaron dos secuencias de consulta para un solo dominio de vida porque una sola búsqueda no arrojó algunas secuencias reportadas en la literatura.

Los miembros identificados de esta subfamilia se resumen en la figura 1.

## IV. RESULTADOS

Se obtuvieron las secuencias líder de cada una de las enzimas, se trataron de seleccionar las primeras 100 o dependiendo el caso de cada enzima, ya que, algunas arrojaron menos de 100 resultados, se seleccionaron los resultados, en ambos casos, bajo dos criterios: El primer criterio de selección consistió en utilizar secuencias por debajo de un umbral definido por el primer incremento de un orden de magnitud, o más, en valor E en la lista de secuencias recuperadas (el mayor valor E permitido fue  $1 \times 10^{-11}$ ); el segundo criterio de selección fue que las secuencias deberían mostrar una cobertura de consulta del 60% o más. Ver las secuencias líder en la figura 2.

	NAL Subfamily		
Notas	Enzyme	Accepted Name	E.C
	NAL	N-acetylneuraminase lyase	4.1.3.3
DHDPS	THDPS	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate synthase.	4.3.3.7
	CPOEA	4-(2-carboxyphenyl)-2-oxobut-3-enoate aldolase.	4.1.2.34
	HBPHA	Trans-o-hydroxybenzylidenepyruvate hydratase-aldolase.	4.1.2.45
	KDPGA	2-dehydro-3-deoxy-phosphogluconate aldolase.	4.1.2.14
	KDPGalA	2-dehydro-3-deoxy-6-phosphogalactonate aldolase	4.1.2.21
KHGA	HOGA	4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase.	4.1.3.16
No se considera	KDGDH	5-dehydro-4-deoxyglucarate dehydratase	4.2.1.41

Fig. 1. Enzimas miembros de la subfamilia NAL.

Enzima	Dominio	Secuencia
<b>CPOEA</b>	<b>B</b>	<i>Nocardioides</i> sp.
<b>THDPS</b>	<b>A</b>	<i>Methanosaeta thermophila</i> .
	<b>B</b>	<i>Escherichia coli</i>
	<b>E</b>	<i>Arabidopsis thaliana</i> y <i>Phytophthora infestans</i>
<b>HBPHA</b>	<b>B</b>	<i>Pseudomonas putida</i>
<b>KDPGA</b>	<b>A</b>	<i>Sulfolobus solfataricus</i>
	<b>B</b>	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
	<b>E</b>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
<b>KDPGaIA</b>	<b>B</b>	<i>Escherichia coli</i>
	<b>E</b>	<i>Ceratitidis capitata</i>
<b>HOGA</b>	<b>A</b>	<i>Halorubrum lacusprofundi</i>
	<b>B</b>	<i>Escherichia coli</i>
	<b>E</b>	<i>Bos taurus</i>
<b>NAL</b>	<b>B</b>	<i>Escherichia coli</i>
	<b>E</b>	<i>Sus scrofa</i> y <i>Trichomonas vaginalis</i>

**Fig. 2.** Secuencias líder. Claves: A: Archaea; B: Bacteria; E: Eukarya.

## V. CONCLUSIONES

El estudio de estos factores ha permitido rediseñar algunas enzimas para que catalicen nuevas actividades, la reconstrucción de secuencias ancestrales de enzimas puede llegar a funcionar como una guía que ayudaría con más exactitud a modificar la actividad enzimática de un miembro de esta subfamilia en la actividad de otro miembro; en base a lo expuesto anteriormente podemos decir que cuanto menor sea la distancia evolutiva entre dos secuencias, menos complicado sería modificar la actividad de una secuencia por la actividad de la otra.

Esto nos permitirá poder tener más control sobre la modificación que se busca para mejorar la actividad catalítica de diferentes enzimas o propiedades de proteínas, y tendría mucho alcance en la ingeniería de proteínas, lo cual en años pasados no se había explotado en su totalidad esta área. Teniendo las secuencias líderes de las enzimas seleccionadas, en un futuro, se podría construir un árbol filogenético donde se vería con más claridad lo desarrollado en este trabajo, obteniendo así un campo más grande donde el estudio evolutivo de las enzimas y la reconstrucción de secuencias ancestrales podría ser de gran utilidad y de

aquí a unos años, el rango de aplicación podría llegar a ser más amplio y ser una herramienta muy eficaz.

## VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Al finalizar este trabajo quiero extender un profundo agradecimiento a quienes lo hicieron posible, primeramente, a Dios, a mi madre Evelia Villamil y mi padre Javier Villanueva, por siempre impulsarme a cumplir mis sueños y su amor incondicional, a mis abuelos Abel Huerta y Magdalena Villamil. Agradecimiento especial a dos personas fundamentales en este trayecto, a la Doctora Juárez Aubry María Montserrat y al Doctor Velázquez Rodríguez Gerardo, por su cariño, consejos y apoyo en todo momento.

Mi gratitud también al Doctor Pérez Zamorano Bernardo por compartir sus conocimientos y orientarme a lo largo de la estancia, un honor escuchar sus cátedras y aprender de usted. Finalizo agradeciendo a la institución Arkansas State University Campus Querétaro por abrirme las puertas de la universidad y poder realizar la estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] Darwin CR. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. 1st ed. London: John Murray; 1859.
- [2] Espinoza FA. Reconstrucción de la historia evolutiva de la subfamilia de enzimas relacionadas a la N-acetilneuraminato liasa (NAL) como herramienta para el diseño de nuevas actividades enzimáticas. [Tesis]. Universidad Autónoma de México. 2014.
- [3] <http://132.248.9.195/ptd2014/febrero/0708127/0708127.pdf>
- [4] Pérez B. Directed evolution of two enzymes of the N-acetylneuraminidase lyase family. [PhD Thesis]. University of Leeds. 2007.
- [5] Romano A H, Conway T. Evolution of carbohydrate metabolic pathways. Res Microbiol. 1996;147: 448–455. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9084754/>
- [6] Maddison WP, Maddison DR. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis [Internet]. 2011. Available: <http://mesquiteproject.org>
- [7] Euzéby JP. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. Int J Syst Bacteriol. 1997;47: 590–2. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9103655/>
- [8] Gaucher EA. Ancestral sequence reconstruction as a tool to understand natural history and guide synthetic biology: realizing and extending the vision of Zuckerkandl and Pauling. In: Liberles DA, editor. Ancestral Sequence Reconstruction. Oxford: Oxford University Press; 2007. pp. 20–33.

- [9] Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000;28: 27–30. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=102409&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- [10] Izard T, Lawrence MC, Malby RL, Lilley GG, Colman PM. The three-dimensional structure of N-acetylneuraminase lyase from *Escherichia coli*. *Structure.* 1994;2: 361–9. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8081752>

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DIVERSOS EXTRACTOS DEL MUÉRDAGO *PSITTACANTHUS CALYCVLAT*

**Diego Guadalupe Chávez Torres**

Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón

BLVD. del Valle 2301, Guardarrayas, 36425 Gto.

[lrs19110481@purisima.tecnm.mx](mailto:lrs19110481@purisima.tecnm.mx)

**Raúl Reyes Bautista**

Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón

BLVD. del Valle 2301, Guardarrayas, 36425 Gto.

[raul.rb@purisima.tecnm.mx](mailto:raul.rb@purisima.tecnm.mx)

**Resumen** —En este trabajo se presenta la respuesta inhibitoria en el crecimiento microbiano de los extractos de metanol y hexano de hojas de muérdago *Psittacanthus calyculatus*, fueron probados para su actividad antimicrobiana contra 3 cepas de bacterias mediante el método de difusión en disco. Los extractos metanólicos fueron los que presentaron una mejor respuesta inhibitoria teniendo un máximo de 22 mm de diámetro en la zona de inhibición para *Staphylococcus aureus*, para la concentración de 400 µg/disco, las zonas de inhibición variaron desde 6 a 22 mm de diámetro, para ambos extractos la respuesta de *Klebsiella pneumoniae* fue mínima teniendo una zona de inhibición de 6 mm de diámetro para la concentración de 400 µg/disco.

**Palabras clave** — *Psittacanthus calyculatus*, Inhibición, Extracto de muérdago.

**Abstract** — In this work, the inhibitory response on microbial growth of methanol and hexane extracts of mistletoe leaves *Psittacanthus calyculatus*, were tested for their antimicrobial activity against 3 strains of bacteria by disk diffusion method. The methanolic extracts were the ones that presented the best inhibitory response, having a maximum of 22 mm of diameter in the zone of inhibition for *Staphylococcus aureus*, for a concentration of 400 µg/disc, the zones of inhibition were from 6 to 22 mm of diameter, for both extracts, the response of *Klebsiella pneumoniae* was minimal, having a zone of inhibition of 6 mm of diameter for a concentration of 400 µg/disc.

**Keywords** — *Psittacanthus calyculatus*, Inhibition, Mistletoe extract.

## I. INTRODUCCIÓN

Los productos naturales vegetales se han utilizado con fines terapéuticos desde hace miles de años, y en la actualidad no se ha perdido por completo esta técnica, incluso la búsqueda por nuevas alternativas ha crecido, debido al incremento de nuevas enfermedades y la resistencia de las bacterias a los antibióticos.

El uso de compuestos antimicrobianos naturales se ha utilizado de manera significativa como control del crecimiento microbiano en la condición de enfermedades, así como en la conservación de alimentos. [1]

*Psittacanthus calyculatus* es ampliamente utilizado en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, la cual hoy en día es la principal causa de muerte en México. [2]

Debido a las propiedades de este producto se busca encontrar su efecto inhibitorio en diversas bacterias que en la actualidad presentan una gran capacidad de mutar y presentar mayor resistencia a los antibióticos que se manejan en la actualidad.

## II. MARCO TEÓRICO

El uso de aceites esenciales de plantas tanto en la industria alimentaria como en la farmacéutica se ha desarrollado de manera interesante, un examen sistemático de extractos de plantas para estas propiedades se ha vuelto cada vez más importante.

Los muérdagos son plantas semiparásitas que adquieren sus nutrientes al quelarlos del huésped. Estas plantas se utilizan en la medicina tradicional para preparar varios productos como tés, tinturas, aspectos nutricionales y algunos ungüentos debido a sus efectos terapéuticos observados [3].

*Psittacanthus calyculatus* es una planta semiparasitaria que crece en una gran variedad de plantas cosechables, silvestres o cultivadas, pertenecientes a las familias *Rutaceae*, *Leguminosae* leñosas (*Fabaceae*), *Conniferae*, *Fagaceae*, *Myrtaceae* (*Eucaliptus*) y *Pinaceae*, muchas de las cuales son árboles frutales o plantas productoras de madera. En México, es literalmente más comúnmente conocido como "el cáncer de las plantas" y "verdadero muérdago". Es vista por los agricultores como una planta muy dañina porque se asocia con grandes pérdidas de cultivos y, a veces, con la muerte de las plantas huésped. Sin embargo, se utiliza en la medicina popular como antiséptico y como tratamiento para la hipertensión, así como para la alopecia. [2]

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se utilizó la metodología realizada por Jacobo Salcedo et al. [1] con algunas modificaciones.

### A. Preparación de los extractos de hoja de muérdago (*Psittacanthus calyculatus*)

Se utilizó la metodología de Keskin y Ceyhan-Guvenen [4], con algunas modificaciones. Se utilizaron dos sistemas de extracción los cuales fueron metanol y cloroformo para lo cual, se pesó 1 g de harina de hoja de muérdago *Psittacanthus calyculatus*, la extracción fue continua durante 24 horas a temperatura ambiente con una agitación oscilante de 120 rpm. Los extractos se filtraron mediante un sistema de vacío con papel Whatman no. 4, se recolectó el filtrado para su evaporación en un rotavapor al vacío a 50°C. Las muestras secas se trataron de la siguiente forma, el extracto de metanol se resuspendió en 2 ml con el mismo solvente y el extracto de hexano en 2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO al 5% w/v).

### B. Actividad antimicrobiana

Se trabajó con tres cepas patógenas identificadas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Las cepas fueron sembradas previamente en caldo BHI e incubados por tres horas a 37° C, hasta alcanzar una densidad microbiana de  $1 \times 10^8$  UFC/mL (0.5 Unidades en la escala de MacFarland) antes de realizar la prueba antimicrobiana.

Se utilizó en método difusión de disco [1]. Se utilizaron discos de papel filtro Whatman estériles (6 mm de diámetro). Los discos fueron impregnados con los extractos de hoja de muérdago, en concentraciones desde 20 hasta 400 µg/disco. *Se uso un control negativo impregnado con solvente, como control positivo, el antibiótico kanamicina a una concentración de 50 µg/ disco*, la actividad antimicrobiana se definió por el tamaño en mm del halo de inhibición tras 24 horas de incubación a 37° C.

### C. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por triplicado y fueron expresados como el valor medio ± la desviación estándar. Los datos se analizaron mediante la prueba de ANOVA de una vía para determinar los efectos de los tratamientos y las diferencias entre los valores medios se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ , utilizando Minitab 18. Para realizar el efecto dosis respuesta se utilizó el Originlab para el análisis de estos datos, mediante la ecuación de Hill (ec. 1).

$$y = S + (E - S) \frac{x^n}{k^n + x^n} \quad (\text{ec. 1})$$

S= Constante de inicio

E= Constante de termino

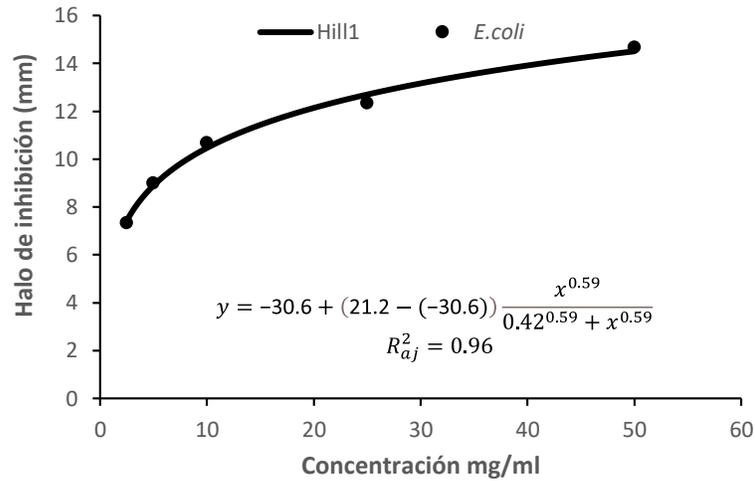
x= Concentración

n= Orden de la ecuación

k= Constante de Hill

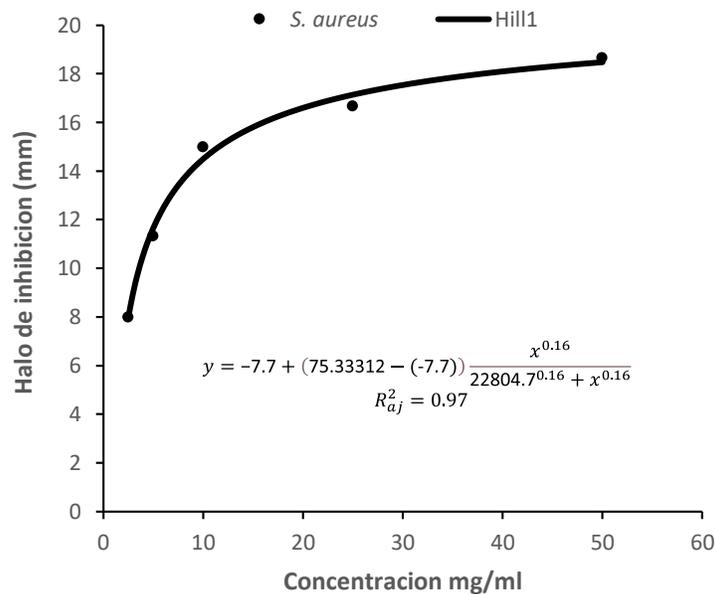
## IV. RESULTADOS

En la figura 1 se muestra la Dosis-Respuesta de la bacteria *E. coli* para con el extracto metanólico acoplado al modelo de Hill, con un valor de  $R^2$  ajustada de 0.97



**Figura 1** Efecto Dosis-Respuesta de *E. coli* con el extracto metabólico de *P. calyculatus*

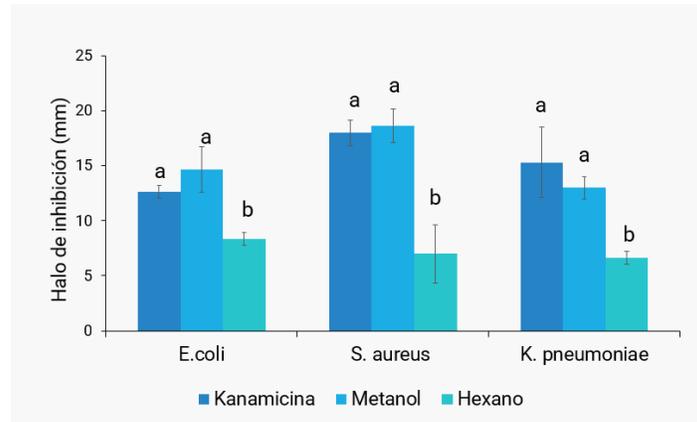
La figura 2 de igual manera muestra la Dosis-Respuesta de la bacteria *S. aureus* ante el extracto metanolico, mediante el modelo de Hill con un valor de  $R^2$  ajustada de 0.96.



**Figura 2.** Efecto Dosis-Respuesta de *S. aureus* con el extracto metanolico de *P. calyculatus*

La figura 3 muestra una comparación de la media de la medida de los halos de inhibición por bacteria, de los solventes con nuestro control positivo, Para todas las bacterias

se observa que no existen diferencias significativas entre el extracto de metanol y la Kanamicina. En el hexano y la Kanamicina si que existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ )



**Figura 3** Comparación de halo de inhibición de los extractos contra la kanamicina

\*Letras distintas para cada bacteria indica diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

## V. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

De los extractos de metanol, cloroformo y hexano de hoja de muérdago probadas contra 3 bacterias patógenas para evaluar su actividad antimicrobiana, los extractos metanólicos fueron aquellos que mostraron una mejor respuesta inhibitoria, especialmente para *Staphylococcus aureus* en el cual se mostró la mayor área de inhibición de 22 mm de diámetro (Figura 3), las zonas de inhibición se encuentran en el rango de 6-22 mm de diámetro. De acuerdo con los resultados presentados por Dilev Keskin y Nur Ceyhan-Guvensen [4] los extractos metanólicos también fueron los de mejores resultados, para la bacteria *S. faecalis* teniendo la zona de inhibición 22 mm de diámetro, para *S. aureus* la zona de inhibición tuvo un tamaño de 15 mm, siendo menor a nuestros resultados pero congruente debido a que la concentración máxima de extracto usada por ellos fue de 50 µg/disco que es 8 veces menor a la concentración máxima que se trabajó. Para el extracto de hexano resuspendido en DMSO sí que se obtuvo una respuesta inhibitoria para las tres cepas, a comparación *E. coli* y *K. pneumoniae* usadas por Dilev Keskin y Nur Ceyhan-Guvensen [4] no obtuvieron respuesta inhibitoria

Para nuestras tres cepas la más resistente, según la ausencia de halos de inhibición para concentraciones debajo a 400 µg/disco para ambos extractos. Al ser una bacteria Gram negativa no posee pared celular, pero si un capsula de polisacáridos muy resistente, esta comúnmente asociada a la presencia de enzimas beta-lactamasas del espectro extendido (BLEE) del grupo A codificada en los cromosomas, estas enzimas facilitan la degradación de antibióticos beta-lactámicos, estas enzimas normalmente deben su efectividad a mutaciones, dos de ellas descritas la línea filogenética TEM y

SHV. Típicamente asociada a esta bacteria también se encuentran las Carbapenemasas del grupo A codificado en plásmidos, y han sido descritas en la misma denominación KPC[5].

De acuerdo con la caracterización química realizada por Moustapha [2] el muérdago *Psittacanthus calyculatus*, es rico en compuesto fenólicos beneficiosos como el ácido gálico y flavonoides como kaempferol, compuestos considerados polares, haciéndolos solubles y afines a solventes polares tales como el metanol, este es el más polar de los dos solventes utilizados, esto explica que la mejor respuesta inhibitoria que se dio fuera la del extracto de metanol, ya que este pudo arrastrar de mejor manera que el hexano todos esos compuesto fenólicos de la hoja del muérdago *Psittacanthus calyculatus*

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se encontró que los extractos metanólicos presentaron la mayor actividad antimicrobiana. Se comprobó que los extractos polares (metanol) obtenidos de las hojas del muérdago presentaron mejor actividad antimicrobiana que los extractos obtenidos mediante solventes de baja polaridad (hexano).

## VII. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

Al Dr. Raúl Reyes Bautista por guiarnos durante el desarrollo de toda la investigación, así como a todo su grupo de residentes que fueron de gran apoyo.

## REFERENCIAS

- [1] M. del R. Jacobo-Salcedo *et al.*, "Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Mexican Medicinal Plants," *Natural Product Communications*, vol. 6, no. 12, p. 1934578X1100601, Dec. 2011, doi: 10.1177/1934578X1100601234.
- [2] B. Moustapha, G.-A. D. Marina, F.-O. Raúl, C.-M. Raquel, and M. Mahinda, "Chemical Constituents of the Mexican Mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*)," *Molecules*, vol. 16, no. 11, pp. 9397–9403, Nov. 2011, doi: 10.3390/molecules16119397.
- [3] J. D. García-García *et al.*, "Phytochemical Characterization of *Phoradendron bollanum* and *Viscum album subs. austriacum* as Mexican Mistletoe Plants with Antimicrobial Activity," *Plants*, vol. 10, no. 7, p. 1299, Jun. 2021, doi: 10.3390/plants10071299.
- [4] Dilek Keskin and N. Ceyhan-Guvenen, "Determination of bioactive components and antimicrobial activity of methanolic extracts of mistletoe leaves (*Viscum album l. subsp. album l.*)" *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 27, no. 12, pp. 7991–7996, 2018.
- [5] C. Alberto Fica, "Resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos, cocáceas Gram positivas y anaerobios. implicancias terapéuticas," *Revista Médica Clínica Las Condes*, vol. 25, no. 3, pp. 432–444, May 2014, doi: 10.1016/S0716-8640(14)70060-4.

# APLICACIÓN DE INMUNOENSAYOS PARA DETECTAR CONTAMINANTES EMERGENTES (ANTIBIÓTICOS) EN AGUA RESIDUAL

**Jackeline González Zacarías**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Av. Universidad 940, Ciudad universitaria,  
20100, Aguascalientes, Ags.  
[jackgz2000@live.com.mx](mailto:jackgz2000@live.com.mx)

**Norma Angélica Chávez Vela**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Av. Universidad 940, Ciudad universitaria, 20100,  
Aguascalientes, Ags.  
[nachavez@correo.uaa.mx](mailto:nachavez@correo.uaa.mx)

**Resumen** — Los contaminantes emergentes (CEs) son productos químicos no regulados, ingresan al medio ambiente causando efectos ecológicos o adversos a la salud. Los antibióticos son CEs, su principal fuente de entrada al ambiente son las aguas residuales y que resisten a procesos convencionales de tratamiento de estas, provocando el desarrollo de cepas bacterianas resistentes a estos fármacos. Antibióticos aminoglucósidos y  $\beta$ -lactámicos se usan para salud humana y animal, como plaguicidas y en veterinaria como promotores de crecimiento. Esta contaminación incrementa la necesidad de contar con un método de detección sencillo, específico y con alta sensibilidad para poder tener un control sobre el vertido y eliminación de este tipo de fármacos, como es el caso de Dot blot aplicado en este trabajo.

**Palabras clave** — Contaminantes emergentes, antibióticos, Dot blot.

**Abstract** — Emerging contaminants are unregulated chemical products, antibiotics are considered ECs, enter the environment causing ecological or adverse health effects. Antibiotics are ECs, their main source of entry into the environment is wastewater and they resist conventional treatment processes, causing the development of bacterial strains resistant to these drugs. Aminoglycoside and  $\beta$ -lactam antibiotics are used for human and animal health, as pesticides and in veterinary medicine as growth promoters. This contamination increases the need for a simple, specific and highly sensitive detection method in order to have control over the discharge and elimination of this type of drug, as is the case of the Dot blot applied in this work.

**Keys words** — Emerging contaminants, antibiotics, Dot blot.

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se han identificado en el ambiente, productos químicos no regulados, que causan diversos efectos adversos en la biota e incluso para la salud, denominados contaminantes emergentes (CEs), los cuales se caracterizan por una alta persistencia y baja degradación en el ambiente. La principal fuente de entrada de los CEs son las aguas residuales que en ocasiones son vertidas directamente en cuerpos de agua provocando contaminación ambiental [1]. Los CEs concurrentes en el agua son productos farmacéuticos, hormonas, surfactantes, biocidas, detergentes, drogas de abuso, nanopartículas, productos de cuidado y de higiene personal. Los antibióticos son fármacos que también son considerados como CEs, se utilizan para el tratamiento de enfermedades bacterianas. Al ser metabolizados incompletamente llegan a las aguas residuales a través de heces fecales, orina, por mala disposición final, efluentes hospitalarios y algunas industrias. [2]

El agua residual contiene una gran cantidad de microorganismos que están en contacto con los antibióticos. Los antibióticos tienen un efecto persistente y sumado a que no son monitoreados ni controlados han causado efectos en el medio ambiente. Estos grupos de fármacos se encuentran frecuentemente en una concentración inhibitoria mínima dentro de las aguas residuales, esto es un gran problema ya que al estar en contacto con bacterias podrían provocar resistencia adaptativa y selectiva, que consiste en una menor capacidad de penetración del antimicrobiano al interior de la bacteria, impidiendo que a la larga estos antibióticos puedan perder su actividad. [3]

Entre los antibióticos más prescritos en medicina humana destacan los aminoglucósidos, los macrólidos, y los  $\beta$ -lactámicos. Estos últimos también son ampliamente usado en la práctica veterinaria como promotor del crecimiento incluyendo perros, gatos, palomas, caballos, pollos de engorda, cerdos, cabras, ovejas, bovinos y peces. Los antibióticos aminoglucósidos se usan en la agricultura para tratar semillas contra virus y bacterias y para controlar y prevenir enfermedades de las plantas producidas por bacterias.

Existen diversos métodos de detección para los CEs, entre ellos están los inmunoensayos que son técnicas sensibles y específicas que detectan a moléculas mediante anticuerpos, las ventajas de estas técnicas es que son fácil de realizar y a bajo costo comparada con otros métodos como HPLC, GC-MS o LC-MS.

El objetivo de este trabajo fue detectar mediante Dot blot, antibióticos aminoglucósidos y  $\beta$ -lactámicos en distintas muestras de agua residual (influentes y efluentes), utilizando anticuerpos policlonales anti-estreptomina y anticuerpos policlonales anti-amoxicilina.

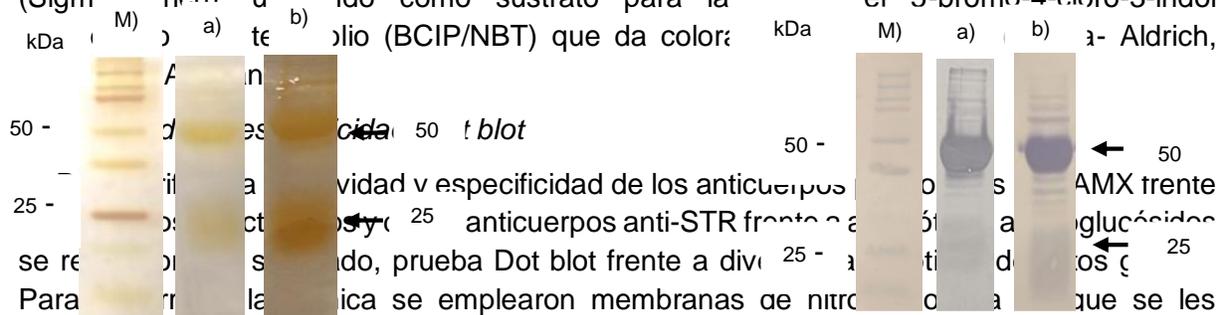
## II. MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de anticuerpos policlonales de conejo ya obtenidos previamente en el laboratorio, contra amoxicilina (anti-AMX) y contra la estreptomina (anti-STR), se realizó una caracterización de estos, es decir, se comprobó su pureza, *reactividad* y *especificidad*, además se realizó Western blot para comprobar que las muestras fueran IgG. Posteriormente los anticuerpos se usaron para detectar antibióticos aminoglucósidos y  $\beta$ -lactámicos en influentes y efluentes de aguas residuales.

### A. Determinación de pureza

Con la finalidad de verificar que las muestras de anticuerpos que se tenían, mantuvieran su pureza, se analizaron por 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. Las muestras cargadas para analizar por electroforesis fueron de 10-20  $\mu$ g de proteína. Se esperaba obtener fracciones proteicas de 25 y 50 kDa, que es el PM de los anticuerpos IgG. Para comprobar que las bandas proteicas obtenidas en la electroforesis fueran IgG, se realizó una separación electroforética de las proteínas mediante Western blot. Estas posteriormente se transfirieron electroforéticamente del gel a membranas de Polivinil difluoruro (PVDF) toda la noche a 12 mAmp. La detección de IgG se realizó

utilizando un anticuerpo anti-IgG de conejo Anti-Rabbit IgG (whole molecule)-alkaline phosphatase Sigma Aldrich con dilución 1:5000. Para el revelado se usó fosfatasa alcalina (Sigma Aldrich) utilizando como sustrato para la reacción el 5-bromo-4-cloro-3-indol



**Figura 1:** Análisis electroforético para ver pureza de anticuerpos policlonales: **a)** anticuerpos anti-amoxicilina; **b)** anticuerpos anti-estreptomicina; **M)** Marcador de peso Molecular. Geles de electroforesis Tris-glicina teñidos con plata. Las flechas indican las bandas proteicas.

**Figura 2:** Western blot para comprobar el isotipo de anticuerpos policlonales: **a)** anticuerpos anti-amoxicilina (15 µg/µl); **b)** anticuerpos anti-estreptomicina (1.25 µg/µl); **M)** Marcador de Peso Molecular. Las flechas indican el peso molecular característico de las cadenas IgG.

alcalina (Zymed, San Francisco, EUA). Como sustrato de la enzima, se utilizó BCIP/NBT con el cual se obtiene un color violeta como producto de la reacción. Se usó agua destilada como control negativo.

**C. Detección de antibióticos aminoglucósidos y β-lactámicos en aguas residuales**

Mediante Dot blot se analizaron muestras de aguas residuales (influyente y efluente) tomadas de plantas tratadoras de Aguascalientes con los dos tipos de anticuerpos policlonales que se tenían: anti-STR (dilución 1:2500) y anti-AMX (dilución 1:100).

**III. RESULTADOS**

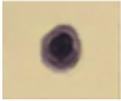
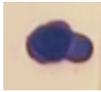
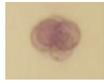
Con tinción plata en el gel de poliacrilamida (Figura 1), se observaron bandas de aproximadamente 50 kDa correspondiente a las cadenas pesadas de una IgG y otra de 25 kDa de las cadenas ligeras, y mediante Western blot se demostró que las muestras que se tenían tanto de anticuerpos policlonales anti-AMX como de los anticuerpos policlonales anti-STR son de isotipo IgG al observar bandas de aproximadamente 50 kDa y de 25 kDa y al reaccionar con anticuerpos anti-IgG usados en el Western blot (Figura 2). Mediante Dot blot se demostró que los anticuerpos policlonales anti-AMX son específicos contra los antibióticos β-lactámicos, pues dieron reacción positiva con los antibióticos amoxicilina; penicilina; ampicilina, que pertenecen a este grupo y no dieron reacción alguna contra antibióticos de la familia de aminoglucósidos, ni contra Clindamicina perteneciente a

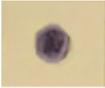
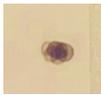
la familia de las lincosaminas. Por otra parte, también se comprobó la reactividad y especificidad de los anticuerpos policlonales anti-STR frente antibióticos aminoglucósidos; STR; neomicina; paromomicina, donde hubo cambio de color violeta esperado donde se colocaron los antibióticos indicando positividad y sin reacción contra antibióticos de la familia de β-lactámicos. (Tabla 1)

Finalmente, mediante Dot blot realizado a muestras de PTAR del Estado de Aguascalientes, se observó que los anticuerpos anti-AMX detectaron presencia de antibióticos  $\beta$ -lactámicos tanto en influentes como en efluentes. (Tabla 2). Asimismo, para los anticuerpos anti-STR, detectaron presencia de antibióticos aminoglucósidos en influentes y efluentes en las muestras de aguas de PTAR. (Tabla 3).

**Tabla 1.** Dot blot para probar la especificidad de anticuerpos policlonales anti-AMX y anti-STR frente a diversas familias de antibióticos.

1. Anticuerpos policlonales anti-AMX ( dilución 1:100)							
Control + (AMX)	Control - (H <sub>2</sub> O destilada)	Ampicilina	Penicilina	Cefalexina	Neomicina	Paramomicina	STR
							
2. Anticuerpos policlonales anti-STR ( dilución 1:2500)							
Control + (STR)	Control - (H <sub>2</sub> O destilada)	Neomicina	Paramomicina	Amoxicilina	Penicilina	Ampicilina	Cefalexina
							

Planta tratadora	Ciudad de Aguascalientes	Pabellón Arteaga	Ciudad Gótica	Lomita de paso blanco
Influente				
Efluente				

Planta tratadora	Ciudad de Aguascalientes	Pabellón Arteaga	Ciudad Gótica	Lomita de Paso Blanco
Influente				
Efluente				

**Tabla 3.** Dot blot de aguas de PTAR con anticuerpos policlonales anti-STR (dilución 1:2500)

#### IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Mediante el ensayo Dot blot se probó la reactividad y especificidad de los anticuerpos policlonales tanto anti-AMX como anti-STR frente a diferentes familias de antibióticos. Para los anticuerpos anti-AMX reconocieron a su antígeno (AMX), sin embargo, no fue el único antibiótico que provocó reacción positiva con los anticuerpos, también con penicilina, ampicilina, cefalexina, debido a que son antibióticos pertenecientes a la familia de  $\beta$ -lactámicos al igual que la amoxicilina y presentan estructuras similares pudiendo así ser reconocidos por los anticuerpos policlonales anti-AMX. Por otra parte, en la Tabla 1 apartado 2, se observa que los anticuerpos anti-STR no fueron específicos sólo contra este antibiótico, pero sí para los fármacos de la misma familia; neomicina y paromomicina, estos compuestos presentan una similitud entre sus estructuras moleculares con la STR, debido a que son fármacos aminoglucósidos, esta similitud les permite que los anticuerpos anti-STR se unan a algún epítipo que compartan estos compuestos. Los fármacos que no son de esta familia (amoxicilina, cefalexina, ampicilina, penicilina) no reaccionaron con los anticuerpos anti-STR, porque los anticuerpos no reconocieron epítipos en los antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

En la Tabla 2 y Tabla 3, se observa la reactividad de los anticuerpos policlonales anti-AMX y anti-STR frente a las distintas muestras PTAR tanto influentes como efluentes, lo que

confirma la presencia de contaminación por antibióticos  $\beta$ -lactámicos y aminoglucósidos en las muestras de PTAR, las condiciones de estas muestras de agua (contaminantes, temperatura, pH), no afecta la reactividad de los anticuerpos. Las influentes se marcaron con mayor intensidad (la intensidad correlaciona con la concentración). Las aguas influentes son el flujo de entrada y los efluentes de salida. 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, y en las PTARs para poder remover los contaminantes del agua debe de haber un tiempo de residencia de varios días, que depende de cada PTAR, de manera que el efluente analizado no corresponde al mismo influente monitoreado.

## V. CONCLUSIONES

Es crucial la detección constante de antibióticos en las aguas residuales, para así buscar el desarrollo de nuevas estrategias de consumo, descarga, disposición y eliminación para los antibióticos, todo lo anterior con la finalidad de disminuir los efectos futuros en el medio ambiente. Para detección es muy útil realizar un ensayo Dot blot como se utilizó, fue muy fácil de realizar, se ahorró tiempo, y cumplió con el objetivo de este trabajo que fue confirmar la presencia de contaminantes emergentes (antibióticos) en aguas residuales.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al departamento de Apoyo a la investigación de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, a la Dra. Norma Angélica Chávez Vela, a la Lic. en biotecnología Lizbeth Montañez por el apoyo brindado y los conocimientos adquiridos en la estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] Espigares García M, Pérez López J. Aguas residuales. Composición. Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones. Granada, España.
- [2] Meléndes J, García Y, Galván V, Díaz de León L, Vargas K, Mejía J, Flores R. Contaminantes emergentes. Problemática ambiental asociada al uso de antibióticos, remediación y perspectivas de legislación en América Latina.
- [3] Gil M, Soto AM, USMA J, Gutiérrez O. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. Producción + Limpia. 2012; 52

## ESTUDIO DE MODELOS DE MATERIA OSCURA Y GALAXIAS

**Juan Jordi Ancona Flores**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Carr. a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños,  
76140 Santiago de Querétaro, Qro.  
[jancona16@alumnos.uaq.mx](mailto:jancona16@alumnos.uaq.mx)

**Alberto Hernández Almada**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Carr. a Chichimequillas S/N, Ejido Bolaños, 76140  
Santiago de Querétaro, Qro.  
[ahalmada@uaq.mx](mailto:ahalmada@uaq.mx)

**Resumen** — Se realizó un estudio profundo de los diferentes perfiles que se utilizan para modelar los componentes encontrados en las galaxias para estudiar su estructura y poder realizar simulaciones que permitan modelar una galaxia y analizar la importancia de estos perfiles sobre la formación de éstas.

**Palabras clave** — galaxia, materia oscura, perfiles.

**Abstract** — A depth study of the different profiles used to model the components found in galaxies was carried out in order to study their structure and be able to carry out simulations that allow modeling a galaxy and analyzing the importance of these profiles on their formation.

**Keywords** — galaxy, dark matter, profiles.

### I. INTRODUCCIÓN

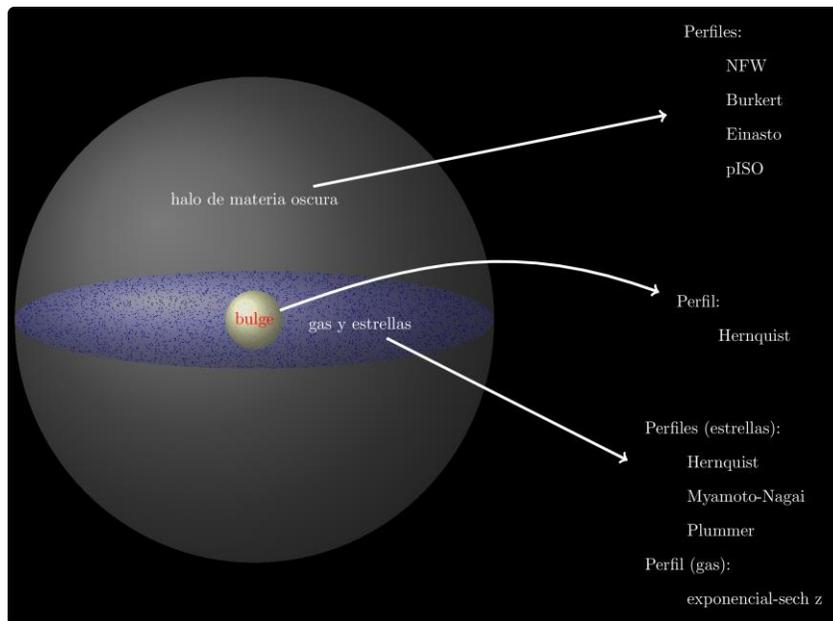
Actualmente se sabe que la composición del universo consta del 4% de materia bariónica, como electrones, protones, etc., mientras que el 96% corresponde a una materia desconocida, donde el 73% es materia gravitacionalmente repulsiva, denominada *energía oscura*, y el 23% corresponde a una materia gravitacionalmente atractiva denominada *materia oscura*. Ésta materia es parte fundamental de la estructura del cosmos, ya que funciona como un “esqueleto”, y es esencial para la formación y dinámica de las galaxias y cluster de galaxias.

Un reto que la sociedad científica tiene es encontrar la naturaleza de esta materia, ya que se han observado evidencias de su existencia. El primer registro que se tiene de la materia oscura es de Ernst Juluis Opik en 1922, el cual analizó la distribución de masa de la galaxia Andrómeda y concluyó que debería de contener más materia de la que observaba. La siguiente evidencia que se reportó sobre la materia oscura tiene su origen en la década de 1933, cuando Fritz Zwicky estudió el cúmulo de galaxias Coma Berenice y concluyó que debía de existir más materia que la observada para que la dinámica del cúmulo fuera estable, siendo el primero en plantear la materia oscura como un tipo de materia faltante para mantener al cúmulo unido. Sin embargo, no se consideró tema de interés sino hasta la década de 1977 cuando Vera C. Rubin, al medir la velocidad rotaciones de las estrellas cerca del centro de las galaxias, observó que la materia en las galaxias debía ser mayor de la que podía registrarse [1].

Con estas evidencias la sociedad científica a tratado de encontrar algún candidato para la materia oscura. Actualmente un modelo aceptado por los cosmólogos es el de la materia oscura fría, ya que simulaciones numéricas de la formación de la estructura con materia oscura fría concuerdan con la mayoría de las observaciones que se realizan [2].

## II. MARCO TEÓRICO

Las galaxias es un conjunto de componentes que consta de estrellas, gas y en ciertas galaxias



**Fig 1.** Esquema de los componentes de una galaxia donde se muestran algunos perfiles que pueden describirlos (imagen propia).

de un bulbo galáctico, como se muestra en la figura 1.

Pero un aspecto importante es que se ha considerado que las galaxias están inmersas en un halo de materia oscura, el cual interfiere en la dinámica de las mismas. Para poder estudiar lo componentes de las galaxias, se considera un disco tridimensional. Por ejemplo, para el disco gaseoso, considerando coordenadas cilíndricas, inmerso en un potencial con la misma simetría que el disco, las ecuaciones que tiene que cumplir son las siguientes:

$$\frac{1}{\rho_g} \frac{\partial p}{\partial r} + \frac{\partial \Phi}{\partial r} = \frac{v_{rot}^2}{r}, \quad (1a)$$

$$\frac{1}{\rho_g} \frac{\partial p}{\partial z} + \frac{\partial \Phi}{\partial z} = 0, \quad (1b)$$

donde  $\rho_g$  es la densidad del gas,  $p$  es la presión del gas,  $v_{rot}$  es la velocidad de rotación del gas y  $\Phi$  es el potencial. La ecuación (1a) describe el equilibrio entre la contribución gravitacional y la fuerza centrífuga junto con el gradiente de la presión. La ecuación (1b) describe el equilibrio hidrostático en todo el eje de simetría.

Para que el sistema sea autoconsistente, se incorpora también la ecuación de Poisson:

$$\nabla^2 \Phi = 4\pi G(\rho_g + \rho_{DM} + \rho_s), \quad (2)$$

donde  $\rho_{DM}$  es la densidad de materia oscura y  $\rho_s$  es la densidad del disco estelar.

#### A. Velocidad de rotación

Al integrar la ecuación 1b respecto a  $z$  se obtiene la siguiente igualdad:

$$\int_0^z \frac{1}{\rho} \frac{\partial p}{\partial z} dz = -\Phi_z(R, z). \quad (3)$$

Al integrar la ecuación (3) por partes, se obtiene:

$$\frac{p(r,z)}{\rho(r,z)} = \frac{p(r)}{\rho(r)} \Big|_{z=0} - \int_0^z \frac{p}{\rho^2} \frac{\partial \rho}{\partial z} - \Phi(r, z). \quad (4)$$

Y al insertar la ecuación (4) en la ecuación (1a) se obtiene:

$$\frac{v_{rot}^2}{r} = \frac{1}{\rho} \frac{\partial p}{\partial r} + \frac{\partial \Phi(r,z)}{\partial r} - \int_0^z \left( \frac{\partial \rho}{\partial z} \frac{\partial p}{\partial r} \frac{1}{\rho^2} - \frac{\partial \rho}{\partial r} \frac{\partial p}{\partial z} \frac{1}{\rho^2} \right) dz. \quad (5)$$

Considerando que la integral resulta cero, la ecuación (4) resulta:

$$v_{rot}^2 = r \frac{\partial \Phi}{\partial r} \Big|_{z=0} + (\gamma - 1) \frac{\partial \ln \rho}{\partial \ln r} \Big|_{z=0}. \quad (6)$$

#### B. Distribución de densidad

Considerando nuevamente el disco gaseoso, para cualquier sistema axisimétrico con densidad  $\rho_g(r, z)$ , la ecuación de Poisson se puede escribir como:

$$\frac{d^2\phi_g}{dz^2} = 4\pi G\rho_g + \frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial r}(rF_r), \quad (7)$$

donde  $F_r = -\partial\Phi/\partial r$  es la fuerza radial. Cuando  $z = 0$ , el primer término del lado derecho de la ecuación (7) se vuelve más grande que el segundo término, resultando en:

$$\frac{d^2\phi_g}{dz^2} = 4\pi G\rho_g. \quad (8)$$

Al derivar la ecuación (1b) respecto a  $z$  e insertando la ecuación (8) en el resultado, se obtiene la siguiente ecuación diferencial no lineal de segundo orden:

$$\frac{d^2p}{dz^2} - \frac{1}{\rho_g}\frac{d\rho_g}{z}\frac{dp}{dz} + \rho_g\left(4\pi G\rho_g + \frac{d^2\phi_{DM}}{dz^2} + \frac{d^2\phi_s}{dz^2}\right) = 0. \quad (9)$$

Ahora, considerando que el gas es barotrópico ( $p(\rho_g)$ ), dada la distribución de las estrellas, de la materia oscura y las condiciones iniciales:

$$\rho_g(r, 0) = \rho_0 \mathcal{Y} \frac{d\rho_g}{dz} = 0, \quad (10)$$

la ecuación (9) se puede resolver por integración numérica. Para un disco autogravitante, con un simple componente e isotérmico, la ecuación (9) tiene la siguiente solución:

$$\rho(r, z) = \rho_0 \operatorname{sech}^2(z/h), \quad (11)$$

donde  $\rho_0$  es la densidad del gas en el interplano y  $h = \sqrt{c_s^2/2\pi G\rho_0}$  la escala de altura. De acuerdo con la ecuación (11), la densidad de volumen  $\rho_0$  decrece con el radio.

### C. Distribuciones de densidad

Así como se encontró para el disco gaseoso una distribución que describiera la densidad en el disco estelar, también se han propuesto otros perfiles que pueden describir a este disco y a los demás componentes de las galaxias, Algunos de estos perfiles son propuestos a partir de simulaciones de la formación de galaxias, así como de un estudio profundo de los componentes. Algunos perfiles son:

- 1) *Perfil disco exponencial + sech-z*

Algunos estudios han asumido que el disco de gas tiene una forma exponencial. En general, esto da como resultado una distribución de densidad de superficie que alcanza su punto máximo en un radio específico distinto de cero. En este sentido, se propone el siguiente perfil de densidad:

$$\rho_g(r, z) = \rho_c \exp(-r/r_c) \operatorname{sech}^2(z/z_c). \quad (12)$$

### 2) Perfil Myamoto-Nagai

Myamoto y Nagai propusieron un perfil de densidad estelar que tiene la siguiente forma:

$$\rho_s(r, z) = \frac{b^2 M a r^2 + [a + 3(z^2 + b^2)^{1/2}][a + (z^2 + b^2)^{1/2}]^2}{4\pi \{r^2 + [a + (z^2 + b^2)^{1/2}]^2\}^{1/2} (z^2 + b^2)^{3/2}}. \quad (13)$$

### 3) Perfil NFW (Navarro-Frenk-White)

El perfil de NFW es una función de distribución para halos internos de materia oscura desarrollado a través de simulaciones cosmológicas de  $N$ -cuerpos realizadas por Julio Navarro, Carlos Frenk y Simon White [3]. Tiene la siguiente forma:

$$\rho_{DM}(r) = \frac{\rho_0}{(r/r_s)(1+r/r_s)^2}. \quad (12)$$

### 4) Perfil gNFW

Un perfil general fue introducido por Hernquist, y explorado por Zhao en 1996 y Wyithe en 2001, donde la ley de potencia interna, la ley de potencia externa y la nitidez de la transición son variables. Fue demostrado por Klypin et al. (2001) que estos parámetros son demasiado degenerados para que los datos realistas los restrinjan, y una opción común es dejar libre solo la pendiente de la ley de potencia interna para una función gNFW el cual se expresa como

$$\rho_{DM}(r) = \frac{\rho_0}{(r/r_s)^\gamma (1+r/r_s)^{3-\gamma}}, \quad (12)$$

donde  $\gamma$  es la pendiente de la ley de potencia interna.

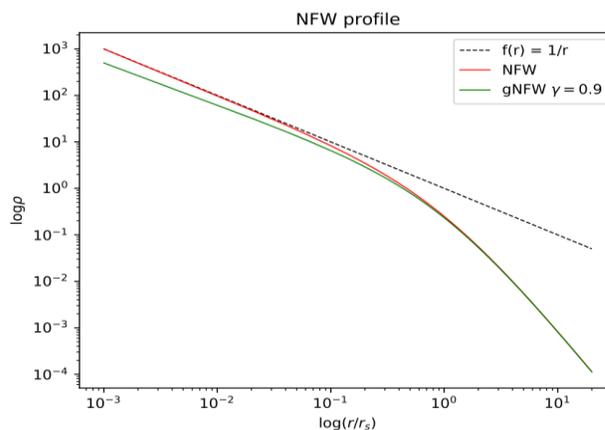
## III. MATERIALES Y MÉTODOS

Para poder realizar la comparación de los perfiles de densidad de materia oscura y de los componentes principales de una galaxia como el disco estelar, el gas y el bulge (bulbo galáctico), se utilizó el lenguaje python, el cual permite procesar los datos y visualizarlos.

#### IV. RESULTADOS

Los perfiles de cada componente presentan algunos parámetros que dependen de las galaxias, como la densidad central o los parámetros de longitud. Un ejemplo es el perfil de gNFW, el cual contiene el parámetro de la ley de potencia interna  $\gamma$ . Comparándolo con el perfil de NFW, se visualizan en la figura (2).

Cada perfil también se utiliza específicamente con cierto tipo de galaxias, como el perfil de Burkert, que se utiliza para caracterizar la densidad del halo de materia oscura de del bulbo



**Fig 2.** Comparación de los perfiles NFW y gNFW con una función de la forma  $f(r) = 1/r$ .

galáctico en galaxias enanas.

#### V. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Cuando se realizaron las gráficas para comparar los perfiles de los componentes, se notó que es importante estimar adecuadamente los parámetros que aparecen en las distribuciones ya que éstos dependen de la masa estimada de la galaxia, así como de la forma que tiene. Dependiendo de qué tipo de galaxias se esté estudiando, va a ser el perfil que se necesite.

#### VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La materia oscura es un tipo de materia fundamental para que la estructura del Universo pueda ser como actualmente la conocemos, ya que, de otro modo, el Universo no sería como lo observamos actualmente. La estructura de las galaxias, así como la dinámica de las mismas se ve afectada principalmente por el halo de materia oscura en el que está inscrita, por lo que es importante estudiar y encontrar la naturaleza de este tipo de materia.

## VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Agradezco a mi asesor, el doctor Alberto Hernández Almada por guiarme en esta investigación, así como a la Universidad Autónoma de Querétaro que me ha brindado las herramientas necesarias para poder llevarla a cabo. Así mismo, agradezco al Verano de la Ciencia de la Región Centro que me permitió realizar este acercamiento al tema de interés.

## REFERENCIAS

- [1] Matos, T. (2016). ¿De qué está hecho el Universo?, materia oscura energía oscura. México: Fondo de Cultura Económica.
- [2] Vázquez-González, A. & Matos, T. (2008). La Materia Oscura del Universo: Retos y Perspectivas. *Revista Mexicana de Física* 54(2). [193-202]. Recuperado de <https://rmf.smf.mx/ojs/index.php/rmf-e/article/view/4584>.
- [3] Navarro, J.F., Frenk, C.S., & White M., S.D. (1997). A Universal IDensity Profile from Hierarchical Clustering. *The Astrophysical Journal*. 490(2), [493-508]. doi: <https://doi.org/10.1086/304888>.

# POLIAMINAS Y LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE ASTAXANTINA EN HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS.

**Humberto David Resendiz De Lira**

Universidad Autónoma de Coahuila  
Carretera Torreón Matamoros Km. 7.5, Ejido el Águila,  
27275 Torreón, Coah.

[hresendiz@uadec.edu.mx](mailto:hresendiz@uadec.edu.mx)

**Laura Valdés Santiago**

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico  
Superior de Irapuato/Ingeniería Bioquímica, Carretera  
Irapuato – Silao km 12.5. Col. El Copal C.P. 36821 Irapuato,  
Gto.

[laura.vs@irapuato.tecnm.mx](mailto:laura.vs@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La astaxantina es producida por microalgas unicelulares como lo es *H. pluvialis* y es un potente antioxidante natural, de la familia de los carotenoides. Las poliaminas son moléculas alifáticas nitrogenadas de peso molecular bajo; la importancia de estas moléculas consiste en que se relacionan con procesos celulares como la división celular, el empaquetamiento de ácidos nucleicos y la replicación de ADN. El presente trabajo tiene como objetivo la producción de astaxantina, el crecimiento de *H. pluvialis* y la adición de diversas poliaminas por sus características bioquímicas en procesos celulares de crecimiento en la respuesta a condiciones de estrés.

**Palabras clave** — *caroteno, pigmento, putrescina, espermina, espermidina.*

**Abstract** — Antioxidants are molecules capable of slowing down or preventing the oxidation of other molecules. Astaxanthin is produced by unicellular microalgae such as *Haematococcus pluvialis* and is a powerful natural antioxidant from the carotenoid family. Polyamines are nitrogenous aliphatic molecules of low molecular weight. The importance of these molecules is that they are related to cellular processes such as cell division, packaging of nucleic acids, and DNA replication. The objective of this work was improved the production of astaxanthin, the growth of *H. pluvialis* by means of the exogenous addition of various polyamines due to their biochemical characteristics in cellular growth processes in response to stress conditions.

**Keywords** — *carotene, pigment, putrescine, spermine, spermidine.*

## I. INTRODUCCIÓN

*H. pluvialis*, es una microalga unicelular verde de agua dulce que tiene la capacidad de producir astaxantina a base de estrés y diferentes factores ambientales. (1)

La acumulación de astaxantina en *Haematococcus pluvialis* ocurre durante la transformación de la microalga desde el estado vegetativo (fase verde) a aplanoespora (fase roja) cuando acaba su crecimiento en la fase estacionaria. Los tipos de estrés que inducen a la acumulación de astaxantina son temperatura, intensidad lumínica, ciclos de luz/oscuridad, concentración de nutrientes, pH, especies reactivas de oxígeno, sales y presencia de inhibidores. Esta microalga es de difícil cultivo; así como en la obtención del pigmento en cantidades de interés, debido a su ciclo celular complejo. (2)

Hasta el momento el papel de las poliaminas en la producción y síntesis de astaxantina en *H. pluvialis* no se ha reportado. Se conoce que las poliaminas son capaces de inducir apoptosis,

participan en el ciclo celular, modulan el sistema inmune y participan en el balance redox del organismo. (3)

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### Material Biológico.

La cepa de microalga usada fue *Haematococcus pluvialis* (CIB68); que fue obtenida de la colección de microalgas de CIBNOR.

### Medio y condiciones de cultivo.

Se utilizó BBM como medio de cultivo con vitaminas (4) y asimismo con diferentes concentraciones de poliaminas como lo fueron los ensayos de 0.1 mM putrescina, 0.5 mM putrescina y 0.1 mM de espermidina con el propósito de comparar su crecimiento y la producción de carotenos.

Las condiciones de cultivo de *Haematococcus pluvialis* comenzaron con la intensidad de luz para el crecimiento de los tres ensayos por tres repeticiones a 2000 luxes que equivalen a  $32.07 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ . Los cultivos se realizaron en tubos de ensaye de capacidad de 30 mL aproximadamente con 1.6 mL de medio BBM y 0.4 mL de inóculo de *H. pluvialis* que contenía  $1.5 \times 10^4$  cel/mL. Se montó una cámara de luz hecha con cartón y tiras de luz Low CRI LED 3500K por un periodo de 24 hrs luz. Y los tubos fueron colocados en gradillas para que el paso de la luz fuera uniforme. Asimismo, se agitaron los tubos durante el día de manera manual.

Se preparó una solución concentrada de putrescina al 250 mM. La putrescina y espermidina fueron esterilizadas usando un filtro de jeringa (Acrodisc Premium 25 mm with GxF/0.45  $\mu\text{m}$  Nylon Membrane). A partir de la cual se preparó una concentración de 0.1mM-0.5mM de putrescina y 0.1 mM de espermidina.

### Cuantificación de crecimiento celular.

Cuantificación por cámara de Neubauer. El crecimiento celular de los ensayos se midió cada tercer día con el uso de una cámara de Neubauer.

Cuantificación de clorofila. Se llevo a cabo el conteo de clorofila de acuerdo con lo establecido por Arredondo y Voltolina, 2017(5).

Para la cuantificación de clorofila se tomaron 500 $\mu\text{L}$  de alícuota de cada muestra y se colocaron en tubos Falcón de 15 mL; se aforo a un volumen de 5 mL, se centrifugo a 5000 rpm por 10 min. Se decantó el sobrenadante y se cubrió los tubos con papel aluminio para evitar la fotooxidación; se añadieron 3 mL de acetona al 90%, posteriormente se resuspendió con la ayuda de un vortex por 30 seg; se sonicó los tubos por dos ciclos durante 5 min; después se dejó reposar durante 24 hrs a 4°C. Al pasar el tiempo se volvieron a sonicar las muestras con las mismas condiciones y se centrifugo igualmente; el sobrenadante obtenido (que contiene el pigmento) fue medido en el espectrofotómetro mediante celdillas de cuarzo y se leyeron a absorbancias de 664 y 647 nm.

## **Inducción y extracción de Astaxantina.**

### Inducción de Astaxantina.

Se conocen varias vías para la inducción de Astaxantina, pero la utilizada fue por medio de la limitación de nutrientes (6) y estrés lumínico, en el cual se juntaron todas nuestras muestras de los experimentos con sus respectivos triplicados. Y esto causa que a mayor concentración de biomasa y el nulo adiconamiento de medio, entren en estrés por la falta de nutrientes, asimismo se colocaron en la cámara de luz a una intensidad de 10,000 luxes que equivalen a  $160.37 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  utilizando SMD LED Flexible Strips lo que causó mayor estrés y aceleramiento en la carotenogénesis.

### Extracción de Astaxantina.

Se llevo a cabo la extracción de astaxantina de acuerdo con lo establecido por Nava (7), donde se hicieron unas modificaciones en cuanto a medidas, se tomó 3 mL de los medios de cultivos, después se contó en cámara de Neubauer cada muestra para tener un conteo de células y se centrifugó a 9000 rpm por 15 min a 10°C, posteriormente se decantó. Se agregó 1mL de agua destilada estéril y se sonicó por 90 seg, se centrifugó las muestras nuevamente, se decantó y se agregó 1mL de agua. El rompimiento celular se llevó a cabo por medio de congelación en el cual las muestras se introdujeron en nitrógeno líquido por unos segundos, después de descongelaron en un baño de agua, este procedimiento se realizó tres veces. Por último, se agregó 1mL de Metanol grado HPLC y se dejaron reposar durante un día. Una vez pasado el tiempo, se centrifugó las muestras a las mismas condiciones y se filtraron mediante un filtro de jeringa de teflón (Millipore Millex-GV, Hydrophobic PVDF 0.22  $\mu\text{m}$ ) donde antes de cada filtración de muestra se hizo una limpieza del filtro donde se pasaron 1 mL de agua destilada, 1 mL de Metanol grado HPL y 1 mL de Acetona, entre cada sustancia se llenó la jeringa con aire y se pasó por el filtro para eliminar los restantes de cada uno. Una vez limpio el filtro se tomó el sobrenadante de cada muestra y se pasó por este; el sobrenadante se colocó en tubos eppendorf, se etiquetaron y se colocaron en refrigeración a 4°C. Al día siguiente se descongelaron las muestras y se llevó a cabo la determinación cualitativa a 475 nm en UV-Vis.

## **Diseño de oligonucleótidos para el ensayo de qRT-PCR**

Para el diseño de primers para qRT-PCR se utilizó la página de NCBI se utilizó uno de los genes involucrados en la síntesis de astaxantina de de *H. pluvialis* siendo así: *Haematococcus pluvialis phytoene synthase mRNA, partial cds* y como control 18s.

**Imagen 1.-Control**

Nucleotide  [Create alert](#) [Advanced](#)

Summary  Sort by Default order

Items: 1 to 20 of 58

<< First < Prev Page 1 of 3 Next > Last >>

**1.** The following term was not found in Nucleotide: Haematococcus.  
 [Phytophthora pluvialis strain LC-9.2-020508 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, and internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence](#)  
 1,168 bp linear DNA  
 Accession: KC529657.1 GI: 490347492  
 Taxonomy  
 GenBank FASTA Graphics

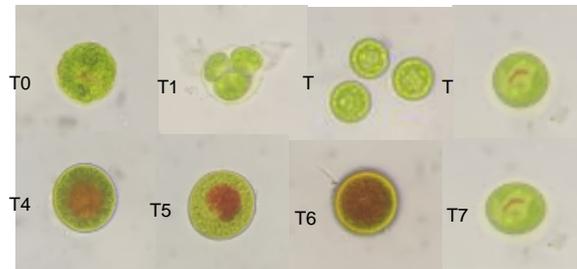
**III. RESULTADOS**

**Imagen 7.- Gen de interés**

Gene  [Save search](#) [Advanced](#)

clear

[Haematococcus pluvialis phytoene synthase mRNA, partial cds](#)  
 1,859 bp mRNA.  
 Old\_name: Haematococcus pluvialis.  
 Accession: AF305430 .1 GI: 13195242  
 GenBank FASTA Graphics

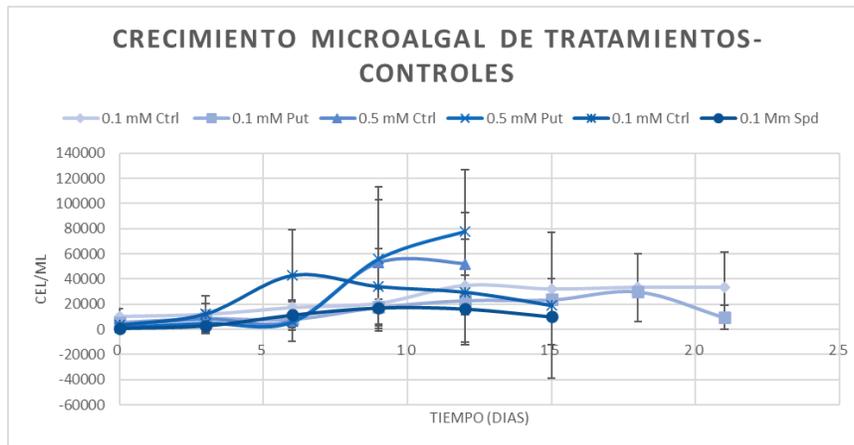


Morfología de *H. pluvialis* y efecto de la putrescina y la espermidina sobre el crecimiento de *H. pluvialis*.

**Imagen 3-** Ciclo de vida de *H. pluvialis* cuando se trasplantan cultivos anteriores a un nuevo medio, las células se dividen para formar células flageladas dentro de la pared celular, las células flageladas se detienen y se convierten en células nuevas. la luz continua acelera la acumulación de astaxantina.

Durante el ensayo se observaron las diferentes fases del ciclo de vida de *H. pluvialis* (Imagen 3).

Se pueden observar diferencias no significativas entre el control y el tratamiento con 0.1 mM de putrescina, aunque se puede ver que el tratamiento va por debajo del crecimiento del control y en los días 18 y 21 ya hay una gran caída por parte del tratamiento, lo que nos dice que el cultivo entro en fase de muerte (Gráfica 1).

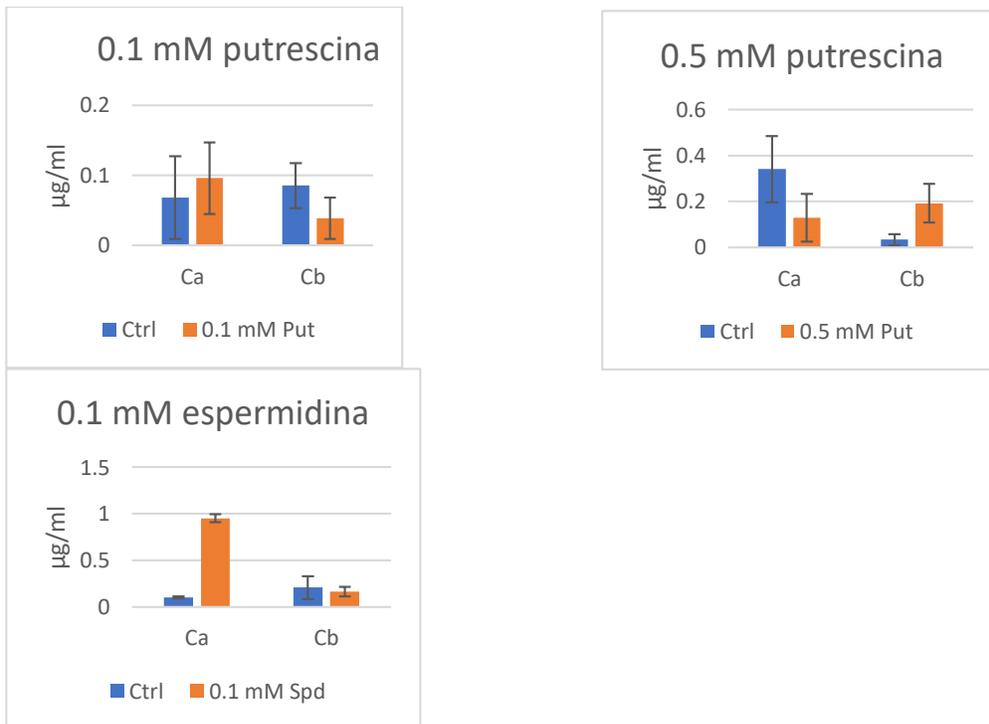


**Gráfica 1-** Crecimiento de la microalga *Haematococcus pluvialis*. en medio BBM los diferentes tratamientos ( $\text{cel}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), con intensidad de luz de  $32.07 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ . Las barras verticales indican el error estándar.

Durante el ensayo del tratamiento de 0.5 mM de putrescina, el crecimiento celular estuvo por debajo del tratamiento anterior, lo que dice que la microalga no se adaptó a una velocidad considerable al medio y al día 6 comenzó su fase exponencial de manera que duro así hasta el día 9 y quedo en fase estacionaria. Bajo estas condiciones no se apreciaron diferencias significativas.

También se observa que no hay diferencias significativas del control comparativamente con el tratamiento con espermidina 0.1 mM.

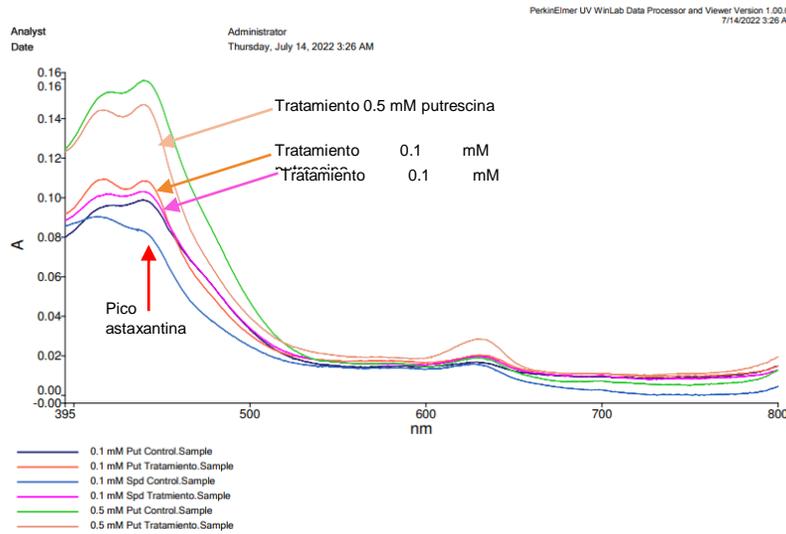
**Efecto de la putrescina y la espermidina sobre la producción de clorofila.**



**Gráfica 2, 3 y 4-** Datos del tratamiento 0.1 mM y 0.5 mM putrescina, asimismo 0.1 mM espermidina mediante fórmulas para la obtención de Ca y Cb, obtenidos al medir absorbancia 664 y 647 en espectrofotómetro.

**Efecto de la putrescina y la espermidina sobre la producción de astaxantina.**

Se conoce que pigmentos pueden absorber la luz específicamente en la región ultravioleta (UV) y el espectro visible, el resto se transmite o refleja. Mediante la estructura química de la astaxantina y la presencia de enlaces conjugados se puede saber y cuantificar con las técnicas espectrofotométricas. Astaxantina absorbe entre 250 y 550 nm, presentando un pico máximo en 476 nm (8).



**Grafica 5.-** Datos de tratamientos leídos en UV/Visible

En la gráfica 5 se observan 3 picos notables (derecha – izquierda) clorofila, astaxantina y carotenoides desconocidos. En el tratamiento 0.5 mM Putrescina se presenta el mayor pico de astaxantina en comparación de los otros tratamientos y el tratamiento que presentó el menor pico de astaxantina fue el 0.1 mM Espermidina.

**Diseño y selección de oligonucleótidos para qRT-PCR y tamaño de banda esperada.**

Las secuencias de los primers seleccionadas para el gen control 18s son:

FORWARD: GAGCTAATACGCGTATATCCCGA

REVERSE: AAGCCCGGCTGGCCTTTTAT

Las secuencias de los primers seleccionados para amplificar el gen *Haematococcus pluvialis phytoene synthase mRNA, partial cds* son:

FORWARD: GGATTTGCATAAGATCGAT

REVERSE: AAGCCCGGCTGGCCTTTTAT

**IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)**

Durante el ciclo de vida de *H. pluvialis* se presentó diferentes morfologías (Imagen 3), se observaron las fases de morfología que son microsoide(T0), macrosoide(T3), palmeloide(T6) y aplanoespora(T8).

Con base a las graficas 1, la putrescina 0.1 y 0.5 mM, así como la espermidina 0.1 mM no estimularon el crecimiento de la fase verde en *H. pluvialis*, que por el contrario en los resultados obtenidos por González Ibarra, (2021) quien observo que la poliamina putrescina estimulo el crecimiento de la microalga. Lo cual podemos inferir que se debe a el volumen de trabajo empleado, así como las condiciones ambientales,

A nivel fisiológico, la adición de poliaminas exógenas estimula el crecimiento de varias microalgas (9). Para la clorofila, en los datos obtenidos en las gráficas 2, 3 y 4 se puede apreciar la diferencia entre cada tratamiento, dando por visto que el tratamiento 0.1 mM

espermidina obtuvo una mayor concentración de Clorofila A, y el tratamiento 0.5 mM putrescina tiene mayor concentración de Clorofila B.

## V.CONCLUSIONES

El tratamiento 0.5 mM putrescina presentó la mayor presencia de astaxantina, mientras que por el contrario 0.1 mM espermidina tuvo el menor pico de presencia. Lo que puede indicar que la espermidina reprime la producción de astaxantina y la putrescina la estimula.

## VI.RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

A la Dra. Laura Valdés Santiago, que no permitió pertenecer a su proyecto y a su laboratorio, por su guía en el proceso de la estancia, así como su orientación y apoyo incondicional.

A la Dra. Alejandra Sarahí Ramírez Segovia por dirigirnos en la extracción y cuantificación de astaxantina.

A la Universidad Autónoma de Coahuila y Facultad de Ciencias Biológicas por el apoyo que se nos dio para llevar a cabo el verano de investigación.

A Yessenia, Lizbeth, Andrea y Carolina que desde el primer día nos orientaron en la universidad y nos brindaron su apoyo en todo momento.

## VII.REFERENCIAS

- [1] Cuero Amú, K. J., Domínguez Castillo, J. A., Espitia Sánchez, K. D., & Fuentes Cañón, L. A. (2019). Efecto de los factores de estrés acetato de sodio, alta irradianza y color de luz sobre la producción de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*
- [2] Camacho Kurmen, J. E., González, G., & Klotz, B. (2013). Producción de Astaxantina en *Haematococcus pluvialis* bajo diferentes condiciones de estrés. *Nova*, 11(19), 94-104.
- [3] Guasco Herrera, C., Chávez Servín, J. L., Ferriz Martínez, R. A., de la Torre Carbot, K., Elton Puente, E., & García Gasca, T. (2014). Poliaminas: pequeños gigantes de la regulación metabólica. *REB. Revista de educación bioquímica*, 33(2), 51-57.
- [4] Bischoff, H.W. & Bold, H.C. (1963): Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. - University of Texas Publications 6318: 1-95. - modified according to Starr, R.C. & Zeikus, J.A. (1993): UTEX - The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. - J. Phycol. 29(supplement S2): 1- 106. Andersen, R.A. (ed.) (2005): Algal culturing techniques, 578pp, Elsevier Academic Press, London.
- [5] Vega, B. O. A., & Lobina, D. V. (2017). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal
- [6] Nava Gómez, Beatriz. (2017). *Optimización del crecimiento y producción del carotenoide astaxantina por la microalga Haematococcus sp. en diferentes condiciones de cultivo* [Tesis de maestría no publicada]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- [7] Nava Gómez, Beatriz. (2017). *Optimización del crecimiento y producción del carotenoide astaxantina por la microalga Haematococcus sp. en diferentes condiciones de cultivo* [Tesis de maestría no publicada]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
- [8] Japanese Conference on the Biochemistry of Lipids (2008). *LipidBank Recuperado el 2015, de Carotenoid. Astaxanthin*: [http:// lipidbank.jp/cgi-bin/detail.cgi?id=VCA0002](http://lipidbank.jp/cgi-bin/detail.cgi?id=VCA0002)
- [9] Beigbeder, A., Vavadakis, M., Navakoudis, E., & Kotzabasis, K. (1995). Influence of polyamine inhibitors on light-independent and light-dependent chlorophyll biosynthesis and on the photosynthetic rate. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-biology*, 28, 235-242. DOI:10.1016/1011-1344(95)07113-G

# AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS DEL TRACTO DIGESTIVO DE *ACHROIA GRISELLA* PARA LA BIODEGRADACION DE POLIESTIRENO Y POLIETILENO

**Andrea Barba González**

Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Av. Universidad 940 Aguascalientes, Ags  
[al211295@edu.uaa.mx](mailto:al211295@edu.uaa.mx)

**Dra. Diana Issell Sandoval  
Cárdenas**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Cerro de las campanas S/N Col. Las Campanas  
[issell.sandoval@uaq.edu.mx](mailto:issell.sandoval@uaq.edu.mx)

**Resumen** — La acumulación de plástico es una problemática de gran relevancia en la actualidad, pues ha contribuido al deterioro ambiental. La biodegradación es una alternativa para contrarrestar dicho problema, pues permite aprovechar la actividad metabólica de microorganismos para degradar compuestos no sustentables. Mediante el siguiente trabajo se buscó analizar e identificar microorganismos aislados del microbioma de *Achroia grisella* capaces de degradar polietileno y poliestireno además de evaluar su capacidad biodegradativa. Por medio de ensayos gravimétricos y análisis morfológicos a nivel macroscópico y microscópico se logró identificar un consorcio capaz de degradar al menos el 6% de poliestireno, dicho consorcio se obtuvo después de alimentar al insecto con una dieta de poliestireno y cera, mientras que no se obtuvieron cultivos capaces de degradar el polietileno de alta densidad.

**Palabras clave** — Plástico, biodegradación, poliestireno, polietileno, ensayos gravimétricos, consorcios

**Abstract** — Recently, the accumulation of plastic is a problem of great relevance, as it has contributed to the environmental deterioration. Biodegradation presents an alternative to counteract this problem, since it takes advantage of the metabolic activity of microorganisms to degrade unsustainable compounds. We aimed to isolate and identify microorganisms from the *Achroia grisella* microbiome, capable of degrading polyethylene and polystyrene, in addition to evaluating the biodegradative capacity. By means of gravimetric tests and morphological analyzes at macroscopic and microscopic level, it was possible to identify a consortium capable of degrading at least 6% of polystyrene, which is enriched with diets supplemented with wax, while there was no bacteria capable of degrading polyethylene.

**Keywords** — Plastic, biodegradation activity, polyethylene, polystyrene, gravimetric tests, consortium .

## I. INTRODUCCIÓN

La generación y acumulación de plásticos, es una de las problemáticas ambientales a nivel global con mayor relevancia en la actualidad. Se estima que en el 2018, “la producción de plásticos en el mundo alcanzó casi los 360 millones de toneladas” y la demanda de plástico en el mundo por el tipo de resina, el polietileno representa (PE) 12.2 % y el poliestireno (PS) 6.4 % “(PlasticEurope, 2019). A pesar de que los plásticos se han convertido en una herramienta esencial para el desarrollo humano debido a su gran versatilidad y aplicación, estos no se deterioran con facilidad, por lo que su descomposición y oxidación natural es baja. El constante aumento de dicho material como residuo ha generado impacto relevante en el medio ambiente, pues su acumulación aminora la penetración de agua, disminuye la fertilidad, afecta en el crecimiento de floral perjudican ecosistemas en la invasión de flora y fauna (Vijaya & Mallikarjuna Reddy, 2008).

Dado al daño ecológico que los plásticos representan, con el paso del tiempo se han buscado alternativas para su eliminación. La biodegradación presenta una alternativa para dicho problema; consiste en el aprovechamiento de la actividad metabólica de diversos organismos, especialmente microorganismos, los cuales son capaces de alterar y transformar productos químicos o materiales específicos considerados desechos del medio ambiente, difíciles de degradarse por sí solos (Urbanek et al., 2018). Estudios de degradación microbiana han demostrado que aislados bacterianos y fúngicos son capaces de degradar poliestireno y polietileno. La degradación por microorganismos es rápida, pero se necesita más estudios sobre ello (Zhang et al., 2020). Es por ello por lo que se ha buscado obtener los aislados de microorganismos a partir del microbiota de otras macroespecies, dado a su disponibilidad en la naturaleza y que los productos de la degradación no contaminan.

Ciertos insectos han reportado actividad degradativa como lo son los gusanos de seda, *Galleria mellonella*, *Interpuctuctela sp.* y *Tenebrio molitor* (Kundungal H. et al., 2019). *Achroia grisella* es uno de los gusanos de seda más comunes a nivel mundial y vive como parásito en las colonias de los panales de abejas donde se alimenta de la cera (Chandel et al., 2003) La razón por la que dicho gusano tiene una capacidad degradativa se atribuye a la despolimerización que realiza el hospedero complementado por el trabajo ejercido por la microbiota intestinal.

El propósito del presente trabajo fue la búsqueda de consorcios degradativos de polietileno y poliestireno en el microbioma del gusano *A. grisella*, además del análisis cuantitativo de la actividad biodegradativa mediante un análisis gravimétrico con objeto de la búsqueda de alternativas en la degradación de plásticos para contrarrestar la acumulación de dicho residuo.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### ***Cultivo de larvas en alimentación con plásticos***

Para la obtención de los microorganismos aislados del *A. grisella* se sometieron larvas de estadios de desarrollo tres y cuatro a diversas dietas durante cuatro días. Previamente se sometió a la larva en estado de inanición por 24 horas. Se trabajó con 6 tratamientos de dietas, haciendo el experimento por duplicado. A continuación, se presentan las dietas en las que fueron sometidas las larvas

- Poliestireno 0.2 g (PS)
- Polietileno 0.2 g (PE)
- Poliestireno 0.2 g con dieta artificial 0.2 gr (PS+DA)
- Polietileno 0.2 g con dieta artificial 0.2 gr (PE+DA)
- Poliestireno 0.2 g con cera 0.2 gr ( PS+CE)
- Polietileno 0.2 g con cera 0.2 gr (PE+CE)

Durante 4 días las larvas se colocaron en una incubadora a 28°C con ciclos de luz-obscuridad 10:14h con una humedad relativa de 30-40%

### ***Obtención de consorcios para la biodegradación de plásticos***

Transcurrido el tiempo de incubación las larvas sometidas a dietas con distintos tratamientos fueron disectadas en zona aséptica. Las larvas se colocaron en alcohol al 75% y el intestino fue extraído y colocado en alícuotas de 2 ml de solución salina al 0.8% estéril. El homogenizado del microbiota intestinal de la larva se obtuvo mediante agitación en vórtex. Ya teniendo el homogenizado se procedió a la inoculación. Se prepararon cultivos con solución basal con la siguiente formulación

- 0.7gr de  $K_2HPO_4$
- 0.7 gr de  $K_2HPO_4$
- 0.7 gr de  $MgSO_4 \cdot H_2O$
- 1gr de  $NH_4NO_3$
- 0.002 gr de  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
- 0.005 gr de NaCl
- 0.002 de  $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$
- 0.001  $MnSO_4 \cdot H_2O$
- Ph ajustado a 7 con NaOH o HCL para un litro de medio de cultivo

Se colocaron 200 ml de las alícuotas con el homogenizado de intestino en matraces de con 25 ml de medio basal, además de que se añadió el plástico de interés usando aproximadamente 0.06 gr. Los matraces inoculados fueron incubados a temperatura ambiente a 100 rpm hasta observar turbidez o máximo 20 días. La turbidez fue un indicador de la presencia de consorcios capaces de degradar PE y PS, aquellos que no presentaran turbidez fueron desechados.

### ***Evaluación de la capacidad biodegradativa de los plásticos; ensayos gravimétricos***

Una vez que se presentó turbidez en los inóculos, se procedió a inocularlos por triplicado nuevamente en medio basal preparando dos sistemas, uno con PE y otro con PS colocando 1 ml del medio original. Después de 20 días se recuperó el plástico mediante filtración. Este fue lavado siguiendo la metodología de Hyeong Woo (2021). Se colocó el plástico recolectado con SDS durante cuatro horas a constante agitación y posteriormente se realizaron 3 lavados con metanol 1:10 para remover cualquier microorganismo existente. El plástico recuperado se pesó objeto de analizar el porcentaje de degradación.

Se seleccionaron los tratamientos donde hubo actividad degradativa. Mediante una prueba de t pareada con nivel de significancia de 0.05 con prueba de hipótesis de dos colas para diferencia de medio, se determinó la existencia de diferencias significativas entre pesos iniciales y finales para la evaluación de la biodegradación.

### **Descripción morfológica microscópica y macroscópica de microorganismos en consorcios**

Los inóculos seleccionados con diferencia significativa se cultivaron en medio basal sólido con una película de poliestireno para los cultivos correspondientes a PS y tiras de polietileno para los cultivos correspondientes. Se colocó 200 µl del inóculo y se sembró mediante extensión de superficie. Asimismo, se sembraron en agar con medio nutritivo. Las placas se incubaron a temperatura ambiente. La morfología se analizó mediante la visualización de las cepas, separación por estriado, microscopía y tinción de Gram.

### **Realización de conservas mediante crioprotectores**

Se procedió a realizar conservas de los inóculos con capacidad biodegradativa. Se colocó 200 µl de los inóculos de gravimetría en medio nutritivo líquido, y se incubó hasta presentar turbidez. Se realizó una solución crioprotectora con glicerol al 20% y leche svelty al 20% en proporción 50:50 de la cual se colocaron 600 µl de este junto con 600 µl del medio nutritivo en un tubo eppendorf con perlas previamente esterilizadas y lavadas con cloro. Subsiguientemente se eliminaron los remanentes de la solución. Las perlas se mantuvieron en el tubo y congelaron.

## **III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis de biodegradación**

Se visualiza en la tabla 1 los pesos promedio de las réplicas experimentales, además de los tiempos de degradación. Los tratamientos PS en estadio III se regresaron a estudio gravimétrico por diez días con objeto de validar la existencia o no de diferencia significativa. A pesar de que en la especie *A. grisella* se han reportado aumentos significativos en las tasas de consumo de los plásticos cuando los organismos se cultivaron con una dieta complementaria (Kundungal et al., 2019 a) mediante análisis estadístico con valores de p pareado se determinó que solamente el tratamiento de PS +DA en estadio III presentaba microorganismos con capacidad de biodegradación significativa. Esto se atribuye a que *A. grisella* son insectos que se alimentan fundamentalmente de cera de panales de abeja, por lo que la cera favorece al microbioma y por ende puede contribuir a un mejor desarrollo de microorganismos biodegradados de plástico (Omer Mahgoub et al., 2015)

No obstante, el rendimiento de biodegradación es de aproximadamente 6.2%, el cual es poco a comparación del 43% de pérdida de masa según lo reportado por Kundungal 2019. Esto podría nuevamente deberse a que los ensayos gravimétricos se realizaron solamente con el consorcio microbiano y no dentro del organismo. Asimismo, se propone que para un mejor rendimiento en la biodegradación el uso de pretratamientos de los plásticos con el fin de romper el polímero para facilitar su biodegradación por microorganismos. Tal sería el caso de inducir una exposición a la luz, la cual provoca agrietamiento en los plásticos, lo cual permite una mejor biodegradación (Kundungal et al., 2019 b). Igualmente, podrían realizarse

otros tratamientos como son la fotooxidación, tratamientos térmicos, y ácidos que ayuden a la previa oxidación de los plásticos.

**Tabla 1.** Análisis gravimétrico de PE y PS usando microorganismos aislados del tracto digestivo de *A. grisella* en estadio III y IV sometida a diferentes dietas.

Estadio	Dieta	Peso inicial		Peso final		tiempo de degradación	diferencia significativa
		promedio	desviación	promedio	desviación		
III	PS	0.0976	0.0074	-	-	30 días	-
III	PS+DA	0.0888	0.0025	0.0837	0.0040	20 días	no
III	PE+CE	0.0869	0.0023	0.0815	0.0020	20 días	si
IV	PS	0.0976	0.0074	0.0955	0.0085	20 días	no
IV	PS+CE	0.0861	0.0016	0.0839	0.0007	20 días	no
IV	PS+DA	0.0870	0.0048	0.0820	0.0087	20 días	no

Los inóculos provenientes de dietas con polietileno no presentaron turbidez después de diez días por lo que fueron desechados. Se considera que la razón por la que sucedió esto es debido a las propiedades fisicoquímicas del polietileno. El polietileno que se utilizó fue de alta densidad el cual “se caracteriza por ser una cadena de polímero lineal larga con alta grado de cristalinidad y baja ramificación que conduce a propiedades de alta resistencia” (ECOCE A.C., 2019). Debido a que la biodegradación por acción microbiana consiste en un conjunto de procesos de oxidación y hidroxilaciones de las cadenas del polímero mediante actividad enzimática, se infiere que debido a longitud de la cadena utilizado en este caso el polipapel fue un material no posible para degradar por microorganismos aislados de la microbiota, pues “ la alta hidrofobicidad, gran energía de enlace y alto peso molecular del polietileno suelen afectar en la eficiencia de degradación en la mayoría de las cadenas, especialmente en pequeños lapsos de tiempo” (Ren et al., 2019). Por lo tanto el polietileno utilizado y del tiempo de incubación fueron factores que influyeron en el resultado.

Se podría mejorar la metodología fortaleciendo el enriquecimiento del homogenizado intestinal, este haciendo uso primero de un medio nutritivo para favorecer el crecimiento bacteriano y posteriormente inocularlos a medios basales con plástico, para así lograr un mejor desarrollo de la carga microbiana en la biodegradación de plásticos (Hyeon Woo, 2021).

Es necesario resaltar que si se ha reportado degradación de polietileno de alta densidad por *A. grisella*. Según Kundugal et al 2019 reporta que el gusano en dieta directa con polietileno de alta densidad es capaz de degradar un aproximado de  $43.3 \pm 1.6\%$  del plástico. No obstante, estos ensayos se realizaron *in vivo* y no de aislados intestinales, por lo que se infiere que existen otros factores dentro del microbioma del gusano que aumentan la eficiencia de la biodegradación de plásticos. “Las cadenas largas de hidrocarburos son inicialmente despolimerizadas por el hospedero y liberan las largas cadenas de ácidos grasos que subsecuentemente serán metabolizadas por la microbiota del estómago” (Rodríguez 2021).

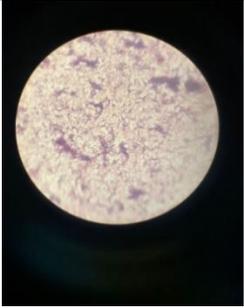
### **Análisis morfológico de los cultivos obtenidos**

La tabla 2 presenta la descripción morfológica a nivel microscópica y macroscópica en medio de cultivo nutritivo sólido del tratamiento de cera con poliestireno, el cual fue el único experimento que presentó una diferencia significativa en el estudio biodegradativo.

Analizando la primera cepa descrita según su morfología a nivel de cultivo y de tinción se podría inferir que posiblemente esta bacteria forme parte del género de *Acinetobacter*. Esto debido a que “en medio sólido normalmente forma colonias lisas, algunas veces mucoides, su tamaño es comparable con las producidas por enterobacterias (0.5-3.0 mm de diámetro), son convexas, de bordes enteros, blanco grisáceo y mucosas” (Zuleima 2005) esto coincide con los resultados obtenidos visualizados en la imagen de la tabla 2. Asimismo, la morfología microscópica y tinción Gram de *Acinetobacter sp* son bacilos o cocobacilos gram negativos. Esto se deduce dado a según lo reportado por Hyeong-woo (2021) en estudios de identificación de bacterias degradadoras de plástico en suelo “mediante secuenciación de 16 rRNA las bacterias aisladas procedían principalmente a dos géneros *Acinetobacter* y *Pseudomonas*”.

Con respecto a la otra cepa visualizada se colige que debido a su morfología y tinción sean parte de las colonias de *Bacillus* o *Serratia*, esto debido a que ambas son bacilos gram positivas y además de que tienden a agruparse las colonias morfológicamente en medios sólidos. Igualmente, esto se infiere debido a que según estudios realizados en el 2021 con el gusano *Gallería mellonella* “El análisis del microbioma intestinal reveló que *Bacillus* y *Serratia* estuvieron significativamente asociadas con la dieta de PE y PS, respectivamente.” (Rodríguez 2021). A pesar de que la experimentación se realizó con *A. grisella*, se estima que debido a que ambos gusanos son productores consumidores y productores de cera, podrían tener similitudes en su microbioma y metabolismo degradativo.

**Tabla 2. Análisis morfológico de tratamientos con diferencia significativa en biodegradación de plásticos**

Tratamiento	Morfología macroscópica	Foto macroscópica	morfología microscópica	Micrografía
PS + CE III	<p>Se visualizan dos colonias en el agar nutritivo.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Colonias circulares con elevación convexa de un tamaño aproximadamente de 0.5 cm con color blanquecino cremoso, las colonias se encuentran notoriamente separadas con bordes redondeados.</li> <li>Colonias cremosas con elevación plano convexa. Presenta una forma puntiforme y con color blanco; sin embargo, la separación entre colonias no existe, se encuentran aglomerados. Tamaño aproximado de 0.1cm</li> </ol>		<p>Se corroboran las dos morfologías.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Estreptococos y cocos Gram negativos</li> <li>Estreptobacilos Gram negativos</li> </ol>	

Queda claro que lo analizado solamente son deducciones preliminares según la microscópica y la morfología de las colonias, por lo que se recomienda complementar con otras técnicas para poder aumentar la especificidad de identificación de los microorganismos. Mediante medios selectivos se permitirá descartar especies bacterianas y así facilitar la identificación. Asimismo, mediante biología molecular con secuenciación de 16 rna, es posible identificar las cepas bacterianas de una manera más exacta.

#### IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Queda evidenciado que el microbiota procedente de *A. grisella* presenta microorganismos capaces de biodegradar plástico, haciendo énfasis específicamente en poliestireno y favorecido por dietas complementadas con cera en gusanos en estadio III. Según la experimentación el rendimiento presentado de la actividad biodegradativa es poca a comparación de otros reportes, por lo cual es sugiere mejorar la metodología con respecto al enriquecimiento de inóculos, pretratamientos de plásticos y análisis de factores intrínsecos del gusano. La aplicación de la biodegradación de plásticos es de gran relevancia en la actualidad como búsqueda de alternativas para la disminución de la acumulación de estos residuos, por lo que la investigación sobre estos microorganismos es de gran relevancia para su aplicación futura para contrarrestar las problemáticas ambientales que la acumulación de este residuo ha generado.

#### V. AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Verano de la Región Centro, así como la Universidad Autónoma de Aguascalientes y Universidad Autónoma de Querétaro por permitirme vivir esta oportunidad para complementar mi formación. A la Doctora Diana Issell por recibirme y compartirme de sus conocimientos. Agradezco a mis amigos que conocí durante mi estancia y a mi compañera de trabajo Sophie que siempre estuvo para apoyarme. Finalmente agradezco a mi familia y maestros que siempre me motivaron.

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] ECOCE A.C. Plan de manejo ecoce. *Ecología y Compromiso Empresarial*. [https://www.ecoce.mx/assets/pdf/plan\\_nacional/PLAN\\_NACIONAL\\_PRIVADO\\_COLECTIVO\\_DE\\_MANEJO\\_DE\\_RESIDUIS\\_DE\\_ENVASES\\_Y\\_EMPAQUES\\_2019\\_SEMARNAT.pdf](https://www.ecoce.mx/assets/pdf/plan_nacional/PLAN_NACIONAL_PRIVADO_COLECTIVO_DE_MANEJO_DE_RESIDUIS_DE_ENVASES_Y_EMPAQUES_2019_SEMARNAT.pdf) (2021)
- [2] Hyeong Woo K, Hui J, Ye-bin K, et atl. Biodegradation of polystyrene by bacteria form the soil in common environments. *Journal of Harzardous Materials*. (2021) vol 416 p126239
- [3] Kundungal, H., Gangarapu, M., Sarangapani, S., Patchaiyappan, A. & Purushothaman, S.D. Efficient biodegradation of polyethylene (HDPE) waste by the plastic-eating lesser waxworm (*Achroia grisella*). *Environmental Science and Pollution Research*, (2019) Vol 26, pp;18509–18519
- [4] Omer Mahgoub, M., Hong Lau, W., & Bin Omar, D. Observations on the Biology and Larval Intars Discrimination of Wax Moth *Achroia grisella* F. (Pylalidae: Lepidoptera). *Entomology*, ( 2019). Vol 148, pp 148–162.

- [5] Rodríguez A. Biodegradación de espumas plásticas por larvas de insectos, ¿una estrategia sustentable? Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de estudios superiores Zaragoza. Chihuahua, México (2019)
- [6] Yang, S. S., Brandon, A. M., Andrew Flanagan, J. C., Yang, J., Ning, D., Cai, S. Y., Fan, H. Q., Wang, Z. Y., Ren, J., Benbow, E., Ren, N. Q., Waymouth, R. M., Zhou, J., Criddle, C. S. & Wu, W. M. . Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor Linnaeus*): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere* (2019), vol 191, ppp 979–989.
- [7] Zuleima E, Nieves B. *Acinetobacter spp*; Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. Laboratorio de bacteriología “Dr Roberto Gabaldon” Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida.(2005)
- [8] Zhang, F., Zhao, Y., Wang, D., Yan, M., Zhang, J., Zhang, P., Ding, T., Chen, L., & Chen, C. . Current technologies for plastic waste treatment: A review. *Journal of Cleaner Production*, 282, 124523. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro> (.2020) . Vol, 124523

# EFEECTO DE LA LUZ UV SOBRE LA MICROBIOTA DEL JUGO DE CAÑA

**Karen Vianney Caudillo Alcalá**

Instituto Tecnológico Superior De Purísima del Rincón Dirección:  
Blvd. del Valle 2301, Guardarrayas, 36425 Gto.  
[Lrs19110769@purisima.tecnm.mx](mailto:Lrs19110769@purisima.tecnm.mx)

**Raúl Reyes Bautista**

Instituto Tecnológico Superior De Purísima del Rincón  
Dirección: Blvd. del Valle 2301, Guardarrayas, 36425 Gto.  
[raul.rb@purisima.tecnm.mx](mailto:raul.rb@purisima.tecnm.mx)

**Resumen** — Existen numerosos métodos de conservación del jugo de caña de azúcar, incluidos métodos químicos, térmicos y no térmicos. Entre las diversas técnicas se encuentra la pasteurización la cual está siendo ampliamente utilizada para conservar el jugo de caña de azúcar. Sin embargo, la pasteurización provoca la pérdida de sabor, aroma, color, gusto y nutrientes esenciales. Recientemente, los métodos no térmicos están ganando mayor atención para la conservación de jugos frescos, que pueden mantener los atributos nutricionales y sensoriales. El tratamiento con luz Ultra Violeta (UV) a dosis bajas de energía podría representar una alternativa al procesamiento térmico, para eliminar microorganismos patógenos mientras se mantiene la calidad en el jugo de caña de azúcar reconstituido. En el presente estudio se encontró que dosis de irradiancia 42.86 J/cm<sup>2</sup> mostró una reducción en la carga microbiana del jugo de caña.

**Palabras clave** — Ultravioleta, jugo de caña, microbiota

**Abstract** — In the health-conscious consumer-driven market, sugarcane juice competes with other beverages and sugarcane producers are reaping the economic benefits. However, due to its high sugar contents, microbial incursion and enzymatic degradation occurs in a short time so methods are sought to improve your life. Numerous methods of preserving sugarcane juice, including chemical, thermal, and non-thermal methods. Among the various techniques that are in vogue, pasteurization is being widely used to preserve sugarcane juice. However, pasteurization causes the loss of flavor, aroma, color, taste, and essential nutrients. Recently, non-thermal methods are gaining increased attention for the preservation of fresh juices, which can maintain nutritional and sensory attributes. UV treatment with low energy doses could represent a valid alternative to thermal processing to eliminate pathogenic microorganisms while maintaining quality in reconstituted sugarcane juice

**Keywords** — Ultraviolet, sugarcane juice, microbiota

## I. INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es un producto agrícola importante en términos de producción de azúcar de mesa (sacarosa cristalina) la cual contiene minerales y ácidos orgánicos que ejercen diversos beneficios para la salud [1]. El tallo de la caña de azúcar consiste en una corteza externa de células de paredes gruesas, que encierra tejido de parénquima más blando y haces vasculares; la corteza y los haces vasculares constituyen la porción fibrosa; y el parénquima constituye la médula. Este contiene 80% de agua y 20% de sólidos solubles totales (TSS), y la actividad del agua y el valor del pH son 0.99 y [4.6, respectivamente [2].

Debido a su sabor dulce y su excelente aroma, el jugo de caña de azúcar también se

consume en todo el mundo, especialmente en los países tropicales [3]. India es el segundo mayor productor de caña de azúcar después de Brasil.

El jugo de caña de azúcar es la bebida más popular en la India, donde es valorado por su sabor y aroma dulce. Sin embargo, el jugo de caña de azúcar se extrae recién a través de la trituradora mecánica y se vende al público por vendedores ambulantes; por lo tanto, se prepara y vende en condiciones antihigiénicas y en mercados informales.

Como el jugo contiene altas cantidades de azúcar en material acuoso, es propenso a la degradación enzimática y microbiana de la calidad. Según Yusof et al. [4], sin un almacenamiento adecuado para el jugo recién extraído, apenas puede durar un día a temperatura ambiente, mientras que el enfriamiento a 4 ° C puede extender su vida útil hasta 5 días. La degradación de las cualidades, que no es apta para el consumo, está marcada por el olor desagradable, la formación de ácido, el aumento de la viscosidad y el cambio de color. Estos cambios son aportados por el crecimiento microbiano debido al procedimiento de extracción antihigiénica, la acción del polifenol oxidasa (PPO) y la reacción de destrucción de sacarosa que aceleran la degradación enzimática y el crecimiento microbiano que influyen en el pH y la viscosidad [5].

La comercialización de este jugo a menudo implica el uso de calor para reducir el número de carga microbiana e inactivar las enzimas que contribuyeron al deterioro. Sin embargo, el uso de calor puede causar alguna alteración indeseable en las características fisicoquímicas y nutricionales del jugo de caña de azúcar. Por ejemplo, se demostró que el calor reduce la claridad, el sólido soluble total y las propiedades antioxidantes del jugo [6].

En comparación con el procesamiento térmico, el tratamiento no térmico puede preservar su contenido nutricional, así como el sabor del jugo fresco. Por ejemplo, el ultrasonido se ha probado en jugo de caña de azúcar y ha conservado con éxito la mayor parte de las características fisicoquímicas del jugo, aunque su efectividad para reducir la carga microbiana es inferior al tratamiento térmico [6]. Mientras tanto, el procesamiento de alta presión (HPP), que utiliza presión pesada de corta duración, demostró ser más efectivo para reducir el crecimiento microbiano y desactivar la enzima de deterioro en ciertos jugos de frutas [7]. El homogeneizador de alta presión (HPH) también demostró excelentes resultados de conservación en jugo de frutas [8].

La luz ultravioleta (UV) es una de esas tecnologías que ha demostrado ser eficaz contra muchos tipos de patógenos alimentarios y microorganismos de deterioro de los alimentos, incluidos virus y protozoos [9].

En zumos y derivados de frutas, muchos autores han estudiado el efecto germicida de la irradiación UV sobre varios microorganismos [10] irradiaron cepas de *Escherichia coli* (K-12 y O157:H7), *Salmonella* (enteriditis y typhimurium) y *Listeria monocytogenes* (AS-1 y M24- 1) en solución tampón de fosfato y en jugo de manzana clarificado. *S. typhimurium* [11] llegó a ser el más sensible a la radiación ultravioleta con un tiempo de reducción decimal de 0,27 min, mientras que *Listeria monocytogenes* AS-1 llegó a ser el más resistente con un valor de 1,26 min. [12] utilizaron con éxito la irradiación UV para reducir la carga microbiana en diferentes jugos y néctares de frutas.

En el jugo de manzana clarificado, lograron reducir en más de 7 ciclos logarítmicos la población de E. coli con una dosis de 1377 J / L, mientras que una dosis de 230 J / L fue suficiente para reducir el recuento de microorganismos mesófilos aeróbicos en 3,5 ciclos de registro y 3 ciclos de registro para mohos y levaduras. En zumo de naranja con un contenido celular entre el 7,5 y el 10% en peso y tras una dosis de radiación de 1607 J/L, se obtuvieron reducciones de sólo 0,3 ciclos logarítmicos para mesófilos, mohos y levaduras aeróbicas.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### *Tratamiento UV*

Se utilizó una lámpara de luz UV (modelo HNS g30t8/0F g13) de mercurio de baja presión de 30 W con un largo de 895.0 mm y un diámetro de 26 mm, instalada en una campana de flujo laminar, para determinar la dosis de irradiación adecuada para un efecto germicida, el jugo se expuso a una distancia no mayor a 5 cm de la lámpara, colocando unas plataformas para obtener este acercamiento, en una cantidad de 15 mL contenida en recipientes.

### *Cálculo de la dosis*

La irradiación  $I$  de la lámpara se midió, obteniendo el área de la plataforma que contenía los recipientes de jugo de caña de azúcar. La exposición radiante (dosis), definida como la energía suministrada por unidad de superficie de luz UV, se calculó utilizando la siguiente fórmula

$$D = I \times t$$

donde  $I$  era 0.04761 W/cm<sup>2</sup> y  $t$  era el tiempo (s) de exposición. Las dosis aplicadas al jugo de caña de azúcar reconstituido fueron, por 2.85, 14.28, 28.57 y 42.85 J/cm<sup>2</sup>, basadas en tiempos de tratamiento de 60, 300, 600 y 900 s, respectivamente.

### *Cuenta de carga bacteriana y fúngica*

Los recuentos totales de placas (TPC) de las muestras de jugo de caña de azúcar se determinaron utilizando el método de recubrimiento de propagación en placas estériles de Agar Cuenta Estándar (Método Estándar) (MERCK, Alemania) suplementadas con antifúngico (Ketoconazol 40 mg/mL) añadiendo la cantidad de 20 µL en la superficie de la placa esparciendo en su totalidad. Los recuentos de levaduras y hongos (YMC) también se determinaron utilizando un método de recubrimiento extendido, pero en placas estériles de agar dextrosa de papa (PDA) (Merck, Alemania) suplementadas con antibiótico (Kanamicina 50 mg/mL) de igual forma añadiendo 20 µL en cada placa. Se utilizó el método de dilución para la extensión de las muestras de jugo de caña de azúcar, las cuales se diluyeron en serie (10<sup>-1</sup>–10<sup>-3</sup>) en solución de agua peptonada (Merck, Alemania). Las muestras en cada factor de dilución se aplicaron en cada caja (0.1 mL) en PCA y PDA para TPC e YMC, respectivamente. Las placas Método estándar fueron inoculadas a 37 ± 1 °C durante 48

horas y las placas con PDA a  $25 \pm 1$  °C durante 5-7 días antes de que se realizara el conteo. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias (log UFC/mL) del jugo de caña de azúcar [13]. Los recuentos (TPC Y YMC) se realizaron por cada una de las dosis de irradiación en el jugo de caña para su posterior análisis.

#### IV. RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestra el efecto de los distintos tratamientos de luz UV sobre el jugo de caña, se puede apreciar que altas dosis de exposición reducen la microbiota de bacterias, así como de hongos y levaduras, encontrándose que a dosis de  $42.86 \text{ J/cm}^2$  no se detectó crecimiento microbiano para los dos tipos de organismos identificados.

**Tabla 1.** Efecto de la luz UV sobre la microbiota del jugo de caña.

Tratamiento		Bacterias	Hongos y Levaduras
		log UFC/mL	
Control		$5.40 \pm 0.09^a$	$5.18 \pm 0.41^a$
Dosis ( $\text{J/cm}^2$ )	2.86	$5.19 \pm 0.1^b$	$4.46 \pm 0.29^{a,b}$
	14.29	$3.45 \pm 0.1^c$	$4.28 \pm 0.5^b$
	28.57	$3.24 \pm 0.64^c$	$3.39 \pm 0.125^c$
	42.86	ND*	N D

\*Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). \*ND= No detectado

#### V. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

En general, el jugo de caña de azúcar puede descomponerse rápidamente debido al alto contenido de humedad, nutrientes y azúcares, los cuales sirven como un ambiente perfecto para que crezcan los microorganismos de que podrían causar su deterioro. Los microorganismos comunes responsables del deterioro en el jugo de caña de azúcar son *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Aspergillus*, *Monila*, *Penicillium*, *Saccharomyces*, *Candida* y *Torulopsis* [14].

Los tratamientos en UV que se aplicaron en el presente trabajo para reducir la población microbiana y mantener la seguridad del jugo de caña de azúcar se expresan en la tabla 1. Está bien establecido que a una irradiancia de  $14.29$  y  $28.57 \text{ J/cm}^2$  tiene la capacidad de reducir significativamente la microbiota en el jugo de caña. Huang et al. [7] informaron que la pasteurización térmica a  $97 \pm 1$  °C durante 60 s en jugo de caña de azúcar puede reducir la actividad microbiana a menos de 2 log UFC/mL. Todos los tratamientos de UV presentaron

una disminución de crecimiento microbiano tanto en PCA como en PDA. Esto podría atribuirse a la capacidad de irradiación a niveles letales para el crecimiento microbiano [15].

Se obtuvieron recuentos por debajo del límite de detección (1 log UFC/mL) para los tratamientos evaluados en una irradiación de  $42.86 \text{ J/cm}^2$  por lo que se determinó como no detectado, que indican una inactivación satisfactoria de la flora microbiana inoculada. En un tiempo de 15 min.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se observó una correlación negativa ( $r < 0$ ) entre la dosis y la carga microbiana en el jugo de caña.
- La dosis de irradiación  $D = 42.86 \text{ J/cm}^2$  mostró un efecto letal contra la microbiota del jugo de caña.
- Se encontró mayor resistencia a la radiación UV en hongos y levaduras que en bacterias.
- Se recomienda para próximos trabajos obtener un acercamiento del jugo a la lámpara UV para disminuir el tiempo de exposición.

## VII. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento al Instituto tecnológico Superior de Purísima del Rincón, al Maestro Gustavo Hernández y al Doctor Raúl Reyes por el apoyo y la asesoría de este proyecto, así como el permitirme participar en el proyecto, en este 24 Verano de la Ciencia de la Región Centro Junio-agosto 2022.

## REFERENCIAS

- [1] M. A. Arbex, G. M. Böhm, P. H. N. Saldiva, G. M. S. Conceição, A. C. P. III, and A. L. F. Braga, "Assessment of the Effects of Sugar Cane Plantation Burning on Daily Counts of Inhalation Therapy," *J. Air Waste Manage. Assoc.*, vol. 50, no. 10, pp. 1745–1749, Oct. 2000, doi: 10.1080/10473289.2000.10464211.
- [2] O Silva and F. A Gallo, "Sugarcane Juice Processing: Microbiological Monitoring," *J. Food Process. Technol.*, vol. 7, no. 8, 2016, doi: 10.4172/2157-7110.1000607.
- [3] N. Mansor, S. Ramli, S. H. Azhari, and M. H. Abd Rahim, "Effects of different preservation treatments on nutritional profile on juices from different sugar cane varieties," *Sains Malaysiana*, vol. 49, no. 2, pp. 283–291, 2020, doi: 10.17576/jsm-2020-4902-06.
- [4] S. Yusof, L. S. Shian, and A. Osman, "Changes in quality of sugar-cane juice upon delayed extraction and storage," *Food Chem.*, vol. 68, no. 4, pp. 395–401, Mar. 2000, doi: 10.1016/S0308-8146(99)00180-6.
- [5] H. Y. M. Qudsieh, S. Yusof, A. Osman, and R. A. Rahman, "Physico-chemical changes in sugarcane (*Saccharum officinarum* var yellow cane) and the extracted juice at different portions of the stem during development and maturation," *Food Chem.*, vol. 75, no. 2, pp.

- [6] 131–137, Nov. 2001, doi: 10.1016/S0308-8146(00)00294-6.
- [7] S. Hajar-Azhari, R. Shahrudin, and M. H. A. Rahim, “The effect of heat treatment and sonication on physicochemical and colour attributes of yellow sugarcane juice,” *Malaysian Appl. Biol.*, vol. 47, no. 5, pp. 129–134, 2018.
- [8] H.-W. Huang, Y. H. Chang, and C.-Y. Wang, “High Pressure Pasteurization of Sugarcane Juice: Evaluation of Microbiological Shelf Life and Quality Evolution During Refrigerated Storage,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 8, no. 12, pp. 2483–2494, Dec. 2015, doi: 10.1007/s11947-015-1600-2.
- a. Bevilacqua, D. Campaniello, and M. Sinigaglia, “Use of High Pressure Processing for Food Preservation,” in *Application Of Alternative Food-Preservation Technologies To Enhance Food Safety And Stability*, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, 2010, pp. 114–142. doi: 10.2174/978160805096311001010114.
- [9] J. A. GUERRERO-BELTRAN and G. V. BARBOSA-CANOVAS, “REDUCTION OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE, ESCHERICHIA COLI AND LISTERIA INNOCUA IN APPLE JUICE BY ULTRAVIOLET LIGHT,” *J. Food Process Eng.*, vol. 28, no. 5, pp. 437–452, Oct. 2005, doi: 10.1111/j.1745-4530.2005.00040.x.
- i. A. Gabriel and H. Nakano, “Inactivation of Salmonella, E. coli and Listeria monocytogenes in phosphate-buffered saline and apple juice by ultraviolet and heat treatments,” *Food Control*, vol. 20, no. 4, pp. 443–446, Apr. 2009, doi: 10.1016/j.foodcont.2008.08.008.
1. Ibarz, A. Garvín, and V. Falguera, “Ultraviolet in Food Preservation and Processing,” *Conv. Adv. Food Process. Technol.*, vol. 9781118406328, pp. 411–436, 2014, doi: 10.1002/9781118406281.ch17.
- [10] M. Keyser, I. A. Müller, F. P. Cilliers, W. Nel, and P. A. Gouws, “Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 9, no. 3, pp. 348–354, Jul. 2008, doi: 10.1016/j.ifset.2007.09.002.
- [11] S. Adulvitayakorn, S. Azhari, and H. Hasan, “The effects of conventional thermal, microwave heating, and thermosonication treatments on the quality of sugarcane juice,” *J. Food Process. Preserv.*, vol. 44, no. 2, Feb. 2020, doi: 10.1111/jfpp.14322.
- [12] S. Sankhla, A. Chaturvedi, A. Kuna, and K. Dhanlakshmi, “Preservation of Sugarcane Juice Using Hurdle Technology,” *Sugar Tech*, vol. 14, no. 1, pp. 26–39, Mar. 2012, doi: 10.1007/s12355-011-0127-8.
- [13] J. A. Cañumir, J. E. Celis, J. de Bruijn, and L. V. Vidal, “Pasteurisation of Apple Juice by Using Microwaves,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 35, no. 5, pp. 389–392, Aug. 2002, doi: 10.1006/fstl.2001.0865.

## PROGRAMACIÓN DE PERFILES DE MASAS DE CÚMULOS DE GALAXIAS POR ANILLOS

### **Suárez Rangel Hugo Alexis**

Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro

Edificio I, Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro

[hsuarez15@alumnos.uaq.mx](mailto:hsuarez15@alumnos.uaq.mx)

### **Dr. Trejo Alonso Josué de Jesús**

Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro

Edificio I, Cerro de las Campanas S/N, Centro Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro

[josue.trejo@uaq.mx](mailto:josue.trejo@uaq.mx)

**Resumen** — En este proyecto se calcularon las masas y, posteriormente, se obtuvieron los perfiles de masa para una muestra de 4 cúmulos de galaxias de Abell sublumínicos en rayos X. Se utilizaron cuatro diferentes estimadores publicados en la literatura, los errores fueron programados usando la técnica de bootstrap y los códigos generados se realizaron en Python 3. Se encontró que la masa proyectada posee sobreestimaciones y el resto están en un rango cercano, la masa virial arrojó un mayor error. Se encontró una sobreestimación final de hasta 17 veces la masa del cúmulo en anillos. Las masas son similares en los primeros anillos y después divergen. Exceptuando la masa proyectada, los resultados parecen indicar un desempeño similar de los demás estimadores.

**Palabras clave** — Cúmulos de galaxias, perfiles de masa, método de Bootstrap

**Abstract** — We calculated the masses and, subsequently, the mass profiles were found for a sample of 4 X-ray subluminescent Abell galaxy clusters. Four different estimators published in the literature were used, the errors were programmed using the technique of bootstrap and the generated codes were done in Python 3. It was found that the projected mass has overestimates and the rest are in a close range, the virial mass showed a larger error. A final overestimate of up to 17 times the mass of the ring cluster was found. The masses are similar in the first rings and later they diverge. Except for the projected mass, the results seem to indicate a similar performance of the other estimators.

**Keywords** — Galaxy clusters, mass profiles, Bootstrap method.

### I. INTRODUCCIÓN

Los cúmulos de galaxias son los sistemas más grandes ligados gravitacionalmente [1]. La masa de estos juega un papel fundamental en su estudio particular y en el estudio del universo a gran escala [3, 4]. Es por ello que se han desarrollado distintos tipos de métodos que se utilizan para estimar sus masas: métodos dinámicos a partir de estudios de corrimiento al rojo, observaciones con rayos X del medio intracumular, lentes gravitacionales y el efecto Sunyaev-Zeldovich. Debido a la gran influencia que tiene la componente oscura en estos objetos, en la literatura se pueden encontrar distintos métodos para trabajar con componentes bariónicas y oscuras, ambas con sus retos particulares. Este trabajo tratará exclusivamente un estudio de masas de estos cuerpos por sus componentes bariónicas. El trabajo realizado por [2] proporciona cuatro estimadores de masas.

### A. Estimador por teorema del virial

El estimador proveniente del teorema del virial se puede expresar como:

$$M_V = \frac{3 \pi N}{2G} \frac{\sum_i V_{zi}^2}{\sum_{i<j} \frac{1}{R_{\perp,ij}}} \quad (1)$$

Sin embargo, es sabido que los estimadores viriales son ineficientes y sesgados [3]. Además, se supone que el cúmulo es un sistema aislado, lo cual es incorrecto pues son objetos dinámicos y no están en equilibrio [4], por lo que algunos autores realizan estimaciones más refinadas añadiendo correcciones y estadísticos más sofisticados [1].

### B. Estimador de masa proyectada

Está dado por la siguiente expresión:

$$M_{PM} = \frac{f_{PM}}{G(N - \alpha)} \sum_i V_{zi}^2 R_{\perp i} \quad (2)$$

Donde se recomienda el valor de  $f_{PM} = 32/\pi$  a falta de información sobre las órbitas de las galaxias. Similarmente, es recomendado  $\alpha = 1.5$ , para cualquier tipo de órbitas. Este estimador es menos sensible a proyecciones accidentales de una galaxia cerca de otra [2].

### C. Estimador de masa mediana

Se expresa con la siguiente ecuación:

$$M_{Me} = \frac{f_{Me}}{G} \text{med} [ (V_{zi} - V_{zj})^2 R_{\perp,ij} ] \quad (3)$$

Este estimador es insensible a galaxias intrusas. Se recomienda el valor de  $f_{Me} = 6.5$ .

### D. Estimador de masa promedio

Definido por:

$$M_{Av} = \frac{2 f_{Av}}{GN(N-1)} \sum_i \sum_{i<j} (V_{zi} - V_{zj})^2 R_{\perp,ij} \quad (4)$$

Este estimador también es insensible a galaxias intrusas. Se recomienda el valor de  $f_{Av} = 2.8$ .

Se ha concluido [2] que estos estimadores tienen un desempeño similar, sin poder definir a un estimador mejor que otro, sino que realizan estimaciones equivalentemente

Como vemos en las ecuaciones (1), (2), (3) y (4), las estimaciones de masa dependen de la velocidad. La dispersión de velocidades disminuye con el radio proyectado, implicando que hay una relación entre el radio proyectado y la masa poco lineal en las afueras del cúmulo [4]. Los perfiles de masa son útiles en la determinación de subestructuras [5].

Ninguna referencia consultada proporciona detalles acerca de la programación de los estimadores se pretende realizar un programa propio que estime masas de cúmulos de galaxias utilizando los 4 estimadores descritos anteriormente, así como encontrar perfiles de masa de una muestra de 4 cúmulos de galaxias cuyos datos fueron previamente obtenidos y filtrados por el supervisor de este trabajo. Así mismo, utilizamos el trabajo realizado por [6] para ratificar que las estimaciones se encuentren dentro de un rango físicamente válido con un orden de magnitud de al menos.  $> 10^{14} M_{\odot}$  [7].

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos utilizados fueron obtenidos del Sloan Digitized Sky Survey DR12 [8] y filtrados por el supervisor de este proyecto usando el método de cáusticas. El lenguaje de programación Python (v3.9.12) fue utilizado en el IDE Spyder (v5.2.2) para el desarrollo del código. El desarrollo del mismo consistió en la “traducción” directa de las ecuaciones (1), (2), (3) y (4) a funciones cuya entrada son los datos de velocidades y posiciones y cuya salida es la estimación de masa. Por su parte, fue utilizado el método de bootstrap para la estimación del error en los cálculos de masa, en este paso, se reordenaron las posiciones de las galaxias relativas al centro del cúmulo, así como sus velocidades relativas a la velocidad media del mismo con 1000 reacomodos por arreglo. Esto representa una comparación entre los distintos estimadores y los errores que poseen para las masas totales de los cúmulos.

En el caso de los perfiles de masa, se realizó el procedimiento del párrafo anterior, pero separando datos de galaxias de acuerdo a su distancia respecto al centroide del cúmulo. Esto se realizó dividiendo en 5 secciones de igual longitud, cada una de 500 kpc, aunque en ciertos autores utilizan muchas más secciones como [9].

Finalmente, se compararon los resultados obtenidos de las masas totales con el estudio realizado por [6] así como las distintas estimaciones.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1.** Estimaciones de masas con los distintos estimadores dadas en  $10^{14} M_{\odot}$  y sus respectivos errores. La columna 6 presenta los resultados obtenidos por [6] y se muestran como una referencia para conocer un error relativo (columna 7) entre dicha estimación y la estimación propia más cercana (en paréntesis).

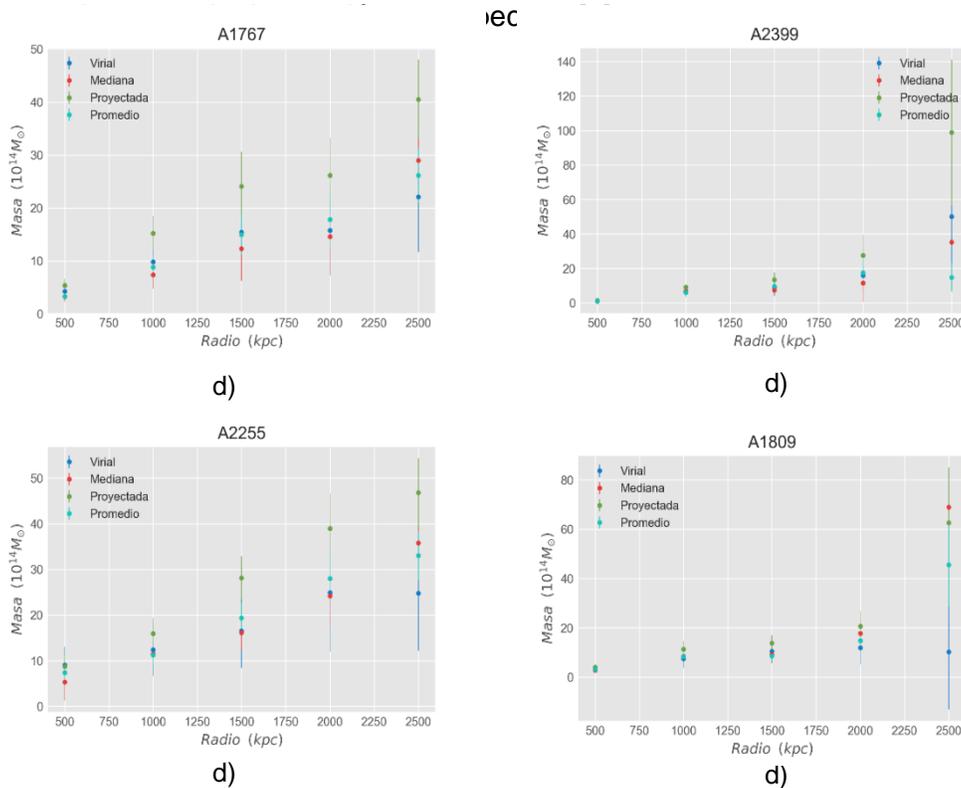
Cúmulo	Virial	Mediana	Promedio	Proyectada	Poppeso [6]	Error relativo (%)
<b>A1767</b>	17.445	15.275	17.141	21.019	11.57	32.02 (M)
	±8.46	±2.385	±3.115	±2.243		
<b>A1809</b>	8.719	8.513	9.296	10.856	5.83	46.02 (M)
	±4.633	±1.432	±2.000	±1.407		
<b>A2255</b>	26.827	25.079	25.195	29.979	19.56	28.21 (M)
	±12.512	±2.479	±3.695	±2.588		
<b>A2399</b>	8.927	7.025	8.86	12.121	4.09	71.76 (M)
	±4.099	±1.118	±1.658	±1.168		

Las estimaciones de masa de 4 cúmulos con sus respectivos errores por bootstrap con los estimadores (1), (2), (3) y (4) y un error relativo con el trabajo de [6] se muestran en la Tabla 1. Estos resultados se obtuvieron adoptando una cosmología  $H_0 = 70 \text{ km Mpc}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $\Omega_M = 0.3$ ,  $\Omega_L = 0.7$ ,  $\Omega_K = 0.0$ . Así mismo, debido al papel central que juega en los cálculos, es apropiado mencionar que la distancia al cúmulo fue obtenida por medio del redshift promedio de sus cuerpos. Es importante notar la discrepancia que existe con nuestra referencia [6] pero que, con algunas excepciones, los errores calculados no son tan grandes. También podemos resaltar el hecho que todas las estimaciones son mayores a la referencia, ninguna de ellas realiza una subestimación. Estas cuestiones se tratarán en la sección posterior.

Adicionalmente, los perfiles de masa se muestran en la Figura 1, en ella vemos los perfiles de masa realizados para los 4 cúmulos muestra. En cada estimación cada 500 kpc se calculó el error por medio del método de bootstrap, el cual se ve expresado como una barra vertical centrada en la estimación original. De la misma manera, se utilizaron los 4 estimadores con el fin de tener una comparación de sus desempeños ante el cálculo de masas por medio de anillos. Estudios como [9] suelen realizar los perfiles de masas realizando muchos más anillos, sin embargo, la tendencia de estos perfiles deberían ser similares.

## VI. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Nuestros principales resultados se encuentran en la Tabla 1 y en la Figura 1. Comenzaremos con la estimación global de masa, es decir con el uso de los 4 estimadores para calcular la masa de la galaxia con todos sus componentes (ver Tabla 1). En general, vemos una gran discrepancia con las estimaciones de [6], sin embargo, este hecho era de esperarse. El punto es porque dicho estudio realiza una metodología distinta en la selección de miembros de cúmulos, en la elección del centro del mismo (en nuestro caso fue por una posición media, en el caso de ellos se trata de una determinación por medio de el lugar de mayor emisión de rayos X), también difiere por el uso de estadísticos de biweight y el uso de perfiles de Navarro. En todos los cúmulos de galaxias, el estimador de masa mediana fue el



**Fig. 1.** Perfiles de masa de los cúmulos A1767 (d), A2399 (c), A2255 (b) y A1809 (a). Notemos como lo se sobreestiman por mucho las masas de los cúmulos conforme el radio de los anillos aumenta

En general, notamos que el estimador de masa proyectada sobreestima la masa y difiere mucho de los tres estimadores restantes. La masa mediana es la que obtiene resultados más bajos, aunque sin sobresalir de la masa virial y la masa promedio. La masa promedio y la masa mediana son valores mucho más consistentes entre sí tanto para la estimación como para el error obtenido y una posible explicación de esto es que la muestra de cúmulos

obtenida contenga una cantidad de galaxias intrusas considerables y, en dado caso, como probó [2] estos estimadores justamente son poco sensibles a este tipo de galaxias.

Por parte de los errores, la masa virial posee errores mucho más grandes a los de sus similares, esto también es explicado por [3] y [2], donde concluyeron que dicho estimador es sesgado e ineficiente por sus severas consideraciones de equilibrio dinámico, que sabemos que son una buena aproximación, pero no del todo acertada. Sus errores reflejan esta cualidad, pues al reasignar posiciones y velocidades al azar, vemos cómo la masa difiere mucho, pues estamos cambiando completamente la dinámica del cúmulo que tenía cuando las observaciones fueron realizadas. Es interesante notar que ninguna masa fue subestimada, sino que todas arrojaron valores mayores. En los perfiles de masa (Figura 1) todas las masas están sobreestimadas para el radio final de 2500 kpc, pues terminamos con masas 3 (A1767), 10 (A1809), 2 (A2255) y 17 (A2399) veces mayores a las masas obtenidas en la Tabla 1. Una breve inspección en la Figura 1 nos hace notar que para los 4 cúmulos se sigue un patrón: en los primeros radios las masas toman valores cercanos y conforme el radio aumenta las masas comienzan a separarse cada vez más y más, incluyendo sus barras de errores. Una posible explicación de la divergencia de las masas al exterior de los cúmulos es que todos los estimadores son dependientes de las posiciones de las galaxias y de sus velocidades y al seccionar el cúmulo en anillos y calcular la masas con esos únicos cuerpos, las sumatorias de las ecuaciones (1), (2) (3) y (4) pueden arrojar valores muy grandes.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tal vez exceptuando la masa proyectada, los demás estimadores poseen estimaciones muy similares, siendo los más congruentes las masas promedio y medianas. Parece haber una discrepancia realmente alarmante con la masa proyectada, por lo que será necesario revisar el código implementado, indagar más sobre su funcionamiento y tener una muestra más grande de cúmulos. Es alentador ver que 3 estimadores realmente arrojan valores muy próximos a sí mismos y, además, las estimaciones de error (exceptuando la masa virial) son bajos considerando el tipo de cálculos que se están realizando. En un trabajo futuro se ve la opción de probar alternativas de estadísticos, criterios de selección de miembros y elección del centro del cúmulo y buscar las diferencias que aportan. Además, existen distintos métodos de estimaciones de error que sería interesante probar para nuestro estudio.

Por parte de los anillos, hay un problema de sobreestimación que hay que encontrar, los estimadores parecen desempeñarse de manera consistente, por lo que habrá que revisar la metodología en los cálculos por anillos y buscar literatura que dé un poco más de soporte a la investigación. Además, el patrón encontrado de discrepancia conforme aumenta el radio es un punto muy importante a desarrollar y, una vez corregidos los problemas de sobreestimación será interesante determinar si ese patrón sigue ocurriendo o no.

## V. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Es grato de mi parte poder contar con el apoyo del Dr. Trejo Alonso Josué de Jesús, profesor e investigador de la Facultad de Ingeniería por proponer el tema de investigación presentado, así como siempre estar abierto a nuevas propuestas o inquietudes y sobre todo por su apoyo y encamino en la realización de este trabajo. Quisiera extender mis agradecimientos al comité del 24º Verano de la Ciencia Región Centro por proporcionar un apoyo económico para los jóvenes investigadores. Asimismo, a la Facultad de Ingeniería por proporcionar sus instalaciones en cualquier momento que fuera necesario.

## REFERENCIAS

- [1] P. Popesso, A. Biviano, H. Böhringer, M. Romaniello and W. Voges, "RASS-SDSS galaxy cluster survey. III Scaling relations of galaxy clusters," *Astronomy & Astrophysics*, vol. 433, no. 2, pp. 431-445, 2005.
- [2] J. Heisler, S. Tremaine and Bahcall, J. N., "Estimating the masses of galaxy groups - Alternatives to the virial theorem," *The Astrophysical Journal*, p. 8, 1985.
- [3] J. Bahcall and S. Tremaine, "Methods for determinin the masses of spherical systems. I. Test particles around a point mass," *The Astronomical Journal*, vol. 244, pp. 805-819, 1981.
- [4] G. M. Voit, "Tracing cosmic evolution with clusters of galaxies," *Reviews of Modern Physics*, vol. 77, no. 1, pp. 207-258, 2005.
- [5] E. Tucker, M. G. Walker, M. Mateo, E. W. Olszewski, A. Geringer-Sameth and C. J. Miller, "Galaxy cluster mass estimates in the presence of substructure," *The Astrphysical Journal*, vol. 888, no. 2, p. 22, 2020.
- [6] P. Popesso, A. Biviano, H. Böhringer, M. Romaniello and W. Voges, "RASS-SDSS galaxy cluster survey. V. The X-ray-underluminous Abell clusters," *Astronomy & Astrophysics*, vol. 461, no. 2, pp. 397-410, 2007.
- [7] C. Pfrommer, *The physics of galaxy clusters*, Postdam, Germany: Leibnuz-Institute for Astrophysics Postdam, 2022.
- [8] M. R. Blanton, "Sloan Digital Sky Survey IV: Mapping the Milky Way, Nearby Galaxies, and the Distant Universe," *The Astronomical Journal*, vol. 154, no. 1, pp. 28-62, 2017.
- [9] T. Bernal, V. H. Robles and T. Matos, "Scalar field dark matter in clusters of galaxies," *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, vol. 468, no. 3, pp. 3135 - 3149, 2017.
- [10] M. Girardi, G. Giuricin, F. Mardirossian, M. Mezzetti and W. Boschin, "Optical mass estimates of galaxy clusters," *The Astrophysical Journal*, vol. 505, pp. 74-95, 1998.

# PROPIEDADES MECÁNICAS DE UN NANOCOMPOSITO IMPRESO MEDIANTE MANUFACTURA ADITIVA 3D

**Jairo Daniel Guapo Rivera**

Tecnológico Nacional de México en Celaya  
Departamento de Ingeniería Química-Campus I  
Antonio García Cubas 600, Fovissste, 38010 Celaya,  
Gto.

[18030250@itcelaya.edu.mx](mailto:18030250@itcelaya.edu.mx)

**Armando Almendarez Camarillo**

Tecnológico Nacional de México en Celaya  
Departamento de Ingeniería Química-Campus I  
Antonio García Cubas 600, Fovissste, 38010 Celaya,  
Gto.

[armando@iqcelaya.itc.mx](mailto:armando@iqcelaya.itc.mx)

**Resumen** — Polipropileno puro y reforzado con arcilla natural de halloysita (HNTs) se procesaron utilizando una extrusora de doble husillo para generar un filamento de ellos y ser impresos mediante 3D. Las propiedades mecánicas del iPP puro y del nanocomposito (iPP/HNTs) se compararon mediante análisis mecánico dinámico (DMA). Los resultados del DMA revelaron que el módulo de almacenamiento del material compuesto aumentó con respecto al polímero puro, mientras que el factor de pérdida mecánica ( $\tan \delta$ ) disminuyó y hubo un desplazamiento a temperaturas más altas; lo cual indicó una mayor temperatura de transición vítrea en el sistema reforzado. Se cree que los resultados obtenidos en este estudio ayudarán al desarrollo de piezas funcionales impresas por 3D.

**Palabras clave** — Manufactura aditiva, nanocomposito, módulo de almacenamiento, módulo de pérdida, factor de pérdida mecánica.

## I. INTRODUCCIÓN

La impresión 3D, descrita por primera vez en 1986 por Charles Hull como un proceso de unión de materiales para fabricar objetos a partir de datos de modelos 3D, normalmente capa a capa, también es denominada manufactura aditiva (AM), prototipado rápido (PR) o forma libre de sólidos (FLS). Con esta técnica se puede conseguir una fabricación rápida de diversas herramientas, una producción de componentes con geometrías complejas, se puede ofrecer alta precisión, rentabilidad y una geometría personalizada <sup>1</sup>.

Una de las técnicas de impresión 3D conocida como modelado por deposición fundida (FDM), utiliza un filamento continuo de un material termoplástico para imprimir en 3D capas de materiales, esta técnica fue utilizada en este trabajo <sup>1</sup>. Es considerada la técnica más común de impresión 3D, es conceptualmente simple, la arquitectura de impresión es pequeña y barata. Su funcionamiento es básico: consiste en introducir un filamento termoplástico, continuamente, en una pequeña cámara caliente donde se funde, convirtiéndose en un fluido completamente viscoso. Posteriormente, la masa fundida se extruye a través de una boquilla y es depositada por capas en una cama, donde se sigue un patrón calculado por el software de control de la impresora que reproducirá la geometría deseada del objeto <sup>2</sup>.

Sin embargo, la mayoría de estos productos, hechos de polímeros impresos por 3D, sólo se utilizan como prototipos conceptuales y no como componentes funcionales ya que, al ser productos elaborados con polímeros puros, carecen de resistencia. Tales inconvenientes limitan la aplicación y el desarrollo industrial de los polímeros impresos en 3D. La incorporación de refuerzos de partículas, fibras o nanomateriales a los polímeros

permite la fabricación de composites de matriz polimérica, que se caracterizan por sus altas prestaciones mecánicas y su excelente funcionalidad <sup>3</sup>.

El polímero que se utiliza en este trabajo es el polipropileno isotáctico (iPP). El polipropileno es un plástico ampliamente utilizado en diferentes sectores industriales, tales como: el automotriz, en la creación de piezas para la carrocería; el sector alimentario, en la fabricación de envases, entre otros <sup>4</sup>.

El material de relleno utilizado en este trabajo son nanotubos de halloysita (HNT's). La halloysita es un nanomaterial natural abundantemente disponible, lo que la hace atractiva y conveniente para las aplicaciones tecnológicas. Los nanocompuestos basados en halloysita se han estudiado durante varias décadas debido a sus propiedades fisicoquímicas. Los nanocompuestos polímero-arcilla resultantes presentan características notables, como efectos de refuerzo, mayor resistencia a la llama y menor expansión térmica. La halloysita se ha investigado principalmente para su uso en nuevos materiales avanzados debido a su disponibilidad y estructuras bien definidas <sup>5</sup>.

El objetivo de este proyecto es investigar la viabilidad del uso de nanocompuestos de iPP/HNTs, en términos de sus propiedades mecánicas. Se utilizó la técnica de impresión 3D debido a su relativa flexibilidad y la posibilidad de operar, de manera personalizada, el proceso. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos del análisis mecánico dinámico (DMA).

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### *Materiales*

El filamento se produjo mediante extrusión, utilizando un sistema de extrusión de doble husillo; el mecanismo de engranes que genera el movimiento a los husillos es accionado por un motor 0.13 HP. Todo esto es controlado mediante un Arduino que se programa con un software de computadora (LabView 2017). La alimentación consistió en pellets de polipropileno comercial suministrado por Formosa Plastics (Formolene 4100N, MFR 12 g/10 min), tanto para el sistema puro como para el sistema con refuerzo. Éste último siendo halloysita comercial suministrado por Sigma Aldrich (CAS 1332-58-7). Las arcillas fueron caracterizadas mediante IR, mientras que el filamento obtenido, puro y con refuerzo, se utilizó para imprimir probetas para la prueba DMA.

### *Métodos experimentales*

Para la producción del filamento, el software de computadora, LabView 2017, fue utilizado para arrancar el sistema de extrusión mediante un Arduino, a 150 rpm y una temperatura de 190°C. Para el polipropileno puro, se utilizaron 240 g para obtener filamento puro; con diámetro entre 1.4 y 1.75 mm; el cual se utilizó en una impresora 3D Ender 3 Pro (ver figura 1a). De igual manera, se utilizó 240 g de iPP puro para el sistema de 0.5% peso de halloysita. En los dos procesos de extrusión, se alimentó manualmente; procurando tener una alimentación constante y, a su vez, manteniendo la velocidad de recolección de filamento constante. El proceso de extrusión se aprecia mejor en la figura 1b.



**Figura. 1.** Esquema ilustrativo del proceso de impresión y extrusión.

### *Análisis de infrarrojo*

La muestra de HNTs se caracterizaron mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con un detector de reflexión total atenuada (FTIR-ATR Perkin, modelo Spectrum 100). El espectro se realizó en el rango entre 4000 y 600  $\text{cm}^{-1}$  con 120 barridos. El equipo se muestra en la figura 2.



**Figura. 2.** Equipo FTIR-ATR para la caracterización de HNTs

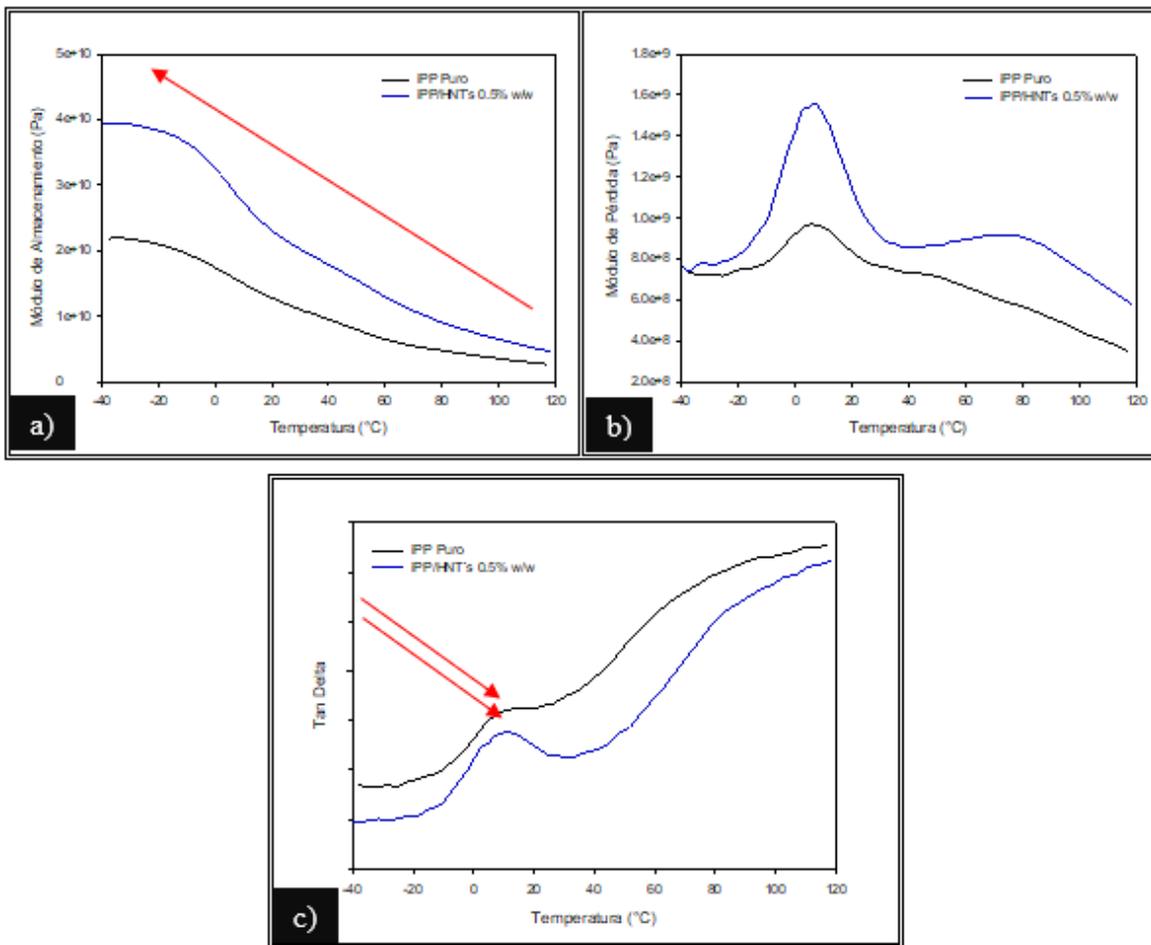
### *Análisis mecánico dinámico*

Se realizaron análisis mecánicos dinámicos (DMA) para los dos sistemas (puro y con refuerzo) para evaluar y comprender mejor el comportamiento de la resistencia del material en función de la temperatura. Para tales fines se utilizó un instrumento comercial (TA Instruments DMA8000, se ilustra el equipo en la figura 3). Los módulos se midieron de  $-40$  a  $120^\circ\text{C}$  utilizando muestras rectangulares de acuerdo con la norma ASTM D 4065 – 01. Las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) de ambos sistemas también fueron determinadas por DMA a partir de los picos de la curva  $\tan \delta$ . Las probetas se cargaron cíclicamente a 1 Hz y fueron calentadas a una velocidad de rampa de  $3^\circ\text{C}$  por minuto.



**Figura. 3.** Equipo TA Instruments DMA8000 para el análisis mecánico dinámico de las muestras





**Figura. 5.** a) Módulos de almacenamiento, b) Módulos de pérdida y c) Factores de amortiguamiento de los sistemas iPP e iPP/HNTs 0.5% w/w

Por último, en la figura 5c se puede observar como el máximo de la curva de nanocomposito se desplaza hacia temperaturas más altas, esto puede ser atribuido a la compatibilidad entre el relleno y la matriz polimérica; debido a la restricción de movimientos de la cadena polimérica y la adhesión interfacial entre la matriz y el relleno <sup>9</sup>.

## VII. CONCLUSIONES

Se investigaron las propiedades mecánicas del iPP puro y del compuesto iPP/HNTs. La rigidez del material reforzado aumentó de  $2.1 \times 10^{10}$  a  $3.9 \times 10^{10}$  Pa con la adición de un 0.5 % en peso de HNTs lo cual representa un 80% de incremento. A partir de los resultados del DMA, la incorporación de HNTs provocó un aumento considerable del módulo de almacenamiento (rigidez) y una disminución de los valores de  $\tan \delta$ . Estos resultados demuestran el efecto de refuerzo de los HNTs en la matriz de iPP. Lo anterior puede ser una confirmación de que los HNTs se encuentran bien dispersos en la matriz de iPP. El composito de iPP reforzado con HNTs es capaz de ofrecer propiedades mecánicas favorables para aplicaciones reales. En este trabajo únicamente se reforzó un sistema al 0.5% en peso, sin embargo, para tener más información acerca de cómo influye el porcentaje de refuerzo en la matriz polimérica del iPP, se pueden realizar varios sistemas

con diferentes porcentajes en peso de HNTs para comparar los resultados y determinar qué porcentaje de HNTs favorece de mejor manera propiedades mecánicas específicas como rigidez, capacidad de disipación de energía, entre otras; según la aplicación en donde se requiera este material.

## VIII. AGRADECIMIENTOS

Apoyo financiero del Tecnológico Nacional de México en Celaya, proyecto 14077.22-P.

## REFERENCIAS

- [1] 1. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KTQ, Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Compos Part B Eng.* 2018;143:172-196. doi:10.1016/j.compositesb.2018.02.012
- [2] 2. Mazzanti V, Malagutti L, Mollica F. FDM 3D printing of polymers containing natural fillers: A review of their mechanical properties. *Polymers (Basel).* 2019;11(7). doi:10.3390/polym11071094
- [3] 3. Wang X, Jiang M, Zhou Z, Gou J, Hui D. 3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective. *Compos Part B Eng.* 2017;110:442-458. doi:10.1016/j.compositesb.2016.11.034
- [4] 4. Spina R, Spekowius M, Hopmann C. Simulation of crystallization of isotactic polypropylene with different shear regimes. *Thermochim Acta.* 2018;659:44-54. doi:10.1016/j.tca.2017.10.023
- [5] 5. Zhang Y, Tang A, Yang H, Ouyang J. Applications and interfaces of halloysite nanocomposites. *Appl Clay Sci.* 2016;119:8-17. doi:10.1016/j.clay.2015.06.034
- [6] 6. Bessaha F, Mahrez N, Marouf-Khelifa K, Çoruh A, Khelifa A. Removal of Congo red by thermally and chemically modified halloysite: equilibrium, FTIR spectroscopy, and mechanism studies. *Int J Environ Sci Technol.* 2019;16(8):4253-4260. doi:10.1007/s13762-018-2041-z
- [7] 7. Bordeepong S, Bhongsuwan D, Pungrassami T, Bhongsuwan T. Characterization of halloysite from Thung Yai District, . *J Sci Technol* 33. 2011;33(5):599-607.
- [8] 8. Szczepanik B, Słomkiewicz P, Garnuszek M, et al. The effect of chemical modification on the physico-chemical characteristics of halloysite: FTIR, XRF, and XRD studies. *J Mol Struct.* 2015;1084:16-22. doi:10.1016/j.molstruc.2014.12.008
- [9] 9. Bosze EJ, Alawar A, Bertschger O, Tsai YI, Nutt SR. High-temperature strength and storage modulus in unidirectional hybrid composites. *Compos Sci Technol.* 2006;66(13):1963-1969. doi:10.1016/j.compscitech.2006.01.020
- [10] 10. Oburolo N, Ercan N, Durmus A, Kagz A. Effects of halloysite nanotube on the mechanical properties and nonisothermal crystallization kinetics of poly(Butylene Terephthalate) (PBT). *J Macromol Sci Part B Phys.* 2012;51(5):860-879. doi:10.1080/00222348.2011.610231

## NEST-SITE CHARACTERISTICS, DIET, AND ACTIVITY PATTERNS OF *SCIURUS OCVLATUS* IN A MIXED FOREST

**José Pablo Torres Campos**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Municipio de  
Colón en Querétaro, México  
[jose.torres@smail.astate.edu](mailto:jose.torres@smail.astate.edu)

**Dr. Nicolás Ramos Lara**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Municipio de  
Colón en Querétaro, México  
[nramoslara@astate.edu](mailto:nramoslara@astate.edu)

**Abstract** — The Peters’s squirrel (*Sciurus oculatus*) is a poorly studied species of tree squirrel inhabiting oak-pine forests along the Trans-Mexican neovolcanic belt. There is a severe lack of information about the ecology, diet, and behavior of this squirrel species. We examined nest-site characteristics, diet, and activity patterns of *S. oculatus* in an oak-pine forest in Querétaro. Squirrels nested mostly on top of the tree canopy, nesting similarly in oak and pine trees, and diet consisted primarily of pine seeds. Arboreal traverse was the most common behavior observed in *S. oculatus* during the study, with mating chases observed in May. Our findings provide a baseline of information for further studies involving *S. oculatus* as well as conservation efforts for this endemic species and other arboreal species in neotropical forests.

**Keywords** — Nests, endemic species, *Sciurus oculatus*, behavior.

### I. INTRODUCTION

Activity patterns are an effective tool for understanding the ecology of an organism, including its foraging strategies, adaptations, and physiological responses to the environment [1,2] Studying the activity patterns of tree-dwelling mammals is beneficial for understanding their behavior. However, this information is commonly sampled using animals in captivity or laboratory conditions, since sampling is easier [3]. The study of tree squirrel behavior is seldom practiced, especially in more elusive and less charismatic species, which makes them more vulnerable to anthropogenic threats [4,5].

The Peters’s squirrel (*Sciurus oculatus*) is an arboreal squirrel endemic to Mexico [9]. Although studies assessing their exact geographic range are scarce, the species is estimated to be distributed along the Trans-Mexican neovolcanic belt [7,8], inhabiting mainly pine (*Pinus*) and oak (*Quercus*) forests at elevations ranging 1,500 and 3,600 m [9]. Although listed as *Least Concern* by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) [10], the species is federally listed in Mexico as *subject to special protection* [11].

Due to the benefits that nests provide, nest site selection is a crucial behavior of arboreal squirrels that has a direct impact on their survival and reproduction [7]. Furthermore, nests and nest sites affect the density and reproduction of a variety of mammals and are a critical resource for conservation [12,13,14,15,16]. Although the nesting behavior of *S. oculatus* has been poorly studied, other arboreal squirrel species commonly use either tree cavities or leaf nests (dreys). Dreys are woven structures constructed in the branches or forks of a variety of trees. These nests may be lined with grass, moss, and fur [17]. Arboreal squirrels are good indicators of forest condition. This is because they depend directly on the quality

of trees to provide food, nest sites, and launch sites [7,18]. Furthermore, practically nothing is known about the ecology, diet, and behavior of *S. oculatus* [4,7]. Thus, more information regarding this species is needed to construct conservation plans of both *S. oculatus* and the forest ecosystems that they occupy.

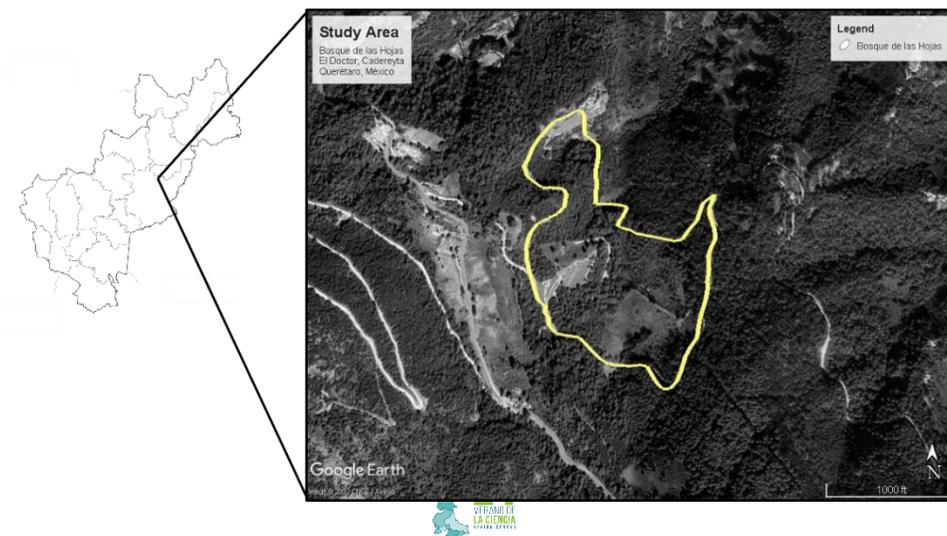
Due to the preference for nest stability, the negative effect of wind on nest structure, and the risk of predation from ground and aerial predators, we predicted that nests would be located close to the tree trunk, opposite to the wind's direction, and located in the lowest section of the tree canopy. And due to the benefit of greater food availability and protection from the environment, we also predicted that nests would be located mostly on oak (*Quercus*) trees, with a higher number of interlocked trees, with greater basal diameters, and with a higher canopy cover average. Similarly, we predicted that tree squirrels would be more active during the morning and evening before dark due to the lower temperature and higher moisture values at this time of day. And since our study was conducted during the dry season, we predicted that *S. oculatus* would spend most of the time foraging, feeding mainly on pine (*Pinus*) seeds.

## II. MATERIALS AND METHODS

**Study area**—The study was conducted in *Bosque de las Hojas* (20°51N, 99°35W; elevation 2,616 m), a private oak-pine forest located near the town of El Doctor, in the state of Querétaro, México. The highest temperatures in the study area occur during the summer, and highest precipitations range from June to October. From April to July 2022, we searched for leaf nests, tree squirrels, and feeding signs while walking quietly along trails (Fig. 1). Observations of nests and tree squirrels were performed using binoculars (Celestron Outland X). We only considered nests in relatively good condition (i.e., shape, structural integrity) to maximize the probability that they were actively used by squirrels [7,19].

When a nest was sighted, we recorded the date and the coordinates of the nest tree (UTM format), as well as the condition of the tree (live or dead). For each tree, we measured height in meters using an electronic clinometer (Haglölf). We measured basal diameter and distance to nearest tree using a DBH measuring tape. We measured canopy cover for each nest tree using a GRS densitometer in all cardinal directions. We counted the number of interlocked

**Fig. 1.** Location of the study area in Querétaro, México.



trees by considering direct connections of branches with the nest tree. For each nest, we measured its height, aspect, support (branch or fork), position relative to the tree canopy (crown, top, middle, or bottom), distance to trunk, materials (oak branches, pine needles, etc.), and condition (fresh or dry).

When a squirrel was sighted, we recorded the date, coordinates (UTM format), time, temperature and moisture using a hygrometer, weather, and the tree species where the squirrel was first located. We also recorded height of first sighting, place of first sighting (tree, ground, rock, etc.), and the diet (if eating). While maintaining a distance of at least 10 m, we performed a behavioral observation of the tree squirrel. Behaviors were recorded for 10 min and we didn't return to the site of first sighting for two hours after observation to avoid observing the same squirrel.

**Statistical analysis**—We used circular analyses for nest aspect and tree squirrel activity. We used chi-square tests for the genus of nesting trees and the position of nests on the tree canopy.

### III. RESULTS

**Nests**—We measured a total of 17 nests, of which 70.6% were dry and 29.4% fresh. We found that most nests were built in tree branches (64.7%) whereas forks (35.3%) were scarcely used ( $X^2 = 0.752$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.386$ ). Nests were placed on average at 13.36 m ( $\pm 5.57$  SD; range = 4.5-26 m) above the ground. Nests were placed mostly at the top (76.4%) of the tree canopy, with 11.8% at the middle, and 11.8% at the bottom ( $X^2 = 6.354$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0.041$ ). On average, nests were found at 3.44 m ( $\pm 2.02$  SD; range = 0-5.6 m) from the tree trunk. Nests were not oriented in any particular direction (Rayleigh,  $R = 0.351$ ,  $P = 0.122$ ).

**Nest trees**—We measured a total of 17 nest trees, of which 47.05% belonged to *Quercus* and 52.95% to *Pinus* ( $X^2 = 0.029$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.864$ ; Fig. 2). Tree species mostly used by *S. oculatus* for nesting were *P. pseudostrobus* and *Q. laurina* (Fig. 2). On average, nest tree height was 16.86 m ( $\pm 5.84$  SD; range = 10-33.1 m). The average basal diameter of nest trees was 51.52 cm ( $\pm 15.22$  SD; range = 31.3-81 cm), and the average canopy cover was 74.68% ( $\pm 15.25$  SD; range = 45-96.25 %). We found that nest trees were

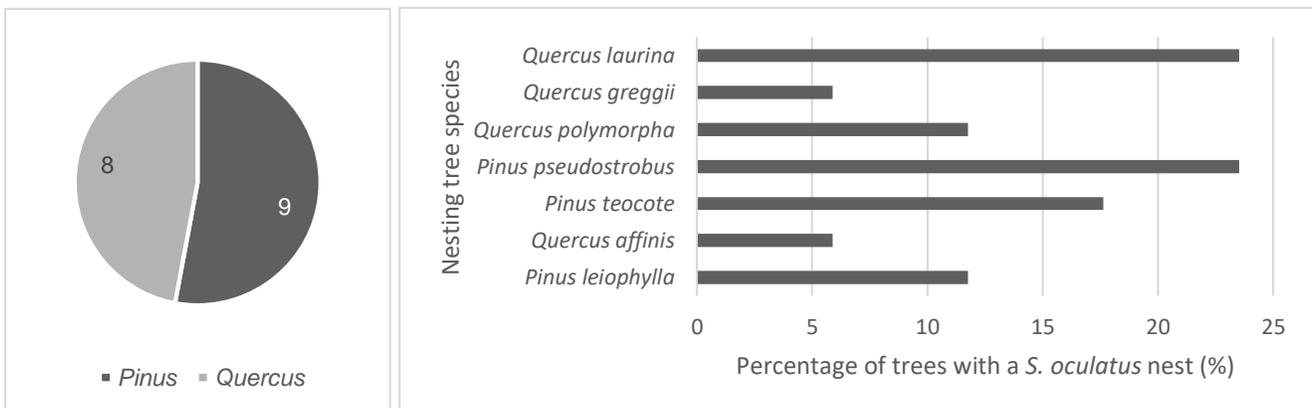
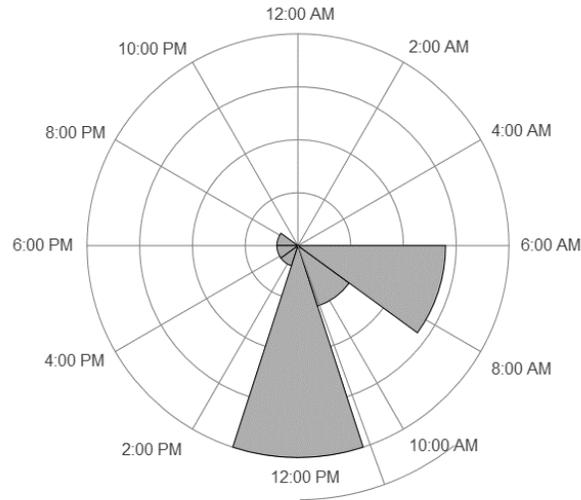


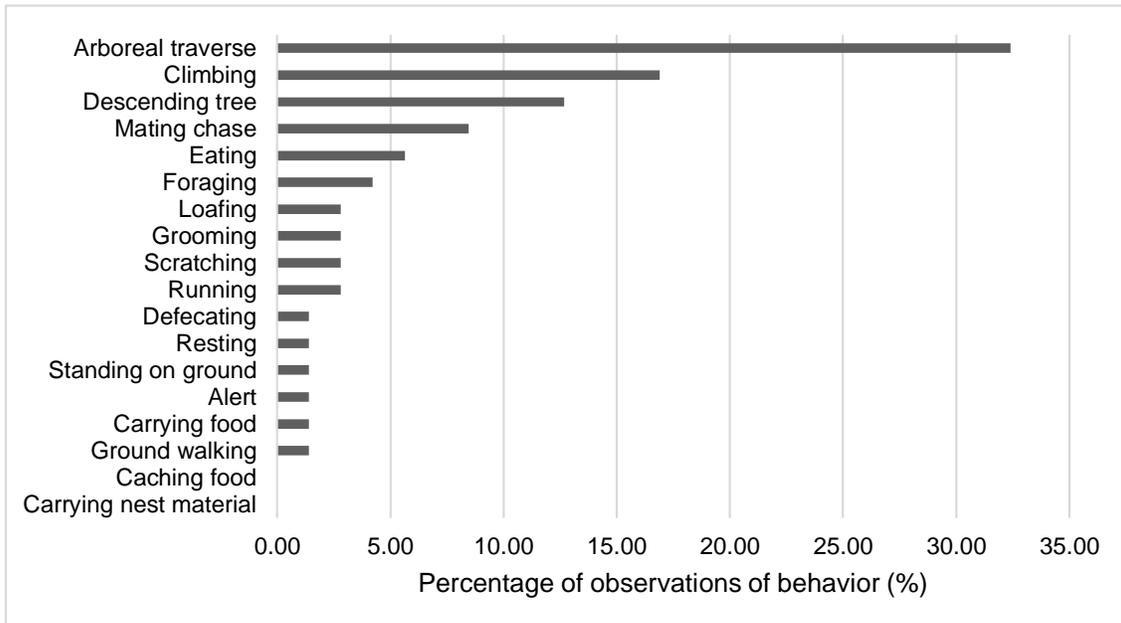
Fig. 2. Genus and species of nesting trees used by *S. oculatus*.



**Fig. 3.** Activity pattern of *S. oculatus*.

connected to an average of 6.53 ( $\pm 2.63$  SD; range = 3-11) other trees, with an average distance to the nearest tree of 5.78 m ( $\pm 14.14$  SD; range = 0.45-60 m). We found no evidence of *S. oculatus* nesting on dead trees.

**Diet**—We found feeding signs on 7 occasions. In April, we observed that squirrels fed mostly on pine seeds and pine strobili. In May, squirrels were feeding on pine seeds and apples (*Malus domestica*). In June and July, squirrels still fed on pine seeds, apples, mushrooms, and seeds from *Cupressus* sp. In July, we also observed the first production of acorns by oak trees (*Q. mexicana*, *Q. crassipes*) within the study area.



**Fig. 4.** Behavior of *S. oculatus*.

*Activity patterns*—We sighted a total of 23 squirrels. Squirrels were active mostly in the morning hours (Rayleigh,  $R = 0.725$ ;  $P < 0.0001$ ; Fig. 3). Squirrels were mostly sighted on tree branches (47.83%,  $n = 11$ ), with the least common sighting places being the tree canopy (26.09%,  $n = 6$ ), the ground (13.04%,  $n = 3$ ) and tree trunks (13.04%,  $n = 3$ ). Most sighted tree squirrels displayed a gray coloration, with only 2 individuals having melanistic fur pigmentation (8.70%). The most common behavior observed in *S. oculatus* was arboreal traverse with 23 occurrences (Fig. 4). Mating chases were observed on May 22, 2022, with males displaying scrotal testes and chasing females along the canopy.

#### IV. DISCUSSION

Contrary to our predictions, nests were not found close to the tree trunk, opposite to the wind's direction, or in the lowest section of the tree canopy. *S. oculatus* showed no preference regarding the orientation of the nest. Furthermore, nests were found in the highest section of the tree canopy, suggesting that this particular forest might have a greater degree of ground predators rather than aerial, or that due to the density of the canopy cover, *S. oculatus* prefers sunlight availability while risking a higher chance of predation from aerial predators. Furthermore, nesting higher in the tree canopy could lead to more food access, which has been observed with other species, like the fox squirrel (*Sciurus niger*) [21,22,23,24]. *S. oculatus* showed no preference between trees belonging to the genus *Quercus* or *Pinus*, which might be due to the resources that each tree species provides. Oak trees (*Quercus*) often provide more nesting material while being less preferable for food, since acorns are not produced year-round. Conversely, pine trees provide more food but nesting material of a lesser quality, since more pine needles are needed to build a nest in comparison to oak leaves [7,25]. Our prediction on nest trees with more interlocked trees, more basal diameter, and more canopy cover was supported. *S. oculatus* may benefit from trees with higher connectivity with other trees since they provide routes of transport without the need of descending to the ground where predators are plenty [25]. A higher canopy cover for nest trees suggests more protection from abiotic factors like wind and rain, which is beneficial for nest maintenance and stability. And a greater basal diameter is directly related with the resistance a tree may have to wind, as well as to the age of the tree and the amount of food it provides for the tree squirrel [7,25,26].

Arboreal traverse was the most common behavior observed, which supports our prediction of *S. oculatus* spending most of their time foraging for food during dry seasons. Arboreal traverse is directly related to tree squirrels actively seeking food, which has been reported before in other studies of *S. oculatus* [7]. Though our data collection on diet was limited, our results on the diet composition of *S. oculatus* suggests that (at least during the dry season) most of their diet is composed of pinecone seeds, which confirms our prediction and is in accordance with other studies [7,9]. Having also found feeding signs of acorns towards the end of the dry season suggests that *S. oculatus* could shift to this food during the rainy season, which would be in line with studies of *S. aureogaster* in Michoacán, a species that is commonly found in sympatry with *S. oculatus* [27]. Further studies are still needed to discern the diet composition of this species, particularly due to warmer temperatures caused by climate change.

Our prediction regarding *S. oculatus* being more active during morning and evening hours was partially supported. *S. oculatus* seems to prefer morning hours, while being less active during the afternoon before dusk. This behavior is consistent with *S. oculatus* populations occurring in sympatry with *S. aureogaster* [7]. And although our study population of *S. oculatus* is not sympatric with other species of tree squirrels, diurnal activity may still be beneficial due to lower temperatures and higher moisture values, which might reduce dehydration.

## V. CONCLUSIONS

There is a significant lack of studies addressing the ecology of neotropical tree squirrels, and *S. oculatus* is among the least studied species in this group [4]. Research on these squirrels is imperative for the formation of conservation strategies and wildlife management efforts. Our results suggest that *S. oculatus* is mainly active in the morning with no preference for nest tree species, commonly nesting on top of the tree canopy, and mainly feeds on pine seeds. This study seeks to contribute with more information on the ecology of this poorly endemic species. Nonetheless, more studies are still needed to generate sound plans for the conservation of this species and other arboreal squirrels in neotropical forests.

## VI. ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Trejo family for enabling a study site for our work, as well as providing food and hospitality during field research. We also thank Ximena Zamora Prieto and Diego Emilio Aznar Cruz for aid during field visits and data collection. Finally, we thank Arkansas State University, Campus Querétaro, for providing free access to scientific literature.

## REFERENCES

- [1] Zhang, J., Hull, V., Ouyang, Z., He, L., Connor, T., Yang, H., Huang, J., Zhou, S., Zhang, Z., Zhou, C., Zhang, H., & Liu, J. (2017). Modeling activity patterns of wildlife using time-series analysis. *Ecology and Evolution*, 7(8), 2575–2584. <https://doi.org/10.1002/ece3.2873>
- [2] Aschoff, J. (1966). Circadian Activity Pattern with Two Peaks. *Ecology*, 47(4), 657–662. <https://doi.org/10.2307/1933949>
- [3] Astiazarán Azcarraga, A., Gallina Tessaro, S., & Delfin-Alfonso, C. A. (2020). Activity patterns of arboreal mammals in a tropical rain forest in México. *Therya*, 11(2), 225–231. <https://doi.org/10.12933/therya-20-779>
- [4] Ramos-Lara, N., & Koprowski, J. L. (2014). Deforestation and knowledge gaps threaten conservation of less charismatic species: status of the arboreal squirrels of Mexico. *Mammalia*, 78(4). <https://doi.org/10.1515/mammalia-2013-0115>

- [5] Garnett, S., Crowley, G., & Balmford, A. (2003). The costs and effectiveness of funding the conservation of Australian threatened birds. *Bioscience*, 53(7), 658. doi:[https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0658:TCAEOF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0658:TCAEOF]2.0.CO;2)
- [6] Barua, M., Root-Bernstein, M., Ladle, R. J., & Jepson, P. (2011). Defining Flagship Uses is Critical for Flagship Selection: A Critique of the IUCN Climate Change Flagship Fleet. *AMBIO*, 40(4), 431–435. <https://doi.org/10.1007/s13280-010-0116-2>
- [7] Ramos-Lara, N., & López-González, C. A. (2017). Niche segregation between *Sciurus aureogaster* and *S. oculatus* in a disturbed forest in central Mexico. *Journal of Mammalogy*, 98(6). <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyx136>
- [8] Thorington, R., & Hoffmann, R. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd edition). (2006). *Reference Reviews*, 20(5), 754–818. <https://doi.org/10.1108/09504120610673024>
- [9] Best, T. L. 1995. *Sciurus oculatus*. *Mammalian Species* 498:1–3.
- [10] Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I., Lacher, T. & Vázquez, E. 2016. *Sciurus oculatus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2016: e.T20017A22246721. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T20017A22246721.en>
- [11] NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. (2010). *Diario Oficial de La Federación*. [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5173091](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091)
- [12] Cudworth, N. L., & Koprowski, J. L. (2011). Importance of scale in nest-site selection by Arizona gray squirrels. *Journal of Wildlife Management*, 75(7), 1668-1674. Retrieved from <https://ezproxy.library.astate.edu/login?qurl=https%3A%2F%2Fwww.proquest.com%2Fscholarly-journals%2Fimportance-scale-nest-site-selection-arizona-gray%2Fdocview%2F919424985%2Fse-2%3Faccountid%3D8363>
- [13] Doncaster, C. P., & Woodroffe, R. (1993). Den Site Can Determine Shape and Size of Badger Territories: Implications for Group-Living. *Oikos*, 66(1). <https://doi.org/10.2307/3545199>
- [14] Carey, A. B., Wilson, T. M., Maguire, C. C., & Biswell, B. L. (1997). Dens of Northern Flying Squirrels in the Pacific Northwest. *The Journal of Wildlife Management*, 61(3). <https://doi.org/10.2307/3802176>
- [15] Magoun, A. J., & Copeland, J. P. (1998). Characteristics of Wolverine Reproductive Den Sites. *The Journal of Wildlife Management*, 62(4). <https://doi.org/10.2307/3801996>
- [16] Smith, G. C., Mathieson, M., & Hogan, L. (2007). Home range and habitat use of a low-density population of greater gliders, *Petauroides volans* (Pseudocheiridae: Marsupialia), in a hollow-limiting environment. *Wildlife Research*, 34(6). <https://doi.org/10.1071/wr06063>
- [17] Gurnell, J. (1987). *The Natural History of Squirrels* (1st ed.). Christopher Helm Publishers Ltd.
- [18] Koprowski, J. L., and R. Nandini. 2008. Global hotspots and knowledge gaps for tree and flying squirrels. *Current Science* 95:851–856
- [19] Palmer, G. H., J. L. Koprowski, and A. J. Pernas. 2013. Nest tree and site selection of an introduced population of red-bellied squirrels (*Sciurus aureogaster*). *Journal of Mammalogy* 94:1274–1281.
- [20] Gómez-Sánchez, M. and Meraz-Pérez, B. 2016. Encinos (Fagaceae: Quercus): Su panorama en Querétaro. In: *Historia Natural de Querétaro* (Jones, R. W. and Serrano-Cárdenas, V, eds.). Pp. 178-195. Universidad Autónoma de Querétaro.

- [21] Sovie, A. R., Greene, D. U., & McCleery, R. A. (2020). Woody Cover Mediates Fox and Gray Squirrel Interactions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00239>
- [22] Caswell, H. (1978). Predator-mediated coexistence: a nonequilibrium model. *Am. Nat.* 112, 127–154. doi: 10.1086/283257
- [23] Van Der Merwe, M., Brown, J. S., and Jackson, W. M. (2005). The coexistence of fox (*Sciurus niger*) and gray (*S. caroliniensis*) squirrels in the Chicago metropolitan area. *Urban Ecosyst.* 8:335. doi: 10.1007/s11252-005-4865-9
- [24] Potash, A. D., Conner, L. M., and McCleery, R. A. (2019). Vertical and horizontal vegetation cover synergistically shape prey behaviour. *Anim. Behav.* 152, 39–44.
- [25] Riege, D. A. 1991. Habitat specialization and social factors in distribution of red and gray squirrels. *Journal of Mammalogy* 72:152–162.
- [26] Edelman, A. J., and J. L. Koprowski. 2005. Diet and tree use of Abert's squirrels (*Sciurus aberti*) in a mixed-conifer forest. *Southwestern Naturalist* 50:461–465.
- [27] Ramos-Lara, N., & Cervantes, F. A. (2011). Ecology of the Mexican Red-Bellied Squirrel (*Sciurus aureogaster*) in Michoacán, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 56(3), 400–403. <https://doi.org/10.1894/n02-rts-11.1>

# NEST-SITE CHARACTERISTICS, DIET, AND ACTIVITY PATTERNS OF *SCIURUS OCVLATUS* IN A MIXED FOREST

**Diego Emilio Aznar Cruz**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Municipio de  
Colón, Querétaro, México  
[diegoemi.aznarcru@gmail.com](mailto:diegoemi.aznarcru@gmail.com)

**Dr. Nicolás Ramos Lara**

Arkansas State University, Campus Querétaro  
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Municipio de  
Colón, Querétaro, México  
[nramoslara@astate.edu](mailto:nramoslara@astate.edu)

**Abstract** — In this study, the nesting behavior and activity patterns of a relatively unknown endemic arboreal squirrel species, *Sciurus oculatus*, is studied through on-site observation and quantification for a better understanding of the species. The results revealed a preference towards nesting in upper canopy sites in wide, densely foliated *Pinus* and *Quercus* trees, providing availability for food and quality nest materials. Behavioral observations resulted in arboreal traverse being the most common, while mating chases could be observed in May. The obtained information aids to build knowledge about a species protected by the Mexican government, providing the bases for the better-informed planning of conservation efforts for this and other arboreal species.

**Keywords** — Nests, behavior, diet, *Sciurus oculatus*, Peters's squirrel, endemic species.

## I. INTRODUCTION

To have a better understanding of the ecological and adaptation processes of an organism, researchers can resort to the study of activity patterns [1]. These types of studies have focused on terrestrial species at ground level, while the behavior of arboreal mammal species is seldom documented due to the constraints involved in their observation [2]. Furthermore, the study of arboreal squirrels, which are far less accustomed to humans than the ones found in urban areas, is even more scarce, thus creating a lack of information regarding these timid species, which contributes to their vulnerability to human threats [3, 4, 5].

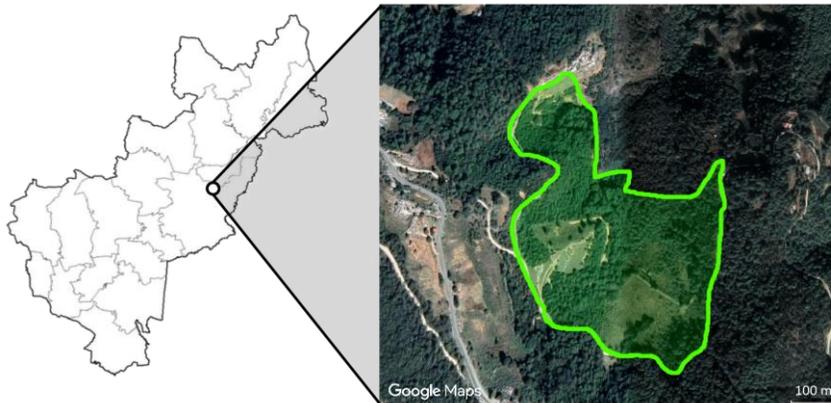
One of these elusive species is the Peters's squirrel (*Sciurus oculatus*), endemic to Mexico [6]. Pine (*Pinus*) and oak (*Quercus*) forests at elevations of 1,500 to 3,600 m along the Trans-Mexican neo-volcanic belt have been estimated to be distribution sites for this species [6, 7, 8]. The species is listed as *Least Concern* by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) [9]. However, in Mexico it is federally listed as *Subject to Special Protection* [10].

Nesting behavior provides individuals with safety from predators, which makes the selection of the nesting site a critical aspect of the behavior of arboreal squirrels such as Peters's squirrel, posing as a variable of consideration on their fitness [7]. Therefore, it is key to acquire a better understanding of this behavior for conservation purposes. While *S. oculatus* nesting behavior has not been poorly documented, it is known that other arboreal squirrels employ tree cavities [11] or leaf nests, known as dreys [12]. Due to their direct dependence on tree quality for food and shelter, arboreal squirrels such as this one are natural indicators of forest condition [7, 13]. The lack of knowledge regarding its ecology, diet, and behavior has sparked the need for research to adequate conservation plans.

Regarding nest characteristics, we ought to consider several threats and variables to make predictions about nesting behavior. Based on that direct risks for the nest are wind, rain, and predation, we predicted that nests should tend to be located close to the trunk instead of laying on branches and located in the middle section of the tree canopy. Due to a direct necessity for efficient movement for foraging, we predicted that nest trees should have a high number of interlocked trees to facilitate displacement. Also, trees belonging to the *Quercus* genus, and therefore with greater basal diameters than *Pinus* trees, should tend to be favored as nest trees due to greater food availability than their conifer counterparts. Since the research will be conducted during the dry season, we predict that the most common behavior will be foraging. Higher activity should take place during lower temperatures combined with high moisture; thus the prediction is that there will be preference for crepuscular hours since they are the most likely to meet the previous conditions. Furthermore, we also predict that the dryness of the season will impact the diet, with dry foods such as pinecones being its main component.

## II. MATERIALS AND METHODS

*Study area* – The study was conducted in Bosque de las Hojas (20°51N, 99°35W; elevation 2,616 m), a private camping site near the town of El Doctor, in the state of Queretaro, Mexico. The annual average temperature for the area is 13.1°C, with an average high of 18.5°C and an average low of 7.7°C, while the hottest months are April and May and the coldest are January and February. Annual average precipitation is 810 mm, with the rainy season ranging from June to October [14]. The climate is template subhumid [15]. The study was conducted from April to July 2022, time in which we roamed the area (Figure 1) along dirt paths and searched for nests, squirrels, and food remnants. Observations were made with 10x42 Celestron Outland X binoculars. Accounted nests were selected based on structural integrity.



**Figure 1.** Study Area, Bosque de las Hojas.

Upon nest sighting, the following pieces of data were recorded about the nest: date of sighting, nest height (in meters), aspect in degrees, branch or trunk fork support, position relative to the tree canopy (crown, top, middle, or bottom), distance to trunk (in meters), materials (leaves, pine needles, mixed), and fresh or dry condition. In terms of statistics, chi

squared ( $\chi^2$ ) analysis was applied to type of support (branch or trunk) and nest position relative to the tree canopy.

Regarding the nest tree characteristics, the ones considered were tree coordinates (UTM format), alive or dead tree, tree species, height, basal diameter, distance to nearest tree, canopy cover, number of interlocked trees. Tree species were identified with the aid of a biodiversity guide for the state of Queretaro [16]. If the tree could not be identified in such way, leaf samples were collected for posterior identification. Tree height was measured with a clinometer, while basal diameter (in centimeters) and distance to nearest tree (in meters) were obtained with a forestry diameter and distance measuring tape. Canopy cover was obtained through the average of the four measurements at the base of the tree facing each cardinal point. The number of interlocked trees resulted from the counting of direct connections of branches with the nest trees. Both canopy cover and number of interlocked trees were measured each by a single team member to avoid bias in measurements. Chi squared analysis was applied to nest tree genus.

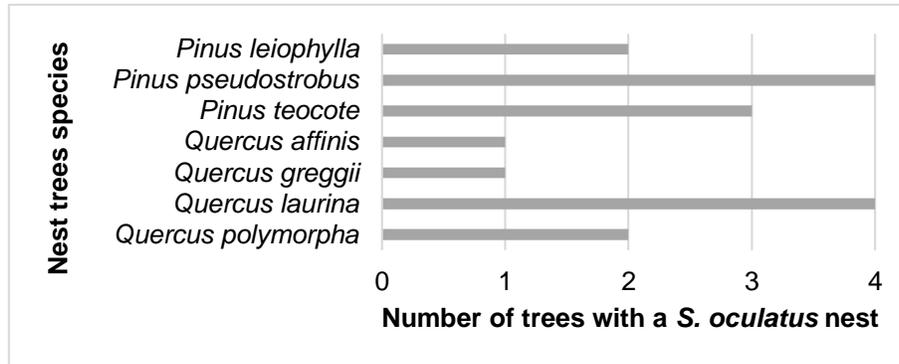
Upon squirrel sighting, the following pieces of data were recorded: time, date, coordinates, temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ), moisture (% with hygrometer), weather, species of the tree in which the squirrel was first spotted, squirrel species, coloration, height (in meters) and place (tree, ground, rock) of first sighting. When the squirrel was spotted eating, the food was recorded as well. The observations were made maintaining a distance of at least 10 meters to perform an undisturbed behavioral observation of each specimen. Such behaviors were recorded on an ethogram for 10 minutes, and, to avoid accounting for the same individual twice, the area of first sighting was abandoned for at least two hours.

### III. RESULTS

*Nests* – A total of 17 nests were measured. From these, 12 (70.59%) were dry and 5 (29.41%) were fresh nests. For nest materials, 9 nests were made of leaves (52.94%), 6 of pine needles (35.29%), and 2 mixed (11.76%) The highest number of new nests was measured during June (7), whereas the lowest was on April (1). Most nests were built on branches (11; 64.71%), while forks (6; 35.29%) were not used as much ( $\chi^2 = 0.752$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.386$ ). Nests were at an average height of 13.36 m ( $\pm 5.57$  SD), with the highest and lowest being at 26 and 4.5 m. In terms of canopy position, most were at the top (13; 76.48%), while only 2 (11.76%) were found at the middle and 2 (11.76%) as well at the bottom of the canopy ( $\chi^2 = 6.354$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0.041$ ). Nests were at an average distance from the tree trunk of 3.44 m ( $\pm 2.02$  SD), with the farthest and closest being at 5.63 and 0 m. Nest orientation ranged from  $0^{\circ}$  to  $335^{\circ}$ , with no particular direction (Rayleigh,  $R = 0.351$ ,  $P = 0.122$ ).

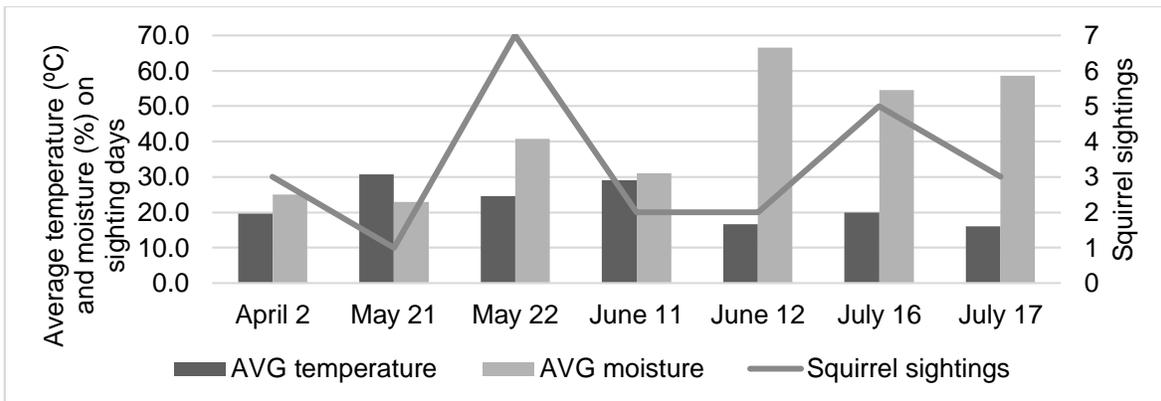
*Nest trees* – A total of 17 nest trees were measured. From these, 9 (52.95%) belonged to the *Pinus* genus and 8 (47.05%) to the *Quercus* genus ( $\chi^2 = 0.029$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.864$ ). The most used *Pinus* species was *P. pseudostrobus*, while the most used *Quercus* species was *Q. laurina*, each being sighted as a nest trees 4 times. In the opposite hand, the least used trees from each genera were *P. leiophylla* (2), *Q. affinis* (1), and *Q. greggii* (1) (Figure 2). The average nest tree height was of 16.86 m ( $\pm 5.84$  SD), with the tallest being 33.1 m and the shortest being 10 m high. Regarding the basal diameter and canopy cover, the

average was of 51.52 cm ( $\pm 5.84$  SD, range = 31.3-81 cm) and 74.68% ( $\pm 15.25$  SD, range = 45-96.25%), respectively. And in terms of nest trees and surrounding trees relations, the average of nest tree connections to other trees was of 6.53 ( $\pm 2.63$  SD, range = 3-11), while the average distance to the closest tree was of 5.78 m ( $\pm 14.14$  SD, range = 0.45-60 m). No evidence was found of *S. oculatus* nesting on dead trees.

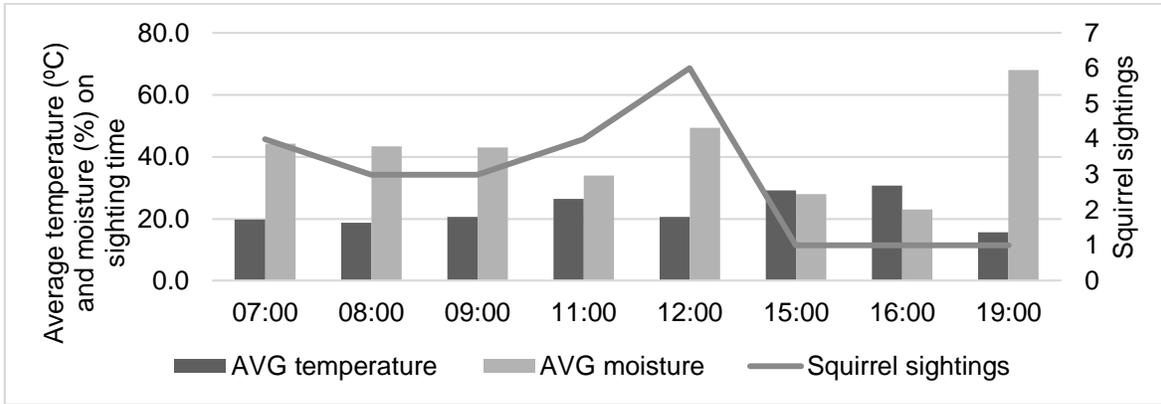


**Figure 2.** Species and frequency of nest trees used by *S. oculatus*.

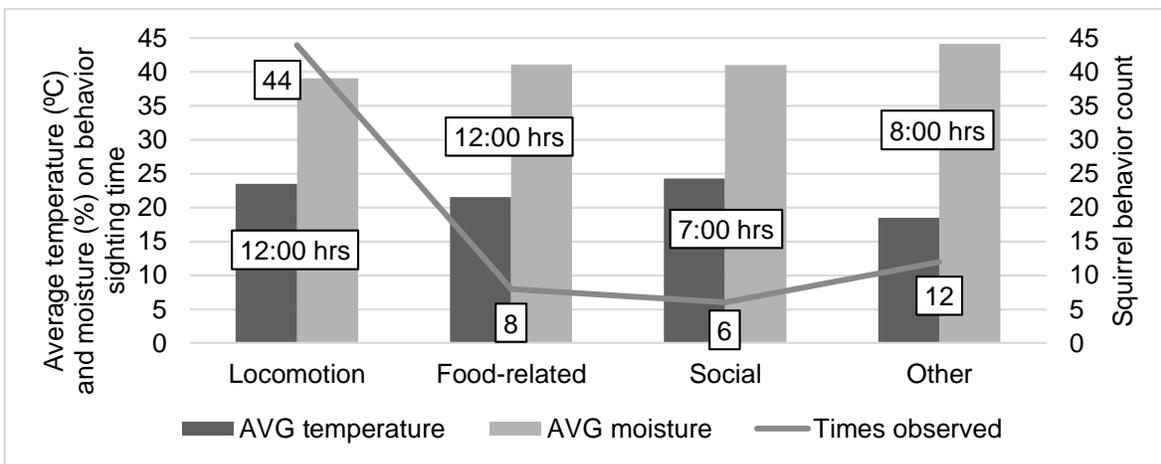
**Activity-time patterns and budget** – There was a total of 23 *S. oculatus* sightings. The most sightings happened on May 22 (7). On that occasion, the temperature was of 24.64°C and moisture was of 40.72%. The day with the least sightings was May 21, with a single sighting at 30.7°C and 23% moisture (Figure 3). Most sightings occurred at 12:00 (6), while there were no sightings at all at 10:00, 1:00 to 14:00, and 17:00 to 18:00 (Figure 4). In terms of sighting places, most squirrels were spotted on branches (11; 47.83%), while the least sightings occurred on the ground and trunks (3; 13.04%). Most sighted squirrels were gray, although two (8.70%) melanic individuals were spotted. The most common observed behavior was “arboreal traverse”, observed 20 times. It was followed by “climbing” (12) and “descending tree” (9). There was no observation of individuals caching food (although cached apples in branches were found) or carrying nest material, however six mating chases were observed (Figure 5). These mating chases explain the sudden peak of squirrel sightings.



**Figure 3.** Squirrel sightings in relation to average temperature and moisture on sighting.



**Figure 4.** Squirrel sighting times in relation to average temperature and moisture on sighting time.



**Figure 5.** Squirrel behavior sightings in relation to average temperature and moisture on behavior sighting time. White labels show most common time of day and counts for each type of behavior.

*Diet* – There were only 7 times in which *S. oculatus* diet evidence was found. On April, pinecones and strobili with characteristic gnawing were found. On May, pines cones persisted while apples (*Malus domestica*) were the new founding. During June and July, pinecones and apples persisted, while mushrooms and *Cupressus sp.* Seeds were added to the list. Acorns from *Q. mexicana* and *Q. crassipes* were also observed in July.

#### IV. DISCUSSION

Oposing the predictions stated at the beginning, *S. oculatus* nests were found more often further from the trunk than close to it and in the higher section of the tree canopy. With the appliance of  $\chi$  squared analysis, it was found that there is preference for that position relative to the tree canopy. This could be due to their preference for dense canopy areas that provide secondary food items such as buds, shoots, and fungi, as well as refuge from predation as observed in other arboreal squirrels [17, 18].

Furthermore,  $\chi$  squared analysis also provided evidence for no preference to either *Pinus* or *Quercus* trees, despite the slight inclination towards *Pinus* trees. This can be explained

by simple tradeoffs. *Pinus* trees provide more and year-round-available food while offering lesser-quality nest materials, whereas *Quercus* trees make up for their lack of year-round food availability by providing preferable materials, such as their leaves, which along twigs and fur, provide a warm internal lining [17, 19]. Coinciding with the predictions, *S. oculatus* preferred trees with a high number of interlocked trees, greater basal diameter, and denser canopy cover, due to, as stated before, predator avoidance, protection against the environment, and resource availability, since trees with greater basal diameter have a greater pinecone production, such as *P. pseudostrobus* [19, 20, 21].

Observed behavior partially the behavior prediction, as arboreal traverse was the most common behavior, which suggests that *S. oculatus* spends large amounts of time on traveling from tree to tree to engage in foraging during the dry months, a behavior which has been previously reported in other studies of this species [7]. On social behavior, observed mating chases may help to establish the reproductive seasons for the species. Opposing the predictions, *S. oculatus* preferred mild rather than lower temperatures and medium moisture levels rather than high ones. Furthermore, there was preference for morning to noon hours, rather than crepuscular hours due to the mild temperatures and moisture, a behavior previously observed *S. oculatus* populations sympatric to *S. aureogaster* [7]. As soon as temperature or moisture increased, squirrel sightings fell abruptly, a possible behavior aimed at reducing dehydration.

Finally, regarding diet, pinecones were found to be favored, possibly due to their high nutritious value and availability [22]. This supports the diet prediction, at least for the dry months, and is supported by previous studies on the species [6, 7]. The sighting of acorn food remnants in July may also indicate that *S. oculatus* could alter between foods depending on the season, such as it has been reported in usually sympatric species like *S. aureogaster* [23]. On a side note, reporting of tree squirrel cacheable foods include hazelnuts [24], but not apples in tree branches as observed, which might be a novel behavior for this species.

## V. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

For this research project, the study of the nesting behavior and activity patterns of *S. oculatus* in Cadereyta de Montes, Queretaro, Mexico yielded a preference for nesting in high canopy sites of densely-foliated and *Pinus* and *Quercus* trees with great basal diameter, thus providing availability for both readily accessible foods such as pinecones and for quality nest materials such as oak leaves. Behavior during the dry season was aimed towards foraging. A preference for mild temperature and moisture levels, as well as activity during morning hours was also found. This information aids in providing knowledge regarding a protected species towards building informed plans on its conservation. Further studies should address reproductive patterns and behaviors in-depth for a more complete view on this species.

#### IV. ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Bosque de las Hojas management for their advice and allowing the conduction of our research in their property. I would like to personally thank my teammates for this project, Ximena Zamora Prieto and Jose Pablo Torres Campos for their support and dedication to this research.

#### REFERENCES

- [1] Zhang, J., Hull, V., Ouyang, Z., et al. (2017). Modeling activity patterns of wildlife using time-series analysis. *Ecol Evol.* 7: 2575– 2584. <https://doi.org/10.1002/ece3.2873>
- [2] Astiazarán, A., Gallina, S., and Delfin-Alfonso, C. (2020). Activity patterns of arboreal mammals in a tropical rain forest in México. *Therya*, 11(2): 225-231. DOI: 10.12933/therya-20-779 ISSN 2007-3364
- [3] Ramos-Lara, N., & Koprowski, J. L (2014). Deforestation and knowledge gaps threaten conservation of less charismatic species: status of the arboreal squirrels of Mexico. *Mammalia*, 78(4). <https://doi.org/10.1515/mammalia-2013-0115>
- [4] Garnett, S., Crowley, G., & Balmford, A. (2003). The costs and effectiveness of funding the conservation of Australian threatened birds. *Bioscience*, 53(7), 658. doi:[https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0658:TCAEOF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0658:TCAEOF]2.0.CO;2)
- [5] Barua, M., Root-Bernstein, M., Ladle, R. J., & Jepson, P. (2011). Defining Flagship Uses is Critical for Flagship Selection: A Critique of the IUCN Climate Change Flagship Fleet. *AMBIO*, 40(4), 431–435. <https://doi.org/10.1007/s13280-010-0116-2>
- [6] Best, T. L. (1995). *Sciurus oculatus*. *Mammalian Species* 498:1–3.
- [7] Ramos-Lara, N., & López-González, C. A. (2017). Niche segregation between *Sciurus aureogaster* and *S. oculatus* in a disturbed forest in central Mexico. *Journal of Mammalogy*, 98(6). <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyx136>
- [8] Thorington, R., & Hoffmann, R. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd edition). (2006). Reference Reviews, 20(5), 754–818. <https://doi.org/10.1108/09504120610673024>
- [9] Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I., Lacher, T. & Vázquez, E. (2016). *Sciurus oculatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T20017A22246721. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T20017A22246721.en>
- [10] NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. (2010). Diario Oficial de La Federación. [https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5173091](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091)
- [11] Ramos-Lara, N., Koprowski, J., Swann, D. (2013). Nest-site characteristics of the montane endemic Mearn's squirrel (*Tamiasciurus mearnsi*): an obligate cavity-nester? *Journal of Mammalogy*, 94(1): 50-58
- [12] Gurnell, J. (1987). *The Natural History of Squirrels* (1st ed.). Christopher Helm Publishers Ltd.
- [13] Koprowski, J. L., and R. Nandini. 2008. Global hotspots and knowledge gaps for tree and flying squirrels. *Current Science* 95:851–856
- [14] *El Doctor (Querétaro, Mexico)*. (n. d.). *AverageWeather*. <https://www.average-weather.com/en/north+america/mexico/quer%C3%A9taro/el+doctor/>
- [15] *Clima*. (n. d.). INEGI. <https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/queret/territorio/clima.aspx?tema=me&e=22>

- [16] Gómez-Sánchez, M. and Meraz-Pérez, B. (2016). Encinos (Fagaceae: Quercus): Su panorama en Querétaro. In: *Historia Natural de Querétaro* (Jones, R. W. and Serrano-Cárdenas, V, eds.). Pp. 178-195. Universidad Autónoma de Querétaro.
- [17] Shuttleworth, C., Vesa, S., and Koprowski, J. (2016). Grey squirrel nesting ecology and the use of nest sites in European population management. In: *The Grey Squirrels: Ecology & Management of an Invasive Species in Europe* (Shuttleworth, C., Lurz, P., and Gurnell, J., eds.). Ch 18. *European Squirrel Initiative*.
- [18] Potash, A. D., Conner, L. M., and McCleery, R. A. (2019). Vertical and horizontal vegetation cover synergistically shape prey behaviour. *Anim. Behav.* 152, 39–44.
- [19] Riege, D. A. (1991). Habitat specialization and social factors in distribution of red and gray squirrels. *Journal of Mammalogy* 72:152–162.
- [20] Edelman, A. J., and Koprowski, J. L. (2005). Diet and tree use of Abert's squirrels (*Sciurus aberti*) in a mixed-conifer forest. *Southwestern Naturalist* 50:461–465.
- [21] Dominguez Calleros, P. A., Navar-Chaidez, J. J., Pompa-Garcia, M., and Treviño-Garza, E. J. (2016). Production of cones and seeds of *Pinus pseudostrobus* Lindl. in Nuevo Leon, Mexico. *Forest Genetic Resources*.
- [22] Shuttleworth, C. (2000). The foraging behaviour and diet of red squirrels *Sciurus vulgaris* receiving supplemental feeding. *Wildlife Biology*, 6(3):149-156. <https://doi.org/10.2981/wlb.2000.010>
- [23] Ramos-Lara, N., & Cervantes, F. A. (2011). Ecology of the Mexican Red-Bellied Squirrel (*Sciurus aureogaster*) in Michoacán, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 56(3), 400–403. <https://doi.org/10.1894/n02-rts-11.1>
- [24] Van der Merwe, M., Brown, J. S., and Burke, A. M. (2007). Foraging ecology of North American tree squirrels on cacheable and less cacheable foods: A comparison of two urban habitats. *Evolutionary Ecology Research* 9(4):1-12.

# PROGRAMACIÓN DE PERFILES DE MASAS DE CÚMULOS DE GALAXIAS

**Dulce Ariadna Martínez González**

Facultad de ingeniería UAQ  
Edificio I, Cerro de las Campanas S/N, Centro  
Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Qro.  
[dmartinez142@alumnos.uaq.mx](mailto:dmartinez142@alumnos.uaq.mx)

**Josué de Jesús Trejo Alonso**

Facultad de Ingeniería UAQ  
Edificio I, Cerro de las Campanas S/N, Centro  
Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Qro.  
[josue.trejo@uaq.mx](mailto:josue.trejo@uaq.mx)

**Resumen** — El objetivo principal de este proyecto de investigación es generar perfiles de masa de cúmulos de galaxias, para ello se realizó un estudio teórico de los métodos de estimación de masas, entre los cuales se encuentran el estimador de masa por el teorema del virial, el de masa proyectada, masa mediana y masa promedio. Cada uno de los estimadores fueron implementados en un programa escrito en Python, se incluyó el cálculo del error usando el método de *bootstrap*. Para generar los perfiles de masa, se dividió el cúmulo en anillos con una separación de 500 kpc y se calculó la masa y error para cada uno de ellos, finalmente se compararon los resultados obtenidos con las masas obtenidas en trabajos previos. Se observó que el estimador de masa virial es deficiente y que el estimador de masa mediana resulta en una aproximación más consistente, comparando con resultados de trabajos anteriores. En los perfiles de masa, los valores discrepan en mayor cantidad a medida que se incrementa el radio del cúmulo y en algunos anillos se obtienen masas que no corresponden al valor esperado, tales anomalías son posiblemente causadas por la presencia de galaxias espurias en el cúmulo.

**Palabras clave** — Estimadores de masa, cúmulos de galaxias, *bootstrap*.

**Abstract** — The aim of this research project is to generate mass profiles of galaxy clusters, for which a theoretical study of mass estimation methods was carried out, among which are the mass estimator by the virial theorem, the projected mass, median mass and average mass. Each one of the estimators was implemented in a program written in Python, the calculation of the error was added using the bootstrap method. To generate the mass profiles, the cluster was divided into rings with a separation of 500 kpc and the mass and error for each of them were calculated, finally the results obtained were compared with the masses obtained in previous works. It was observed that the virial mass estimator is deficient and that the median mass estimator results in a more consistent approximation, compared to the results of previous works. In the mass profiles, the values differ more as the radius of the cluster increases and in some rings the masses obtained do not correspond to the expected value, such anomalies are possibly caused by the presence of spurious galaxies in the cluster.

**Keywords** — Mass estimators, galaxy clusters, bootstrap.

## I. INTRODUCCIÓN

En astrofísica y cosmología la construcción de modelos para generar perfiles de densidad de masa de cúmulos de galaxias es de suma importancia, debido a que con ellos es posible obtener información sobre la formación y evolución de estas estructuras. Para la validación de los perfiles de densidad es necesario implementar perfiles de masa, pues a partir de los cálculos de masa bariónica en dichos grupos se puede obtener una relación entre la masa total y materia oscura. [1] [2]

En trabajos anteriores se efectúan cálculos usando un estimador basado en el teorema del virial, el estimador de masa proyectada, el de masa mediana y el de masa promedio.

En este proyecto se escribirá, en Python, un código que implemente estos estimadores en diferentes radios a partir del centro del cúmulo de galaxias, generando así perfiles de masa para los cúmulos. El error en las estimaciones se obtendrá con el uso de *bootstrapping*, un método de gran utilidad en estadística, que permitirá comparar la eficacia de cada uno de los métodos de estimación de masas. [3]

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

Los cúmulos de galaxias con los que se trabajaron fueron previamente tratados. Las bases de datos contenían los valores de ascensión recta, declinación y velocidades de las galaxias en cada cúmulo [4]. Para poder realizar las estimaciones, los valores de posición y velocidad, se convirtieron a ascensión recta y declinación relativas al centroide del cúmulo y velocidades relativas a la velocidad media. Se modificaron las unidades, debido a que las de los datos descargados no eran adecuadas para la implementación de los estimadores. Fue necesario recurrir a un programa anterior en el que se calculan las distancias de luminosidad, es decir, la distancia de las galaxias al centro del cúmulo, por medio de su *redshift*, el cual se obtiene a partir de la velocidad media. El primer estimador de masa implementado fue el que utiliza el teorema del virial, para esto suponemos que los sistemas, es decir los cúmulos, se encuentran en equilibrio. La estimación de masa usando este método está dada por la siguiente ecuación.

$$M_V = \frac{3\pi N}{2G} \frac{\sum_i V_{zi}^2}{\sum_{i<j} 1/R_{\perp,ij}} \quad (1)$$

Donde  $\pi=3.1416$ , N es igual al número de galaxias en el cúmulo, V son las velocidades relativas de las galaxias,  $G = 6.6743e-11$ , la constante de gravitación universal y R es la distancia de las galaxias al centroide del cúmulo.

El estimador de masa proyectada surgió como una alternativa al método anterior, debido a que usando el teorema del virial se pueden tener sesgos. Además, se considera un nuevo parámetro, relativo a la distribución de las órbitas.

$$M_P = \frac{f_{PM}}{G(N-1.5)} \sum_i V_{zi}^2 R_{\perp,i} \quad (2)$$

Donde la constante  $f_{PM}=10.2$ .

Posteriormente, tenemos el estimador de masa mediana, el cual se obtiene mediante la siguiente ecuación.

$$M_{Me} = \frac{f_{Me}}{G} \sum_{i,j} [(V_{zi}-V_{zj})^2 R_{\perp,ij}] \quad (3)$$

Donde la constante  $f_{Me}=6.5$ . Y finalmente se implementó el estimador de masa promedio, que podemos expresar por medio de la siguiente ecuación.

$$M_{Av} = \frac{f_{Av}}{G} \frac{2}{N(N-1)} \sum_{i < j} (V_{zi} - V_{zj})^2 R_{\perp, ij} \quad (4)$$

Donde la constante  $f_{Av}=2.8$ .

Para calcular los errores, en artículos previos se proponían métodos de estadística como Monte Carlo [3], sin embargo, se optó por utilizar el de *bootstrap*, el cuál fue programado con 1000 iteraciones. Una vez teniendo funciones que calcularan tanto las estimaciones como los errores, se dividieron los cúmulos en anillos de <500, <1000, <1500, <2000 y <2500 kilo pársecs y se efectuaron los cálculos correspondientes para cada uno de ellos. Las funciones de los estimadores y cálculo de error para generar los perfiles de masa fueron implementadas en Python, en el IDE Spyder, se utilizaron diferentes librerías como Numpy, Astropy, Pandas y Matplotlib.

### III. RESULTADOS

Se obtuvieron estimaciones de masa usando los cuatro métodos descritos anteriormente, estas se plasman en las tablas 1, 3, 5 y 7, con el error correspondiente a cada método en la segunda fila. Los perfiles de masa para los cuatro cúmulos estudiados se encuentran en las tablas 2, 4, 6 y 8, la primera fila corresponde a un radio de 500 kpc, la segunda a uno de 1000 kpc y así sucesivamente hasta 2500 kpc, los errores para cada una de las estimaciones se encuentran en las columnas siguientes, siendo ErrV, ErrM, ErrP y ErrA el error calculado para el estimador de masa virial, mediana, proyectada y promedio respectivamente. Los valores de masa están dados en  $10^{14} M_{\odot}$  (masas solares) y los radios en kilo pársecs.

**Tabla 1.** Estimaciones de masa del cúmulo A2593, con su error correspondiente.

	Virial	Mediana	Promedio	Proyectada
Masa	7.643	5.768	7.175	7.701
Error	3.792	0.878	1.352	0.956

**Tabla 2.** Perfil de masa del cúmulo A2593.

R	Virial	Mediana	Proyectada	Promedio	ErrV	ErrM	ErrP	ErrA
≤ 500	3.423	2.454	4.940	3.065	1.524	0.593	1.017	0.517
≤ 1000	4.878	4.121	7.293	5.439	2.481	1.129	1.456	0.973
≤ 1500	5.525	3.528	9.294	5.540	2.672	1.379	2.979	1.849
≤ 2000	4.222	4.725	9.875	6.323	2.4	1.444	2.214	1.666
≤ 2500	3.475	4.478	11.373	6.519	2.407	2.815	4.195	2.17

**Tabla 3.** Estimaciones de masa del cúmulo A1750, con su error correspondiente.

	Virial	Mediana	Promedio	Proyectada
Masa	16.193	15.542	16.586	22.604
Error	7.666	1.818	2.496	1.771

**Tabla 4.** Perfil de masa del cúmulo A1750.

R	Virial	Mediana	Proyectada	Promedio	ErrV	ErrM	ErrP	ErrA
≤ 500 0	1.945	1.437	4.181	0.872	1.237	0.637	1.916	0.318
≤ 1000 1	8.415	8.715	13.601	9.222	3.961	2.128	2.653	1.661
≤ 1500 2	13.388	16.397	22.775	16.608	6.759	2.856	3.504	2.502
≤ 2000 3	14.302	20.737	34.849	21.359	8.724	7.439	8.546	5.372
≤ 2500 4	40.681	44.560	117.830	21.988	33.902		47.438	13.779

**Tabla 5.** Estimaciones de masa del cúmulo A2670, con su error correspondiente.

	Virial	Mediana	Promedio	Proyectada
Masa	14.522	12.688	12.69	14.855
Error	6.532	1.586	2.171	1.539

**Tabla 6.** Perfil de masa del cúmulo A2670.

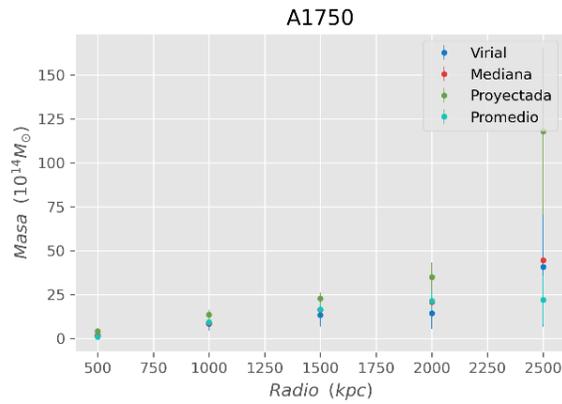
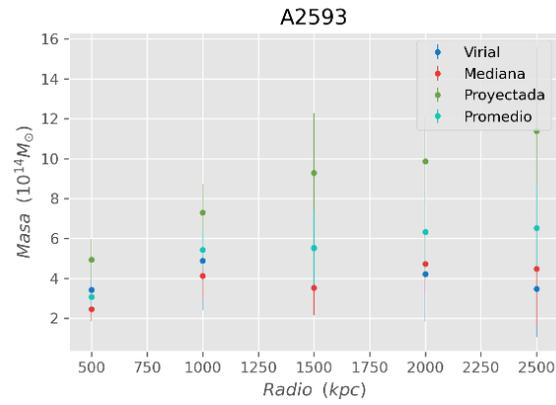
R	Virial	Mediana	Proyectada	Promedio	ErrV	ErrM	ErrP	ErrA
≤ 500 0	8.815	7.543	10.101	7.117	3.704	1.868	1.987	1.44
≤ 1000 1	8.587	7.561	11.579	7.966	3.95	1.63	2.156	1.461
≤ 1500 2	12.427	13.220	18.229	13.635	6.416	2.558	3.243	2.232
≤ 2000 3	5.045	14.650	20.648	12.319	7.008	7.043	8.861	4.441
≤ 2500 4	18.325	2.279	72.906	1.612	19.577		13.04	0.569

**Tabla 7.** Estimaciones de masa del cúmulo A117, con su error correspondiente.

	Virial	Mediana	Promedio	Proyectada
Masa	8.733	6.9	8.386	11.107
Error	3.521	1.247	1.472	1.016

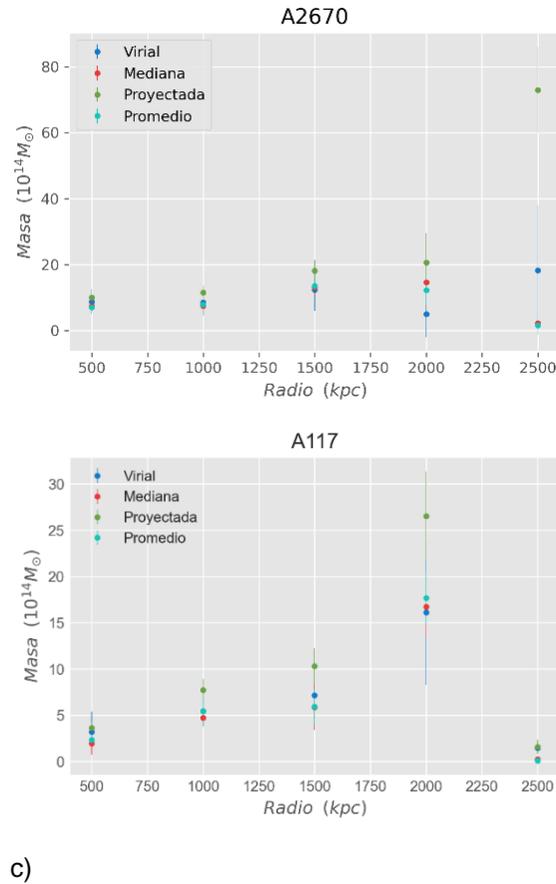
**Tabla 8.** Perfil de masa del cúmulo A117.

R	Virial	Mediana	Proyectada	Promedio	ErrV	ErrM	ErrP	ErrA
≤ 500	0	3.203	1.947	3.629	2.335	2.151	1.199	0.65
≤ 1000	1	5.433	4.708	7.709	5.462	1.649	0.564	1.294
≤ 1500	2	7.163	5.867	10.303	5.948	2.462	2.474	1.919
≤ 2000	3	16.133	16.734	26.529	17.656	7.84	3.302	4.807
≤ 2500	4	1.470	0.244	1.579	0.105	0.512	0.744	0.046



a)

b)



**Fig. 1.** Gráficas de los perfiles de masa de los cúmulos a) A2593, b) A1759, c) A2670 d) A117.

En la Figura 1 se pueden observar las gráficas de los perfiles de masa de los cúmulos de galaxias estudiados, el valor de masa obtenida con cada estimador tiene un color asignado y su barra de error correspondiente.

#### IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Observando las tablas correspondientes a las estimaciones de masa de cada cúmulo sin las divisiones de anillos, es posible percatarse de que existen diferencias entre los valores que arroja cada estimador, así como variaciones en el error de cada uno de estos. Los resultados obtenidos fueron comparados con los de trabajos anteriores en los que también se trabajó con estas muestras [5] y a pesar de obtener discrepancias, los órdenes de magnitud de los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los obtenidos mediante otros métodos. De manera particular, se puede observar que el estimador de masa virial presenta en los diferentes casos un mayor error, aunque es una buena aproximación tiene sesgos ocasionados por la suposición de que los cúmulos se encuentran en equilibrio dinámico, cuando pueden existir discordancias [3]. En el caso del

estimador de masa proyectada se obtienen estimaciones de masa con valores más elevados, que no concuerdan con el resto de los valores aproximados. En cuanto a los estimadores de masa mediana y masa promedio, se obtiene valores similares entre sí, además sus errores también se mantienen algo estables dentro de cierto rango, lo anterior puede ser debido a la existencia de galaxias espurias en la muestra, que no afectan demasiado las aproximaciones echas con estos estimadores.

Analizando ahora los perfiles de masa de los cúmulos de galaxias, se puede notar que en los primeros anillos las estimaciones de masa obtenidas por los diferentes estimadores son bastante similares, así como su barra de error, pero a medida que aumenta el radio al que se efectúan las estimaciones, estas difieren más entre sí y se producen barras de error de mayor tamaño. Es así como en el último anillo concéntrico al cúmulo de galaxias, se tienen valores de masa elevados en relación a las otras estimaciones. Es posible distinguir que existen anomalías entre el cálculo de la masa de un anillo respecto al siguiente, en algunos casos la estimación para el anillo más grande, resulta tener una masa menor, lo cual indica que hay un error en la estimación, el cual puede ser ocasionado por la dependencia que hay de los estimadores con las velocidades de las galaxias que conforman cada cúmulo.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los estimadores utilizados para generar los perfiles de masa de los diferentes cúmulos de galaxias arrojan resultados bastante similares entre sí, encontrándose en el mismo orden de magnitud, además, los errores calculados por *bootstrap*, para cada una de las estimaciones, también son adecuados. Existen varios factores que causan anomalías sistemáticas en el programa, como el método de depuración de galaxias espurias o las consideraciones hechas para implementar el estimador virial. Algunas mejoras que se pueden hacer es incrementar la cantidad de datos con las que se trabaja, lo cual depende de la disponibilidad de muestras de cúmulos de galaxias. También es posible incrementar el número de iteraciones del método usado para el cálculo de error, que, si bien depende de la capacidad de cómputo del ordenador, permitiría obtener mejores aproximaciones. En cuanto a la discrepancia de las masas estimadas en relación a trabajos anteriores, esta puede ser ocasionada por el uso de parámetros diferentes en los estimadores, esto se puede solucionar explorando más a profundidad otros métodos propuestos con los que se realizaron las aproximaciones en dichos trabajos.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Se agradece ampliamente el apoyo de la Universidad Autónoma de Querétaro, por haber proporcionado un espacio de trabajo dentro de las instalaciones y al comité organizador del Verano de la Ciencia Región Centro por el apoyo otorgado para la realización de esta estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] M. Girardi, G. Giuricin, F. Mardirossian, M. Mezzetti and W. Boschin, "Optical mass estimates of galaxy clusters," *The Astrophysical Journal*, vol. 505, pp. 74-95, 1998.
- [2] T. Bernal, V. H. Robles & T. Matos, "Scalar field dark matter in clusters of galaxies," *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, vol. 468, no. 3, pp. 3135 - 3149, 2017.
- [3] J. Heisler, S. Tremaine & Bahcall, J. N., "Estimating the masses of galaxy groups - Alternatives to the virial theorem," *The Astrophysical Journal*, p. 8, 1985.
- [4] M. Blanton et al., "Sloan Digital Sky Survey IV: Mapping the Milky Way, Nearby Galaxies, and the Distant Universe", *The Astronomical Journal*, vol. 154, no. 1, id. 28, pp. 35, 2017.
- [5] P. Popesso, A. Biviano, H. Böhringer, M. Romaniello & W. Voges, "RASS-SDSS galaxy cluster survey. V. The X-ray-underluminous Abell clusters," *Astronomy & Astrophysics*, vol. 461, no. 2, pp. 397-410, 2007.

# CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL SUBPRODUCTO DE BETABEL (*BETA VULGARIS*) LIOFILIZADO.

**Karla Vela Solís**

Universidad autónoma de Coahuila  
Ejido El Águila. Ciudad Universitaria. C.P. 27087.  
Torreón, Coahuila.  
[kvela@uadec.edu.mx](mailto:kvela@uadec.edu.mx)

**Miriam Aracely Anaya Loyola**

Universidad autónoma de Querétaro  
Av. de las Ciencias S/N, Delegación, 76230  
Juriquilla, Qro.  
[aracely.anaya@uaq.mx](mailto:aracely.anaya@uaq.mx)

**Resumen** — En este trabajo se presenta el rendimiento que es posible obtener al liofilizar el subproducto y jugo de betabel (*Beta vulgaris*) a partir de una determinada cantidad de betabeles, para la conservación de sus antioxidantes. Por otro lado, se muestra una opción útil para el encapsulamiento del subproducto que busca cumplir con las expectativas de encapsular cantidades apropiadas de antioxidantes para su efectiva liberación en el cuerpo humano. La importancia de esta investigación radica en que el bagazo de betabel por lo general suele ser un desecho provocado al extraer el principal producto que es el jugo, por lo que se le busca dar un segundo uso favorable para la salud de los seres humanos.

**Palabras clave** — *Beta vulgaris*, betabel, betalainas, antioxidantes, encapsular, alginato de sodio, lactato de calcio

**Abstract** — In this work is presented the performance that is possible to obtain by freeze-drying beet (*Beta vulgaris*) by-product and juice from a certain amount of beets for antioxidants preservation. On the other hand, it shows a useful option for by-product encapsulation that seeks to meet expectations of encapsulating appropriate amounts of antioxidants for its effective release in the human body. The importance of this investigation lies in the fact that beet by-product is usually a waste caused by extracting the main product which is juice beet, so it is sought to give it a second favorable use for the health of human beings.

**Key words** — *Beta vulgaris*, beet, betalains, antioxidants, encapsulate, sodium alginate, calcium lactate

## I. INTRODUCCIÓN

El betabel (*Beta vulgaris*), miembro de la familia *Chenopodiaceae*, es conocido por ser una fuente rica en antioxidantes (Flores, 2020) previniendo el daño celular que pueden ocasionar las especies reactivas de oxígeno (ROS) al detener la oxidación de macromoléculas como los lípidos, pues donan átomos de hidrogeno a estos radicales. (Carbajal, 2019).

Los radicales libres son moléculas que en su estructura tienen uno o más electrones no apareados, lo que las hace muy reactivas, generando daño celular y afectando el funcionamiento normal de la célula, además pueden dañar de manera irreversible a los lípidos, ADN y proteínas (Coronado and Radilla, 2015). Los antioxidantes por otro lado, juegan un papel importante pues ceden electrones a los radicales libres y los hace débiles y no es tóxicos (Escobar Rojas, 2016).

El betabel contiene compuestos bioactivos como los nitratos, nitritos, polifenoles, ácido ascórbico, flavonoides y betalainas. Las betalainas son los principales pigmentos del betabel, se dividen en betacianinas (violetas-rojas) y betaxantinas (amarillas) y son capaces de neutralizar a los radicales libres (Sadowska-Bartosz, 2021). Mientras que los nitratos y nitritos mejoran la agregación plaquetaria y los procesos cardiovasculares

(Marcia et al., 2009). Además, los polifenoles poseen efectos antiinflamatorios, antitrombóticos y pueden actuar como vaso-dilatadores (Fuentes-Barría et al., 2018).

El subproducto que resulta de la extracción de jugo de betabel la mayor parte del tiempo suele ser desechado o utilizado en la fabricación de biocombustible y siendo poco aprovechado por sus componentes antioxidantes. Actualmente, se llevan a cabo diferentes esfuerzos para rescatar esta característica antioxidante del subproducto de betabel y poder hacer uso de sus propiedades para la salud humana. Factores como el oxígeno, luz y pH hacen que los compuestos antioxidantes presentes en el betabel puedan llegar a ser muy inestables (Flores, 2020).

Por lo que poder mantener esa capacidad antioxidante por medio de liofilización del subproducto de betabel puede ser una alternativa altamente competitiva comercialmente. Una estrategia para conservar esta capacidad antioxidante es encapsular el subproducto de betabel, de manera que pueda de forma más eficaz ser absorbido y ejercer su capacidad antioxidante en las células que lo necesiten (Muchiutti et al., 2019).

El objetivo de este estudio fue caracterizar los componentes bioactivos de subproducto de betabel secado por liofilización y evaluar su capacidad antioxidante total para poder ser usado posteriormente en un producto encapsulado

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

- A. **Extracción del jugo de betabel y obtención del subproducto (bagazo).** Se utilizaron tres lotes de betabel fresco. Cada lote previamente pesado fue lavado y se le retiró la parte no comestible. La parte comestible del betabel fue cortada en cubos de 4 cm y procesada en un extractor metálico Turmix (125 W), para obtener el jugo y el subproducto (Figura 1 y 2).



Fig. 1 Cortes del betabel.



Fig. 2 Extracción de jugo y obtención del subproducto

- B. **Liofilización del jugo y subproducto de betabel.** El jugo de betabel (2943 g) se colocó en contenedores de plástico con capacidad de 400 mL, mientras que el subproducto de betabel se colocó en contenedores de plástico de

aproximadamente 700 mL. Los contenedores de jugo y subproducto se almacenaron en un ultracongelador marca Arctiko a  $-75^{\circ}\text{C}$  por 24 hrs, para su posterior liofilización a una temperatura de  $-55.7^{\circ}\text{C}$  y una presión de 1 pascal en una liofilizadora (SCIENTZ-10N). Para evitar pérdidas durante el proceso de liofilizado, cada recipiente de plástico se cubrió con una tela permeable. El jugo tardó 5 días en ser liofilizado mientras que el subproducto tardó sólo 1 día.



**Fig. 3** Subproducto de betabel liofilizado y molido

**C. Molienda y almacenamiento del jugo y subproducto de betabel.** Una vez lograda la liofilización tanto el jugo como el subproducto, se pulverizaron con ayuda de un molino (Hamilton Beach de acero inoxidable de 150 W). El polvo obtenido del jugo y subproducto fueron guardados en bolsas herméticas a vacío protegidos de la luz en un lugar fresco (Figura 3).

**D. Análisis químico proximal.** La caracterización química del jugo y subproducto de betabel incluyó la determinación de proteína, grasa, fibra, cenizas, humedad y carbohidratos por diferencia de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC. Cada muestra de jugo y subproducto se analizó por triplicado.

**E. Caracterización de los compuestos bioactivos.** Incluyó la cuantificación de betalaínas por medio de espectrofotometría usando la metodología descrita por Castellanos-Santiago y Yahia, (2008). La cuantificación de polifenoles fue realizada por medio del método Folin-Ciocalteu modificado (Singleton et al., 1998) Por otro lado, para flavonoides se usó la metodología de Zhishen et al., reportada en 1999. Y por último, para nitritos y nitratos se utilizó la prueba de Griess (Elizondo, 2021).

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento durante la extracción fue mayor para el jugo, casi en una relación de 2:1 con respecto a la cantidad obtenida de subproducto, considerando el peso inicial del betabel incluyendo la parte no comestible que fue alrededor del 4% del peso total del betabel (Cuadro 1). El jugo contenía mayor cantidad de agua, por lo que al ser liofilizado el peso disminuyó considerablemente, y con esto el rendimiento bajó notablemente. A diferencia de jugo, el bagazo al tener mayor cantidad de fibra y menos de agua, mantuvo un rendimiento entre 82-80%, porcentaje mayor al jugo de betabel.

**Cuadro 1.** Rendimiento del jugo y subproducto de betabel en fresco y después del proceso de secado por liofilización.

Secados por Liofilización	Rendimiento	Humedad
	%	%
Jugo en fresco	60.4	-
Subproducto en fresco	36.0	-
Jugo liofilizado	9.2	90.79
Subproducto liofilizado	18.46	81.53

Dentro de la composición química se pudo observar que el subproducto de betabel conserva aproximadamente el 80% de humedad y el 85% de cenizas comparado con el jugo (Cuadro 2). El extracto lipídico (grasa) fue mayor al del jugo, así como la fibra cruda. En cuanto a la proteína el jugo presentó mayor concentración de esta. Y los nitritos y nitratos presentes en el subproducto fueron aproximadamente la mitad de los presentes en el jugo. Las concentraciones de compuestos bioactivos también permanece entre el 50 y el 80% (Cuadro 3). Por lo que el subproducto de betabel es un interesante desecho agroindustrial con propiedades nutricionales interesantes.

**Cuadro 2.** Composición proximal de subproducto y jugo de betabel liofilizado y sus compuestos bioactivos

Constituyente	% en subproducto	% en Jugo
Humedad	5.09 ± 0.01	6.3±0.03
Ceniza	5.01 ± 0.05	5.88±0.08
Grasa	0.68 ± 0.03	0.24±0.01
Proteína	9.12 ± 0.08	11.28±0.07
Fibra cruda	9.4 ± 0.09	<0.001

**Cuadro 3.** Contenido de betalaínas totales, betaxantinas, betacianinas, nitritos y nitratos en betabel liofilizado

	subproducto (mg/g)	Jugo (mg/g)
Betaxantinas	3.47	4.78
Betacianinas	6.1	7.99
Betalaínas totales	9.57	12.77
Nitritos	1.0	3.3
Nitratos	14.4	28.8

#### IV. CONCLUSIONES

El rendimiento en seco del subproducto de betabel es aparentemente bajo, pero al analizar las características de componentes nutricionales y sustancias bioactivas es un desecho agroindustrial con alto potencial antioxidante que puede ayudar a disminuir su desaprovechamiento y ser usado como un polvo con características antioxidantes importantes.

## V. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro por permitir que mi estancia en este Verano de la Ciencia fuera posible. También, quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Coahuila y al COECYT por el apoyo otorgado.

## REFERENCIAS

- [1] Flores M. Efecto de la adición de extracto de betabel (*Beta vulgaris*) liofilizado sobre las características fisicoquímicas, actividad antioxidante, contenido y estabilidad de betalainas y polifenoles en yogurt batido. Univ Autónoma de Chihuahua [Tesis maestría] 2020: 1-13.
- [2] Carbajal C. Reactive oxygen species: Training , function and oxidative stress. Medicina Legal de Costa Rica 2019;36.
- [3] Coronado M, Radilla C. Antioxidantes : perspectiva actual para la salud humana Antioxidants : present perspective for the human health. Revista chilena de nutrición 2015;42.
- [4] Escobar, A. Evaluación de la protección y liberación del extracto de Bugambilia (*Bougainvillea* sp.) encapsulado de perlas de alginato y de almidón de maíz. Univ Autónoma del Estado de México [Tesis licenciatura] 2016;2:35–43.
- [5] Sadowska-bartosz I. Biological Properties and Applications of Betalains. Molecules 2021:1–36.
- [6] Marcia R, Díaz D, Jimena S, Medrano M. Óxido nítrico: la diversidad de sus efectos sistémicos. Revista Científica Ciencia Médica 2009:35–8.
- [7] Fuentes-Barría H, Muñoz Peña D, Aguilera Eguía R, González Wong C. Influence of the bioactives compounds of beetroot (*Beta vulgaris* L) on the cardioprotective effect: A narrative review. Rev Chil Nutr 2018;45:178–82.
- [8] Muchiutti GS, López Novello LH, Córscico FA, Larrosa VJ. Cápsulas de alginato para la protección de polifenoles presentes en el aceite esencial de orégano. Ciencia, Docencia y Tecnol 2019;30:297–309.
- [9] Castellanos-Santiago E, Yahia EM. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. J Agric Food Chem 2008;56:5758–64.
- [10] Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology 1999. 152–178.
- [11] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 1999;64:555–9.
- [12] Elizondo M. Determinación de nitrito de sodio en un embutido por espectrofotometría visible mediante el reactivo de Griess. [Tesis maestría] Univ Costa Rica 2021:8.

# ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE APATITAS EN FÉMURES DE RATA WISTAR.

**Dulce Magdalena Villanueva Raya**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato-Silao Km 12.5,  
El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato.  
[LIS16110362@irapuato.tecnm.mx](mailto:LIS16110362@irapuato.tecnm.mx)

**Gabriel Herrera Pérez**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato-Silao Km 12.5,  
El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato.  
[gabriel.hp@irapuato.tecnm.mx](mailto:gabriel.hp@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — En este trabajo se presentan la caracterización fisicoquímica de la hidroxiapatita a través del análisis termogravimétrico, del análisis térmico diferencial y del análisis espectrofotométrico por transformada de Fourier en tres muestras distintas de fémur de Rata Wistar utilizando el mismo procedimiento y aplicando la misma configuración en los dispositivos electrónicos utilizados para los análisis; y comparando los resultados obtenidos de forma gráfica con las mostradas en la información bibliográfica.

**Palabras clave** — Hidroxiapatita, Termogravimetría, Análisis termogravimétrico, Análisis térmico diferencial, Análisis espectrofotométrico por transformada de Fourier.

**Abstract** — This paper presents the physicochemical characterization of hydroxyapatite through thermogravimetric analysis, differential thermal analysis and spectrophotometric analysis by Fourier transform in three different samples of Wistar Rat femur using the same procedure and applying the same configuration in the electronic devices used for the analysis; and comparing the results obtained graphically with those shown in the bibliographic information.

**Keywords** — Hydroxyapatite, Thermogravimetry, Thermogravimetric analysis, Differential thermal analysis, Fourier transform spectrophotometric analysis.

## I. INTRODUCCIÓN

Los fosfatos cálcicos han cobrado importancia en la industria biomédica desde mediados del siglo XX, en especial la Hidroxiapatita (HA) de composición química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , la cual es ampliamente conocida por ser el material del que está compuesto la parte inorgánica del hueso [1]. El hueso está formado por una mezcla global de elementos en diferentes proporciones los cuales se clasifican en tres grupos: Mayores, Menores y Trazas. De los cuales los mayores corresponden a la HA orgánica, la cual además cuenta con la presencia de otros elementos en forma de trazas y elementos orgánicos [2], lo que diferencia a la HA orgánica de la HA sintética conocida como HA estequiometría es la presencia de estos elementos orgánicos dentro del organismo.

El presente trabajo consiste en la caracterización fisicoquímica de la HA obtenida de los huesos de las Ratas Wistars (*Rattus Norvergicus*) a través del análisis termogravimétrico (TGA), el análisis térmico diferencial (DTA) y de la espectroscopia por transformada de Fourier (FTIR).

## II. MARCO TEÓRICO

Los fosfatos cálcicos son un grupo de cerámicos los cuales se han desarrollado para tratar los defectos óseos entre otros tantos padecimientos, debido a sus características biocompatibles, bioactivas y osteoconductoras [5]. Estos pueden ser obtenidos a través de la precipitación de soluciones acuosas en donde aparecen en forma de polvo suelto, los cuales varían en la concentración de iones H, OH en función de las condiciones experimentales [6]. Existe una amplia variedad de fosfatos cálcicos como es el caso del  $\beta$ -tricalcio fosfato, el fosfato de calcio bifásico y la HA.

La HA es un mineral y un material con la composición química más similar al componente mineral de los huesos. La HA pura es una fase estequiométrica de la apatita la cual destaca por tener una relación molar de 1.67 de Ca/P (calcio/fosforo). Su estructura química consiste en la unión de 10 moléculas de calcio, 6 moléculas de fosfato ( $PO_4^{-3}$ ) y dos moléculas de hidroxilo. Sus características y las aplicaciones dependen de su origen, de su estructura cristalina, de su tamaño y de su composición [7]. Este material puede encontrarse en gran cantidad en los huesos de los organismos vivos donde esta representa el 50-70% del peso de este siendo el restante colágeno, proteínas y agua. La estructura debe de tener una relación molar de 1.67 Ca/P en su estado puro, puesto que se ha reportado la existencia de HA con una relación de Ca/P de 1.62, 1.64 y 1.76 esmalte, dentina e HA sintética, respectivamente [8].

La HA sintética es un sistema monoclinico cristalino y en el caso de la HA natural este es un sistema hexagonal; que cuenta con parámetros de red con valores de  $a=9.4214\text{Å}$ ,  $b=2a\text{Å}$ ,  $c=6.8814\text{Å}$  contando además con un valor de ángulo de  $\gamma=120^\circ$ , y una desviación en los átomos de oxígeno en el eje  $z=1/4$ . Adicionalmente los estudios con radiación de sincrotrón recientes han logrado identificar que el valor de  $b$  es diametralmente superior a  $2a$ [9].

## III. MATERIALES Y METODOS

El sistema de cifrado implementado consta de 3 etapas, en el cual se usa una llave de 4 condiciones iniciales y un conjunto Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron las siguientes pruebas de análisis de fin de obtener valores que pudieran ser comprobables entre ellos.

- Análisis Termogravimétrico (TGA), Análisis Térmico Diferencial (DTA).
- Espectroscopia de transformada de Fourier (FTIR)

## Análisis Termogravimétrico.

La termogravimetría (TG), es la técnica donde la masa de una muestra es monitoreada en función del tiempo o la temperatura esto a través de un analizador termogravimétrico (TGA)[10]. El DTA es la técnica que utiliza los efectos del calor para determinar las temperaturas de cambio físico de las muestras utilizadas. En el TGA se somete la muestra a un proceso de aumento de temperatura controlada durante un periodo de tiempo establecido y se entrega como resultado final un gráfico que permite observar el comportamiento de la muestra en el lapso establecido. Por último, se aplican una serie de operaciones a la imagen resultante del proceso anterior con el fin de obtener una imagen cuyo histograma muestre una distribución uniforme. Con lo cual se obtendría una imagen donde las redundancias fueron ocultadas. El sistema de cifrado propuesto se muestra en la figura 2.



Fig. 1. a) Maquina de análisis TGA Y DTA, b) Balanza de precisión.

### Pretratamiento de las muestras.

Con la maquina vacía, se procedió a tara y después a abrir el equipo. Utilizado dos crisoles de  $\alpha$ -alúmina uno con la muestra y otro vacío se colocaron sobre los brazos de la balanza y se cerraron dejándolos preparados para el análisis. La primera fase consistió en un pretratamiento donde la muestra subió su temperatura a  $50^{\circ}\text{C}$  para después permanecer sin cambios durante 15 minutos y proceder con el análisis subiendo su temperatura a un ritmo de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta llegar a los  $1000^{\circ}\text{C}$ . Para la prueba se analizó la muestra 3, 7 y 9 de huesos de rata y se les comparo con una muestra de hidroxiapatita comercial, utilizando para la prueba aire seco comprimido de grado cromatográfico suministrado a  $10\text{ mL}/\text{min}$  durante un tiempo promedio de 120 minutos a 150 minutos para la realización de la prueba y 30 minutos de enfriamiento.

### Análisis por Espectroscopia Infrarroja

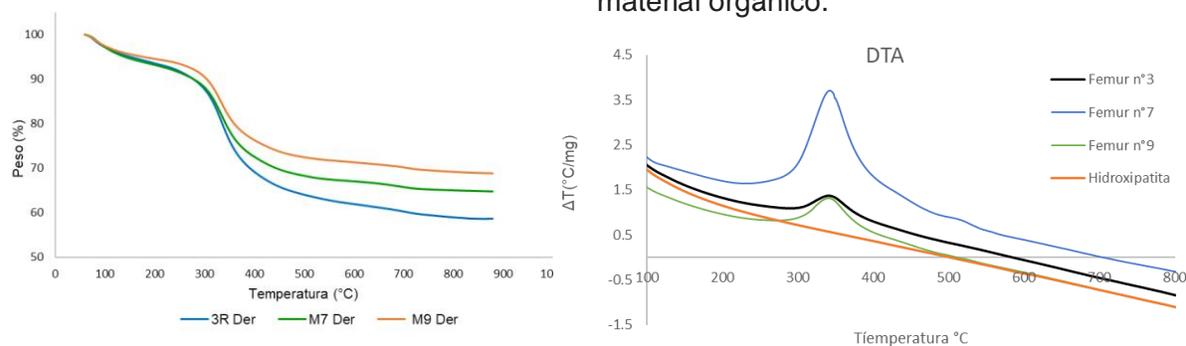
La región infrarroja la radiación comprendida de entre los  $12,800$  hasta los  $10\text{ cm}^{-1}$ , dicho espectro es dividido en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano[11]. Siendo las utilizada la región del infrarrojo medio ubicada en el rango de los  $4000$

hasta los  $670\text{cm}^{-1}$ ; sirviendo como un medio para hacer análisis cualitativos y para determinar la estructura de la muestra analizada. La técnica basa su funcionamiento en la lectura de los cambios energéticos producidos por las transiciones de las moléculas que lo conforman cuando estas pasan de un estado vibracional a otro al verse sometidas a un cambio en dicho estado vibracional. El resultado de este análisis resulta en la obtención de una “huella” molecular de la muestra, la importancia de esta huella molecular radica en que la estructura química de la muestra cuneta con su huella característica.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

El análisis de las muestras de hueso presento un comportamiento similar en las tres muestras utilizadas las cuales perdieron un porcentaje de masa entre el 30-40%, resultado correspondiente a la bibliografía ya que a temperaturas por encima de los  $530^\circ\text{C}$  la materia orgánica desaparece[12] comportamiento que se repite en las muestras óseas de otras especies no solo mamíferos. Además, es posible observar una pérdida de masa de un 1.5% en a partir de los  $800^\circ\text{C}$ , comportamiento que se repite en las muestras de HA comercial.

El DTA presento a su vez un comportamiento similar entre las tres muestras de fémur con la diferencia en el tramo final donde se presenta una notable diferencia en el final del gráfico partiendo las tres muestras desde una temperatura similar, donde es posible observar un incremento en el grafico en el rango de los  $250^\circ\text{C}$  hasta los  $400^\circ\text{C}$  correspondiente a la perdida de la materia orgánica es decir debido a la liberación de material orgánico.



**Fig. 2.** a) Análisis TGA muestra 3, b) Análisis TGA muestra 7, c) Análisis TGA muestra 9 d) Análisis TGA de las muestras de HA

El análisis de las muestras de hueso presento un comportamiento similar en las tres muestras utilizadas las cuales perdieron un porcentaje de masa entre el 30-40%, resultado correspondiente a la bibliografía ya que a temperaturas por encima de los  $530^\circ\text{C}$  la materia orgánica desaparece[12] comportamiento que se repite en las muestras óseas de otras especies no solo mamíferos. Además, es posible observar una pérdida de masa de un 1.5% en a partir de los  $800^\circ\text{C}$ , comportamiento que se repite en las muestras de HA comercial.

El DTA presento a su vez un comportamiento similar entre las tres muestras de fémur con la diferencia en el tramo final donde se presenta una notable diferencia en el final del

gráfico partiendo las tres muestras desde una temperatura similar, donde es posible observar un incremento en el gráfico en el rango de los 250°C hasta los 400°C correspondiente a la pérdida de la materia orgánica es decir debido a la liberación de material orgánico.

### Espectroscopia Infrarroja

Los espectros obtenidos del FTIR presentan un comportamiento similar al de otros análisis realizados en muestras similares, es posible observar la banda más alta en la absorbancia de la muestra en el rango de los 500 – 600  $cm^{-1}$  propia de los  $PO_4$  presentes en los huesos de las ratas[13] resaltan además los picos presentes dentro del rango de los 1000 – 2000  $cm^{-1}$  donde pueden ser observadas las señales de otros componentes de interés (fosfatos, carbonatos, amidas, etc.)[14]. En lo referente a la HA podemos apreciar en el gráfico las bandas formadas en los puntos 3400  $cm^{-1}$  y 1600  $cm^{-1}$  corresponderían a las vibraciones del grupo -OH y las bandas formadas en los puntos 550, 610, 990, 190 y 1027  $cm^{-1}$  corresponderían a las vibraciones del grupo  $PO_4$ [15] ubicadas en los puntos mencionados anteriormente.

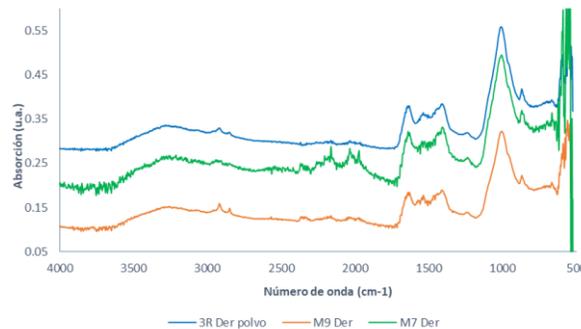


Fig. 4. Comparación de los espectros generados en el análisis FTIR.

### V. CONCLUSIONES

Los espectros obtenidos muestran similitudes entre ellas mostrando el mismo comportamiento el cual concuerda con la bibliografía proporcionada, pues es posible observar las similitudes en las muestras analizadas en las cuales es posible observar la misma pérdida de masa en el rango de los 200 – 500°C correspondiente a la pérdida de materia orgánica en las muestras de fémur esto en el caso del análisis TGA. Dentro del análisis DTA el mismo comportamiento se evidencia en el mismo rango mencionado anteriormente. Las muestras obtenidas del análisis FTIR muestran la misma similitud entre ellas donde es posible observar un comportamiento similar entre las bandas generadas por lo que su estructura química vendría a ser similar al encontrar las mismas bandas características en las tres muestras.

Dichos análisis muestran a su vez similitudes al ser comparadas con las muestras de HA comercial especialmente los análisis DTA Y TGA, donde a partir de cierto punto las muestras de hueso han perdido la masa correspondiente al contenido orgánico y su

comportamiento es similar al de la HA. Los resultados obtenidos dejaron ver que no existe una diferencia apreciable entre la HA comercial y la obtenida de las muestras utilizadas para el experimento.

## VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato por el apoyo otorgado para participar en este programa y al Comité Organizador del 24 Verano de la Ciencia de la Región Centro 2022.

## REFERENCIAS

- [1] Pekka. Vallittu, *Non-metallic biomaterials for tooth repair and replacement*. Woodhead Pub, 2013.
- [2] Peter. Dubruel and Sandra. van Vlierberghe, *Biomaterials for bone regeneration novel techniques and applications*. Woodhead Pub, 2014.
- [3] A. F. Khan, M. Awais, A. S. Khan, S. Tabassum, A. A. Chaudhry, and I. U. Rehman, "Raman spectroscopy of natural bone and synthetic apatites," *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 48, no. 4, pp. 329–355, May 2013, doi: 10.1080/05704928.2012.721107.
- [4] "Front-matter," in *Boorman's Pathology of the Rat*, Elsevier, 2018, pp. i–iii. doi: 10.1016/b978-0-12-391448-4.00038-1.
- [5] R. Duan *et al.*, "Variation of the bone forming ability with the physicochemical properties of calcium phosphate bone substitutes," *Biomaterials Science*, vol. 6, no. 1, pp. 136–145, Jan. 2018, doi: 10.1039/c7bm00717e.
- [6] K. de. Groot, *Bioceramics of calcium phosphate*. CRC Press, 1983.
- [7] K. Mallick, *Bone substitute biomaterials*.
- [8] A. S. Khan, "Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites."
- [9] E. J.C, "Studies in Inorganic Chemistry Other titles in this series," London, 1994.
- [10] Groenewoud. W.M, "Characterisation of Polymers By Thermal Analysis," Amsterdam, 2001.
- [11] D. A. Skoog, Fj. Holler, and S. R. Crouch, "Principios de análisis instrumental." [Online]. Available: [www.FreeLibros.me](http://www.FreeLibros.me)
- [12] J. A. da Cruz *et al.*, "Low-Cost Hydroxyapatite Powders from Tilapia Fish," *J. Mat*, vol. 72, no. 4, 2020, doi: 10.1007/s11837-019-03998-4.
- [13] "termine1966".
- [14] A. Boskey and R. Mendelsohn, "Infrared analysis of bone in health and disease," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, no. 3, p. 031102, 2005, doi: 10.1117/1.1922927.
- [15] S. Frago Angéles, R. Vera-Graziano, G. Lizeth Pérez González, A. Leticia Iglesias, L. Enrique Gómez Pineda, and L. Jesús Villarreal-Gómez, "Síntesis y Caracterización de Hidroxiapatita Sintética para la Preparación de Filmes de PLGA/HAp con Potencial Uso en Aplicaciones Biomédicas Synthesis and Characterization of Synthetic Hydroxyapatite for the Preparation of PLGA/HAp Films with a Potential Use in Biomedical Applications," 2018.

# ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DE APATITAS EN FÉMURES DE RATA WISTAR.

**Aldo Mauricio Gutiérrez Hernández**

Instituto Tecnológico Superior de  
Purísima del Rincón.  
Blvd. del Valle #2301, Guardarrayas  
Purísima del Rincón, Gto. C.P. 36413  
[LRS18110243@purisima.tecnm.mx](mailto:LRS18110243@purisima.tecnm.mx)

**Gabriel Herrera Pérez**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia  
El Copal, C.P. 36821, Irapuato, Guanajuato  
[gabriel.hp@irapuato.tecnm.mx](mailto:gabriel.hp@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — En este trabajo se presentan la caracterización fisicoquímica de la hidroxiapatita a través del análisis termogravimétrico, del análisis térmico diferencial y del análisis espectrofotométrico por transformada de Fourier en tres muestras distintas de fémur de Rata Wistar utilizando el mismo procedimiento y aplicando la misma configuración en los dispositivos electrónicos utilizados para los análisis; y comparando los resultados obtenidos de forma gráfica con las mostradas en la información bibliográfica.

**Palabras clave** — Hidroxiapatita, Termogravimetría, Análisis termogravimétrico, Análisis térmico diferencial, Análisis espectrofotométrico por transformada de Fourier.

**Abstract** — This paper presents the physicochemical characterization of hydroxyapatite through thermogravimetric analysis, differential thermal analysis and spectrophotometric analysis by Fourier transform in three different samples of Wistar Rat femur using the same procedure and applying the same configuration in the electronic devices used for the analysis; and comparing the results obtained graphically with those shown in the bibliographic information.

**Keywords** — Hydroxyapatite, Thermogravimetry, Thermogravimetric analysis, Differential thermal analysis, Fourier transform spectrophotometric analysis.

## I. INTRODUCCIÓN

Los fosfatos cálcicos han cobrado importancia en la industria biomédica desde mediados del siglo XX, en especial la Hidroxiapatita (HA) de composición química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , la cual es ampliamente conocida por ser el material del que está compuesto la parte inorgánica del hueso [1]. El hueso es un material compuesto formado por colágeno y una fase cristalina de Hidroxiapatita [2], lo que diferencia a la HA orgánica de la HA sintética conocida como HA estequiométrica es la presencia de estos elementos orgánicos dentro del organismo. El presente trabajo consiste en la caracterización fisicoquímica de la HA obtenida de los huesos de las Ratas Wistars (*Rattus Norvergicus*) a través del análisis termogravimétrico (TGA), el análisis térmico diferencial (DTA) y de la espectroscopia por transformada de Fourier (FTIR).

## II. MARCO TEÓRICO

Los fosfatos cálcicos son un grupo de cerámicos, los cuales pueden ser obtenidos a través de la precipitación de soluciones acuosas en donde aparecen en forma de polvo suelto, los cuales varían en la concentración de iones H, OH en función de las condiciones experimentales [6]. Existe una amplia variedad de fosfatos cálcicos como el  $\beta$ -tricalcio fosfato, el fosfato de calcio bifásico y la HA. Por otro lado, la HA es un mineral de la familia de las apatitas, cuya fórmula química es  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . La HA pura es una fase estequiométrica de la apatita la cual destaca por tener una relación molar de 1.67 de Ca/P (calcio/fosforo). Su estructura química consiste en la unión de 10 moléculas de calcio, 6 moléculas de fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) y dos moléculas de hidroxilo. Sus características y las aplicaciones dependen de su origen, de su estructura cristalina, de su tamaño y de su composición [7]. Este material puede encontrarse en gran cantidad en los huesos de los organismos vivos donde esta representa el 50-70% del peso de este siendo el restante colágeno, proteínas y agua. La estructura debe de tener una relación molar de 1.67 Ca/P en su estado puro, puesto que se ha reportado la existencia de HA con una relación de Ca/P de 1.62, 1.64 y 1.76 esmalte, dentina e HA sintética, respectivamente [8]. La HA sintética es un sistema monoclinico cristalino y en el caso de la HA natural este es un sistema hexagonal; que cuenta con parámetros de red con valores de  $a=9.4214\text{Å}$ ,  $b=2a\text{Å}$ ,  $c=6.8814\text{Å}$  contando además con un valor de ángulo de  $\gamma=120^\circ$ , y una desviación en los átomos de oxígeno en el eje  $z=1/4$ . Adicionalmente los estudios con radiación de sincrotrón recientes han logrado identificar que el valor de  $b$  es diametralmente superior a 2 [9].

## III. MATERIALES Y METODOS

El sistema de cifrado implementado consta de 3 etapas, en el cual se usa una llave de 4 condiciones iniciales y un conjunto Para el desarrollo de este proyecto se utilizaron las siguientes pruebas de análisis de fin de obtener valores que pudieran ser comprobables entre ellos, partiendo del Análisis Termogravimétrico (TGA), Análisis Térmico Diferencial (DTA) y de la Espectroscopia de transformada de Fourier (FTIR)

### Análisis Termogravimétrico.

La termogravimetría (TG), es la técnica donde la masa de una muestra es monitoreada en función del tiempo o la temperatura esto a través de un analizador termogravimétrico (TGA) [10]. El DTA es la técnica que utiliza los efectos del calor para determinar las temperaturas de cambio físico de las muestras utilizadas. En el TGA se somete la muestra a un proceso de aumento de temperatura controlada durante un periodo de tiempo establecido y se entrega como resultado final un gráfico que permite observar el comportamiento de la muestra en el lapso establecido. Por último, se aplican una serie de operaciones a la imagen resultante del proceso anterior con el fin de obtener una imagen cuyo histograma muestre una distribución uniforme. Con lo cual se obtendría una imagen donde las redundancias fueron ocultadas. El sistema se muestra en la Figura 2.



a) b)  
**Fig. 1.** a) Maquina de análisis TGA Y DTA, b) Balanza de precisión.

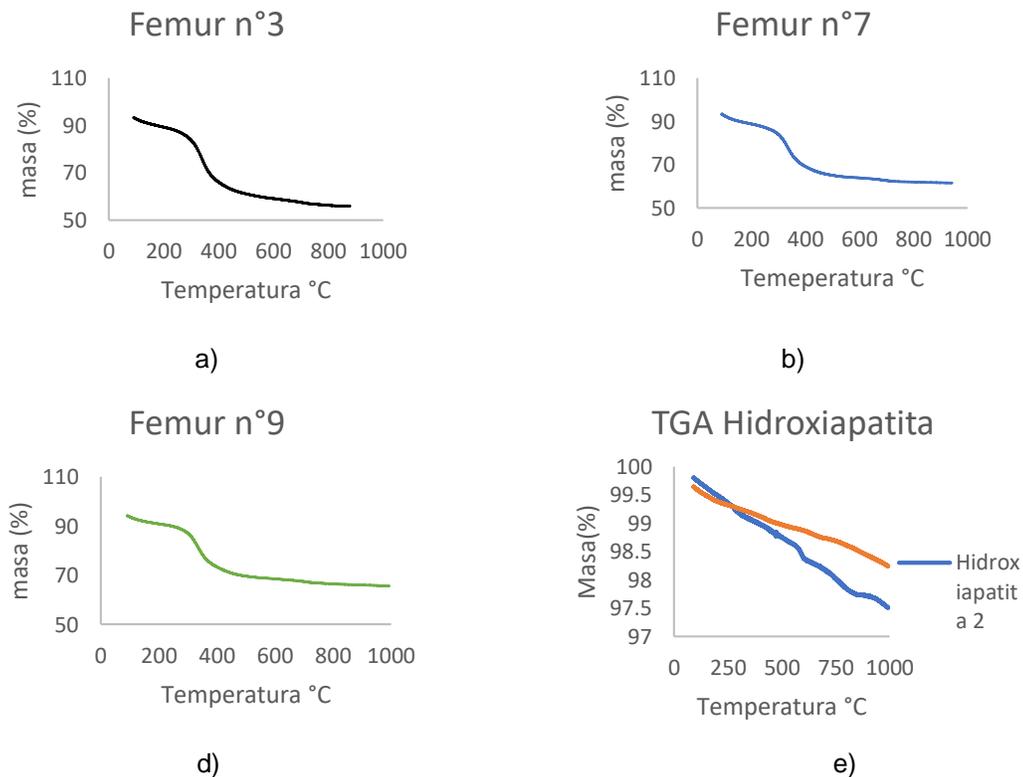
Con la maquina vacía, se procedió a tara y después a abrir el equipo. Utilizado dos crisoles de  $\alpha$ -alúmina uno con la muestra y otro vacío se colocaron sobre los brazos de la balanza y se cerraron dejándolos preparados para el análisis. La primera fase consistió en un pretratamiento donde la muestra subió su temperatura a  $50^{\circ}\text{C}$  para después permanecer sin cambios durante 15 minutos y proceder con el análisis subiendo su temperatura a un ritmo de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  hasta llegar a los  $1000^{\circ}\text{C}$ . Para la prueba se analizó la muestra 3, 7 y 9 de huesos de rata y se les comparo con una muestra de hidroxapatita comercial, utilizando para la prueba aire seco comprimido de grado cromatográfico suministrado a  $10\text{ mL}/\text{min}$  durante un tiempo promedio de 120 a 150 minutos para la realización de la prueba y 30 minutos de enfriamiento.

### **Análisis FTIR.**

La región infrarroja es comprendida de los  $12,800$  a los  $10\text{ cm}^{-1}$ , dicho espectro es dividido en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano [11]. Siendo las utilizada la región del infrarrojo medio ubicada en el rango de los  $4000$  hasta los  $670\text{ cm}^{-1}$ ; sirviendo como un medio para hacer análisis cualitativos y determinar la estructura de la muestra analizada. La técnica basa su funcionamiento en la lectura de los cambios energéticos producidos por las transiciones de las moléculas que lo conforman cuando estas pasan de un estado vibracional a otro al verse sometidas a un cambio en dicho estado vibracional. El resultado de este análisis resulta en la obtención de una “huella” molecular de la muestra.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

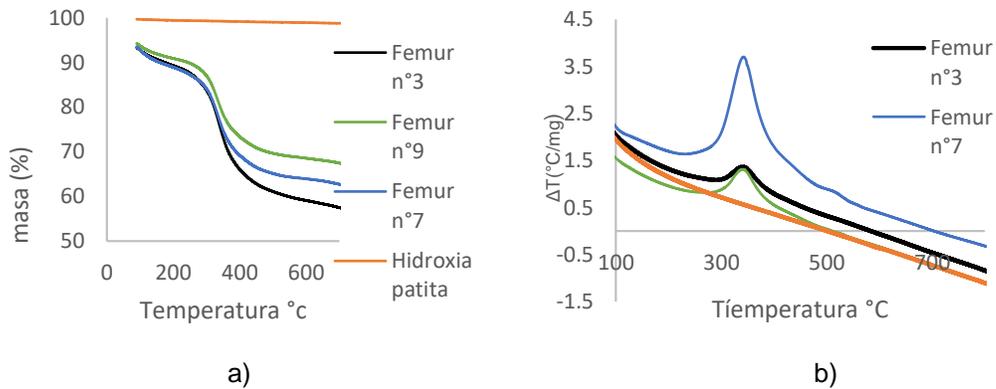
El análisis de las muestras de hueso presento un comportamiento similar en las tres muestras utilizadas las cuales perdieron un porcentaje de masa entre el 30-40%, resultado correspondiente a la bibliografía ya que a temperaturas por encima de los 530°C la materia orgánica se calcina [12], comportamiento que se repite en las muestras óseas de otras especies no solo mamíferos. Además, es posible observar una pérdida de masa de un 1.5% en a partir de los 800°C, comportamiento que se repite en las muestras de HA comercial. El DTA presento a su vez un comportamiento similar entre las tres muestras de fémur con la diferencia en el tramo final donde se presenta una notable diferencia en el final del gráfico partiendo las tres muestras desde una temperatura similar, donde es posible observar un incremento en el grafico en el rango de los 250°C hasta los 400°C correspondiente a la perdida de la materia orgánica.



**Fig. 2.** a) Análisis TGA muestra 3, b) Análisis TGA muestra 7, c) Análisis TGA muestra 9  
d) Análisis TGA de las muestras de HA

El análisis de las muestras de hueso perdió un porcentaje másico entre el 30-40%, resultado correspondiente a la bibliografía ya que a temperaturas por encima de los 530°C la materia orgánica se calcina [12]. Además, es posible observar una pérdida de masa de un 1.5% en a partir de los 800°C. El DTA presento un comportamiento similar entre las tres muestras de fémur con la diferencia en el tramo final donde se presenta una notable diferencia en el final del gráfico partiendo las tres muestras desde una temperatura similar,

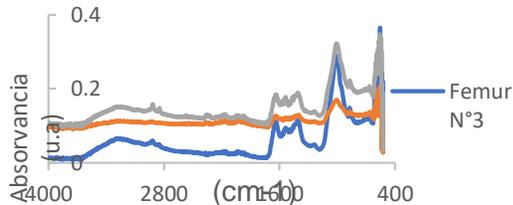
donde es posible observar un decremento en el rango de los 250°C hasta los 400°C correspondiente a la calcinación de materia orgánica.



**Fig. 3.** Comparación entre las muestras TGA y DTA.

## FTIR

Los espectros obtenidos del FTIR permiten observar la banda más alta en la absorbancia de la muestra en el rango de los  $500 - 600\text{cm}^{-1}$  propia de los  $\text{PSO}_4$  presentes en los huesos de las ratas [13] resaltan además los picos presentes dentro del rango de los  $1000 - 2000\text{cm}^{-1}$  donde pueden ser observadas las señales de otros componentes de interés fosfatos, carbonatos, amidas, etc [14]. En lo referente a la HA el espectro las bandas formadas en los puntos  $3400\text{cm}^{-1}$  y  $1600\text{cm}^{-1}$  corresponderían a las vibraciones del grupo -OH y las bandas formadas en los puntos  $550, 610, 990, 190$  y  $1027\text{cm}^{-1}$  corresponderían a las vibraciones del grupo  $\text{PO}_4$  [15].



**Fig. 4.** Comparación de los espectros generados en el análisis FTIR.

## V. CONCLUSIONES

Los espectros obtenidos muestran el mismo comportamiento, pues es posible observar las similitudes en las muestras analizadas en las cuales es posible observar la misma pérdida de masa en el rango de los  $200 - 500^\circ\text{C}$  correspondiente a la pérdida de materia orgánica en las muestras de fémur esto en el caso del análisis TGA. Dentro del análisis DTA el mismo comportamiento se evidencia en el mismo rango mencionado anteriormente. Las muestras obtenidas del análisis FTIR muestran similitud entre ellas, donde es posible observar un comportamiento similar entre las bandas generadas por lo que su estructura química es similar, al encontrar las mismas bandas características en las tres muestras. Los resultados obtenidos por análisis DTA y TGA, dejaron ver que no existe una diferencia

apreciable entre la HA comercial y la obtenida de las muestras utilizadas para el experimento.

## VI. RECONOCIMIENTOS

Los autores hacen un reconocimiento / agradecimiento al Comité Organizador del 24 VERANO DE LA CIENCIA REGIÓN CENTRO 2022.

## REFERENCIAS

- [1] Pekka. Vallittu, *Non-metallic biomaterials for tooth repair and replacement*. Woodhead Pub, 2013.
- [2] Peter. Dubruel and Sandra. van Vlierberghe, *Biomaterials for bone regeneration novel techniques and applications*. Woodhead Pub, 2014.
- [3] A. F. Khan, M. Awais, A. S. Khan, S. Tabassum, A. A. Chaudhry, and I. U. Rehman, "Raman spectroscopy of natural bone and synthetic apatites," *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 48, no. 4, pp. 329–355, May 2013, doi: 10.1080/05704928.2012.721107.
- [4] "Front-matter," in *Boorman's Pathology of the Rat*, Elsevier, 2018, pp. i–iii. doi: 10.1016/b978-0-12-391448-4.00038-1.
- [5] R. Duan *et al.*, "Variation of the bone forming ability with the physicochemical properties of calcium phosphate bone substitutes," *Biomaterials Science*, vol. 6, no. 1, pp. 136–145, Jan. 2018, doi: 10.1039/c7bm00717e.
- [6] K. de Groot, *Bioceramics of calcium phosphate*. CRC Press, 1983.
- [7] K. Mallick, *Bone substitute biomaterials*.
- [8] A. S. Khan, "Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites."
- [9] E. J.C, "Studies in Inorganic Chemistry Other titles in this series," London, 1994.
- [10] Groenewoud. W.M, "Characterisation of Polymers By Thermal Analysis," Amsterdam, 2001.
- [11] D. A. Skoog, Fj. Holler, and S. R. Crouch, "Principios de análisis instrumental." [Online]. Available: [www.FreeLibros.me](http://www.FreeLibros.me)
- [12] J. A. da Cruz *et al.*, "Low-Cost Hydroxyapatite Powders from Tilapia Fish," *J. Mat*, vol. 72, no. 4, 2020, doi: 10.1007/s11837-019-03998-4."termine1966".
- [14] A. Boskey and R. Mendelsohn, "Infrared analysis of bone in health and disease," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 10, no. 3, p. 031102, 2005, doi: 10.1117/1.1922927.
- [15] S. Frago Angeles, R. Vera-Graziano, G. Lizeth Pérez González, A. Leticia Iglesias, L. Enrique Gómez Pineda, and L. Jesús Villarreal-Gómez, "Síntesis y Caracterización de Hidroxiapatita Sintética para la Preparación de Filmes de PLGA/HAp con Potencial Uso en Aplicaciones Biomédicas Synthesis and Characterization of Synthetic Hydroxyapatite for the Preparation of PLGA/HAp Films with a Potential Use in Biomedical Applications," 2018.

# RECUBRIMIENTOS NANOESTRUCTURADOS OBTENIDOS POR MÉTODOS QUÍMICOS SOSTENIBLES

**Vicenteño Ramírez Alejandro**

Tecnológico Nacional de México, campus  
Querétaro  
Av. Tecnológico s/n, Centro, 76000 Santiago de  
Querétaro, Qro.  
[1357v.van@gmail.com](mailto:1357v.van@gmail.com)

**Mónica Balvanera Ortuño López**

Tecnológico Nacional de México, campus  
Querétaro  
Av. Tecnológico s/n, Centro, 76000 Santiago de  
Querétaro, Qro.  
[monica.ol@queretaro.tecnm.mx](mailto:monica.ol@queretaro.tecnm.mx)

## **Resumen**

Se realiza un estudio para encontrar las condiciones óptimas para el crecimiento de películas nanométricas de un semiconductor, en este caso sulfuro de cadmio (CdS) por medio de Deposición en Baño Químico (DBQ), con el fin de formar una capa de CdS homogénea y más gruesa, esto se logra cambiando de distintas maneras las variables para la realización de experimento tales como, la concentración de reactivos, tiempo de inmersión del reactor y a que temperaturas estaría trabajando, además de probar si un calentamiento previo de la solución ayuda a lograr el objetivo de este proyecto, aunado a esto se realiza una caracterización óptica para sustentar el resultado final de los sustratos que en apariencia son exitosos.

**Palabras clave** — CdS, Deposición en Baño Químico, Película nanométricas.

## **Abstract**

A study is carried out to find optimal conditions for growth of nanometric films of a semiconductor, in this case cadmium sulfide (CdS) by Chemical Bath Deposition (CBD), the final purpose is to form an homogeneous and thick film, this goal can be reached changing in different ways the variables in the realization of the experiment such as, reagents concentration, immersion time of reactor and working temperature, also, testing if a previous heating improves to achieve the goal of this project, in addition to this, an optical characterization is doing to sustain the final results in substratums that in appearance are successful.

**Keywords** — CdS, Chemical Bath Deposition, Nanometric Films.

## **I. INTRODUCCIÓN**

En la actualidad se ha hablado mucho del desarrollo sustentable y como debe de ser aplicado a distintas áreas de interés en nuestra sociedad, tal es el caso del aprovechamiento de fuentes alternas de energía, que no sean contaminantes y que en su proceso de fabricación sean menos costosas, el presente trabajo está dirigido a una de esas fuentes alternas, el aprovechamiento de la energía fotovoltaica mediante el uso de celdas solares de películas delgadas policristalinas; hoy en día existen diversas celdas de este tipo, las más comunes serían las celdas solares de silicio, pero estas presentan una gran desventaja, su alto costo. Afortunadamente se tiene la alternativa como la que se trabaja en el trabajo presente, celdas policristalinas de semiconductores, las cuales han llegado a ser el competidor más cercano de las celdas a base de silicio, gracias a sus procesos de fabricación, bajo costo de producción, propiedades ante la degradación solar y mejor resistencia a las condiciones climatológicas.

Este proyecto propone una nueva metodología más eficiente que las que ya han sido utilizadas para para fabricar la capa venta de la celda solar de películas delgadas (CdS/CdTe), mediante el

método de Deposición en Baño Químico. La propuesta concreta incluye un calentamiento previo del reactor con la solución de crecimiento para CdS depositado en un sustrato de vidrio. El CdS es uno de los materiales más estudiados y más importantes para la aplicación anteriormente mencionada, ya que es un semiconductor ideal para generar heterouniones con CdTe, el cual es otro de los principales semiconductores usados para el desarrollo de celdas solares de películas delgadas policristalinas.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos que fueron empleados para la parte experimental de este proyecto son los siguientes: cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ ) como fuente de iones de Cadmio, citrato de sodio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) que servirá como agente acomplejante formando complejos que retienen el metal, hidróxido de potasio (KOH) al igual que el citrato tendrá la función de ser un agente acomplejante mediante la formación de hidróxido de cadmio, buffer (borato de sodio,  $\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) para mantener un pH de 10 en la solución, tiourea ( $\text{CS}(\text{NH}_2)_2$ ) que aportará los iones sulfuro a la reacción y por último agua desionizada hasta completar un total de 50 ml en el reactor. En la Tabla 1 se pueden apreciar los volúmenes y molaridades de los reactivos mencionados, cabe destacar que dichos valores cambian posteriormente para encontrar la fórmula idónea que entregue mejores resultados (Tabla 2). Los sustratos utilizados para este proyecto fueron portaobjetos de vidrio *Corning* (75mm x 25mm) que fueron sometidos a un proceso de limpieza con ácido clorhídrico (HCl), agua, jabón y un posterior secado.

La técnica DBQ consiste básicamente en reacciones de precipitación controladas en disoluciones acuosas, así dos o más sustancias reaccionarán de manera homogénea para la formación de un precipitado de un compuesto semiconductor, en toda la solución y no solo sobre el sustrato. Este precipitado es el que dará lugar a que se forme una película sobre la superficie del sustrato y sobre la superficie del recipiente que tenga contacto con la solución.

Las síntesis generadas en forma de películas, se lograron en un baño químico a una temperatura controlada de  $80^\circ\text{C}$ , en un vaso de precipitados que contenía a la solución y a los sustratos en posición vertical. Los sustratos permanecieron sumergidos en el reactor durante distintos periodos de tiempo (15, 30, 60, 90 y 120 minutos), donde fue apreciado el comportamiento de las condiciones experimentales iniciales, y así se proporcionar mejoras constantes en cada nueva experimentación.

Tras apreciar los resultados de las primeras películas, se propusieron nuevas condiciones, las cuales se reportan en la tabla 2, lo que permitió agregar una nueva condición de trabajo y la principal innovación en la metodología propuesta, un calentamiento previo del baño químico a una temperatura de  $50^\circ\text{C}$  y por un periodo de tiempo de dos horas. Luego de este precalentado, se aumentó la temperatura hasta llegar a las condiciones de trabajo de  $80^\circ\text{C}$ , es en este punto donde se empieza a contar los periodos de tiempo de crecimiento.

El motivo por el cual se realizó este precalentamiento se basa en la inestabilidad de los núcleos de precipitado, ya que tienden a disolverse fácilmente y disociarse de nuevo en el baño químico, antes de que tengan una oportunidad de crecer.

Se reprodujeron estas condiciones, con un mayor control de la temperatura del baño químico usando un termómetro en el reactor, estas condiciones de trabajo conforman el método que se propone en el presente trabajo de investigación.

REACTIVO	VOLUMEN	MOLARIDAD
CdCl <sub>2</sub>	10 ml	0.1 M
Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	2.5 ml	1 M
KOH	0.5 ml	1 M
Na <sub>2</sub> [B <sub>4</sub> O <sub>5</sub> (OH) <sub>4</sub> ]·8H <sub>2</sub> O	10 ml	1 M
CS(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	5 ml	1 M
H <sub>2</sub> O	22 ml	

**Tabla 1.** Volúmenes y molaridades de los reactivos en el primer experimento

REACTIVO	VOLUMEN	MOLARIDAD
CdCl <sub>2</sub>	10 ml	0.1 M
Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	10 ml	0.25 M
KOH	0.5 ml	1 M
Na <sub>2</sub> [B <sub>4</sub> O <sub>5</sub> (OH) <sub>4</sub> ]·8H <sub>2</sub> O	10 ml	1 M
CS(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	10 ml	1 M
H <sub>2</sub> O	9.5 ml	

**Tabla 2.** Volúmenes y molaridades de los reactivos usados a partir de la segunda experimentación

### III. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta primera experimentación (Figura 1) presentan características muy similares donde podemos encontrar películas no homogéneas, partículas de CdS suspendidas en el agua, una baja adhesión en los sustratos.

En la Figura 2 se aprecia que la solo en uno de los sustratos se obtuvo una película la cual a comparación de todas las anteriores, tanto de esta experimentación de la anterior, fue más homogénea en toda la zona que estuvo en contacto con la solución.

En la Figura 3 se logra apreciar que en un principio no se forma una película, pero conforme avanza el tiempo poco a poco se iba formando una capa bastante homogénea. A partir de la primera hora se nota la tonalidad característica del CdS, pasando de un tono amarillento opaco a uno bien definido similar al de las partículas que se pueden encontrar dispersas dentro de una solución similar a esta.

En la Figura 4 tenemos la serie en la que se perfeccionó la metodología, donde se puede apreciar que se tuvo mayor control al trabajar los reactivos y las condiciones experimentales en general. Esto se aprecia en toda la serie de películas de CdS, las cuales pasaron de tener una tonalidad opaca a una completamente amarillenta y brillante. A partir de la hora de inmersión a 80 °C se pueden observar distintas tonalidades en la parte superior de las películas, debido a que la solución se fue evaporando con lo que estas áreas perdieron contacto con la solución, mientras que las áreas que conservaban el contacto y aparentemente adquirirían más y más grosor y no se degradaron con el paso del tiempo.

Esta última serie al presentar excelentes características cualitativas fueron sometidas a una caracterización óptica con un espectrofotómetro Hach DR 6000 para sustentar el éxito de este proyecto, a cada uno de los sustratos se les calcularon los espectros de transmisión (Gráfica 1) y sus respectivos espectros de absorción (Gráfica 2), en la gráfica de transmitancia el borde de transmisión está aproximadamente por los 450 nm en prácticamente todos los sustratos, presentan una transparencia de entre un 70% a un 90% a partir del borde de transmisión, por su parte la gráfica de absorción nos muestra el borde característico del CdS el cual es cerca de los 500 nm lo que nos permite comprobar la identidad de las películas formadas.



Figura 1



Figura 2



Figura 3

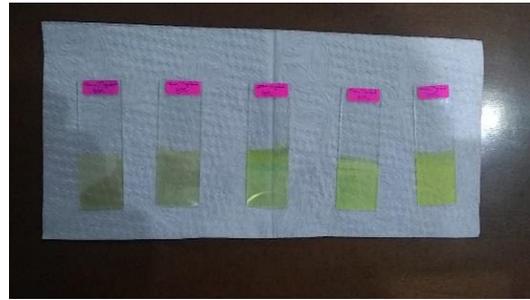
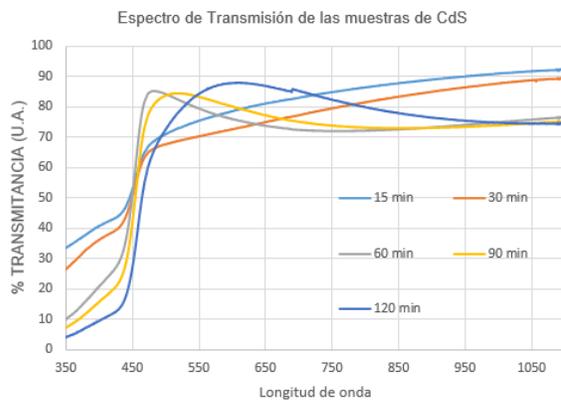
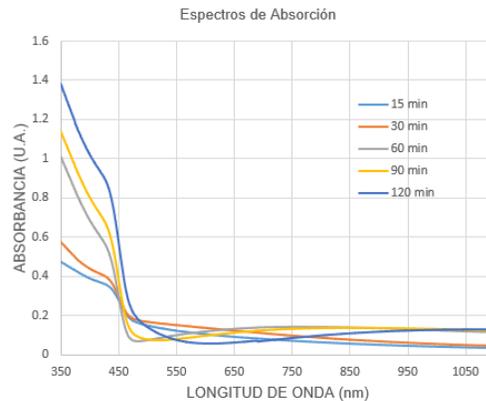


Figura 4



Gráfica 1



Gráfica 2

#### IV. DISCUSIÓN (O ANÁLISIS DE RESULTADOS)

Como se pudo apreciar, a lo largo del proyecto el método de baño químico se fue perfeccionando hasta dar resultados muy satisfactorios, con sustratos que a simple vista llegaron a tener películas delgadas con coloraciones bien definidas y homogéneas, se puede decir que la propuesta de un calentamiento previo es una idea exitosa debido a que fue a partir de ese punto en el que los sustratos empezaron a tener películas uniformes gracias a que se permitió que los núcleos formados tuvieran la oportunidad adquirir mayor estabilidad termodinámica. Los núcleos que darán forma a las películas nanométricas son termodinámicamente inestables y tienden a la redisolución en estas condiciones, por lo tanto, deben de ser cinéticamente estabilizadas a bajas temperaturas,

aumentando así su tiempo de vida, posiblemente lo suficiente para que crezcan a un tamaño donde alcancen la estabilidad termodinámica, esta es la razón por la cual partículas más pequeñas pueden ser formadas a menores temperaturas en una reacción de precipitados.

Gracias a la caracterización podemos entender mejor el alcance que podría tener el método que se propone, las gráficas de cada sustrato se encuentran bien definidas mostrando bordes característicos del CdS, en las gráficas se puede observar que en la película que estuvo en la solución por un tiempo de 120 minutos a 80 °C tiene el comportamiento más representativo del material además de que la homogeneidad estructural permitiría sintetizar sus propiedades a la medida de los requerimientos en futuras aplicaciones

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Probablemente pasar de una temperatura ambiente a una temperatura tan alta como lo son 80°C es un cambio muy brusco para la formación de núcleos sobre la superficie del sustrato lo que lleva a la degradación de la película, el calentamiento previo ayudó a que la formación de núcleos en el sustrato sea termodinámicamente estable, ergo, se obtienen excelentes resultados.

Como recomendación sería tener un mayor control en la limpieza de los sustratos antes de agregarlos a la solución y más importante aún tener un control aún mayor con las temperaturas adentro de los reactores, así como monitorear los tiempos que tarden en llegar las soluciones a las temperaturas deseadas, en pocas palabras, un mayor control en la limpieza, temperaturas y tiempos darán mejores resultados.

## VI. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Quiero agradecer a las siguientes personas que fueron de gran ayuda para alcanzar los resultados obtenidos en este proyecto, sin su apoyo el éxito o el proyecto mismo no hubiera sido posible: A mi compañera y amiga Paola Dhamar Gómez Barrales quien me brindara su apoyo y conocimiento para poder perfeccionar el DBQ, a mi colaboradora y amiga Arely Patricia Mejía Mejía, quien a la par de este proyecto realizó el suyo compartiendo resultados y mejoras para la aplicación del DBQ, por último también quiero agradecer a la profesora Mónica Balvanera Ortuño López por brindarme su conocimiento en el área, su apoyo para que este proyecto obtenga resultados satisfactorios y sobre todo su confianza.

## REFERENCIAS

- [1] D. Xiadani Méndez Santa María, E. Alexander Ordaz Fernández, Verónica L. García Arroyo, Mónica B. Ortuño López, Iker Chávez Urbiola, J. Adrián Pérez Orozco, J. Martín Yáñez Limón. (2021). Mecanismos de crecimiento en películas delgadas depositadas químicamente. *8º Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Querétaro*. <https://dip.uaq.mx/joveninvestigador/docs/memorias/Memoria-8oEncuentro.pdf>
- [2] DE LA TORRE J. ESPARZA D. y RIVAS J. M, V.-R. E. (8 de Septiembre 2017). *Mejoramiento de películas delgadas de CdTe/CdS mediante activación húmeda de CdCl<sub>2</sub> en una atmosfera de aire para aplicaciones en celdas solares*. 1(3), 8.
- [3] Hodes, G. (2002). *Chemical Solution Deposition Of Semiconductor Films*. CRC Press
- [4] Montijo, D. A. M. (2009). *Síntesis de Películas Delgadas de Sulfuro de Cadmio (CdS) en Diferentes Sustratos por Depósito en Baño Químico (DBQ): Estudio de su proceso de Crecimiento*. Universidad de Sonora.

# CRECIMIENTO DE *BACILLUS SUBTILIS* POR FERMENTACIÓN SUMERGIDA: POBLACIÓN CELULAR Y PRODUCCIÓN DE BACTERIOCINAS

**Fatima Tapia Alvarado**

Universidad Autónoma de Coahuila  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Carretera Torreón-Matamoros Km. 7.5, Ciudad  
Universitaria. Ejido El Águila, C.P. 27276,  
Torreón, Coahuila.  
[tapiafatima78@gmail.com](mailto:tapiafatima78@gmail.com)

**Carlos Regalado Gonzales**

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
C.U., Cerro de las Campanas S/N, Col Las  
Campanas, Querétaro, 76010 Qro,  
[regcarlos@gmail.com](mailto:regcarlos@gmail.com)

**Resumen** — *Bacillus subtilis* es una bacteria formadora de endoesporas, que muestra capacidad de producción de péptidos antimicrobianos (bacteriocinas). El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de bacteriocinas mediante el crecimiento de *Bacillus subtilis*, en diferentes caldos de cultivo. Se usó la cepa *Bacillus subtilis* CP para las fermentaciones en tres diferentes medios de cultivo: Schaeffer (SC), Luria Bertani (LB) y Tryptisoya caseína (TC). Se usó *Micrococcus luteus* para evaluar la presencia de bacteriocinas, medida entre 0 y 15 h de crecimiento a 30°C. La cinética de crecimiento se modeló por el método de Gompertz, donde el medio TC produjo una mayor velocidad específica de crecimiento, obteniéndose mayor producción de bacteriocinas a las 6 h.

**Palabras clave** — *Bacillus subtilis*, bacteriocinas, fermentación.

**Abstract** — *Bacillus subtilis* is an endospore-forming bacterium, which shows the ability to produce antimicrobial peptides (bacteriocins). The objective of this investigation was to evaluate the production of bacteriocins through the growth of *B. subtilis*, in different media. The *B. subtilis* CP strain was used for fermentations in three different broths media: Schaeffer (SC), Luria Bertani (LB) and Tryptisoya casein (TC). *Micrococcus luteus* was used for evaluate the presence of bacteriocins, measured between 0 and 15 h of growth at 30°C. The growth kinetics was modeled by the Gompertz method, where the TC medium produced a higher specific growth rate, obtaining a higher production of bacteriocins at 6 h.

**Keywords** — *Bacillus subtilis*, bacteriocins, fermentation.

## I. INTRODUCCION

*Bacillus subtilis* es una bacteria capaz de desarrollarse en diferentes hábitats debido a que posee una morfología en forma de bastón y tiene movilidad flagelar, su crecimiento se da en condiciones aerobias, aunque en también puede desarrollarse en ambientes anaerobios facultativos. Es una bacteria mesófila, Gram-positiva no patógena, con tamaño entre 0.5 y 10 µm, con temperaturas de crecimiento desde los 30° a los 45°C, con pH óptimo neutro; posee la capacidad de producir endoesporas, las cuales pueden ser ovales o cilíndricas, lo cual le confieren una alta resistencia a diversos tipos de estrés como altas temperaturas, desecación y radiación entre otros (Alcaraz et al., 2010; LPSN, 2016).

*B. subtilis* es capaz de producir bacteriocinas extracelulares, las cuales son péptidos con acción antimicrobiana de origen ribosomal, que pueden ser modificados o no después de la etapa de traducción. Estas bacteriocinas pueden actuar contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, siendo algunas bacterias patógenas susceptibles tales como

*Escherichia coli* O157-H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp* (Heredia-Castro et al., 2017)

En este proyecto se realizará la producción de bacteriocinas por *B. subtilis* PC en biorreactor, realizando pruebas preliminares en cultivo agitado usando tres caldos de cultivo, Schaeffer (SC), Luria Bertani (LB) y Triptisoya caseína (TS) evaluando la velocidad máxima de crecimiento, así como el tiempo de duplicación del microorganismo, para posteriormente confirmar la producción de dichos compuestos mediante las pruebas antimicrobianas, y posteriormente evaluar su uso como antimicrobiano natural en alimentos.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El crecimiento microbiano puede describirse mediante una función exponencial hasta que se llega a un punto de inflexión a partir del cual el crecimiento se ve más lento hasta llegar a una fase de estabilidad, es decir el crecimiento queda representado por una combinación de una curva exponencial y una curva sigmoidea. Por lo cual el modelo de Gompertz actualmente es usado en muchas áreas no solo en la biología sino también en la medicina, ciencias sociales, entre otras.

Existe una gran cantidad de ecuaciones que reflejan dicho modelo, sin embargo, para nuestros fines se ha tomado el siguiente:

$$\ln \frac{A}{A_0} = a * \exp[-\exp(b - c * T)] \quad (1)$$

Donde A= absorbancia a 600 nm, A<sub>0</sub>= absorbancia inicial, T= temperatura (°C). El valor de e (base de los logaritmos naturales) es 2.7183. Las constantes a, b y c son propias del modelo. El parámetro a indica la capacidad de carga o límite con que cuenta un sistema donde se esté desarrollando un crecimiento poblacional o bien alguna cualidad (talla, peso, etc.) de un organismo. En nuestro caso, este parámetro representa la población máxima que podría existir en un sistema.

La velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{\max}$ ; h<sup>-1</sup>) se determina de acuerdo a la siguiente expresión: (2)

$$\mu_{\max} = a * c$$

El tiempo de duplicación de la población microbiana (t<sub>d</sub>; h) se obtiene relacionando los siguientes parámetros:

$$T_d = \frac{\ln 2}{\mu_{\max}} \quad (3)$$

### III. RESULTADOS

Las cinéticas preliminares se realizaron en matraces de 250 mL por 60 h para obtener un seguimiento más completo de las fases de crecimiento del microorganismo. Los datos de crecimiento se observan en las tablas (1) a (3).

**Tabla 1.** *B. subtilis* en medio Luria Bertani

T	Promedio	$\pm \sigma$	$\log A/A_0$
0	0.024	0.368	0.000
3	0.157	0.289	0.822
6	0.659	0.167	1.445
9	0.739	0.150	1.495
12	0.795	0.139	1.526
24	0.968	0.131	1.612
30	0.976	0.151	1.615
36	0.937	0.184	1.598
48	0.834	0.253	1.547
60	1.192	0.368	1.702

**Tabla 2.** *B. subtilis* en medio Shaeffer modificado

T	Promedio	$\pm \sigma$	$\log A/A_0$
0	0.012	0.174	0.000
3	0.018	0.152	0.156
6	0.156	0.107	1.103
9	0.260	0.072	1.324
12	0.340	0.047	1.440
24	0.480	0.034	1.590
30	0.444	0.021	1.556
36	0.418	0.012	1.530
48	0.405	0.008	1.517
60	0.394	0.174	1.504

**Tabla 3.** *B. subtilis* en medio Triptisoya caseína

T	Promedio	$\pm \sigma$	$\log A/A_0$
0	0.014	0.487	0.000
3	0.179	0.364	1.107
6	1.047	0.114	1.874
9	1.179	0.096	1.926
12	1.150	0.100	1.915
24	1.178	0.093	1.925
30	1.230	0.084	1.944
36	1.293	0.080	1.965
48	1.284	0.101	1.963
60	1.428	0.487	2.008

Se analizaron los datos en el programa Statistica V. 10, para identificar el medio más apropiado para el crecimiento de *B. subtilis*, obteniendo las variables propuestas en el modelo de Gompertz (ecuación 1).

En la tabla (4) se muestran los datos ajustados a la ecuación (1) para el medio LB.

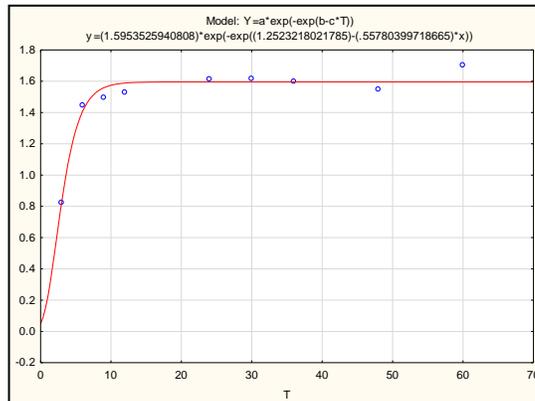
**Tabla 4.** Constantes medio Luria Bertani

Constantes			Coeficiente de correlación	
a	b	c	R	R <sup>2</sup>
1.595353	1.252322	0.557804	0.979	96%

Se obtuvo una velocidad máxima de crecimiento y un tiempo de duplicación de acuerdo a las ecuaciones (1) y (2), y de acuerdo a la Figura (1), se obtuvo:

$$\mu_{\max} = 0.8898 \text{ h}^{-1}$$

$$Td = 0.7789 \text{ h}$$



**Figura 1.** Modelo Gompertz para el medio LB

En la tabla (5) se muestran los datos ajustados a la ecuación (1) para el medio SC.

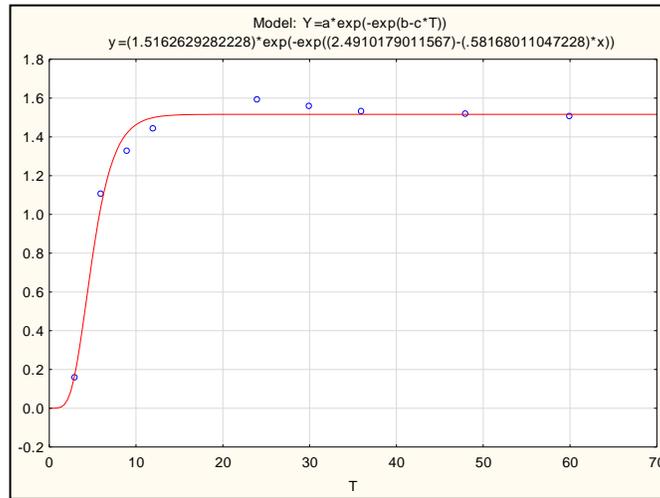
**Tabla 5.** Constantes medio Shaeffer modificado

constantes			Coeficiente de correlación	
a	b	c	R	R <sup>2</sup>
1.516263	2.491018	0.581680	0.9927	99%

En el medio Shaeffer modificado la velocidad máxima de crecimiento y el tiempo de duplicación fueron los siguientes (Figura 2):

$$\mu_{\max} = 0.8818 \text{ h}^{-1}$$

$$Td = 0.785 \text{ h}$$



**Figura 2.** Modelo Gompertz medio Sheaffer

Para finalizar, se realizó el análisis del medio triptisoya caseína obteniendo los resultados más favorecedores como se muestra a continuación (Tabla 6):

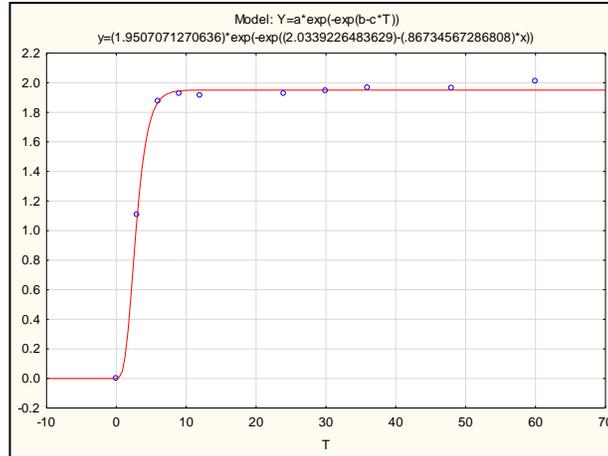
**Tabla 6.** Constantes medio triptisoya caseína

constantes			Coeficiente de correlación	
a	b	c	R	R <sup>2</sup>
1.950707	2.033923	0.867346	0.9991	99%

Obteniendo un tiempo de duplicación y velocidad máxima de crecimiento como se muestra a continuación (Figura 3):

$$\mu_{\max} = 1.6919 \text{ h}^{-1}$$

$$Td = 0.4096 \text{ h}$$

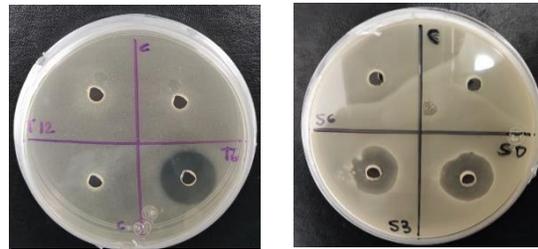


**Figura 3.** Modelo Gompertz para el medio TC

En base a las pruebas preliminares se identificó que la fase exponencial terminaba en la hora 12 y de acuerdo a estos resultados se realizaron las pruebas antimicrobianas de la hora 0 a la 15 (Tabla 7 y Figura 4).

**Tabla 7.** Pruebas antimicrobianas

Medio	Hora de muestra	Diámetro (mm)
Tiptisoya	6	22.15
	6	22.1
	6	20.95
Caseína	0	14.65
	0	20.2
	3	19.45
Shaeffer	3	18.5



**Figura 4.** Halos de inhibición de bacteriocinas producidas durante las horas 0 y 3 en medio S (derecha) y la hora 6 en medio TC (izquierda) sobre *Micrococcus luteus*

Las pruebas en matraz agitado mostraron un crecimiento acelerado en el medio triptisoya caseína en comparación con el medio Shaeffer, lo cual nos permitió realizar su selección para llevar a cabo la fermentación sumergida en dicho medio. Mientras que las pruebas antimicrobianas dieron respuestas favorables, ya que la formación de halos de inhibición fue muy clara y de mayor diámetro en el medio TC (Tabla 7), lo cual nos indicó una óptima producción de compuestos antimicrobianos durante su crecimiento.

#### IV. CONCLUSION

En la presente investigación se aplicó el modelo de Gompertz para estimar el crecimiento microbiano de *B. subtilis* obteniendo resultados favorables, ya que la producción de los compuestos antimicrobianos fue exitosa, esto durante la fase

exponencial de crecimiento del microorganismo. Por lo cual puedo se puede considerar que el objetivo principal se cumple ya que la fermentación sumergida de *B. subtilis* en biorreactor se realizó con el medio con mayor efectividad de producción.

## V. RECONOCIMIENTOS

Se agradece a la Universidad Autónoma de Querétaro por las facilidades en la realización de esta estancia, así como al Dr. Carlos Regalado Gonzales por su gran apoyo, además de la asesoría del IBQ. Rafael Madrigal.

## REFERENCIAS

- [1] Alcaraz, L. D., Moreno-Hagelsieb, G., Eguiarte, L. E., Souza, V., Herrera-Estrella, L., & Olmedo, G. (2010). Understanding the evolutionary relationships and major traits of *Bacillus* through comparative genomics. *BMC Genomics*, <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-332>
- [2] Burgos, M. J. G., Pulido, R. P., Molinos, A. C., Lucas, R., & Gálvez, A. (s. f.). *bioconservación de alimentos LÁCTEOS*.
- [3] Heredia-Castro, P. Y., & Hernández-Mendoza, A. (2017). *bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos*.
- [4] Tjørve, K. M. C., & Tjørve, E. (2017). The use of Gompertz models in growth analyses, and new Gompertz-model approach: An addition to the Unified-Richards family. *PLOS ONE*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178691>

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DIVERSOS EXTRACTOS DEL MUÉRDAGO *PSITTACANTHUS CALYCVLAT*

**Alexa Serrano Vázquez**

Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón  
Blvd. del Valle 2301, Guardarrayas, 36425 Gto  
[lrs19110682@purisima.tecnm.mx](mailto:lrs19110682@purisima.tecnm.mx)

**Raúl Reyes Bautista**

Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón  
Blvd. del Valle 2301, Guardarrayas, 36425 Gto  
[raul.rb@purisima.tecnm.mx](mailto:raul.rb@purisima.tecnm.mx)

**Resumen** — Los muérdagos como *psittacanthus calyculat* se consideran como “el cáncer de las plantas” y de acuerdo a investigaciones previas, se han logrado detectar efectos terapéuticos con sus compuestos biactivos, por lo se buscaba extraer dichos compuestos, aprovechar este recurso que se considera como amenaza para los árboles de mezquite, y analizar sus efectos antimicrobianos, teniendo como base un disolvente polar (metanol) y un disolvente de baja polaridad (cloroformo); utilizando la técnica de difusión en disco, se hizo el análisis para 3 cepas de bacterias patógenas (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*).

De acuerdo con los resultados se logró concluir que los extractos polares presentaron mejor actividad antimicrobiana que los extractos obtenidos mediante solventes de baja polaridad.

**Palabras clave** — *Psittacanthus Calyculat*, Actividad Antimicrobiana, Extractos de Muérdago.

**Abstract** — Mistletoes such as *psittacanthus calyculat* are considered "the cancer of plants" and according to previous research, therapeutic effects have been detected with their biactive compounds, so it was sought to extract these compounds, take advantage of this resource that is considered a threat to mesquite trees, and analyze their antimicrobial effects, based on a polar solvent (methanol) and a low polarity solvent (chloroform); using the disk diffusion technique, the analysis was made for 3 strains of pathogenic bacteria (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*).

According to the results, it was possible to conclude that the polar extracts presented better antimicrobial activity than the extracts obtained through low polarity solvents.

**Keywords** — *Psittacanthus Calyculat*, Antimicrobial Activity, Mistletoe Extracts.

## I. INTRODUCCIÓN

En la medicina tradicional mexicana, se suelen usar diversos tipos de plantas debido la gran variedad de especies que tenemos en nuestro ecosistema, por lo que el uso de estas se ha implementado desde tiempos inmemorables, incluso en la actualidad.

Debido a la gran variedad de especies con las que contamos, aún se siguen realizando investigaciones para poder usar a beneficio propio estos recursos, tal es el caso de los muérdagos, ya que existe una inmensa variedad de estos de acuerdo a la ubicación geográfica y en ciertas partes del país se da la variedad de *psittacanthus calyculat*.

Normalmente los muérdagos son conocidos como “injertos” o “plagas”, por lo que se busca quitarlos y/o desecharlos. Gracias a esto, se comenzaron a realizar diversas investigaciones que han demostrado reacciones terapéuticas en humanos, como el tratamiento a enfermedades cardiovasculares, y propiedades antimicrobianas, pero como

bien sabemos en los últimos años el consumo de antibióticos no se ha realizado de manera controlada y las bacterias son organismos que pueden registrar a estos y mutar, de esta manera generan una resistencia a los antibióticos presentes en el mercado, el problema radica en que cada vez se vuelven más y más resistentes, por lo que este estudio busca analizar el efecto antimicrobiano en bacterias del acrónimo ESKAPE las cuales son consideradas por la OMS como patógenos prioritarios a la resistencia de antibióticos y que presentan una alerta más significativa para la salud humana.

## II. MARCO TEÓRICO

Los extractos de plantas han sido una fuente importante de agentes anticancerígenos y antimicrobianos utilizados actualmente en las clínicas, y las plantas medicinales mexicanas juegan un papel importante en la búsqueda de nuevos tratamientos. *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae), *Justicia spicigera* (Acanthaceae), *Opuntia joconostle* (Cactaceae), *O. leucotricha* (Cactaceae), *Parkinsonia aculeata* L. (Fabaceae), *Phoradendron longifolium*, *P. serotinum* (Viscaceae), *Psittacanthus calyculatus* (Loranthaceae), *Tecoma stans* (Bignoniaceae) y *Teucrium cubense* (Lamiaceae) son plantas tradicionalmente utilizadas para tratar infecciones. [1]

Los muérdagos se han estudiado ampliamente en Europa y Asia. Muchos artículos publicados están relacionados con la descripción de sus compuestos fitoquímicos, uno de los más conocidos son las lectinas. Las lectinas son proteínas que pueden unirse selectivamente a los carbohidratos de la pared celular. Se han utilizado como tratamiento complementario de quimioterapia y radioterapia en enfermedades como el cáncer. En general, los muérdagos comparten algunos fitoquímicos como saponina, taninos y flavonoides. También depende del huésped en el que crecen los muérdagos. Las pruebas colorimétricas cualitativas también mostraron alcaloides, cardenólidos y antraquinonas. Sin embargo, la investigación enfocada en la descripción de las propiedades del muérdago mexicano es aún escasa. Dos familias prominentes de muérdagos que se encuentran en México, América Central y del Sur son *Viscaceae* y *Loranthaceae*. [2]

*Psittacanthus calyculatus* es ampliamente utilizado en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, hoy en día la principal causa de muerte en México. Es una planta semiparasitaria que crece en una gran variedad de plantas cosechables, silvestres o cultivadas, pertenecientes a las familias *Rutaceae*, *Leguminosae leñosas* (*Fabaceae*), *Conniferae*, *Fagaceae*, *Myrtaceae* (*Eucaliptus*) y *Pinaceae*, muchas de las cuales son árboles frutales o plantas productoras de madera. En México, es literalmente más comúnmente conocido como "el cáncer de las plantas" y "verdadero muérdago". Es vista por los agricultores como una planta muy dañina porque se asocia con grandes pérdidas de cultivos y, a veces, con la muerte de las plantas huésped. Sin embargo, se utiliza en la medicina popular como antiséptico y como tratamiento para la hipertensión, así como para la alopecia. [3]

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### A. Preparación de los extractos de hoja de muérdago (*psittacanthus calyculatus*)

Se utilizó la metodología de Keskin y Ceyhan-Guvsen [4], con algunas modificaciones. Se utilizaron dos sistemas de extracción los cuales fueron metanol y cloroformo para lo cual, se pesó 1 g de harina de hoja de muérdago *psittacanthus calyculatus*, la extracción fue continua durante 24 horas a temperatura ambiente con una agitación oscilante de 120 rpm. Los extractos se filtraron mediante un sistema de vacío con papel Whatman no. 4, se recolectó el filtrado para su evaporación en un rotavapor al vacío a 50°C. Las muestras secas se trataron de la siguiente forma, el extracto de metanol se resuspendió en 2 ml con el mismo solvente y el extracto de cloroformo en 2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO al 5% w/v).

#### B. Actividad antimicrobiana

El presente trabajo se utilizó la metodología realizada por Jacobo Salcedo et al. [1] con algunas modificaciones.

Se trabajó con tres cepas patógenas identificadas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Las cepas fueron sembradas previamente en caldo BHI e incubados por tres horas a 37° C, hasta alcanzar una densidad microbiana de 1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL (0.5 Unidades en la escala de MacFarland) antes de realizar la prueba antimicrobiana.

Se utilizó en método difusión de disco [2]. Se utilizaron discos de papel filtro Whatman estériles (6 mm de diámetro). Los discos fueron impregnados con los extractos de hoja de muérdago, en concentraciones desde 20 hasta 400 µg/disco. Se usó un control negativo impregnado con solvente, como control positivo el antibiótico kanamicina a una concentración de 50 µg/ disco, la actividad antimicrobiana se definió por el tamaño en mm del halo de inhibición tras 24 horas de incubación a 37° C.

#### C. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por triplicado y fueron expresados como el valor medio  $\pm$  la desviación estándar. Los datos se analizaron mediante la prueba de ANOVA de una vía para determinar los efectos de los tratamientos y las diferencias entre los valores medios se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ , utilizando Minitab 18 (State College, PA 16801 USA). Para realizar el efecto dosis respuesta se utilizó el Originlab para el análisis de estos datos, mediante la ecuación de Hill (ec. 1).

$$y = S + (E - S) \frac{x^n}{k^n + x^n}$$

(ec. 1)

S= Constante de inicio

E= Constante de termino

x= Concentración

n= Orden de la ecuación

k= Constante de Hill

#### IV. RESULTADOS

En la figura 1 se muestra el efecto de la Dosis-Respuesta de la bacteria *E.coli* para con el extracto metanólico acoplado al modelo de Hill, donde se encontró que el modelo explica el 96% de la variabilidad ( $R_{aj}^2 = 0.96$ )

En la figura 2 se muestra el efecto de la Dosis-Respuesta de la bacteria *S. aureus* para con el extracto metanólico acoplado al modelo de Hill, donde se encontró que el modelo explica el 96% de la variabilidad ( $R_{aj}^2 = 0.97$ )

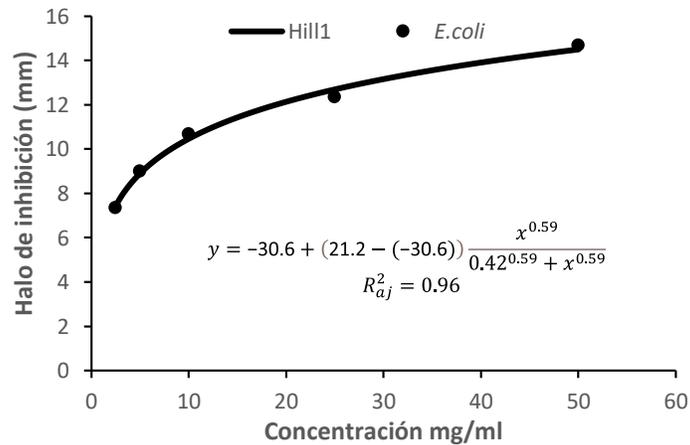


Figura 3 Efecto Dosis-Respuesta de *E.coli* con el extracto metanólico de *P. calyculatus*.

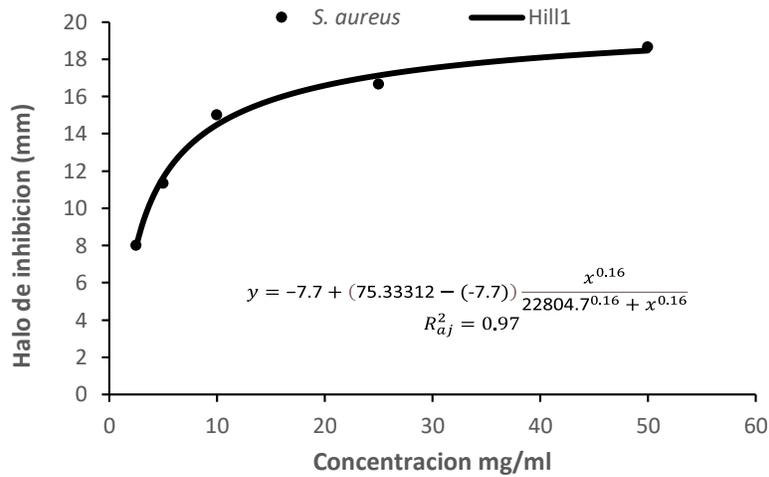


Figura 4. Efecto Dosis-Respuesta de *S. aureus* con el extracto metanólico de *P. calyculatus*.

Tabla 1. Efecto de los extractos de hoja de muérdago sobre el crecimiento de bacterias patógenas

Solvente/ antibiótico	Halo de inhibición (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Metanol	14.6±2.08 <sup>a*</sup>	18.6±1.52 <sup>a*</sup>	13±1 <sup>a*</sup>
Cloroformo	NP <sup>b*</sup>	NP <sup>b*</sup>	NP <sup>b*</sup>
Kanamicina	14.3±1.15 <sup>a*</sup>	15.3± 1.15 <sup>a*</sup>	15.3±1.52 <sup>a*</sup>

\*Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (P <0.05)

En la tabla 1 se muestran los efectos de los extractos de hoja de muérdago sobre el crecimiento de bacterias patógenas. Para todas las bacterias se observa que no existen diferencias significativas entre el extracto de metanol y la Kanamicina (p>0.05). Sin embargo, entre los extractos el cloroformo y la Kanamicina así como con los metanólicos se encontró existe una diferencia significativa (p≤0.05) ya que no presentó inhibición.

## V. DISCUSIÓN

De los extractos de metanol y cloroformo utilizados para obtener los componentes bioactivos de la hoja de muérdago, se encontró que al ser probados contra 3 bacterias patógenas para evaluar su actividad antimicrobiana, los extractos metanólicos fueron aquellos que mostraron una mejor respuesta inhibitoria, especialmente para *Staphylococcus aureus* en el cual se mostró la mayor área de inhibición de 22 mm de

diámetro (Figura 2), las zonas de inhibición se encuentran en el rango de 6-22 mm de diámetro. De acuerdo con los resultados presentados por Keskin y Ceyhan-Guvsen [4], los extractos metanólicos también fueron los de mejores resultados, para la bacteria *S. faecalis* teniendo la zona de inhibición 22 mm de diámetro, para *S. aureus* la zona de inhibición tuvo un tamaño de 15 mm, siendo menor a nuestros resultados, pero congruente debido a que la concentración máxima de extracto usada por ellos fue de 50 µg/disco que es 8 veces menor a la concentración máxima que se trabajó.

De acuerdo con la caracterización química realizada por Moustapha [3] el muérdago *psittacanthus calyculatus*, es rico en compuesto fenólicos beneficiosos como el ácido gálico y flavonoides como kaempferol, compuestos considerados polares, haciéndolos solubles y afines a solventes polares tales como el metanol, este es el más polar de los dos solventes utilizados, esto explica que la mejor respuesta inhibitoria que se dio fuera la del extracto de metanol, ya que este pudo arrastrar de mejor manera que el cloroformo todos esos compuesto fenólicos de la hoja del muérdago *psittacanthus calyculatus*.

Se han reportado por diversos autores actividad antimicrobiana en los extractos de muérdago en bacterias que afectan la salud humana [5]. El extracto metanólico de *Korthalsella japonica*, un muérdago coreano, inhibió *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *K. pneumonia* y *E. coli* [6]. El extracto de muérdago *Loranthus micranthus* mostró un efecto inhibitorio contra *E. coli* y *Proteus vulgaris* [7]. El extracto de *Calotropis procera*, un muérdago inexplorado de la India que crece en los árboles de mango mostró efectos antimicrobianos contra las bacterias resistentes a la metilina. Esto permite considerarlo como una posible alternativa a los antibióticos existentes.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se encontró que los extractos metanólicos presentaron la mayor actividad antimicrobiana.

Se comprobó que los extractos polares (metanol) obtenidos de las hojas del muérdago presentaron mejor actividad antimicrobiana que los extractos obtenidos mediante solventes de baja polaridad (cloroformo y hexano).

## VII. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón por las facilidades y el apoyo otorgado para la realización de la estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] Jacobo-Salcedo, M. D. R., *et al.* (2011). Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Mexican Medicinal Plants. *Natural Product Communications*, 6(12), 1925–1928.  
<https://doi.org/10.1177/1934578x1100601234>
- [2] García-García, J. D., *et al.* (2021). Phytochemical Characterization of Phoradendron bollanum and Viscum album subs. austriacum as Mexican Mistletoe Plants with Antimicrobial Activity. *Plants*, 10(7), 1299. <https://doi.org/10.3390/plants10071299>
- [3] Moustapha, B., Marina, G. A. D., Raúl, F. O., Raquel, C. M., & Mahinda, M. (2011). Chemical Constituents of the Mexican Mistletoe (Psittacanthus calyculatus). *Molecules*, 16(11), 93979403.  
<https://doi.org/10.3390/molecules16119397>
- [4] Keskin, D., & Ceyhan-Guvenen, N. (2018). Determination Of Bioactive Components And Antimicrobial Activity Of Methanolic Extracts Of Mistletoe Leaves (Viscum Album L. Subsp. Album L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(12), 7991–7996  
<http://acikerisim.mu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12809/1575/Keskin.pdf>
- [5] F. U. Ohikhena, O. A. Wintola, and A. J. Afolayan, “Quantitative Phytochemical Constituents and Antioxidant Activities of the Mistletoe, Phragmanthera capitata (Sprengel) Balle Extracted with Different Solvents.,” *Pharmacognosy Res.*, vol. 10, no. 1, pp. 16–23, doi: 10.4103/pr.pr\_65\_17.
- [6] D. Kang and M. Kim, “Antimicrobial activity of Korean camellia mistletoe (Korthalsella japonica (Thunb.) Engl.) extracts,” *J. Appl. Pharm. Sci.*, pp. 226–230, 2016, doi: 10.7324/JAPS.2016.601032.
- [7] Ezema, B.E.; Eze, F.U.; Ezeofor, C.C. Phytochemical and antibacterial studies of Eastern Nigerian Mistletoe (Loranthus micranthus) parasitic on pentacletra macrophylla and parkia biglobosa. *Int. J. PharmTech Res.* 2016, 9, 360–365.

# ACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE POLIETILENO Y POLIESTIRENO

**Sophía Guadalupe De Loera Muñoz**  
Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Avenida Universidad 940, Ciudad Universitaria,  
Universidad Autónoma de Aguascalientes, 20100  
Aguascalientes, Ags.  
[lbdeloera@gmail.com](mailto:lbdeloera@gmail.com)

**Diana Issell Sandoval Cárdenas**  
Universidad Autónoma de Querétaro  
Cerro de las Campanas S/N-Edificio 1, Centro  
Universitario, 76010 Santiago de Querétaro, Qro  
[issell.sandoval@uaq.edu.mx](mailto:issell.sandoval@uaq.edu.mx)

**Resumen** — El plástico es uno de los materiales más utilizados globalmente, sin embargo, su acumulación en el ambiente perjudica a los ecosistemas y a la salud humana. De los distintos tipos de plástico, se enfatizó en poliestireno y polietileno. La biodegradación es una alternativa de bajo impacto ecológico que propone eliminar estos componentes, siendo factible la aplicación de microorganismos. La larva de la polilla *Achroia grisella* se ha implementado para biodegradar plásticos, por lo que es de interés su microbiota intestinal. Se realizó la activación de microorganismos previamente aislados de *A. grisella*, registrando 4 cepas bacterianas capaces de biodegradación en las cuales se identificaron consorcios de bacterias Gram positivas y negativas, de distintas morfologías.

**Palabras clave** — Poliestireno, polietileno, biodegradación, morfología

**Abstract** — Plastic is one of the most worldwide used materials, nevertheless, its accumulation in the environment damages the ecosystems and human health. There are different kinds of plastic, but polystyrene and polyethylene are the focus of the project. Biodegradation is an alternative with low environmental impact that can remove plastics. The larvae from the moth *Achroia grisella* has been used in plastics biodegradation, so there is interest in its intestinal microbiota. Some microorganisms, isolated from *A. grisella* have been activated, registering 4 strains capable of biodegradation, with consortia of Gram positive and negative bacteria, with different morphologies.

**Keywords** — Polystyrene, polyethylene, biodegradation, morphology

## I. INTRODUCCIÓN

El plástico es ampliamente usado debido a su estabilidad y durabilidad, además de sus bajos costos de producción y la facilidad de su manufactura, con aplicaciones que van desde envases para alimentos, hasta partes de máquinas o películas para los cultivos agrícolas [1]. Existen varios tipos de plástico, sin embargo, la presente revisión se enfocará en poliestireno (PS) y polietileno (PE). Aunque los beneficios que proporcionan los productos plásticos son numerosos, la contaminación por su acumulación en el ambiente es un riesgo latente, tanto para los ecosistemas como para la salud humana [2].

Usualmente se recurre a la incineración, depósitos sanitarios y reciclado para eliminar los residuos plásticos, sin embargo, estos procesos son costosos y conllevan mayor contaminación. Por ello en la actualidad se busca potenciar los procesos de biodegradación, ya que ésta permite descomponer materiales orgánicos en componentes simples mediante acción microbiana, lo cual genera menor impacto secundario en el entorno [2]. Se ha estudiado la biodegradación de poliestireno con bacterias nativas de suelos como *Microbacterium* sp. NA23, *Paenibacillus urinalis* NA26, *Bacillus* sp. NB6, and *Pseudomonas*

*aeruginosa*. Usualmente son varios tipos de microorganismos los que se requieren para degradar poliestireno de manera efectiva. Asimismo, se ha estudiado la degradación de tal plástico mediante larvas y gusanos, cuya actividad degradadora depende de la microbiota de su intestino [3]. Como ejemplo de ello está la *Tenebrio molitor*, cuya microbiota intestinal logra degradar significativamente el poliestireno, arrojando resultados que sugieren la posible mejora del proceso *ex situ* para obtener tasas de degradación más altas. En cuanto al polietileno, también se ha estudiado el efecto degradativo que alcanza la *Galleria mellonella*, en la cual se evidenció la influencia de su microbiota intestinal, ya que, al suprimir la actividad de ésta, la larva es incapaz de degradar polietileno [2,4].

En el presente reporte se analizarán cepas bacterianas y fúngicas previamente aisladas del intestino de la larva de *Achroia grisella*, buscando inducir su activación para evaluar su capacidad degradadora de polietileno y poliestireno.

## II. MARCO TEÓRICO

El plástico es un polímero sintético que consiste en carbono, hidrógeno, silicio, oxígeno, cloro y nitrógeno. Se obtiene a partir de distintas fuentes, como el aceite, el carbón y el gas natural. Asimismo, existen diferentes tipos de plásticos, como son el polietileno (PE), el tereftalato de polietileno (PET), el polipropileno (PP), el poliestireno (PS), el policloruro de vinilo (PVC) y el poliuretano (PUR) [1].

Haciendo énfasis en el poliestireno y el polietileno, el primero es un polímero de alto peso molecular posee en su estructura un esqueleto carbonado, con cadenas unidas a fracciones fenilo. El poliestireno es el quinto tipo de plástico más utilizado, principalmente en contenedores térmicos de alimentos y bebidas, sin embargo, su estructura lo vuelve muy difícil de degradar [3]. De igual manera, el polietileno es un polímero sintético de alto peso molecular conformado por un esqueleto de carbono saturado; es el plástico más ampliamente utilizado y su demanda incrementa anualmente. Dada su alta hidrofobicidad y la fuerza de los enlaces en su estructura, se limita su eficiente degradación [2]. Es por ello por lo que constantemente se buscan alternativas, preferentemente sustentables, a fin de reducir la acumulación de estos plásticos en el ambiente.

Dado que ambos tipos de plástico pueden ser degradados por *Achroia grisella*, es importante investigar la capacidad de los microorganismos pertenecientes a su microbiota de degradar estos plásticos. *A. grisella* es una especie de polillas de la cera cuyas larvas son plagas agresivas de las colmenas de abejas [5]. Se han reportado resultados eficientes de la degradación de películas de polietileno con *A. grisella*, sin embargo, no fue posible determinar si la degradación es producto de acción enzimática o por efecto de la microbiota intestinal [6].

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1) Obtención de las cepas

Las cepas evaluadas se obtuvieron en trabajos anteriores del grupo de investigación del tracto digestivo de larvas de *Achroia grisella* sometidas a dietas con PE y PS. Las cepas se encontraban en medio basal sólido con plásticos o en medio basal líquido con plásticos.

### 2) Preparación de medio basal con plásticos

El medio basal líquido se preparó siguiendo la siguiente formulación para 1L: 0.7 g  $(\text{KH})_2(\text{PO})_4$ , 0.7 g  $\text{K}_2(\text{HPO})_4$ , 0.7 g  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 1 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.005 g  $\text{NaCl}$ , 0.002 g  $\text{FeSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$ , 0.001 g  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; ajustando a pH 7. Los sistemas de biodegradación con medio basal líquido se prepararon colocando 25 mL en matraces de 50 mL y se esterilizaron a 121°C durante 15 min, seguido de la adición del plástico sanitizado con etanol al 70%. El poliestireno se desbarató, mientras para el polietileno se cortó un cuadrángulo de aproximadamente 4x4cm.

El medio basal sólido se preparó añadiendo 15 g/L de agar bacteriológico a la formulación previamente descrita. Una vez solidificado, se agregaron láminas cuadrangulares de poliestireno disuelto con cloroformo en algunas cajas, mientras que en otras se colocó el polietileno en tiras. Ambos previamente sanitizados con etanol al 70%.

### 3) *Selección de los microorganismos con presunta actividad degradadora evaluados en medio basal*

A partir de cultivos sólidos con plástico, se seleccionaron diversas colonias, tanto bacterianas como fúngicas, cuyo crecimiento se localizaba en las periferias del plástico. Se distinguieron 5 bacterias en placas de medio basal sólido con PS (B1 en la caja 1, B2A y B2B en la caja 2; B3 y B4 en la caja 3) y 3 hongos de las mismas placas (H1 de la caja 1, H2A y H2B en la caja 2). De cada uno se tomó una muestra con el asa bacteriológica y se sumergió en solución salina fisiológica (SSF) estéril. De ésta se inocularon 100 µl en cada uno de los tipos de medio (Sólido+PE Sólido + PS, Líquido+PE, Líquido+PS). Se inocularon también 100 µl de cultivos líquidos basales con PS en nuevos medios (M1, M2, M3), evaluando en ambos tipos de plástico. Se dejaron en incubación a temperatura ambiente hasta la aparición de turbidez en los líquidos o desarrollo de unidades formadoras de colonias en los sólidos.

### 4) *Evaluación de la capacidad degradadora*

A partir de los cultivos líquidos que manifestaron turbidez se inocularon nuevamente 200 µl por triplicado en un matraz con medio basal líquido y el plástico correspondiente. Cabe recalcar que el peso del plástico en cada matraz se registró cuidadosamente (Po). Se dejaron incubando en agitación y a temperatura ambiente durante 20 días. Al término del plazo se sumergió el plástico de cada matraz en SDS 2% durante 4 horas, se enjuagó con agua corriente y se lavó con metanol al 10% para dejar secar a 50°C por 24 horas. Finalmente se pesó (Pf), para determinar gravimétricamente la capacidad de degradación. Finalmente, se llevó a cabo un análisis de T pareada con significancia de 0.05 para identificar las muestras donde hubo diferencias significativas. Con estas muestras se hicieron conservas y se observaron al microscopio, luego de realizar tinción de Gram.

### 5) *Selección de los microorganismos con presunta actividad degradadora evaluados en medio nutritivo*

Se preparó medio nutritivo líquido. Para ello se colocaron 23 g de medio en 1L de agua destilada y se disolvió en agitación, en seguida se repartió en matraces de 50 mL y se esterilizaron en autoclave. Posteriormente, a partir de las cajas con medio basal sólido que mostraron crecimientos en las periferias del plástico, se tomaron muestras con el asa

bacteriológica y se sumergieron en SSF estéril, para posteriormente inocular 100 µl en 25 mL del medio nutritivo. Esto con el fin de potenciar la proliferación de los presuntos microorganismos degradadores. Una vez que mostraron suficiente turbidez, se separó la biomasa mediante la centrifugación del medio a 3000 rpm durante 20 minutos, para después lavar 3 veces la pastilla con solución salina fisiológica estéril (SSF) al 8%, a fin de retirar los restos de medio nutritivo. La pastilla se resuspendió en 10 mL de SSF y se midió la absorbancia de la solución a 600 nm. Una vez obtenidos valores de absorbancia menores a 1, se determinó el volumen correspondiente para alcanzar una densidad de  $10^6$  células/mL. El volumen se determinó con la fórmula  $C_1V_1 = C_2V_2$ , donde  $C_1$  fueron las unidades de absorbancia obtenidas a partir de la multiplicación de la absorbancia del inóculo por el factor de dilución 10, con esto, se justó el volumen para tener 1 unidad de absorbancia en 1 mL de inóculo. Dicho volumen se inoculó nuevamente por triplicado en matraces con medio basal y el plástico previamente pesado (Po). Se dejaron incubar en agitación a 150 rpm a temperatura ambiente por 20 días. Finalmente se determinó gravimétricamente la capacidad de degradación.

#### 6) Descripción morfológica de microorganismos biodegradadores

Los cultivos que mostraron capacidad de biodegradación de algún plástico se analizaron para realizar la descripción morfológica macro y micro usando la tinción de Gram.

### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

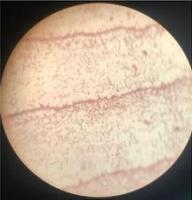
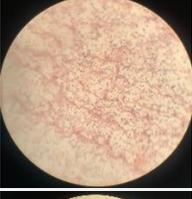
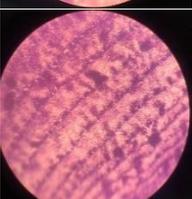
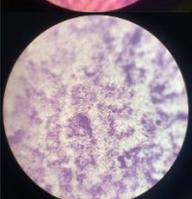
Las cepas fúngicas se descartaron para el análisis morfológico, ya que no fue posible separar la biomasa de los plásticos. Sin embargo, se han reportado distintas especies del género *Aspergillus*, principalmente, capaces de degradar polietileno. Desafortunadamente, lo logran en tazas muy bajas [6], alcanzando únicamente un 5% de degradación después de 60 días de incubación [8]. En cuanto al resto de los microorganismos aislados, es remarcable su naturaleza aeróbica o anaeróbica facultativa, cuestión que se mantuvo constante durante el periodo de incubación, ya que la incorporación de oxígeno es crucial para la degradación del plástico a mayor velocidad [4]. Como se observa en la Tabla 1, a pesar de establecer las mismas condiciones de activación para todos, no se desarrolló turbidez al mismo ritmo ni se alcanzaron las mismas tasas de degradación, lo cual confirma que se trataba de organismos distintos con diferente velocidad de crecimiento. Así, por ejemplo, *Acinetobacter* sp. alcanza la fase de crecimiento exponencial en 1-6 días, mientras que *Pseudomonas* sp. lo hace en un rango de 1-4 días. El proceso de activación se enriqueció notoriamente al inocular el medio nutritivo, donde se pudo ajustar el inóculo mediante la determinación de la densidad óptica, un proceso comparable al que se realiza con *Escherichia coli*, a fin de excluir la proliferación celular como factor influyente en la degradación [3].

**Tabla 1.** Análisis gravimétrico de la activación de microorganismos de tracto de *Achroia grisella*

MUESTRA	PESO INICIAL (PO)		PESO FINAL (PF)		TIEMPO DE DEGRADACIÓN	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA
	Promedio	Desv Est	Promedio	Desv Est		
<b>B1-PS</b>	0.0997	0.009	0.0930	0.006	20 días	No significativa
<b>B4-PE</b>	0.0739	0.008	0.0736	0.008	20 días	No significativa
<b>B3-PS</b>	0.0964	0.003	0.0902	0.002	20 días	Significativa
<b>B3-PE</b>	0.0634	0.015	0.0632	0.015	20 días	No significativa
<b>B2A-PS</b>	0.0964	0.003	0.0919	0.002	20 días	Significativa
<b>B2B-PS</b>	0.1024	0.014	0.0959	0.009	20 días	No significativa
<b>B4B-PS</b>	0.0977	0.001	0.0901	0.005	30 días	No significativa
<b>M1-PS</b>	0.0965	0.006	0.0926	0.005	30 días	Significativa
<b>M2-PS</b>	0.0996	0.003	0.0974	0.002	20 días	Significativa
<b>M3-PS</b>	0.1019	0.006	0.0977	0.005	20 días	Significativa
<b>B2B-PE</b>	0.0595	0.024	0.0588	0.024	30 días	Significativa
<b>H1-PE</b>	0.0617	0.024	0.0610	0.024	20 días	No significativa
<b>H2A-PE</b>	0.0617	0.010	0.0613	0.010	20 días	No significativa
<b>H2B-PE</b>	0.0511	0.013	0.0492	0.013	20 días	No significativa
<b>H1-PS</b>	0.0857	0.003	0.0000	0.000	20 días	No significativo
<b>H2B-PS</b>	0.0952	0.011	0.0000	0.000	20 días	No significativo
<b>M1-PE</b>	0.0504	0.001	0.0485	0.003	20 días	No significativa
<b>B1-PE</b>	0.0587	0.018	0.0440	0.003	20 días	No significativa

La degradación de plásticos mediante *Achroia grisella* ha sido reportada únicamente con polietileno de alta densidad (HDPE), donde la larva logra alcanzar un nivel de ingesta de HDPE por larva de 1.83 mg al día en un periodo de ocho días [5]. En cuanto al poliestireno, se ha recurrido principalmente a la larva *Tenebrio molitor*. En ambos casos, se destaca la influencia de las proteínas secretadas por las glándulas salivales de estos tipos de insectos. Los ensayos de estos insectos usando dietas suplementadas con antibióticos, a fin de suprimir la actividad de su microbiota intestinal, demostraron que ésta es indispensable para que la degradación del plástico se lleve a cabo [4].

**Tabla 2.** Estudio morfológico de cepas con capacidad de degradación de plásticos.

Muestra	Morfología macroscópica		Morfología microscópica		Posible identificación
	Descripción	Imagen	Descripción	Imagen	
B3-PS	Puntiforme, blanquecina, cremosa y brillante.		Cocos Gram negativos		- <i>Acinetobacter</i> sp. [2,6]
B2A-PS	Puntiforme, blanca, cremosa y opaca.		-Cocos Gram positivos -Cocos y bacilos Gram negativos		- <i>Citrobacter freundii</i> [4] - <i>Acinetobacter</i> sp. [2,6] - <i>Pseudomonas</i> sp. [2,6] - <i>Staphylococcus</i> sp. [6]
M2-PS	Puntiforme en agregados grandes, blanca cremosa y brillante.		Cocos y estafilococos Gram positivos		- <i>Staphylococcus</i> sp. [6] - <i>Micrococcus</i> sp. [6]
M3-PS	Puntiforme, transparente, cremosa y brillante.		Cocos Gram negativos		- <i>Acinetobacter</i> sp. [2,6]
M1-PS	Puntiforme, blanquecina, cremosa y brillante		-Cocos Gram positivos -Cocos Gram negativos		- <i>Acinetobacter</i> sp. [2, 6] - <i>Pseudomonas</i> sp. [2,6] - <i>Micrococcus</i> sp. [6]
B2B-PE	Puntiforme, blanca y opaca.		Cocos, estafilococos y bacilos Gram positivos		- <i>Staphylococcus</i> sp. [6] - <i>Micrococcus</i> sp. [6] - <i>Bacillus</i> sp [6] - <i>Brevibacillus borstelensis</i> [6]

Aunado a esto, y como se aprecia en la Tabla 2, se identificó mediante la tinción de Gram que las muestras consistían en consorcios de microorganismos, ya que se observan diferentes morfologías tanto Gram positivas como negativas. Está reportado que se requiere de varios tipos de microorganismos para descomponer activamente el poliestireno [3]. Entre las bacterias Gram negativas relacionadas con la degradación y posiblemente identificadas en las muestras se encuentran el bacilo *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes* [4], el cocobacilo *Acinetobacter* sp. y *Pseudomonas* sp. [2,6]. En cuanto a las

Gram positivas se destacan *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Brevibacillus borstelensis* [6]. De estas, *Pseudomonas* ha sido de mucho interés debido a su habilidad inigualable de metabolizar distintos polímeros mediante enzimas hidrolíticas y oxidación extracelular, lo cual facilita la interacción de biopelículas bacterianas y las superficies de los polímeros. *Brevibacillus borstelensis*, ha reportado reducciones hasta del 30% de polietileno de baja densidad (LDPE) con periodos de incubación de 30 días. Por su parte, las del género *Klebsiella* tiene la capacidad de adherirse a la superficie del HDPE, logrando una disminución del peso del plástico de 18% si a éste se le da un tratamiento térmico [8]. En cuanto a *Citrobacter freundii*, es una bacteria capaz de degradar polímeros de cadena larga y se asocia íntimamente con la microbiota intestinal de larvas alimentadas bajo dietas tanto de PS como PE [4].

En la Tabla 3 se destacan nuevamente las bacterias identificadas, donde las descripciones mencionadas en cuanto a sus habilidades para intervenir en la degradación de plásticos sustentan la identificación propuesta. Es destacable la estrecha interacción que manifiestan tales microorganismos como consorcio, cuestión manifestada en la morfología macroscópica uniforme. Sin embargo, se precisa mayor investigación para determinar si la asociación favorece una mayor degradación o provoca que ciertos tipos de bacterias interfieran en la actividad de las otras.

**Tabla 3.** Microorganismos identificados con capacidad de biodegradación de plásticos.

Muestra	Medio de procedencia	Tiempo de degradación	Microorganismos identificados
<b>B3-PS</b>	Medio basal sólido con PS (caja 3) Activado en medio con PS	20 días	<i>Acinetobacter</i> sp. [2,6]
<b>B2A-PS</b>	Medio basal sólido con PS (caja 2) Activado en medio con PS	20 días	<i>Citrobacter freundii</i> [4] <i>Acinetobacter</i> sp.[2,6], <i>Pseudomonas</i> sp. [2,6], <i>Staphylococcus</i> sp. [6]
<b>M2-PS</b>	Medio basal líquido con PS (matraz 2)	20 días	<i>Staphylococcus</i> sp. [6], <i>Micrococcus</i> sp. [6]
<b>M3-PS</b>	Medio basal líquido con PS (matraz 3)	20 días	<i>Acinetobacter</i> sp. [2,6]
<b>M1- PS</b>	Medio basal líquido con PS (matraz 1)	30 días	<i>Acinetobacter</i> sp.[2, 6], <i>Pseudomonas</i> sp.[2,6], <i>Micrococcus</i> sp. [6]
<b>B2B-PE</b>	Medio basal sólido con PS (caja 2) Activado en medio con PE	30 días	<i>Staphylococcus</i> sp. [6], <i>Micrococcus</i> sp. [6], <i>Bacillus</i> sp [6], <i>Brevibacillus borstelensis</i> [6]

Se ha reportado que el porcentaje de degradación de poliestireno alcanzado por *A. johnsonii* JNU01 y *P. lini* JNU01 fue 1.52% and 1.45%, respectivamente. Cuestión comparable al 7.4% alcanzado en 60 días por *Exiguobacterium* sp o al 2.6% logrado por *Pseudomonas* sp. en 15 días [3]. Dado que los resultados significativos se obtuvieron principalmente con poliestireno (Tabla 1), se puede comparar también aquí el 4-6% logrado por los consorcios bacterianos aislados a partir de *A. grisella*.

Entre los factores que intervienen en la biodegradación de los plásticos se destacan el pH, la temperatura, la disponibilidad de minerales y fuentes de carbono, la concentración de sales, el agua, la humedad, el tipo de plástico y el tipo de microorganismo [7]; por lo que

son muchas las variables que afectan de una u otra manera el proceso. Asimismo, es necesario investigar la influencia de los componentes del sobrenadante del medio, producto del metabolismo de lo propios microorganismos, ya que algunos podrían tener efectos inhibitorios, especialmente a largo plazo [4], todo con el fin de potenciar el proceso degradativo.

## V. CONCLUSIONES

Se logró la activación de cepas bacterianas y fúngicas previamente aisladas a partir de tracto digestivo de la larva de *Achroia grisella*. En la determinación de capacidad degradadora, sólo las cepas bacterianas B3-PS, B2A-PS, M2-PS y M3-PS mostraron resultados significativos de degradación de plástico, en este caso poliestireno.

El análisis morfológico reveló consorcios de bacterias Gram positivas y negativas, que presentaban distintas morfologías. Se propuso que dentro de éstos organismos predominan *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp. y *Brevibaccillus borstelensis*.

Dados los diversos factores que afectan el proceso y las bajas tasas de degradación, resta investigación adicional que profundice en tales factores, a fin de potenciar la degradación y lograr la aplicación de la técnica, generando un beneficio para el ambiente.

## VI. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis papás por el apoyo, la paciencia y el impulso para seguir en la ciencia. A Andrea, pilar del proyecto y del verano. A Edgar y a mis amigos, futuros científicos que me inspiran todos los días.

Gracias a la doctora Issell, que nos recibió y de quien aprendimos mucho. Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro, por proporcionar instalaciones y los medios para desarrollar buenas investigaciones. Gracias también a la Universidad Autónoma de Aguascalientes, por el apoyo y la difusión.

## REFERENCIAS

- [1] F. Alshehrei, "Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms", *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, vol. 5, no. 1, pp. 8-19, 2017
- [2] L. Ren et al., "Biodegradation of Polyethylene by *Enterobacter* sp. D1 from the Guts of Wax Moth *Galleria mellonella*", *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol.16, pp. 3-11, Abr, 2019
- [3] H. W. Kim et al., "Biodegradation of polystyrene by bacteria from the soil in common environments", *Journal of Hazardous Materials*, vol. 416, pp. 1-9. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126239> [2021]
- [4] A. Malawi,-Brandon, A. Mae-García, N. Khlystov et al. "Enhanced Bioavailability and Microbial Biodegradation of Polystyrene in an Enrichment Derived from the Gut Microbiome

of *Tenebrio molitor* (Mealworm Larvae)”, *Environ. Sci. Technol.*, vol. 55, pp. 2027–2036. Disponible en <https://dx.doi.org/10.1021/acs.est.0c04952> [2021]

[5] A. Rodríguez-Carreón, Y. Ortiz-Rivera, C. Hernández-Peña y C. Figueroa, “Biodegradación de espumas plásticas por larvas de insectos: ¿una estrategia sustentable?”, *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 24, pp. 1-10. Disponible en <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.311> [2021]

[6] H. Kundungal, M. Gangarapu, S. Sarangapani et al., “Efficient biodegradation of polyethylene (HDPE) waste by the plastic-eating lesser waxworm (*Achroia grisella*)”, *Environmental Science and Pollution Research*, vol 26, pp 18509-18519, May, 2019

[7] A. Crespo, “Biodegradación de partículas de microplástico de polietileno a partir de un consorcio microbiano aislado del contenido intestinal de la larva *Galleria mellonella* L” [Tesis]. Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador, 2021

[8] S. Ghatge, Y. Yang, J. Hyung-Ahn y H. Gil-Hur, “Biodegradation of polyethylene: a brief review”, *Appl Biol Chem*, vol. 63, pp 1-14. Disponible en <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00511-3> [2020]

# INVENTARIO DE MACROMICETOS COMESTIBLES EN ANP CERRO DEL CUBILETE

**Carla Guadalupe Regalado Moncada**  
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato – Silao km 12.5 Col. El Copal  
C.P 36821, Irapuato, Guanajuato  
[LIS18110194@irapuato.tecnm.mx](mailto:LIS18110194@irapuato.tecnm.mx)

**Francisco Alejo Iturvide**  
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Carretera Irapuato – Silao km 12.5 Col. El Copal  
C.P 36821, Irapuato, Guanajuato  
[francisco.ai@irapuato.tecnm.mx](mailto:francisco.ai@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — Los macromicetos son hongos macroscópicos fáciles de observar, algunos pueden ser comestibles o tóxicos. En Guanajuato, se estiman 40 especies comestibles que son apreciadas por su valor nutricional y delicado sabor. El propósito del estudio fue identificar los macromicetos comestibles y tóxicos presentes en el ANP Cerro del Cubilete. Se realizó el método de muestreo por cuadrantes aleatorios y se identificaron 47 individuos pertenecientes a 26 especies, de las cuales el 50% (13) son especies comestibles, 35% (9) sin interés culinario, 8% (2) tóxicos y 4% (1) probables tóxicas y desconocidas. Las especies comestibles más reconocidas son *Amanita caesaria*, *A. rubescens*, *A. vaginata*, *Lactarius salmonicolor* y *Lepista nuda*, mientras que las especies tóxicas presentes fueron *Mycena pura* y *Panaeolus sphinctrinus*.

**Palabras clave** — Macromicetos, comestible, tóxico.

**Abstract** — Macromycetes are easy to observe macroscopic fungi, some can be edible or toxic. In Guanajuato, there are an estimated 40 edible species that are appreciated for their nutritional value and delicate flavor. The purpose of the study was to identify the edible and toxic macromycetes present in the ANP Cerro del Cubilete. The sampling method was performed by random quadrants and 47 individuals belonging to 26 species were identified, of which 50% (13) are edible species, 35% (9) without culinary interest, 8% (2) toxic and 4% (1) probably toxic and unknown. The most recognized edible species are *Amanita caesaria*, *A. rubescens*, *A. vaginata*, *Lactarius salmonicolor* y *Lepista nuda*, while the toxic species present were *Mycena pura* y *Panaeolus sphinctrinus*.

**Keywords** — Macromycetes, edible, toxic.

## I. INTRODUCCIÓN

Los macromicetos son hongos macroscópicos que se distinguen por formar estructuras por encima del sustrato llamadas setas o cuerpos fructíferos, fáciles de observar y que crecen de manera natural en diferentes ambientes donde se encuentre materia orgánica, humedad y temperatura apropiada [1], algunos de estos pueden ser comestibles lo que los hace ser apreciados debido a su valor nutricional y delicado sabor [2].

Los macromicetos comestibles han sido parte de la cultura humana desde hace miles de años, tan solo en México se estiman 371 especies que se consumen de manera tradicional [3] y que se han convertido en un importante recurso alimentario durante la época de lluvias, especialmente en verano y otoño. Sin embargo, así como hay especies que son muy apreciadas, otras pueden ocasionar graves intoxicaciones debido a que algunas especies de macromicetos son tóxicos [4], por lo que es importante tener conocimientos previos y precauciones antes de consumir hongos silvestres. El objetivo del presente estudio es identificar las especies de macromicetos comestibles y tóxicos presentes en el ANP Cerro del Cubilete.

## II. MARCO TEÓRICO

Los macromicetos comestibles presentan un alto contenido de proteínas, minerales, vitaminas B y D, son fáciles de digerir y contienen bajo contenido de carbohidratos y grasas [4] convirtiéndolo en un recurso importante en la dieta de las poblaciones que han sido aprovechados históricamente en grupos étnicos, lo que ha generado sistemas tradicionales de saberes sobre su uso, manejo y propiedades, incluso se establecían restricciones para controlar su extracción [5], estas prácticas aún se mantienen para la recolección con fines de autoconsumo o para comercialización a baja escala [6], generalmente las setas son recolectadas durante la temporada de lluvias y los identifican en base a su forma, color o consistencia, sitio donde crecen y época de desarrollo, manteniendo conocimientos empíricos para su aprovechamiento [7].

En Guanajuato los datos sobre macromicetos es poco conocido, pues las exploraciones no han sido consistentes [8], por lo que se desconoce la riqueza de especies en este grupo biológico. Aun así, reconociendo los estudios que previamente se han realizado en el estado como en la Sierra de Santa Rosa y la Reserva de la Biosfera de la Sierra Gorda, hasta el momento se han identificado 260 géneros en el estado y se cuenta con 25 géneros y 40 especies comestibles en Guanajuato [9].

De acuerdo con el Programa de manejo del Área Natural Protegida “Cerro del Cubilete”, el ANP localizado entre los municipios de Guanajuato y Silao se caracteriza por poseer bosque templado con vegetación de estrato arbóreo *Quercus* y presentar clima templado subhúmedo con lluvias en verano [10], formando un sitio con ecosistema favorable para el desarrollo de cuerpos fructíferos comestibles, ya que para el estado, las especies de macromicetos se distribuyen principalmente en bosque de encinos (*Quercus spp.*) [8].

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta de individuos se realizó durante los meses de junio a julio del año 2021 y 2022 en el ANP Cerro del Cubilete ubicada al noroeste del municipio de Silao y el municipio de Guanajuato [10]. El muestreo se llevó a cabo por medio de cuadrantes aleatorios de 20 x 20 m. En cada cuadrante se colectaron y se tomaron descripciones de cada individuo, para posteriormente deshidratarlos y realizar la identificación de taxones a través de la revisión de guías de campo y literatura especializada. Se llevó a cabo observación de esporas mediante el uso de microscopio óptico para asegurar la identificación de especies con fines comestibles.

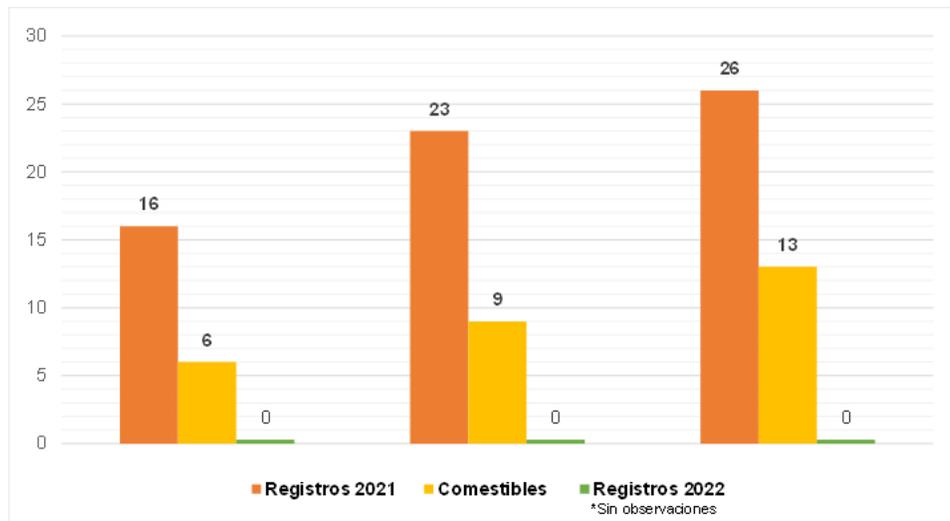
## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La abundancia de familias, géneros y especies mostrada en la figura 1 son comparadas entre los registros totales obtenidos en 2021 y 2022 con las especies de macromicetos comestibles identificadas en el sitio. En el año 2021, se obtuvo un total de 47 registros de individuos pertenecientes a 16 familias y 23 géneros, de ello solo fue posible identificar 26 especies y 12 se reconocieron hasta el nivel de género. Mientras que, en el 2022 no fue posible observar macromicetos en el área de estudio debido al nivel de precipitación baja

en el Cerro del Cubilete. De acuerdo con datos de la estación climática “La Hacienda” en Silao, disponible en Fundación Guanajuato (<http://www.estaciones.fundacionguanajuato.mx>), durante el año 2022 la precipitación acumulada de los meses junio y julio fueron de 66.6 y 116.3 mm respectivamente, siendo menor a años anteriores, ya que en el 2021 se registraron datos de precipitación acumulada en junio con 68.7 mm y julio con 133.2 mm.

De este modo al comparar ambos años muestreados 2021 y 2022, se presenta una diferencia de precipitación de -2.1 en el mes de junio y -16.9 en el mes de julio. Considerando estos datos, se determinó que la baja precipitación registrada en el 2022 impidió la acumulación de humedad en el suelo que a su vez dificultó el desarrollo de macromicetos en el área muestreada. Tal como menciona Landeros *et al.* [11] la influencia de humedad y temperatura son dos factores climáticos más importantes en la fructificación de los hongos. Añadiendo que la gran mayoría de las especies comestibles fructifican en épocas lluviosas y en temperaturas templadas, entonces si se carece de este factor ambiental, la probabilidad de encontrar macromicetos es baja.

Por lo tanto, en este trabajo solo se consideraron las 26 especies identificadas en 2021, de los cuales la mitad de las especies son macromicetos de uso comestible. De ello, se obtuvieron 6 familias, 9 géneros y 13 especies comestibles. La familia con mayor presencia fue Russulaceae y Amanitaceae con 3 especies, seguidas de Tricholomataceae, Boletaceae y Agaricaceae con 2 especies cada una y por último Entolomataceae con solo un taxón.



**Fig. 1.** Comparación a nivel taxonómico entre los registros totales de 2021, 2022 y comestibles.

En cuanto a la comestibilidad de las 26 especies observadas (Figura 2), se obtuvo que el 50% de macromicetos son comestibles, en la Tabla 1 se presenta el listado de especies comestibles presentes en el Cerro del Cubilete en las que puede apreciarse que las especies *Leucoagaricus leucothies*, *Amanita rubescens*, *A. vaginata* y *Clitocybe albobragans* son especies que deben consumirse con precaución, debido a que *L.*

*leucothies* absorbe gran parte de productos químicos por lo que no se debe abusar de su consumo, mientras que *A. rubescens* y *A. vaginata* deben cocinarse a alta temperatura para evaporar su toxicidad, por último, para consumir *C. albofragrans* es importante identificarlo correctamente ya que se puede confundir con otros Clitocibes que son venenosos [12]. El 35% de las especies no presentan interés culinario, esto puede ser a causa de su mal sabor o carne escasa.

En el sitio también existen especies que contienen compuestos tóxicos cuya ingesta produce efectos nocivos en la salud. Estos pueden ir desde una leve intoxicación con malestares gastrointestinales hasta envenenamientos mortales [13]. De acuerdo con Ruan-Soto [13], en México se estiman 18 especies tóxicas, por lo que la presencia de especies tóxicas no es muy abundante, encontrando en este estudio solo 2 especies tóxicas *Mycena pura* y *Panaeolus sphinctrinus*, que corresponden al 8% del total y el 4% es de comestibilidad dudosa y posible tóxica siendo *Clitocybe fragrans* la especie registrada dentro de esta clasificación. Por último, el 4% restante corresponde a *Leucocoprinus aff. fragilissimus* que es la única especie a la que aún se desconoce su estado de comestibilidad.

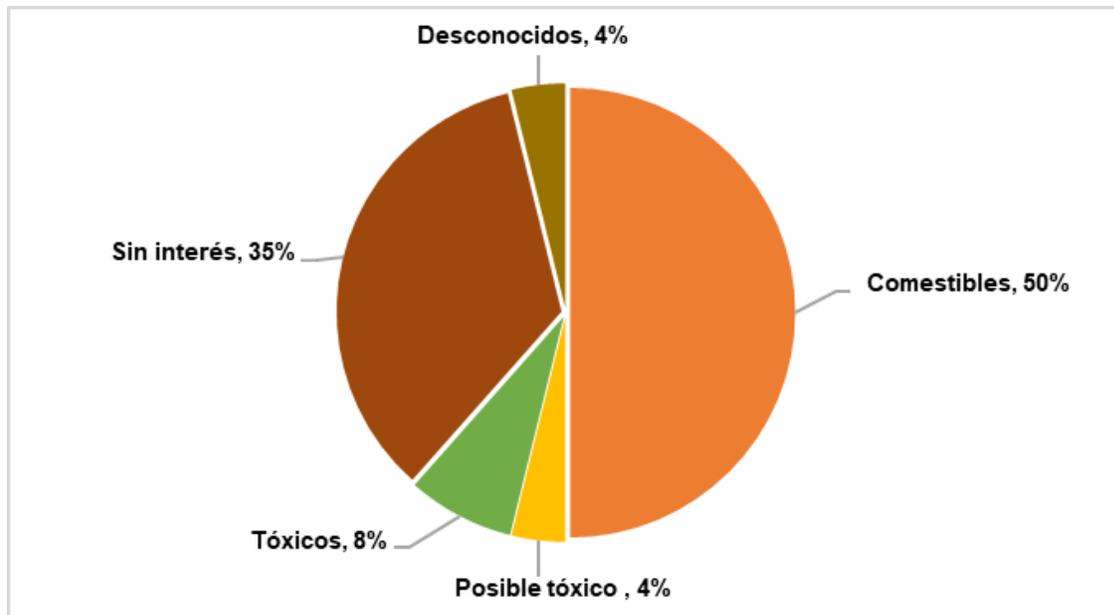


Fig. 2. Porcentaje de especies según su comestibilidad.

**Tabla 1.** Especies de macromicetos comestibles recolectados en el Cerro del Cubilete

Familia	Especie	Comestible con precauciones
Agaricaceae	<i>Agaricus campestris</i>	
	<i>Leucoagaricus leucothies</i>	X
Amanitaceae	<i>Amanita caesarea</i>	
	<i>Amanita rubescens</i>	X
	<i>Amanita vaginata</i>	X
Boletaceae	<i>Boletus chrysenteron</i>	
	<i>Boletus aff. rubellus</i>	
Entolomataceae	<i>Clitopilus prunulus</i>	
Russulaceae	<i>Lactarius salmonicolor</i>	
	<i>Russula aff. chloroides</i>	
	<i>Russula delica</i>	
Tricholomataceae	<i>Clitocybe albofragans</i>	X
	<i>Lepista nuda</i>	

En Guanajuato se han identificado 25 géneros y 40 especies de hongos comestibles [9], por lo que en este trabajo los géneros y especies identificadas como comestibles corresponden al 36% y 32.5% respectivamente del total registrado en el estado. Agregando que en estudios reportados en Guanajuato las especies mayormente citadas en la literatura y mencionadas como hongos silvestres comestibles en la recopilación de Zamora-Martínez [9] son *Amanita caesaria*, *A. rubescens*, *A. vaginata*, *Lactarius salmonicolor* y *Lepista nuda*.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De las 26 especies identificadas en el Cerro del Cubilete se encontró que 13 son especies comestibles y que a nivel estatal representan el 32.5% de las especies reportadas de uso comestible. Las familias con mayor representatividad fueron Amanitaceae y Russulaceae. Las especies comestibles que se identificaron fueron 13 que pertenecen al 50% del total y solo 2 especies se consideraron tóxicos que representan 8% del total registrado.

Cuatro de las 13 especies identificadas como comestibles deben consumirse con precaución, una de las causas son que al consumir crudos provocan intoxicaciones o se pueden confundir fácilmente con otras especies venenosas causando graves problemas a la salud o incluso llegar a ser mortal. Por lo que es muy importante tener precauciones antes de consumir algún hongo silvestre.

La obtención de registros de macromicetos durante los muestreos realizados en el 2022 no fue posible, debido a que el nivel de precipitación fue menor a años anteriores, ocasionando la carencia de especies por poca acumulación de humedad en el suelo impidiendo así el fructificación de los hongos. De este modo, se espera que las precipitaciones aumenten en los siguientes meses para realizar muestreos e incrementar el número de especies registradas en el inventario de macromicetos comestibles en el ANP Cerro del Cubilete.

## II. RECONOCIMIENTOS (O AGRADECIMIENTOS)

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y al Dr. Francisco Alejo Iturvide por las facilidades y el apoyo otorgado para el desarrollo de este proyecto. De igual manera agradezco al programa Verano de la Ciencia de la Región Centro por brindar la oportunidad de participar en el proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] E. Melgarejo. "Algunos usos de los hongos silvestres comestibles silvestres de Bolivia en el contexto sudamericano", Kempffiana, Vol. 11, pp 48-65. 2015.
- [2] M. Ortiz-Moreno. "Macromicetos en Zona Rural de Villavicencio", Orinoquia, Vol. 14, pp 125-132. 2010.
- [3] Y. Arana-Gabriel, C. Burrola-Aguilar, R. Garibay-Orijel, S. Franco-Maass. "Obtención de cepas y producción de inóculo de cinco especies de hongos silvestres comestibles de alta montaña en el cerro de México", Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, Vol. 20, pp 213-226. 2014.
- [4] A. Moreno. "Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: los hongos silvestres", Anales de Antropología, Vol. 48, Issue 1, pp 241-272. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0185-1225\(14\)70496-5](https://doi.org/10.1016/S0185-1225(14)70496-5) [consultado en julio 2022].
- [5] E. Boa. *Los hongos silvestres comestibles: Perspectiva global de su uso e importancia para la población*, FAO. Roma, 2005.
- [6] L. Villarreal. *Los hongos silvestres, una alternativa para el manejo integral de los bosques*. En E. Boege, H. García, P. Gerez. Alternativas al anejo de laderas en Veracruz. SEMARNAT y fundación Friedrich Ebert. México, 1995.
- [7] A. Cano-Estrada, L. Romero-Bautista. "Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres". Revista Chilena de Nutrición. Vol. 43, pp 75-80. 2016.
- [8] R. Medel-Ortiz, M. A. López-Ramírez, J. García-Alvarado. "Hongos" en La Biodiversidad en Guanajuato: Estudio del Estado vol. II. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE), pp 70-77. 2012.
- [9] M. C Zamora-Martínez. "Hongos silvestres comestibles" en La Biodiversidad en Guanajuato: Estudio del Estado vol. II. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE), pp 90-93. 2012.
- [10] Instituto de Ecología del Estado. Resumen del programa de manejo de Área Natural Protegida "Cerro del Cubilete" en la categoría de restauración ecológica. Periódico oficial, pp 51-66.
- [11] F. Landeros, J. Castillo, G. Guzmán, J. Cifuentes. "Los hongos (macromicetos) conocidos en el Cerro del Zamorano (Querétaro-Guanajuato), México". Revista Mexicana de Micología. Vol. 22, pp 25-31. 2006.
- [12] J. Ubillos. Fichas micológicas. Asociación cultural "Baxauri" Kultur Elkartea. Mikologia. Bajauri. Disponible en <https://www.fichasmicologicas.com/> [consultado en julio 2022].
- [13] F. Ruan-Soto. "Recolección de hongos comestibles silvestres y estrategias para el reconocimiento de especies tóxicas entre los tsotsiles de Chamula, Chiapas, México", ScientiaFungorum, Vol. 48, pp 1-13. 2018.

# REGISTRO DE ECTOMICORRIZAS E INOCULACIÓN DE PLANTAS EN ENCINOS EN EL ANP CERRO DEL CUBILETE

**Catalina Rico Aguilar**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Silao-Irapuato Km 12.5 El copal, C.P. 36821,  
Irapuato Gto.

[Lis18110297@irapuato.tecnm.mx](mailto:Lis18110297@irapuato.tecnm.mx)

**Francisco Alejo Iturvide**

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato  
Silao-Irapuato Km 12.5 El copal, C.P. 36821,  
Irapuato, Gto.

[francisco.ai@irapuato.tecnm.mx](mailto:francisco.ai@irapuato.tecnm.mx)

**Resumen** — En este trabajo se presenta el registro e identificación de hongos ectomicorrizicos asociados a encinos del cerro del cubilete (EcoCubilete), así como también el uso de métodos de propagación de encino con la finalidad de realizar una inoculación y de esa manera aislar y caracterizar ectomicorrizas y comparar morfotipos en cada una de las raíces inoculadas, sin embargo, el método de propagación aplicado no fue el más eficaz. Además, la identificación de encinos no se llevó a cabo debido a las condiciones en las que se encontraban los encinos, disminuyendo así la posibilidad de identificarlos.

**Palabras clave** — Hongo, micorriza, ectomicorriza, encino, identificación

**Abstract** — This paper presents the registration and identification of ectomycorrhizal fungi associated with oaks from cerro del cubilete (EcoCubilete), as well as the use of oak propagation methods in order to perform an inoculation and thus isolate and characterize ectomycorrhizae and compare morphotypes in each of the inoculated roots, however, the propagation method applied was not the most effective. In addition, the identification of oaks was not carried out due to the conditions in which the oaks were found, thus reducing the possibility of identifying them.

**Keywords** — Fungus, mycorrhiza, ectomycorrhiza, oak, identification

## I. INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos que se pueden encontrar en la naturaleza fácilmente ya que se desarrollan en prácticamente cualquier tipo de hábitat. Las micorrizas juegan un papel importante en el mantenimiento de los bosques, por lo que además de ser degradadores de materia orgánica, son capaces de formar asociaciones con numerosos árboles [5].

El término micorriza proviene del griego (*myces*=hongo y *rhiza*=raíz), el cual describe la asociación que existe entre hongos mutualistas (simbiontes) y las raíces de las plantas. Este tipo de interacciones resulta beneficioso para ambas partes, por ejemplo, el hongo facilita la extracción de nutrientes y que se encuentran en baja disponibilidad en el suelo, protegiendo las raíces de las plantas ante posibles ataques de patógenos, ayudando a que la planta soporte condiciones donde el estrés abiótico es muy elevado. Asimismo, la planta le brinda un lugar al hongo donde desarrollarse, entre muchas otras más.

Se reconocen siete tipos de asociaciones de micorrizas, los cuales son [3]: arbuscular, ectomicorriza, ectendomicorriza, arbutoide, monotropoide, ericoide y orquidoide. Uno de los tipos de asociaciones micorrízicas más comunes son las ectomicorrizas [1]. Se estiman un aproximado de más de 5000 especies de hongos ectomicorrizógenos [4]. La identificación de las ectomicorrizas es relativamente sencilla gracias al cambio morfológico que sufre la raíz [7] Por lo cual el objetivo del presente trabajo es identificar y registrar

ectomicorrizas en encinos del cerro del cubilete (Ecocubilete), así mismo aislar y caracterizar las ectomicorrizas encontradas y comparar morfotipos encontrados en cada una de las raíces de los encinos”.

## II. MARCO TEÓRICO

### a) Generalidades de los hongos

Los hongos se clasifican actualmente de acuerdo con Catalogue of Life en siete divisiones las cuales son: Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota, Entomophthoromycota, Zygomycota, Blastocladiomycota y Chytridiomycota [2].

Los hongos son organismos pluricelulares, rara vez unicelulares, formados por células eucariontes carentes de cilios, flagelos y clorofila, de forma filamentosa o levaduriforme, siendo su característica, como organismos pluricelulares, el que su célula sea alargada (hifa) [6].

### b) Hongos asociados con encinos

Para que exista una asociación micorrícica es necesario que exista una relación directa entre ciertos grupos de hongos y los encinares [5]:

Los siguientes géneros de hongos, son los más característicos que se presentan como hongos micorrícicos: *Alpova*, *Amanita*, *Astraeus*, *Balsamia*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Cenococcum*, *Coltricia*, *Entoloma*, *Ganoderma*, *Geopora*, *Gomphidius*, *Gyroporus*, *Hebeloma*, *Helvella*, *Hydnotria*, *Hydnum*, *Hygrophorus*, *Hymenogaster*, *Hysterangium*, *Inocybe*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Lycoperdon*, *Martellia*, *Omphalotus*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Polyborus*, *Rhizopogon*, *Rozites*, *Russula*, *Stereum*, *Strobilomyces*, *Suillus*, *Tricholoma*, *Tuber*, *Xerocomus*, entre otros.

## III. METODOLOGÍA

El sitio donde se llevó a cabo la investigación se localiza en los alrededores de la ciudad de Guanajuato, entre los 18°28'45.98" N y los 95°23'16.01"O, conocido como cerro del cubilete (Ecocubilete), con una altura de 2,580 m.s.n.m. abarcando desde el centro del estado de Guanajuato y abarca los municipios de Silao (89%) y Guanajuato (11%) Se llevaron a cabo varias colectas de hongos entre el periodo de Julio-octubre del año 2021, formando 10 rodales con un encino principal por cada rodal tomando en cuenta que este árbol se encuentre entre dos circunferencias completas de encinos y con ayuda de la aplicación GPS Essential se obtuvieron las coordenadas de cada uno de los rodales. Para la identificación de cada uno de los hongos es necesario llenar fichas de registro, tomar fotografías, medir tanto sombrero como el pie, extraer las esporas con ayuda de cinta adhesiva, posteriormente ser debidamente etiquetados y por último ser llevados a la deshidratadora. Para la identificación de cada uno de los hongos encontrados en los rodales, se usaron guías micológicas de identificación principalmente, corroborando la identificación observando las esporas de las cintas adhesivas al microscopio. Para la inoculación es necesario obtener raíces de cada uno de los encinos principales de cada rodal, sin embargo, no fue posible por medio de las bellotas ya que no era temporada de

brote, al igual que el estado de las hojas era desfavorable por lo que la identificación de los encinos no fue posible por lo que se tomaron estacas en su lugar, sin embargo, debido al clima y al riego excesivo no se obtuvieron resultados favorables.

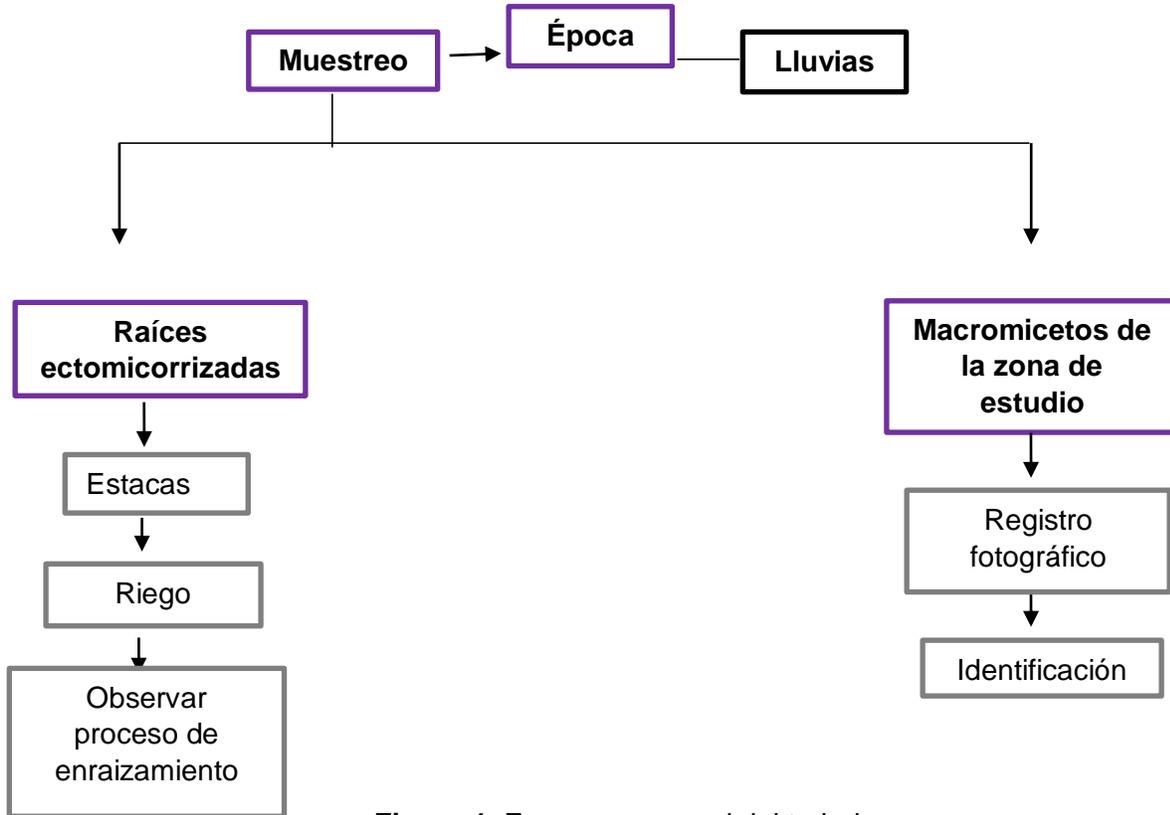


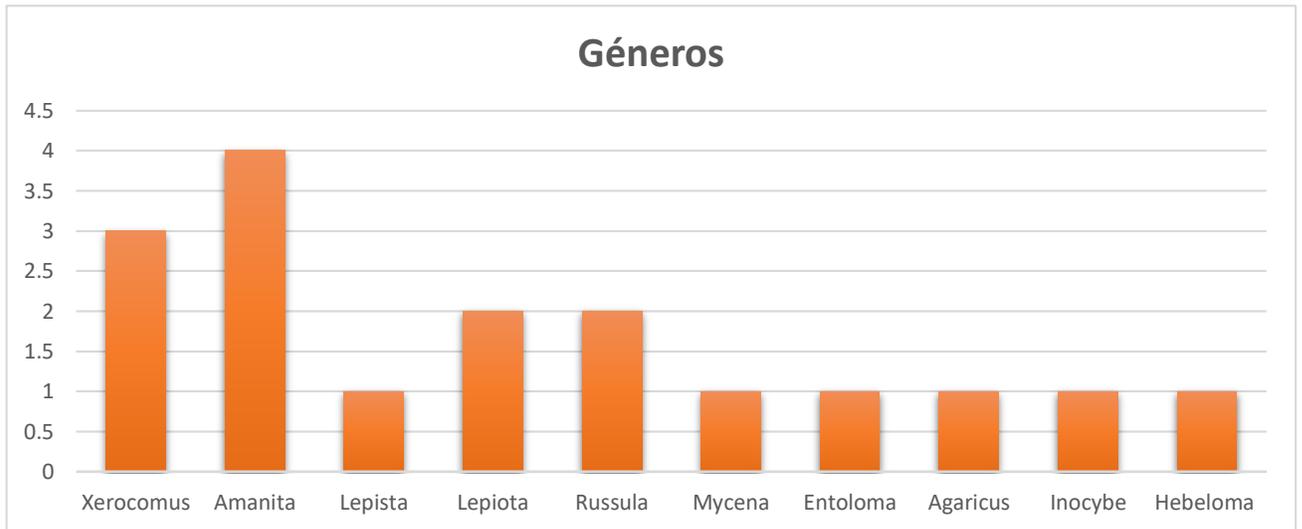
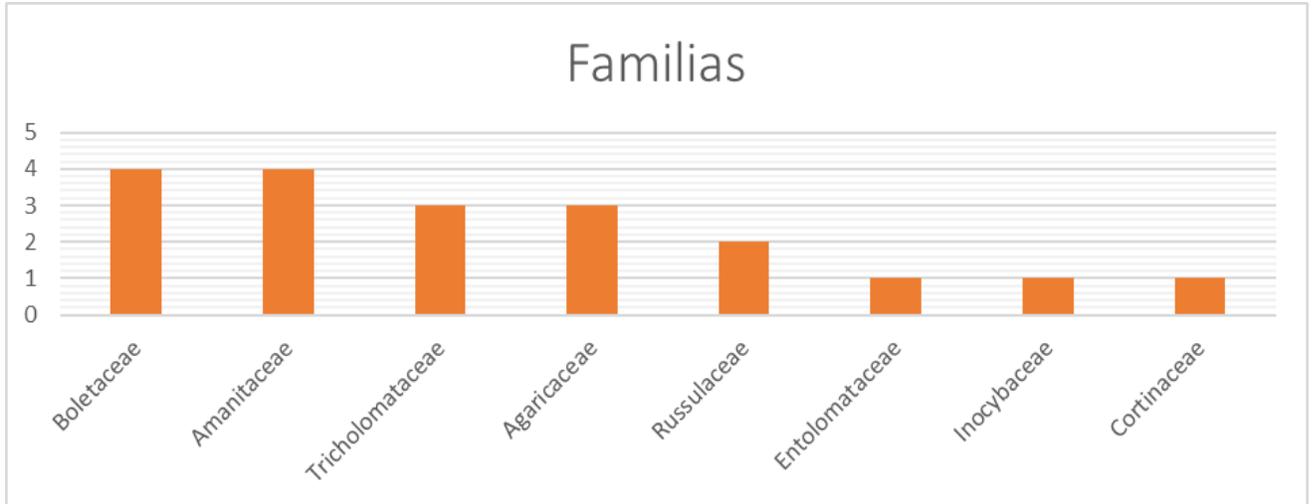
Figura 1. Esquema general del trabajo

#### IV. RESULTADOS

Se obtuvieron 8 familias entre las cuales se encuentra: Amanitaceae, Boletaceae, Tricholomataceae, Agaricaceae, Russulaceae, Tricholomataceae, Entolomataceae, Inocybaceae y Cortinaceae, respectivamente (**Fig. 2**). Dentro del rodal 8 encontramos una gran variedad de géneros de los cuales destacan 4 géneros (*Amanita*, *Hebeloma*, *Lepista* y *Lepiota*) (**Fig.3**), en los que destacan dos posibles especies micorrícicas y dos especies que de acuerdo con la literatura encontrada son micorrícicas. La especie *Amanita vaginata*

fue la de mayor presencia dentro de los 10 rodales, siendo 3 de ellos apreciados en los rodales 1, 8 y 9.

**Figura 2.** Gráficas de las familias presentes en los 10 rodales que se llevaron a cabo en el año 2021



**Figura 3.** Gráfica de los géneros identificadas en los 10 rodales que se llevaron a cabo en el año 2021

Rodales	Familia	Especie	N. individuos	Saprobio/Ectomicorrízico
1	Boletaceae	<i>Xerocomus badius</i>	2	Ectomicorrízico
2	Amanitaceae	<i>Amanita Vaginata</i>	3	Ectomicorrízico
	Tricholomataceae	<i>Lepista nuda</i>	2	Ectomicorrízico
	Boletaceae	<i>Xerocomus chrysenteron</i>	1	Ectomicorrízico
3	Agaricaceae	<i>Lepiota clypeolaria</i>	1	Ectomicorrízico
	Amanitaceae	<i>Amanita verna</i>	2	Ectomicorrízico
4	Boletaceae	<i>Xerocomus subtomentosus</i>	1	Ectomicorrízico
	Russulaceae	<i>Russula emética</i>	1	Posiblemente Ectomicorrízico
5	Tricholomataceae	<i>Mycena pura</i>	3	Ectomicorrízico
6	Russulaceae	<i>Russula brevis</i>	1	Ectomicorrízico
	Entolomataceae	<i>Entoloma clypeatum</i>	1	Ectomicorrízico
7	Agaricaceae	<i>Agaricus augustus</i>	1	Saprobio
8	Inocybaceae	<i>Inocybe cryptocystis</i>	1	Posiblemente Ectomicorrízico
	Amanitaceae	<i>Amanita Vaginata</i>	1	Ectomicorrízico
	Cortinaceae	<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	2	Posiblemente Ectomicorrízico
	Tricholomataceae	<i>Lepista nuda</i>	1	Ectomicorrízico
9	Agaricaceae	<i>Lepiota cristata</i>	2	Posiblemente Ectomicorrízico
10	Amanitaceae	<i>Amanita Vaginata</i>	2	Ectomicorrízico
	Boletaceae	<i>Xerocomus subtomentosus</i>	1	Ectomicorrízico
<b>TOTAL</b>	8	19	29	

**Tabla 1.** Especies ectomicorrízicas y saprobias encontradas en el cerro del cubilete “EcoCubilete” en el año 2021.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que la mayoría de los hongos identificados son ectomicorrízicos y solo 3 especies son posiblemente ectomicorrízicos, además se encontró una especie de hongo saprobio, dando así un total de 19 especies y 29 hongos identificados dentro de los 10 rodales. Por otro lado, el aislamiento y la comparación de las ectomicorrizas no fue posible debido a que la reproducción de encino por medio de estacas no fue un método exitoso debido a condiciones climáticas y un exceso de riego, por lo que la inoculación no fue posible.

Los resultados obtenidos son exclusivamente del año 2021, ya que el presente año no fue posible una colecta de hongos exitosa debido a la falta de lluvias durante el mes de Junio-agosto, por lo que aún no existen argumentos comparativos entre el año 2021 y 2022.

## V. CONCLUSIONES

No se obtuvieron resultados favorables en cuanto al proceso de inoculación, debido a las diversas fallas en el método de propagación de encinos, sin embargo, se lograron identificar las especies de hongos que crecen cerca de los encinares del cerro del cubilete. Aún queda seguir investigando más a profundidad estas interacciones entre hongo-encino, identificar morfotipos en cada una de las ectomicorrizas y principalmente seguir buscando los mejores métodos de propagación de encinos, posiblemente estandarizando métodos de propagación de encino ya conocidos o crear un nuevo método no solo de propagación si no de adaptación.

## VI. RECONOCIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento al Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y al TECNM campus Monclova por el apoyo otorgado durante la realización de la estancia de verano.

## REFERENCIAS

- [1] B. Peyronel, B. Fassi, A Fontana & James M. Trappe “*Terminology of Mycorrhizae*”. Volume 61, 1969.
- [2] Catalogue of Life. COL. Disponible en [https://www.catalogueoflife.org/data/search?TAXON\\_ID=F&rank=phylum&status=accepted&status=provisionally%20accepted](https://www.catalogueoflife.org/data/search?TAXON_ID=F&rank=phylum&status=accepted&status=provisionally%20accepted) [Consultado en 2022].
- [3] D.J, Read S.E. Smith, “*Mycorrhizal Symbiosis*”. 2nd Edition, Academic Press, London, 1997.
- [4] DW, Malloch. KA, Pirozynski. PH, Raven. “*Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (A review)*.” PNAS USA 77: 2113-2118, 1989.
- [5] E. Martínez-Gallegos, “*SIMBIONTES ECTOMICORRÍCICOS EN ENCINOS Quercus sp. DE SANTA ROSA, GUANAJUATO*”. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. p 9-25, 2015.
- [6] M. I. Quiroga, & M. I. Peniche. “*Características generales de organismos pluricelulares*”. Fascículo 1. México: Colegio de bachilleres, 88 p, 2003.
- [7] M. ROMÁN, y A.M. MIGUEL. “*IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS DE QUERCUS ILEX L. SUBSP. BALLOTA (DESF.) SAMP. EN UNA ZONA QUEMADA Y UNA ZONA SIN ALTERAR DEL CARRASCAL DE NAZAR (NAVARRA)*.” Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra, 31080 Pamplona, España. Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica, 13: 1-42, 2000.

El presente volumen fue editado por el Departamento Editorial del Instituto Tecnológico Superior de Monclova en el marco del Verano de la Ciencia de la Región Centro 2022. Su edición es digital para su descarga y lectura gratuita en línea. El registro ISSN se encuentra en trámite.