

2. Biología y Química

HERBOLARIA MEXICANA EN EL CONVENTO DEL DIVINO SALVADOR, MALINALCO, ESTADO DE MÉXICO

María Patricia Domínguez Echeverría,^a Ximena Barrientos Domínguez^b y Ulises Uriel Guzmán Dorantes.^c

^a Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada de Hueso # 1100 Col. Villa Quietud, C.P. 04960, México, D.F. ^b Universidad Nacional Autónoma de México. *Campus* C.U., Posgrado de la Facultad de Arquitectura. ^c Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería, (PAE). *Campus* C.U.

RESUMEN

Introducción: Malinalco fue reconocido centro ceremonial en la época prehispánica. Su riqueza etnobotánica, dada su localización geográfica, clima y herencia cultural, fue plasmada por extraordinarios artistas indígenas en los exquisitos murales localizados en el convento agustino de San Cristóbal (fundado en 1540), actualmente Convento del Divino Salvador, con su fachada de estilo plateresco, muros rústicos y burdos que recuerdan las construcciones medievales.

Teoría: un estudio reciente ha reportado que el 90.4 % de las plantas identificadas en los murales están distribuidas naturalmente en el continente americano, de las cuales 42% son exclusivas de México. De las plantas identificadas en el mural, 90% fueron útiles en la época prehispánica y sólo 77.4 % se usa actualmente, lo cual, como se dio a conocer, puede indicar una pérdida del uso de algunas plantas, entre ellas las de uso mágico-religioso en la época prehispánica.

Metodología: en el poblado de Malinalco, la memoria prehispánica se conjuga armónicamente con el presente. Por ello, partiendo de los usos de ciertas plantas de uso prehispánico descritas en el Códice de la Cruz-Badiano (1991) y, en el Códice Florentino (Sahagún, 1926), *nuestro equipo de trabajo interdisciplinario* se trasladó al mercado local de los miércoles (cuya atmósfera se transporta en el tiempo a la época prehispánica), *para entrevistar y mostrar fotografías del mural prehispánico* a vendedores locales de plantas medicinales y visitantes del tianguis, con el objeto verificar la posible continuidad de su uso en la actualidad así como su distribución.

Conclusiones: 1). En la generalidad de los casos, las plantas han mantenido su uso y se siguen empleando para el tratamiento de las mismas enfermedades 2). Es casi nula la información que posee la comunidad sobre las plantas útiles y medicinales que incorpora en su uso diario o en fiestas.3). Los usos más frecuentes, tanto prehispánico como actual, se relacionan con enfermedades gastrointestinales.

1. INTRODUCCIÓN

Malinalco, palabra de origen náhuatl, proviene de las palabras Malina, Malinalli y Malinticac, y se refiere a una cosa u objeto que se tuerce sobre sí mismo formando una espiral, de manera que para los antiguos mexicanos significaba la dualidad y transmutación entre lo terrenal, el inframundo y las trece esferas cósmicas, que corresponden a los tres niveles de existencia del universo.

La riqueza etnobotánica de Malinalco, dada su localización geográfica, clima y herencia cultural, fue plasmada por extraordinarios artistas indígenas en los exquisitos murales localizados en el

convento agustino de San Cristóbal (fundado en 1540), actualmente Convento del Divino Salvador, con su fachada de estilo plateresco, muros rústicos y burdos que recuerdan las construcciones medievales.

2. TEORÍA

Un estudio reciente, llevado a cabo por Zepeda y White (2008), investigadoras de la Universidad Autónoma del Estado de México, ha reportado que:

“El 90.4 % de las plantas identificadas en los murales del Convento del Divino Salvador del siglo XVI, localizado en Malinalco, están distribuidas naturalmente en el continente americano, de las cuales 42% son exclusivas de México. De las plantas identificadas en el mural, 90% fueron útiles en la época prehispánica y sólo 77.4 % se usa actualmente, lo cual, como se dio a conocer, puede indicar una pérdida del uso de algunas plantas, entre ellas las de uso mágico-religioso en la época prehispánica”

El claustro del Convento del Divino Salvador, está edificado en dos niveles. Se empezó a construir en 1540, y la iglesia estuvo dedicada en un principio al financiador de las primeras obras, Cristóbal Rodríguez de Ávalos, de ahí que se dedicó a San Cristóbal; posteriormente, cambió para dedicarse a la Purificación y al Apóstol San Simón; más tarde se dedicó a la Transfiguración, para dedicarse, a partir de 1725, y hasta la fecha, al Divino Salvador.

Los frescos originales, reconocidos mundialmente, fueron construidos por los indígenas Tlacuilo, tanto hombres como mujeres educados en el Calmécac, con el objeto de adquirir un vasto conocimiento de su lengua, su cultura, la vida en sociedad, y poder transmitirlo a través de diferentes obras que se les encomendaban en los primeros conventos del siglo XVI, muchas de ellas pinturas, otras, esculturas, aunque también genealogías, mapas territoriales, lo requerido para ir marcando la conformación de la Nueva España. En el caso de los frescos del Convento del Divino Salvador, los Tlacuilo, educados en la filosofía y la ciencia, plasmaron su conocimiento elaborando un registro de la flora y la fauna de la región, frescos conocidos actualmente como una representación del Jardín del Edén.

Una de las primeras pinturas plasmadas en el mural, dada su relevancia, fue la de los siete primeros evangelizadores agustinos que pisaron las tierras del continente americano; lamentablemente, sólo se conservan dos de ellas. A este respecto, Fernández de Oviedo, el historiador, narra la llegada de los primeros religiosos misioneros a la tierra de las Américas, y lanza una frase que recoge su impresión de la llegada misionera: “Llovieron los frailes” (Fernández, 1959).

La primera expedición de siete frailes agustinos, fue anunciada por una Audiencia enviada por la reina Juana el 30 de septiembre de 1532 a la Nueva España. Esa primera comunidad agustina, estuvo compuesta por los frailes: Francisco de la Cruz como cabeza, Jerónimo Jiménez, Juan de Sanromán, Juan de Oseguera, Jorge de Ávila, Alonso de Borja y Agustín de Coruña, que dejaron España y se embarcaron en Sevilla el 3 de marzo de 1533 en la nao “Santa María de la Anunciada”, quienes llegaron con buenos vientos al puerto de San Juan de Ulúa en la Nueva España, el 22 de mayo (Ceccherelli, 1955), para después partir a la hoy Ciudad de México.

También los escudos de la Orden Agustina, donde sobresale el corazón atravesado por flechas, fueron tallados en piedra por los Tlacuilo en el friso de la entrada del convento. Asimismo, se conservan tallas de la Virgen María, de Jesucristo y de la planta Malinalli, de antecedentes remotos, y apariencia de mechudos.

Dado que el arte colonial del siglo XVI, como el plasmado en el mural del Convento del Divino Salvador, mezcló distintos estilos y símbolos diversos, se hacía difícil su adecuada clasificación. Por ello fue necesario acuñar un término especial, y ese fue tequitqui, para referirse a las

manifestaciones artísticas realizadas por indígenas mesoamericanos en el período posterior a la Conquista de México. El término tequitqui, o arte tequitqui, apareció en 1949, en el texto de José Moreno Villa, *Lo mexicano en las artes* (Reyes-Valerio, 1982).

La mezcla de estilos pone de relieve la fusión indocristiana, así como también mudéjar, ya que los frailes, diseñadores del convento, contaban con esa cosmovisión. Sin embargo, la mano de obra encargada de preservar la memoria, recayó en los indígenas especialistas en todas las manifestaciones artísticas.

Los pasajes bíblicos, plantas y animales plasmados por los indígenas en el mural, dejaron constancia de los significados que tenían para su época. En este sentido, el interés particular de nuestra investigación, se centró en las *plantas medicinales* plasmadas. Para ello, partimos, entre otras fuentes, del reconocimiento de estas plantas, reportado por las investigadoras Zepeda y White (2008), que dice que son: “31 especies diferentes de plantas medicinales en los frescos. Estas plantas pertenecen a 25 familias, 21 plantas se determinaron a nivel específico y 10 se reportan como especies afines”. Asimismo, “de plantas identificadas, el 90% se registran útiles en la época prehispánica y sólo el 77.4% se usan actualmente. Dato, este último, que usaremos en nuestro trabajo de campo.

3. METODOLOGÍA

En el poblado de Malinalco, la memoria prehispánica se conjuga armónicamente con el presente. Por ello, partiendo de los usos de ciertas plantas de uso prehispánico descritas en el Códice de la Cruz-Badiano (1991), en el Códice Florentino (Sahagún, 1926), y por Zepeda y White (2008), *nuestro equipo de trabajo interdisciplinario* se trasladó al mercado local de los miércoles, rodeado de calles empedradas y casas coloniales (cuya atmósfera se transporta en el tiempo a la época prehispánica), *para entrevistar y mostrar fotografías del mural del Convento del Divino Salvador*, a vendedores locales de plantas medicinales y visitantes del tianguis, con el objeto de verificar la posible continuidad de su uso en la actualidad así como su distribución.

4. RESULTADOS

Encontramos dos lógicas diversas en las breves entrevistas realizadas en el mercado, tras mostrar las fotografías del mural: una, la de los vendedores de plantas medicinales, y otra, la de los visitantes del mercado. Presentamos algunos *elementos estructurales* comunes en ambos discursos:

Lo “maravilloso” de las plantas medicinales: una especie de expectación de “algo que no se ve”, “su energía”, “sus vibraciones”, lo cual le da entrada a algo oculto, intangible pero poderoso.

La “magia” de las plantas medicinales: que se vive como una promesa que a la vez valida el tiempo de espera. Es la idealización de su efecto, de su fuerza, de la culminación de la enfermedad, esa anomalía que acecha.

El “trascender” a otra época: la capacidad de imaginar, una aspiración a moverse a los antepasados históricos, la intangibilidad de las fronteras, la invocación del “otro”, que presupone la esperanza, la cura.

La transformación: al adueñarse de ese mundo de fantasía, aparece el privilegio, la capacidad de experimentar un cambio, de endurecer la resistencia ante los eventos de la enfermedad y evitar la caída.

La supervivencia: ese imperativo y deseo de autoafirmarse, de positividad, de lejanía de la enfermedad y el desvanecimiento del cuerpo.

En esta singularidad de la entrevista y los encuentros con vendedores y visitantes del mercado de Malinalco, uno de los principales problemas detectados en el uso y eficacia de las plantas medicinales, es el relacionado con su recolección y conservación, ya que no existen buenas prácticas agrícolas que permitan al consumidor el tener la información necesaria para su uso. ¿Cómo podría diferenciar el consumidor si los efectos adversos provienen del principio activo o de una planta medicinal mal conservada o confundida con otra?

Asimismo, a pesar de la riqueza etnobotánica de Malinalco, dado su clima, localización geográfica y herencia prehispánica, la comunidad se ha desvinculado de la tradición verbal para preservar la herencia prehispánica medicinal.

5. CONCLUSIONES

Es casi nula la información que posee la comunidad sobre las plantas útiles y medicinales que incorpora en su uso diario o en fiestas.

Los yerberos que venden sus plantas medicinales, dicen que son las mismas que usaban nuestros antepasados. Sin embargo, no reconocen las plantas medicinales en las fotos del mural.

Los usos más frecuentes, tanto prehispánico como actual, se relacionan con enfermedades gastrointestinales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo (1926). *Códice Florentino*. México: Talleres Gráficos de Antropología, Historia y Etnografía, Tomo II.
2. Ceccherelli, C. (Cf, 1955). "El bautismo y los Franciscanos en México. En: *Missionalia Hispanica*, 12 (1955), 273-274.
3. Cruz, M y Badiano, J. (1991). *Códice de la Cruz-Badiano*. México: Fondo de Cultura Económica.
4. Fernández de Oviedo (1959). *Historia General y Natural de las Indias*. I-IV. Edición y estudio preliminar de Juan Pérez de Tudela. Madrid: Bueso.
5. Reyes-Valerio, C. (1982). *El arte indocristiano o tequitqui. El arte mexicano, Arte colonial*. México: Salvat, p. 707.
6. Sahagún, B. De (1938). *Historia General de las Cosas de Nueva España*. México: Editorial Pedro Robledo, Tomo I.
7. WHO. (2004a). *WHO Guidelines on Safety Monitoring of Herbal Medicines in Pharmacovigilance Systems*. Geneva, Switzerland: Editions of the OMS.
8. WHO. (2004b). *WHO Guidelines on Developing Consumer Information on Proper Use of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. Geneva, Switzerland: Editions of the OMS.
9. Zepeda, G. y White, O. (2008). "Herbolaria y pintura mural: plantas medicinales en los murales del Convento del Divino Salvador, Malinalco, Estado de México". México: *Polibotánica*, Núm. 25, pp.173-199.

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL SULFATO FERROSO SOBRE ZOOPLANCTON REPRESENTANTE DE ECOSISTEMAS MARINOS

Ventura Parada, Estefany¹; Cortés Téllez, Alondra A.²; Bartolomé Camacho, María Carmen³

¹ Lic. De Químico-Farmacobiología, UMSNH, Morelia, Mich.; México. ² Doctorado en Ciencias Biológicas, UMSNH, Morelia, Mich.; México. ³ Profesor-Investigador Tiempo Completo Titular B, Laboratorio de Toxicología, Facultad de Químico-Farmacobiología, UMSNH, Morelia, Mich., México.

RESUMEN

Dentro del proceso de remoción de colorantes textiles, se utilizan técnicas de oxidación en condiciones ácidas basándose en la generación de radicales libres, bajo la aplicación de distintos oxidantes como el sulfato ferroso [Fe(II)]. No obstante, con la oxidación a Fe(III), este aparece en los vertidos, siendo uno de los metales que se presenta en mayor concentración, llegando a superar concentraciones micromolares en ecosistemas oceánicos, las cuales son lo suficientemente altas como para ser tóxicas para la biota acuática si no son tratados antes de su eliminación alcanzando consecuencias graves para la comunidad y población zooplanctónica. El objetivo del presente trabajo, fue estimar la toxicidad a corto plazo (CL₅₀₍₂₄₎) del sulfato ferroso sobre *Artemia franciscana*, organismo zooplanctónico representante de sistemas salinos. De acuerdo a la respuesta tóxica se obtuvo un valor de CL₅₀₍₂₄₎ de 179.40mg L⁻¹ y una 24h-NOEC de 112.20mg L⁻¹ sobre zooplancton de ecosistemas marinos, categorizando a este compuesto como poco tóxico a corto plazo dentro de la clase IV (≥100mg L⁻¹) afín con la clasificación por la EPA. Sin embargo, los problemas existen ya que puede bioacumularse y posteriormente biomagnificarse en niveles superiores de la cadena trófica ante exposiciones crónicas del mismo.

Palabras clave: *Artemia franciscana*; Ecotoxicología; toxicidad a corto plazo; Sulfato ferroso

1. INTRODUCCIÓN

Durante la remoción de colorantes textiles y de otras sustancias cromóforas en el tratamiento de aguas, se utilizan técnicas de oxidación avanzada bajo condiciones ácidas basándose en la generación de radicales libres utilizando H₂O₂ con la aplicación de catalizadores metálicos de transición como es el sulfato ferroso [Fe(II)] a través de reacciones tipo Fenton (Maleki, et al., 2015; Haji, et al., 2015). No obstante, el Fe(II) en estas reacciones es oxidado a Fe(III) ocasionando un aumento en el consumo de oxígeno en el ambiente acuático donde es vertido; y es uno de los iones metálicos que se presenta en mayor concentración. De manera natural, se encuentran concentraciones traza entre 0.05 a 0.5nM en el ecosistema marino (Sunda, 1989).

La presencia de compuestos férricos derivados de aguas residuales puede conducir a cambios en la dinámica de la población, con consecuencias graves para la comunidad fitoplanctónica y otros eslabones de la cadena alimenticia (Randall, et al., 1999; Sotero-Santos, et al., 2007). En estudios previos, por McDonald, et al., (1989) y posteriormente por Gerhardt, (1994), mencionaron además que, a pesar de que existen pocos datos científicos sobre la toxicidad del hierro en ecosistemas acuáticos, este puede incrementarse debido a bajos pH por cambios en la especiación metálica.

De acuerdo con lo anterior, se trata de un metal de transición que a bajos pH presenta la capacidad de provocar peroxidación lipídica principalmente por radicales HO[·] en presencia de H₂O₂ a través de las reacciones cíclicas de Fenton, provocando alteraciones sobre la membrana celular, y estrés oxidativo sobre el DNA por generación de ROS (McDonald, et al., 1989; Gerhardt, 1994; Walker, et al., 2001; Valavanidis, et al., 2006).

Así pues, el objetivo del presente trabajo fue determinar la toxicidad aguda a 24h del Fe(II) derivado del sulfato ferroso (FeSO₄) a través de la exposición a través de ensayo estático del agente a concentraciones exponenciales utilizando como bioindicador a nauplios de 24h de *Artemia franciscana*.

2. PARTE EXPERIMENTAL

La sustancia de ensayo utilizada fue el Sulfato ferroso heptahidratado (FeSO₄·7H₂O) (Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA). Se realizó la dilución del agente en agua marina (Sera Premium, Germany) para la obtención de concentraciones crecientes en un rango de 100-300 mg L⁻¹.

Material biológico

Nauplios de 24h de *Artemia franciscana* fueron obtenidos del laboratorio de Toxicología Ambiental de la facultad de Químico-Farmacobiología, UMSNH; a partir de la hidratación de quistes (Argent Chemical Laboratories, Washington, USA) a 4°C por 12h y posterior incubación a 28°C en agua marina (Sera Premium, Germany) a 35ppt de salinidad pH de 8.4±0.2 a 24h a una intensidad de fotones de 18.5µmol/m²s.

Determinación de letalidad en Artemia franciscana

La metodología para la determinación de las Concentraciones Letales 50% (CL₅₀) se basó en la descrita por Persoone et al., 1989 y por Sánchez-Fortún et al., 1995, que consiste en la determinación de la concentración que causa la muerte del 50% de nauplios de 24h de *Artemia* sobre placas de cultivo celular de 24 pocillos (Sarstedt Inc., USA). En cada pocillo se incluían 10 nauplios de *Artemia* los cuales fueron expuestos a las distintas concentraciones del agente en un volumen total de 1ml. Para cada concentración del agente químico se estableció un control y ocho repeticiones, se incubaron las placas a 28°C por 24h en ambiente de oscuridad. Para determinar el número de nauplios muertos en cada pocillo, se realizó la lectura a través de estereoscopio (Zeiss, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) a las 24h de incubación.

Análisis de datos

Los valores de las CL₅₀₍₂₄₎ y 24h-NOEC sobre *Artemia franciscana* fueron obtenidos por regresión no lineal a través de una relación de Concentración-Respuesta por análisis Probit (Finney, 1971). La prueba de distribución normal de los datos se realizó a través de la prueba D'Agostino y Pearson, utilizando un intervalo de confianza de p<0.05. Los cálculos estadísticos fueron realizados por el paquete estadístico Graphpad Prism v5.0 (Graph-Pad Software Inc., USA).

3. RESULTADOS

Cada punto del Gráfico 1 representa la media y su respectiva desviación estándar de cada concentración ensayada del metal sobre *A. franciscana*, destacando que para provocar la letalidad del 50% de la población ensayada a las 24h del estudio fue de 179.40mg L⁻¹ y una concentración máxima en donde no se observó tal efecto en el orden de ~100mg L⁻¹ (24h-NOEC); mostrado en la Tabla 1.

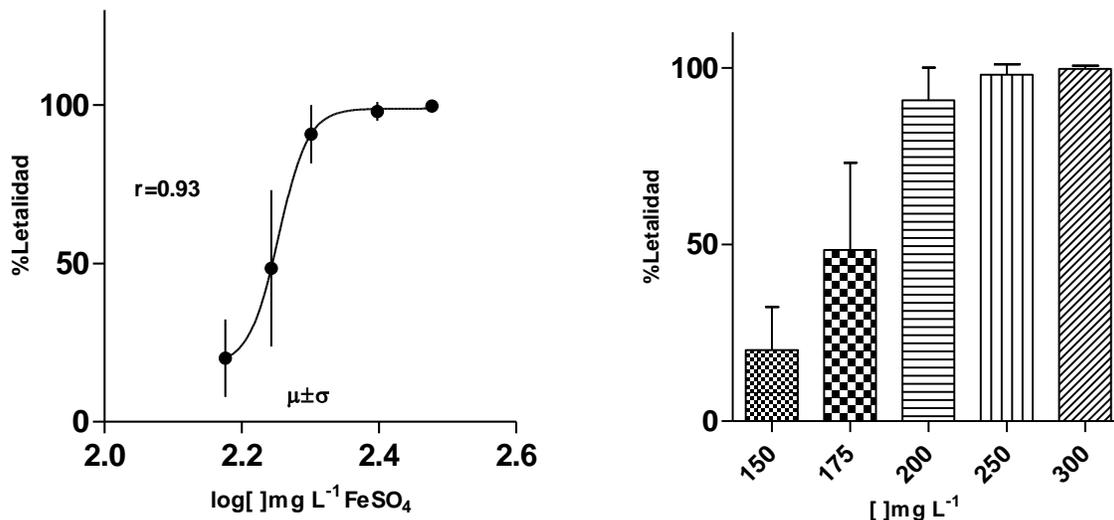


Gráfico 1. Curva Concentración-Respuesta e histograma sobre la letalidad de *A. franciscana* expuesta a FeSO₄ a corto plazo (24h)

Acorde con la clasificación por la EPA (USEPA, 1986), sobre la categorización de sustancias contaminantes en el ecosistema acuático según las LC₅₀ en mg L⁻¹ (Tabla 2), se obtiene que, este compuesto metálico se clasifica dentro de la categoría IV (≥100mg L⁻¹) como poco tóxico a corto plazo para organismos planctónicos.

Tabla 1. Concentración Letal al 50% y Concentración máxima sin efecto observado (LC₅₀₍₂₄₎ y 24h-NOEC) a corto plazo del FeSO₄ sobre nauplios de 24h de *Artemia franciscana*.

Indices de toxicidad	de Valores en mg L ⁻¹ (L.C. al 95%)
24h-NOEC	112.20 (0.23-157.40)
LC ₅₀₍₂₄₎	179.40 (174.0-185.0)
LC ₁₀₍₂₄₎	122.18 (0.58-165.95)
LC ₉₀₍₂₄₎	244.90 (193.64-1425.6)

Tabla 2. Clasificación propuesta por la EPA, (1986) para categorizar a contaminantes en ambientes acuáticos para toxicidad aguda (CL₅₀ en mg L⁻¹)

TOXICIDAD (CL ₅₀ mg L ⁻¹)	AGUDA	CATEGORÍA
≤1		CATEGORIA I: Sustancias muy tóxicas para el ambiente acuático
1-10		CATEGORIA II: Sustancias tóxicas para el ambiente acuático
10-100		CATEGORIA III: Sustancias peligrosas para el ambiente acuático
≥100		CATEGORIA IV: Se consideran no tóxicas

4. DISCUSIÓN

Existe poca evidencia sobre la toxicidad del hierro debido a su requerimiento en el metabolismo fotosintético y respiratorio, el hierro es muy demandado por todos los organismos planctónicos y es objeto de una intensa competencia interespecífica (Nodwell & Price, 2001). No obstante, en estudios previos (Tabla 3), se ha constatado que el hierro en forma de Fe(III) puede provocar suspensión de partículas a través de la formación de ligandos con materia orgánica que inhiben la entrada de luz solar generando inhibición fotosintética (Sotero-Santos, et al., 2007; Sunda, 1989).

Tabla 3. Estudios de toxicidad del Fe(III) en organismos acuáticos

Estudio	Autor/es
Lodos "rojos" ricos en metales descargado sin tratamiento previo	(Sotero-Santos, et al., 2007)
Baja toxicidad por la rápida oxidación a formas insolubles (FeOH)	(van Anholt, et al., 2002)
<i>Daphnia similis</i> no se vio afectada por la exposición al Fe ³⁺ con un 90% supervivencia	(Sotero-Santos, et al., 2007)
El Fe ³⁺ tiene alta tendencia a formar complejos con ligandos orgánicos, representando una elevada concentración de hierro disuelto en aguas costeras y estuarinas	(Sunda, 1989)
<i>Artemia franciscana</i> LC ₅₀₍₂₄₎ del Fe ³⁺ 202.77mg L ⁻¹ y en <i>Tetraselmis suecica</i> IC ₅₀₍₇₂₎ 231.21mg L ⁻¹ clasificándolo como de baja toxicidad a corto plazo en organismos planctónicos ecosistemas marinos	(Cortés, et al., 2015)

Sin embargo, en bioensayos realizados por Sotero-Santos, et al., (2007), el hierro presenta baja toxicidad aguda para organismos planctónicos de aguas dulces como es mostrado en la Tabla 3.

5. CONCLUSIONES

En síntesis, la toxicidad mostrada por el sulfato ferroso en el presente ensayo de toxicidad sobre *A. franciscana* indicó una respuesta poco tóxica a corto plazo sobre ecosistemas acuáticos marinos. Sin embargo, este compuesto metálico utilizado de manera frecuente como agente oxidante en reacciones tipo Fenton para la degradación de diversos contaminantes con grupos cromóforos puede ocasionar acumulación en sedimentos y/o disminución de concentración de oxígeno en aguas donde es vertido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cortés, T. A. A., Sánchez-Fortún, S. & Bartolomé, C. M. C., 2015. Evaluación del riesgo tóxico derivado de la puesta en marcha de desaladoras sobre ecosistemas marinos a través del plancton, Madrid, España; Morelia, México: UMSNH.
2. Gerhardt, A., 1994. Short term toxicity of iron (Fe) and lead (Pb) to the mayfly *Leptophlebia marginata* (L.) (Insecta) in relation to freshwater acidification. *Hydrobiologia*, 284(2), pp. 157-168.
3. Haji, S.; Khalaf, M.; Shukrallah, M.; Abdullah, J.; Ahmed, S. 2015. A kinetic comparative study of azo dye decolorization by catalytic wet peroxide oxidation using Fe–Y zeolite/H₂O₂ and photooxidation using UV/H₂O₂. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, 114(2): 795-815.
4. Maleki, A.; Nasser, S.; Hadi, M.; Solaiman, M. 2015. Discoloration of Aqueous Direct Blue 71 Solutions using UV/H₂O₂/Nano-SiO₂ Process. *International Journal of Environmental Research*, 9(2):721-734.
5. McDonald, D. G., Reader, J. P. & Dalziel, T. R. K., 1989. The combined effects of pH and trace metals on fish ionoregulation. En: *Acid Toxicity and Aquatic Animals*. s.l.:Cambridge University Press, pp. 221-230
6. Nowell, L. H.; Norman, J. E.; Moran, P. W.; Martin, J. D.; Stone, W. W. (2014). Pesticide Toxicity Index—A tool for assessing potential toxicity of pesticide mixtures to freshwater aquatic organisms. *Science of The Total Environment*, 476-477, 144-157.
7. Persoone, G.; Van de Vel, A.; Van Steertegem, M.; De Nayer, B. (1989). Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates: influence of experimental conditions. *Aquatic Toxicology*, 14(2), 149-167.
8. Sánchez-fortún, S., Sanz-Barrera, F. & Barahona-Gomariz, M., 1995. Acute toxicities of selected insecticides to the aquatic arthropod *Artemia salina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(1), pp. 76-82.
9. Sotero-Santos, R., Rocha, O. & Povinelli, J., 2007. Toxicity of ferric chloride sludge to aquatic organisms. *Chemosphere*, 68(4), pp. 628-636.
10. Sunda, W. G., 1989. Trace metal interactions with marine phytoplankton. *Biological Oceanography*, 6(5-6), p. 411–442.
11. US Environmental Protection Agency (1986). Guidelines for the Health Risk Assessment of Chemical Mixtures. EPA/630/R-98/002; Risk Assessment Forum; Washington, D.C.
12. Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullou, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2), pp. 178-189.
13. Van Anholt, R. D.; Spanings, F. T.; Knol, A. H.; van der Velden, J. A.; Wendelaar Bonga, S. E. (2002). Effects of iron sulfate dosage on the water flea (*Daphnia magna* Straus) and early development of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42(2), 182-192.
14. Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M. & Peakall, D., 2001. Principles of ecotoxicology. Segunda ed. London; New York: Taylor & Francis.

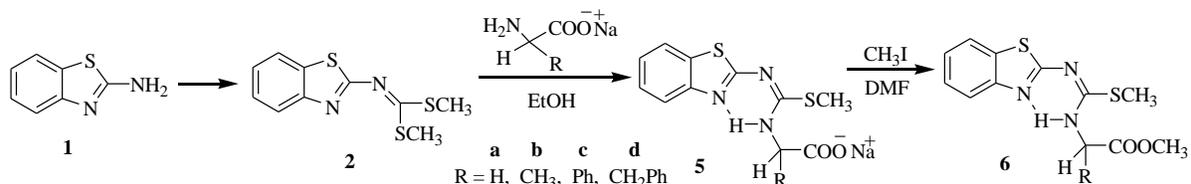
SÍNTESIS DE S-METILISOTIOUREAS DERIVADAS DEL 2-AMINOBENZOTIAZOL Y AMINOACIDOS.

Alejandro Cruz¹, Itzia I. Padilla Martínez¹, María Esther Bautista Ramírez²

Instituto Politécnico Nacional-UPIBI. ¹ Departamento de Ciencias Básicas. ² Departamento de Ciencia y Tecnología Farmaceutica.

RESÚMEN

En esta investigación, presentamos el estudio de la reacción del 2-ditiometilcarboimidatobenzotiazol **2**¹ con una serie de cuatro aminoácidos ópticamente activos, los cuales se utilizaron en su forma de carboxilatos de sodio. La reacción se lleva a cabo en agitación a temperatura ambiente. En estas condiciones, el ataque nucleofílico del grupo amina produce el desplazamiento de una molécula de tiometanol, HSMe. La reacción produce la correspondiente S-metilisotiurea carboxylate de sodio como intermediarios **5a-d** aislables, cuya reacción con ioduro de metilo, CH₃I en reflujo de dimetil formamida, DMF como disolvente, produce los correspondientes S-metilisotiurea metil ester **6a-d**. Las estructuras de todos los compuestos se determinaron mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C y la estructura de las isotioureametilesteres **6a-c** por análisis de difracción de rayos-X.



1. INTRODUCCIÓN

Desde la década de los 60 se sabe que compuestos derivados de benzazoles, poseen actividad farmacológica como anti-virales,¹ anti-bacterianos,² anti-microbianos,³ fungicidas,⁴ anti-alérgicos,⁵ anti-diabéticos,⁶ anti-tumorales,⁷ anti-inflamatorios⁸ y anti-helmínticos.⁹

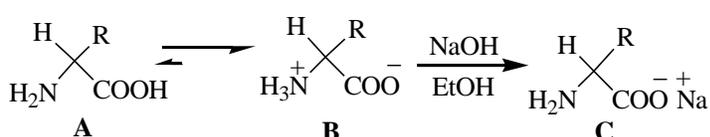
Desde esa fecha y hasta nuestros días se ha tenido un interés continuo en esta clase de compuestos y se han hecho muchos esfuerzos para sintetizar varios compuestos heterocíclicos derivados de benzazoles. Algunos compuestos de este tipo presentaron poseer actividades como anti-convulsivos¹⁰ y anti-oxidantes.¹¹

En vista de la importancia de los compuestos derivados de benzazoles, en este trabajo se reporta un método para sintetizar benzazolilisotiureas derivadas de aminoácidos a partir del 2-aminobenzotiazol **1a** y 2-aminobenzimidazol **1b** como materiales de partida, esquema 2.

2. METODOLOGÍA Y RESULTADOS DE LA SÍNTESIS

Se utilizan como intermediarios los ditiometilcarboimidatobenzazoles **2**, los cuales se obtienen por reacción de los correspondientes 2-aminobenzazoles **1** con NaOH, CS₂ y CH₃I, esquema 1.¹² Se sabe que la reactividad de los compuestos **2** se debe a la facilidad con que se desplazan 2 moléculas de HSMe por el uso de aminas alifáticas y aromáticas para obtener Smetilisotiureas y guanidinas.¹²⁻¹⁷

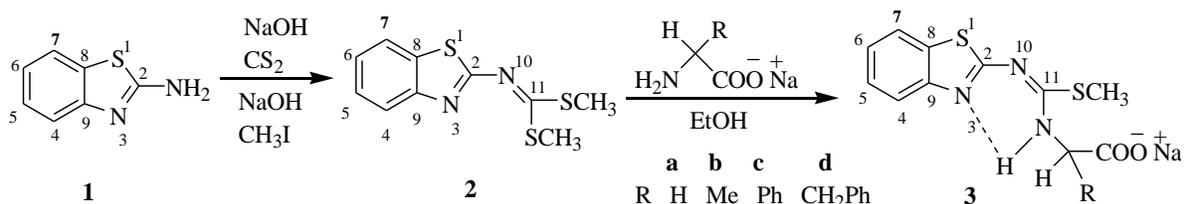
En este caso, se utilizaron cuatro aminoácidos R = H(glicina)(**a**), Me(alanina)(**b**), Ph(fenilglicina)(**c**), CH₂Ph(fenilalanina)(**d**), los cuales existen en su forma natural como zwitterión **B**, esquema 1. Para que estos aminoácidos actúen como aminas, se transformaron a su forma de aminocarboxilatos de sodio **C** por reacción de **B** con un equivalente de hidróxido de sodio en agitación de etanol por 2 horas a temperatura ambiente.



Esquema 1.- Transformación de los aminoácidos a aminocarboxilatos de sodio

En el mismo sistema que contiene al aminocarboxilato **C**, se adiciona un equivalente del correspondiente ditiometilcarboimidatobenzazol **2** y se agita durante 48 horas a temperatura ambiente. En estas condiciones, la reacción procede con la precipitación de los compuestos, los cuales se filtran y se lavan con acetona, los compuestos que se obtienen son los respectivos carboxilatos de sodio de las benzotiazolilS-metilisotiureas **3**.

Las S-metilisotiureacarboxilatos **3a-d** presentan un singulete del grupo SCH₃ en 2.32-2.44 ppm en una relación 3:4 con respecto de los hidrógenos aromáticos (tabla 1), además un singulete ancho en 10.65-11.44 ppm característico del átomo hidrógeno NH del aminoácido, que forma una interacción por puente de hidrógeno con el átomo de nitrógeno del benzotiazol, esquema 2. En los espectros de RMN de ¹³C de los S-metilisotiureacarboxilatos **3e-h** se observa que los desplazamientos químicos de estos compuestos no tienen un cambio significativo con respecto de los S-metilisotiureacarboxilatos **3a-d**, con excepción del grupo NCH₃ que se encuentra en 3.75-3.83 ppm (RMN ¹H, tabla 3) y 45-53 ppm (RMN ¹³C, tabla 4). La señal de los carbonos carbonílicos se presentan en aproximadamente 169-171 ppm.



Esquema 2. Síntesis de S-metilisotiureacarboxilatos **3a-d** derivados del benzotiazol.

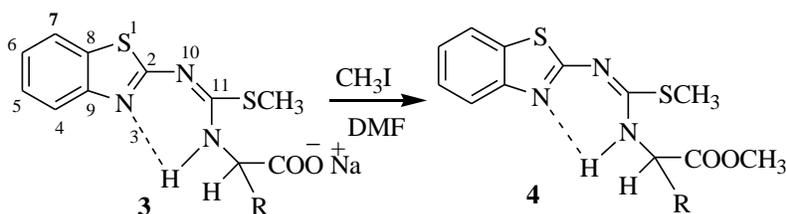
Tabla 1. RMN ¹H de los carboxilatos **3a-d**

Comp.	H4	H5	H6	H7	NH	SCH ₃	H14a	R14a
3a	7.79	7.33	7.18	7.58	10.65	2.44	3.63	3.63
3b	7.75	7.31	7.18	7.63	11.00	2.42	3.92	1.38
3c	7.80	7.32	7.18	7.64	11.44	2.32	4.80	7.2-7.3
3d	7.76	7.32	7.18	7.54	10.74	2.36	4.12	3.1, 7.2

Tabla 2. RMN ¹³C de los carboxilatos **3a-d**

Comp.	C2	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C11	SCH ₃	NC	C=O	R
3a	163.6	126.1	123.4	121.6	120.4	131.9	151.8	171.3	14.1	48.1	169.4	-
3b	163.2	126.1	123.5	121.5	120.6	131.8	151.7	174.1	13.9	54.9	171.3	20.5
3c	163.6	126.1	123.5	121.7	120.6	131.9	151.9	171.3	14.1	63.9	169.8	139.7
3d	164.4	126.1	123.5	121.6	120.4	131.6	151.6	172.5	14.0	61.2	171.3	56.5

Las isotiureas **3a-d** se transforman a sus respectivos esteres **4a-d** cuando las se hacen reaccionar con yoduro de metilo en agitación de DMF durante 24 horas a temperatura ambiente. Los datos correspondientes de los desplazamientos químicos de RMN de ¹H y ¹³C de los esteres **4a-d** están representados en las tablas 3 y 4. Estos datos son muy similares a los datos de los correspondientes carboxilatos **3a-d**. La señal del grupo OMe de los correspondientes esteres se encuentran en el rango de 3.75 a 3.83 ppm en RMN de ¹H y de 45 a 53 ppm en RMN de ¹³C. Las señales C2, C9 y C11 (tabla4) en RMN de ¹³C de los esteres **6c** y **6d** en CDCl₃ se presentan como señales anchas, lo que sugiere que el protón NH se intercambia rápidamente de N3 a N12 mediante un equilibrio tautomérico debido al efecto estérico del grupo fenilo del grupo aminoácido.



Esquema 3. Reacción de metilación de los carboxilatos **3a-d**

Tabla 3. ^1H RMN de los esteres **4a-d**

Comp.	H4	H5	H6	H7	NH	SCH ₃	H14a	R14a	OCH ₃
4a	7.72	7.34	7.21	7.69	10.75	2.55	4.23	4.23	3.83
4b	7.72	7.37	7.25	7.69	11.20	2.54	4.49	1.61	3.81
4c	7.80	7.40	7.24	7.72	12.05	2.50	5.47	7.2-7.3	3.79
4d	7.70	7.37	7.20	7.66	11.22	2.36	4.70	3.3, 7.2	3.75

Tabla 4. ^{13}C de los esteres **4a-d**

Comp.	C2	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C11	SCH ₃	NC	C=O	R	OCH ₃
4a	164.8	125.6	123.3	121.0	120.6	132.2	151.0	171.7	14.1	52.7	169.1	-	45.0
4b	164.0	125.6	123.3	121.0	120.7	132.1	151.0	171.7	14.0	52.8	172.3	19.3	52.3
4c	164.0	125.7	123.4	121.0	120.8	132.1	151.0	171.6	14.2	60.6	170.2	136.1	53.0
4d	164.2	125.6	123.3	121.0	120.6	132.2	151.0	171.5	14.2	58.2	171.1	39.1	52.6

Los compuestos esterificados **4a-d** se purificaron por cristalización en etanol y sus estructuras se estudiaron por difracción de rayos-X. En las figuras 1-3 se presentan las estructuras con sus distancias y ángulos de enlace.

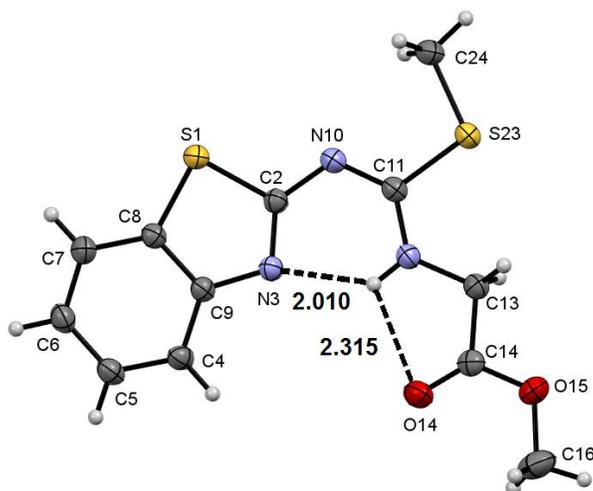


Figura 1. Estructura de difracción de rayos-X del compuesto **4a**.

Longitud de Enlace (Å).

S(1)-C(2)	1.7624(1)	S(1)-C(8)	1.7342(1)	S(23)-C(11)	1.7599(1)	S(23)-C(24)	1.7927(1)
O(14)-C(14)	1.1936(1)	O(15)-C(14)	1.3291(1)	O(15)-C(16)	1.4530(1)	N(3)-C(2)	1.3115(1)
N(3)-C(9)	1.3855(1)	N(10)-C(2)	1.3621(1)	N(10)-C(11)	1.3104(1)	N(12)-C(11)	1.3308(1)
N(12)-C(13)	1.4402(1)	C(4)-C(5)	1.3782(1)	C(4)-C(9)	1.3920(1)	C(5)-C(6)	1.3863(1)
C(6)-C(7)	1.3832(1)	C(7)-C(8)	1.3889(1)	C(8)-C(9)	1.4044(1)	C(13)-C(14)	1.5017(1)

Angulos de Enlace/Valencia (°)

C(2)-S(1)-C(8)	89.25(1)	C(11)-S(23)-C(24)	101.98(1)	C(14)-O(15)-C(16)	115.96(1)
C(2)-N(3)-C(9)	110.68(1)	C(2)-N(10)-C(11)	119.50(1)	C(11)-N(12)-C(13)	125.11(1)
S(1)-C(2)-N(3)	115.14(1)	S(1)-C(2)-N(10)	115.81(1)	N(3)-C(2)-N(10)	129.05(1)
C(5)-C(4)-C(9)	119.23(1)	C(4)-C(5)-C(6)	120.86(1)	C(5)-C(6)-C(7)	121.02(1)
C(6)-C(7)-C(8)	118.35(1)	S(1)-C(8)-C(7)	129.70(1)	S(1)-C(8)-C(9)	109.30(1)
C(7)-C(8)-C(9)	121.00(1)	N(3)-C(9)-C(4)	124.85(1)	N(3)-C(9)-C(8)	115.61(1)
C(4)-C(9)-C(8)	119.53(1)	S(23)-C(11)-N(10)	118.38(1)	S(23)-C(11)-N(12)	114.80(1)
N(10)-C(11)-N(12)	126.82(1)	N(12)-C(13)-C(14)	109.51(1)	O(14)-C(14)-O(15)	125.08(1)
O(14)-C(14)-C(13)	125.06(1)	O(15)-C(14)-C(13)	109.86(1)		

Angulos de Torsion/Dihedral (°)

N(3)-C(2)-S(1)-C(8)	0.16(1)	N(10)-C(2)-S(1)-C(8)	180.00(1)	S(1)-C(2)-N(3)-C(9)	0.49(1)
N(10)-C(2)-N(3)-C(9)	-179.31(1)	S(1)-C(2)-N(10)-C(11)	178.92(1)	N(3)-C(2)-N(10)-C(11)	-1.29(1)
C(9)-C(4)-C(5)-C(6)	1.39(1)	C(5)-C(4)-C(9)-N(3)	177.67(1)	C(5)-C(4)-C(9)-C(8)	-1.60(1)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	-0.34(1)	C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	-0.47(1)	C(6)-C(7)-C(8)-S(1)	-179.45(1)
C(6)-C(7)-C(8)-C(9)	0.23(1)	C(7)-C(8)-S(1)-C(2)	178.97(1)	C(9)-C(8)-S(1)-C(2)	-0.74(1)
S(1)-C(8)-C(9)-N(3)	1.21(1)	S(1)-C(8)-C(9)-C(4)	-179.45(1)	C(7)-C(8)-C(9)-N(3)	-178.53(1)
C(7)-C(8)-C(9)-C(4)	0.81(1)	C(4)-C(9)-N(3)-C(2)	179.60(1)	C(8)-C(9)-N(3)-C(2)	-1.11(1)
N(10)-C(11)-S(23)-C(24)	-6.18(1)	N(12)-C(11)-S(23)-C(24)	174.49(1)	S(23)-C(11)-N(10)-C(2)	179.34(1)
N(12)-C(11)-N(10)-C(2)	-1.41(1)	S(23)-C(11)-N(12)-C(13)	-2.56(1)	N(10)-C(11)-N(12)-C(13)	178.17(1)
C(14)-C(13)-N(12)-C(11)	176.31(1)	N(12)-C(13)-C(14)-O(14)	2.25(1)	N(12)-C(13)-C(14)-O(15)	-177.67(1)
O(14)-C(14)-O(15)-C(16)	0.25(1)	C(13)-C(14)-O(15)-C(16)	-179.84(1)		

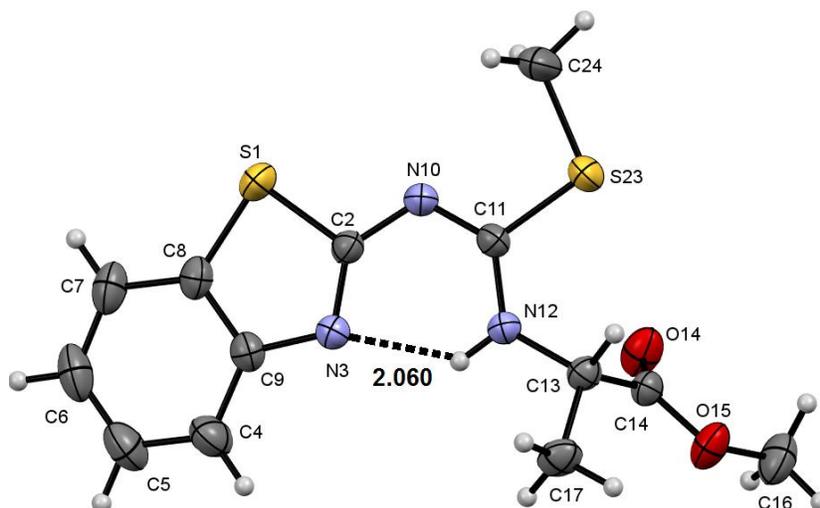


Figura 2. Estructura de difracción de rayos-X del compuesto **4b**.

Longitud de Enlace (Å).

S(1)-C(2)	1.7618(1)	S(1)-C(8)	1.7300(1)	S(23)-C(11)	1.7667(1)	S(23)-C(24)	1.7919(1)
O(14)-C(14)	1.1870(1)	O(15)-C(14)	1.3134(1)	O(15)-C(16)	1.4522(1)	N(3)-C(2)	1.2954(1)
N(3)-C(9)	1.3912(1)	N(10)-C(2)	1.3592(1)	N(10)-C(11)	1.3043(1)	N(12)-C(11)	1.3295(1)
N(12)-C(13)	1.4527(1)	C(4)-C(5)	1.3691(1)	C(4)-C(9)	1.3854(1)	C(5)-C(6)	1.3872(1)
C(6)-C(7)	1.3747(1)	C(7)-C(8)	1.3924(1)	C(8)-C(9)	1.4001(1)	C(13)-C(14)	1.5216(1)
C(13)-C(17)	1.5182(1)						

Angulos de Enlace/Valencia (°)

C(2)-S(1)-C(8)	89.62(1)	C(11)-S(23)-C(24)	101.25(1)	C(14)-O(15)-C(16)	115.50(1)
C(2)-N(3)-C(9)	111.32(1)	C(2)-N(10)-C(11)	120.52(1)	C(11)-N(12)-C(13)	126.59(1)
S(1)-C(2)-N(3)	114.72(1)	S(1)-C(2)-N(10)	114.58(1)	N(3)-C(2)-N(10)	130.70(1)
C(5)-C(4)-C(9)	119.98(1)	C(4)-C(5)-C(6)	120.82(1)	C(5)-C(6)-C(7)	120.73(1)
C(6)-C(7)-C(8)	118.37(1)	S(1)-C(8)-C(7)	129.71(1)	S(1)-C(8)-C(9)	109.04(1)
C(7)-C(8)-C(9)	121.25(1)	N(3)-C(9)-C(4)	125.85(1)	N(3)-C(9)-C(8)	115.30(1)
C(4)-C(9)-C(8)	118.85(1)	S(23)-C(11)-N(10)	117.52(1)	S(23)-C(11)-N(12)	115.97(1)
N(10)-C(11)-N(12)	126.50(1)	N(12)-C(13)-C(14)	109.80(1)	N(12)-C(13)-C(17)	110.32(1)
C(14)-C(13)-C(17)	114.31(1)	O(14)-C(14)-O(15)	123.41(1)	O(14)-C(14)-C(13)	125.02(1)
O(15)-C(14)-C(13)	111.55(1)				

Angulos de Torsion/Dihedral (°)

N(3)-C(2)-S(1)-C(8)	-0.35(1)	N(10)-C(2)-S(1)-C(8)	179.59(1)	S(1)-C(2)-N(3)-C(9)	0.18(1)
N(10)-C(2)-N(3)-C(9)	-179.74(1)	S(1)-C(2)-N(10)-C(11)	-177.17(1)	N(3)-C(2)-N(10)-C(11)	2.75(1)
C(9)-C(4)-C(5)-C(6)	-0.04(1)	C(5)-C(4)-C(9)-N(3)	-179.81(1)	C(5)-C(4)-C(9)-C(8)	0.11(1)
C(4)-C(5)-C(6)-C(7)	-0.26(1)	C(5)-C(6)-C(7)-C(8)	0.32(1)	C(6)-C(7)-C(8)-S(1)	-179.83(1)
C(6)-C(7)-C(8)-C(9)	-0.17(1)	C(7)-C(8)-S(1)-C(2)	-179.91(1)	C(9)-C(8)-S(1)-C(2)	0.39(1)
S(1)-C(8)-C(9)-N(3)	-0.40(1)	S(1)-C(8)-C(9)-C(4)	179.68(1)	C(7)-C(8)-C(9)-N(3)	179.88(1)
C(7)-C(8)-C(9)-C(4)	-0.04(1)	C(4)-C(9)-N(3)-C(2)	-179.93(1)	C(8)-C(9)-N(3)-C(2)	0.15(1)
N(10)-C(11)-S(23)-C(24)	5.19(1)	N(12)-C(11)-S(23)-C(24)	-173.79(1)		
S(23)-C(11)-N(10)-C(2)	179.27(1)	N(12)-C(11)-N(10)-C(2)	-1.88(1)		
S(23)-C(11)-N(12)-C(13)	0.16(1)	N(10)-C(11)-N(12)-C(13)	-178.71(1)		
C(14)-C(13)-N(12)-C(11)	-85.82(1)	C(17)-C(13)-N(12)-C(11)	147.32(1)		
N(12)-C(13)-C(14)-O(14)	15.62(1)				

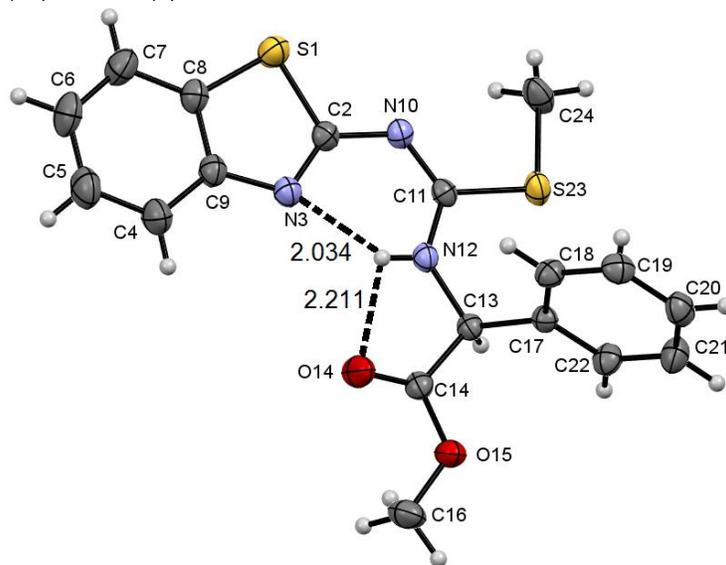


Figura 2. Estructura de difracción de rayos-X del compuesto **4c**.

Longitud de Enlace (Å).

S(1)-C(2)	1.7542(1)	S(1)-C(8)	1.7386(1)	S(23)-C(11)	1.7556(1)	S(23)-C(24)	1.7937(1)
O(14)-C(14)	1.1926(1)	O(15)-C(14)	1.3163(1)	O(15)-C(16)	1.4436(1)	N(3)-C(2)	1.3019(1)
N(3)-C(9)	1.3918(1)	N(10)-C(2)	1.3725(1)	N(10)-C(11)	1.3050(1)	N(12)-C(11)	1.3406(1)
N(12)-C(13)	1.4509(1)	C(4)-C(5)	1.3619(1)	C(4)-C(9)	1.3908(1)	C(5)-C(6)	1.3723(1)
C(6)-C(7)	1.3716(1)	C(7)-C(8)	1.3981(1)	C(8)-C(9)	1.3913(1)	C(13)-C(14)	1.5237(1)
C(13)-C(17)	1.5205(1)	C(17)-C(18)	1.3752(1)	C(17)-C(22)	1.3726(1)	C(18)-C(19)	1.3828(1)
C(19)-C(20)	1.3698(1)	C(20)-C(21)	1.3702(1)	C(21)-C(22)	1.3769(1)		

Angulos de Enlace/Valencia (°)

C(2)-S(1)-C(8)	88.95	C(11)-S(23)-C(24)	101.46	C(14)-O(15)-C(16)	116.53
C(2)-N(3)-C(9)	111.06	C(2)-N(10)-C(11)	120.60	C(11)-N(12)-C(13)	127.48
S(1)-C(2)-N(3)	115.29	S(1)-C(2)-N(10)	115.29	N(3)-C(2)-N(10)	129.42
C(5)-C(4)-C(9)	119.21	C(4)-C(5)-C(6)	121.71	C(5)-C(6)-C(7)	120.81
C(6)-C(7)-C(8)	118.03	S(1)-C(8)-C(7)	129.12	S(1)-C(8)-C(9)	109.73
C(7)-C(8)-C(9)	121.14	N(3)-C(9)-C(4)	125.95	N(3)-C(9)-C(8)	114.96
C(4)-C(9)-C(8)	119.10	S(23)-C(11)-N(10)	118.61	S(23)-C(11)-N(12)	115.88
N(10)-C(11)-N(12)	125.50	N(12)-C(13)-C(14)	106.29	N(12)-C(13)-C(17)	114.76
C(14)-C(13)-C(17)	110.19	O(14)-C(14)-O(15)	124.28	O(14)-C(14)-C(13)	124.27
O(15)-C(14)-C(13)	111.44	C(13)-C(17)-C(18)	120.78	C(13)-C(17)-C(22)	119.87
C(18)-C(17)-C(22)	119.32	C(17)-C(18)-C(19)	120.10	C(18)-C(19)-C(20)	119.95
C(19)-C(20)-C(21)	120.24	C(20)-C(21)-C(22)	119.64	C(17)-C(22)-C(21)	120.75

Angulos de Torsion/Dihedral (°)

N(3)-C(2)-S(1)-C(8)	0.29	N(10)-C(2)-S(1)-C(8)	-179.97	S(1)-C(2)-N(3)-C(9)	0.15
N(10)-C(2)-N(3)-C(9)	-179.53	S(1)-C(2)-N(10)-C(11)	179.07	N(3)-C(2)-N(10)-C(11)	-1.25
C(7)-C(8)-C(9)-C(4)	0.39	C(4)-C(9)-N(3)-C(2)	179.58	C(8)-C(9)-N(3)-C(2)	-0.68
N(10)-C(11)-S(23)-C(24)	-0.94	N(12)-C(11)-S(23)-C(24)	179.76	S(23)-C(11)-N(10)-C(2)	175.94
N(12)-C(11)-N(10)-C(2)	-4.84	S(23)-C(11)-N(12)-C(13)	-6.92	N(10)-C(11)-N(12)-C(13)	173.83
C(14)-C(13)-N(12)-C(11)	-174.04	C(17)-C(13)-N(12)-C(11)	63.91	N(12)-C(13)-C(14)-O(14)	-7.06
N(12)-C(13)-C(14)-O(15)	172.22	C(17)-C(13)-C(14)-O(14)	117.85	C(17)-C(13)-C(14)-O(15)	-62.87
N(12)-C(13)-C(17)-C(18)	37.72	N(12)-C(13)-C(17)-C(22)	-144.17	C(14)-C(13)-C(17)-C(18)	-82.19
C(14)-C(13)-C(17)-C(22)	95.93	O(14)-C(14)-O(15)-C(16)	-0.09	C(13)-C(14)-O(15)-C(16)	-17

3. CONCLUSIONES

Los aminoácidos neutros se hicieron reaccionar con hidróxido de sodio para ser transformados a los correspondientes carboxilatos de sodio para tener el grupo amina libre. Para obtener las benzazolil-isotiourea carboxilatos de sodio, la reacción se realizó en agitación de etanol por 24 horas a temperatura ambiente, con una lenta eliminación de una molécula de tiometanol. Los carboxilatos son insolubles en acetona, por lo que esta se usa para su purificación.

Con base en el análisis de los espectros de RMN de ^1H de estos compuestos, se demuestra la presencia de una interacción intramolecular por puente de hidrógeno con el átomo de nitrógeno del anillo del benzazol.

Las estructuras de difracción de rayos-X de tres de los compuestos en forma de esteres fueron estudiadas y corresponden a los productos sintetizados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akihama S, Okhude M, Mizno A, Meiji Yakka, Diagakn Kenkyu Kiyu. *Chem Abstr* **1968**; 68: 10369v.
2. Russo F, Santagati M. *Farmaco Ed Sci* **1976**;31: 41.
3. a) Ghoneim KM, Basil S El-, Osman AN, Said MM, Megahed SA. *Rev Roum Chim* **1991**; 36: 1355. b) Hutchinson I, Chua MS, Browne HL, Trapani V, BradshawTD, Westwell AD et al. *J Med Chem* **2001**; 44: 1446. c) Bhusari, S.R., Pawar, R.P., and Vibute Y.B., *Indian J. Heterocycl. Chem.*, **2001**, 11, 79. d) Sreenivasa, M.V., Nagappa, A.N. and Nargund, L.V.G., *Indian J. Heterocycl. Chem.*, **1998**, 8, 23. e) Gopkumar. P., Shivakumar, B., Jayachandran, E., Nagappa, A.N., Nargund, L.V.G., and Gurupadaiah, B.M., *Indian J. Heterocycl. Chem.*, **2001**, 11, 39. f) Ojha, K.G., Jaisinghani, N. and Tahiliani, H., *J. Indian Chem. Soc.*, **2002**, 79, 191.
4. Singh SP, Seghal S. *Indian J Chem* **1988**; 27 B: 941.
5. Musser JH, Brown RE, Love B, Baily K, Jones H, Kahen R, et al. *J. Med Chem* **1984**; 27: 121.
6. Pattan SR, Suresh C, Pujar VD, Reddy VVK, Rasal VP, Kotti BC. *Indian J Chem* **2005**; 4B: 2404.
7. a) Yoshida M, Hayakawa I, Hyashi N, Agatsuma T, Oda Y, Tanzawa F et al. *Bioorg Med Chem Letters* **2005**; 15: 3328. b).Racane, L., Tralic-Kulenovic, V., Fiser-Jakic, L., Boykin, D.W. and Karminski-Zamola, G., *Heterocycles*, **2001**, 55, 2085. c) Mahmood-ul-Hasan, Chohan, Z.H. and Supuran, C.T., *Main Group Met. Chem.*, **2002**, 25, 291. d) Brien SEO, Browne HL, Bradshaw TD, Westwell AD, Stevens MFG, Laughton CA, *Org. Biomol. Chem.* **2003**; 1: 493. e) Trapani V, Patel V, Leong CO, Ciolino H P, Yeh GC, Hose C, Trepel JB, Steven MFG, Stausvill EA Loaiza-Perez A I, *Brit. J. Cancer.* **2003**; 88:, 599. f) El-Sherbeny, M.A., *Arzneim-Forsch.*, **2000**, 50, 843. g) Trapani, G., Franco, M., Latrofa, A., Reho, A. and Liso, G., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2001**, 14, 209. h) Srimanth, K., Rao, V.R. and Krishna, D.R., *Arzneim-Forsch.*, **2002**, 52, 388.
8. a) Sawhney SN, Bansal OP. *Indian J Chem* **1977**; 15B: 121. b) Singh, S.P. and Vaid, R.K., *Indian J. Chem.*, **1986**, 25B, 288. c) Paramashivappa, R., Kumar, P.P., Rao, S.P.V. and Rao, S., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13, 657.
9. a) Ghoneim, K.M., Essawi, M. Y. H.; Mohamed, M.S., and Kamal, A. M., *Indian J. Chem.*, **1998**, 37B, 904. b). Nargund, L.V.G., *Indian Drugs*, **1999**, 36, 137.
10. a) Amit, B.N., Kamath, R.V. and Khadse, G.B., *Indian J. Heterocycl. Chem.*, **2000**, 9, 309. b) Jimonet, P., Francois, A., Barreau, M., Blanchard, J.C. and Boirean, A., *Indian J. Med. Chem.*, **1991**, 42, 2828. c) Singh SP, Misra RS, Parmar SS, Bramlave SJ. *J Pharm Sci* **1978**; 64: 1245. d) Siddiqui N, Alam M. *Ind J Het Chem* **2004**; 13: 361. e) Siddiqui N, Pandeya SN, Sen AP, Singh GS. *Pharmak Eftiki* **1992**; 4: 121. f) Jimonet P, Francois A, Barreau M, Blanchard JC, Boirean A. *Ind J Med Chem* **1991**; 42: 2828. g) Singh, S.P., Misra, R.S., Parmar, S.S. and Brumleve, S.J., *J. Pharm. Sci.*, **1978**, 64, 1245. h) Huseyin, U., Vanderpoorten, K., Cacciaguerra, S., Spampinato, S., Stables, J.P., Depovere, P., Isa, M., Maserecl, B., Delarge, J. and Poupert, J.H., *J. Med. Chem.*, **1998**,41, 1138.
11. a) C.J. Valko, J. Rhodes, M. Moncol, M. Izakovic and M. Mazur, *Chemico Biol. Int.* **2006**, 160, 1–40. b) D. Venkat Ratnam, D.D. Ankola, V. Bhardwaj, D.K. Sahana and M.N.V. Ravi Kumar, *J. Control. Release* **2006**, 113, 189–207. c) S. Süzen, *Top. Heterocycl. Chem.* **2007**, 11, 145–178. d) H.Y. Aboul-Enein, A. Kladna, I. Kruk, K. Lichszeld, T. Michalska and S. Olgen, *Biopolymers* **2005**, 78, 171–178.
12. Merchán, F.; Garín, J.; Meléndez, E.; Tejero, T. 2-(2-Benzimidazolylamino)-benzothiazoles and 2-(2-Imidazolidinylidenamino)-benzothiazoles. *Synthesis* 1982, doi:10.1055/s-1982-30068.

13. Garín, J.; Meléndez, E.; Merchan, F.L.; Ortíz, D.; Tejero, T. Facile synthesis of 8-aryl-amino and 8-hetarylamino purines and their 1- and 3-deaza analogs. *Synthesis* 1985, doi:10.1055/s-1985-35505.
14. Merchan, F.L.; Garín, J.; Meléndez, E.; Tejero, T. A facile synthesis of 2-(2-benzothiazolyl-amino)-1,3-heterazoles. *Synthesis* 1987, doi:10.1055/s-1987-27946.
15. Cruz, A.; Gayosso, M.; Contreras, R. Syntheses of optically active 2-(2-benzothiazolyl-imino)-heterazolidines. *Heteroat. Chem.* 2001, 12, 586–593.
16. Cruz, A.; Padilla-Martínez, I.I.; García-Báez, E.V. A synthetic method to access symmetric and non-symmetric 2-(N,N'-disubstituted)guanidinebenzothiazoles. *Molecules* 2012, 17, 10178–10191.
17. Cruz, A.; Padilla-Martínez, I.I.; García-Báez, E.V.; Juárez-Juárez, M. S-Methyl-(-N-aryl and -N-alkyl)isothioureas derived from 2-aminobenzothiazole. *ARKIVOC* 2008, v, 200–209.

DESINCRONIZACIÓN CONDUCTUAL POR HORARIOS IMPREDECIBLES DE ALIMENTACIÓN EN CONEJOS NEONATOS

Karina Uriostegui Ortega¹, Fredi Fernández Solano¹, Yael L. Panes González¹, Albertina Cortés Sol¹, Enrique Meza², Elvira Morgado Viveros¹

¹Facultad de Biología, UV. ²Centro de Investigaciones Biomédicas, UV

RESUMEN

Los conejos neonatos están sincronizados conductual, neural y metabólicamente a su único momento diario de alimentación, evidenciado por el fenómeno de actividad anticipatoria al alimento (AA). Esta actividad ha sido demostrada tanto en paradigmas de alimentación natural como artificial. Debido a que la desincronización del sistema circadiano causada por la ingestión de alimento a diferentes horas cada día ha sido poco estudiada, nosotros exploramos el efecto que los horarios impredecibles de alimentación provocan en la sincronización de la conducta locomotora de los conejos de 1-7 días de edad. Siguiendo nuestros protocolos reportados previamente, un grupo control recibió infusión intragástrica de leche materna a las 10:00h en los días posparto (DP) 2-7, mientras que otro grupo recibió la infusión a diferentes horas cada día: DP2 a 10:00h, DP3 a 06:00h, DP4 a 02:00h, DP5 a 18:00h, DP6 a 14:00h, DP7 a 22:00h. La conducta locomotora fue registrada dos horas antes y dos horas después de la infusión de alimento durante los DP6-8. Los sujetos alimentados en horarios variables no presentaron AA, ya que la locomoción incrementó únicamente en un breve periodo posterior a la infusión de leche, a diferencia del grupo control donde la presencia de AA se manifestó desde 90min previos a la infusión. Los resultados sugieren que el sistema circadiano de los conejos neonatos está desincronizado ante la incapacidad de predecir el horario en que recibirán su alimento, por lo que este paradigma ofrece un buen modelo para estudiar la importancia de comer en un horario fijo diariamente para el buen funcionamiento del organismo.

1. INTRODUCCIÓN

La fisiología se encuentra en óptimas condiciones cuando hay coherencia entre los ciclos diarios internos y externos a los que el organismo está expuesto. De este modo, comer a la hora adecuada, la cantidad y la calidad de alimento que el organismo necesita, ayudará a emitir respuestas adecuadas a las demandas del ambiente y permitirá prevenir desórdenes fisiológicos, metabólicos y conductuales característicos de la desincronización interna, como síndrome metabólico, obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares. Debido a que el estilo de vida moderno contrapone cada vez más a las actividades diarias con las señales naturales del día y la noche, surge la necesidad de investigar los daños a la salud que ese desfase temporal causa, a fin de remediar o prevenir las enfermedades que originan. Parámetros fisiológicos como la secreción de las hormonas reguladoras de la ingestión de alimento, así como las concentraciones de metabolitos presentan ritmos alterados en roedores y humanos que ingieren alimento en una fase de actividad diferente a la que su naturaleza indica. Sin embargo, poco se ha explorado sobre el efecto de la alimentación a horarios no regulares en la salud de los organismos y esto resulta importante ya que un gran sector de la población come una gran porción de alimento únicamente una vez al día y cada día a una hora diferente.

Esto crea la demanda por fortalecer la investigación usando modelos animales que nos ayuden a entender qué mecanismos, centrales y periféricos, están interviniendo en la ganancia de peso y la predisposición a enfermedades metabólicas. Partiendo de la premisa de que mantener un orden temporal entre las señales ambientales, como lo es la alimentación, con las señales internas, como la secreción de hormonas metabólicas, mantiene la homeostasis previniendo alteraciones fisiológicas, el conejo neonato resulta un excelente modelo de estudio ya que estos sujetos mantienen de manera natural una alimentación estrictamente regular temporalmente.

Siendo la conducta locomotora una de las principales evidencias de la sincronización interna, el objetivo de esta investigación fue conocer el efecto de alimentar a los conejos a diferentes horas cada día sobre su actividad locomotora para comprobar si hay una pérdida de la actividad anticipatoria al alimento característica de los gazapos. Asimismo, explorar la ganancia de peso corporal en comparación con sujetos alimentados de manera normal. Esto nos permite iniciar la búsqueda de los efectos de la alimentación en horarios irregulares sobre el metabolismo y los centros neurales del control de la ingestión de alimento y balance de energía.

2. TEORÍA

El sistema circadiano otorga a los individuos la capacidad de estimar el tiempo y anticipar aquellos eventos del ambiente que son predecibles. Este sistema genera ritmos con una repetitividad de 24 h, llamados ritmos circadianos. Los ritmos circadianos en los mamíferos son generados desde el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo; esta estructura central es considerada el reloj biológico maestro y está sincronizada a los ciclos de luz-oscuridad ambientales. El NSQ transmite fase y periodo a osciladores periféricos. Sin el NSQ, como se demostró en animales con el NSQ lesionado, los tejidos periféricos continúan oscilando, pero gradualmente se van desfasando tanto del ciclo luz-oscuridad como de las oscilaciones circadianas de otros tejidos, condición conocida como desincronización interna. De este modo, el sistema circadiano está conformado por múltiples osciladores cuyo acoplamiento confiere un orden temporal a las funciones del organismo, permitiendo una mejor adaptación del individuo a su ambiente. Así, el sistema circadiano tiene fundamental relevancia en el mantenimiento de la homeostasis (Bass y Takahashi, 2010).

El alimento ha mostrado ser otro importante sincronizador de los ritmos circadianos cuyo efecto no es directamente sobre el NSQ. Cuando el alimento es restringido a pocas horas durante el día, los osciladores periféricos responden preferentemente a señales provenientes de la alimentación; se desacoplan del NSQ y ajustan su fase y periodo a los horarios de ingestión de alimento, mientras que el NSQ mantiene su fase ajustada al ciclo luz-oscuridad. Estudios en roedores, bajo el paradigma de restricción de alimento (acceso al alimento cada 24 h durante 2-4 h), han demostrado que la influencia de los horarios de acceso al alimento es fundamental para su organización temporal. Animales nocturnos se vuelven diurnos si la posibilidad de obtener el sustento se restringe al día. Estos animales despliegan la conducta de actividad anticipatoria al alimento, caracterizada por un incremento en su actividad locomotora horas antes del acceso al alimento (Mistlberger, 1994).

Este fenómeno de actividad anticipatoria al alimento se caracteriza por un incremento en la actividad locomotora del individuo, esto es, aumentan sus patrones conductuales de búsqueda de alimento y exploración 2-3 h antes del acceso al alimento. Esta actividad de anticipación al alimento sólo se presenta cuando los horarios de alimentación se limitan a intervalos dentro de un límite circadiano, el cual es considerado de 22 a 31. También se ha descrito que este fenómeno persiste en oscilación espontánea, es decir, que al dejar en ayuno a los individuos sometidos a un horario restringido de alimento, la actividad anticipatoria al alimento continúa presentándose a la hora habitual de alimentación (Mistlberger, 1994).

Por el contrario, la desincronización interna puede originarse por modificaciones conductuales que hacen que las señales de día-noche no coincidan con los tiempos de actividad o de alimentación, tales como trasnochar, el trabajo rotatorio o los viajes transmeridionales (*jet lag*), causando disrupción del acoplamiento o coherencia entre señales temporales que influyen en el sistema circadiano. Esta desincronización ha sido vinculada a perturbaciones metabólicas como obesidad, síndrome metabólico y diabetes así como predisposición al cáncer (Bass y Takahashi, 2010; Salgado-Delgado et al., 2010). La mayoría de las investigaciones sobre los efectos de la desincronización circadiana están desarrolladas esencialmente basándose en el cambio repetido del ciclo luz oscuridad, sin embargo, se empiezan a registrar también trabajos siguiendo una desincronización interna por alimentación irregular.

Los protocolos de restricción de alimento están siendo usados para examinar estos nuevos temas: cómo la alimentación durante horas inadecuadas puede afectar el metabolismo. Estudios realizados en ratones indican que el alimento a horas inadecuadas permite una ganancia de peso corporal. Los ratones fueron alimentados con una dieta alta en grasa un grupo en la fase de luz y otro grupo en la fase de oscuridad. Después de 6 semanas de alimentación, los ratones alimentados durante la fase de luz ganaron 2.5 veces más peso que aquellos que comieron en sus normales horas de noche (Arble et al., 2009). En relación a esto, estudios en humanos sugieren que la alimentación a deshora está fuertemente ligada a ganancia de peso corporal, obesidad y síndrome metabólico. En estas investigaciones se demostró que ingerir alimentos en horarios irregulares -independientemente de los factores de riesgo tradicionales y de los componentes de la dieta- se asocia con síndrome metabólico, resistencia a insulina y riesgo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Sierra-Johnson et al., 2008).

La investigación con modelos animales ofrece una poderosa oportunidad para elucidar relaciones, causas y mecanismos que vinculan los desórdenes conductuales y metabólicos con la disrupción en el sistema circadiano. En este sentido, el conejo neonato ha sido propuesto como un modelo idóneo para el estudio del efecto del horario de alimentación en la sincronización circadiana de los mamíferos. En el conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) se presenta una condición natural de alimentación con horario restringido. La coneja lacta a sus crías (gazapos) una sola vez al día, cada 24 h, por espacio de 3-5 minutos (Hudson y Distel, 1982; Jilge, 1995). El breve momento de lactancia es la única señal sincronizadora para los conejos neonatos ya que están en completa oscuridad en su madriguera (Hudson y Distel, 1982; Jilge, 1995). Los gazapos son capaces de anticipar la llegada de su madre presentando un incremento en su actividad locomotora 2-3 h antes de la llegada de la madre (Jilge, 1995; Caba et al., 2008; Morgado et al., 2008; 2010), similar a la actividad anticipatoria al alimento que presentan las ratas adultas cuando son sometidas al paradigma de horario restringido de alimento. Los ritmos de actividad locomotora, la secreción de corticosterona y ácidos grasos, y la expresión de la proteínas PER1 (proteína reloj) y FOS (marcador de actividad neural) en núcleos hipotalámicos que participan en el control de la ingestión de alimento y en el control del peso corporal, están sincronizados a su único momento diario de alimentación, tanto en gazapos criados con lactancia materna (Caba et al., 2008; Morgado et al., 2008; 2010) como en criados artificialmente con fórmula láctea (Morgado et al., 2011). Se reportó por primera vez en mamíferos, que las propiedades químicas y mecánicas de la ingestión de alimento son señales suficientes para la imposición de ritmos biológicos en los conejos neonatos (Morgado et al., 2011). Esto se demostró al utilizar, de manera exitosa, la crianza artificial de conejos con gastrostomía, infundiéndoles cada 24 horas la cantidad de fórmula láctea equivalente a la cantidad de leche que ingieren desde el pezón materno. Los conejos alimentados artificialmente cada 24 h, durante sus primeros 7 días de edad (tiempo al cual están perfectamente sincronizados por el momento de la alimentación materna), presentaron los mismos parámetros hormonales, metabólicos, conductuales (tienen actividad anticipatoria al alimento) y neurales, sincronizados a la hora de infusión de alimento similar a los sujetos alimentados por su madre. Este modelo experimental de crianza artificial ofrece la oportunidad de evaluar discernidamente la función del contexto social, hedónico, bioquímico, sensorial o mecánico del alimento en los organismos. De manera importante, permite el estudio de la influencia de la hora de la comida en

la temporalidad de las funciones homeostáticas y por ende, buen funcionamiento biológico de los mamíferos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Sujetos experimentales: Conejos neonatos (gazapos; n=28) procedentes de conejas de nuestra colonia de la especie Nueva Zelanda Blanca mantenidas en la Universidad Veracruzana bajo condiciones de luz-oscuridad (12:12, con encendido de la luz a las 07:00 h), temperatura de bioterio controlada ($23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) y alimento (nutricubos Purina) y agua *ad libitum*. En el día del nacimiento (día postnatal, DP0), los gazapos fueron distribuidos en los grupos experimentales. Las hembras permanecieron con dos crías para continuar lactando y fueron ordeñadas cada dos días, la leche materna fue almacenada en congelación hasta su utilización. Los gazapos fueron alimentados con leche materna infundida a 37°C a través de una cánula intragástrica puesta mediante una gastrostomía.

Gastrostomía: En el DP1 a las 10:00 h se procedió a realizar la gastrostomía siguiendo el método previamente establecido (Morgado et al., 2011). La cirugía consistió en insertar una sonda de alimentación en el estómago de cada gazapo previamente anestesiado con ketamina i.m. (3mg/100g de peso). El estómago fue visualizado claramente a través de la pared abdominal traslúcida de los gazapos y enseguida se hizo una pequeña incisión (0.5 cm aprox.) en la piel, a la altura del estómago. A través de esta incisión se insertó un tubo de polietileno (PE-50) en el estómago con ayuda de un mandril. La incisión fue suturada para fijar la cánula firmemente al estómago del gazapo. Posteriormente, las crías se colocaron en una incubadora hasta su total recuperación de los efectos de la anestesia. Una vez recuperados, los gazapos fueron trasladados a su nido experimental, contruido en una caja de unicel, con papel absorbente y material del nido materno, donde permanecieron hasta el DP7 en condiciones de oscuridad constante.

Grupos experimentales: Los gazapos con gastrostomía fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los grupos experimentales. 1) **Grupo Control (n=14)**. A partir del DP2, los gazapos fueron alimentados intragástricamente con leche materna a las 10:00 h, hasta el DP7. El día ocho fueron privados de su sesión de alimentación para analizar la persistencia del posible ritmo de actividad locomotora (grupo control con ayuno). 2) **Grupo variable (n=14)**. Al igual que el Grupo Control, a partir del DP2, los gazapos fueron alimentados intragástricamente con leche materna hasta el DPN 7 (día del fin del experimento). La infusión de leche materna a este grupo se realizó a diferentes horas cada día: DP2 a las 10:00h, DP3 a las 06:00h, DP4 a las 02:00h, DP5 a las 18:00h, DP6 a las 14:00h, y en DP7 a las 22:00h. El día ocho fueron privados de su sesión de alimentación para analizar la persistencia del posible ritmo de actividad locomotora (Grupo Variable con ayuno).

Infusión de leche: El proceso de alimentación intragástrica se realizará siguiendo el protocolo publicado anteriormente (Morgado et al., 2011). La cánula intragástrica se conectó a una jeringa de que contenía la cantidad de leche materna necesaria para cada gazapo. La cantidad de leche que se infundió a cada gazapo fue una aproximación a la cantidad de leche que succionan los gazapos durante los primeros 7 días de edad, calculada desde su peso corporal (González-Mariscal et al., 1994) y de acuerdo al llenado estomacal. La infusión de alimento se hizo a velocidad constante en un tiempo establecido de 3 a 5 min., considerando que es el tiempo que tarda en amamantar la coneja a sus crías (Hudson y Distel, 1982; Jilge, 1995).

Determinación de la ganancia de peso corporal: Los gazapos de ambos grupos serán pesados cada día, antes y después de la alimentación, en una balanza electrónica, siguiendo protocolo ya reportado para este modelo (Morgado et al., 2011). El peso registrado en el DP1, antes de la alimentación, fue considerado como el 100% de peso corporal. Los gramos de diferencia entre los pesos previos a la infusión de leche entre un día de alimentación y otro fueron considerados como ganancia diaria. El porcentaje de ganancia de peso corporal diario fue el resultado de relacionar el peso inicial con la ganancia diaria que aporta cada sesión de alimentación intragástrica. Se realizó

un ANOVA de una vía para determinar las diferencias entre la ganancia de peso corporal diario en cada grupo (Control y Variable).

Registro de actividad locomotora. La actividad locomotora se determinó siguiendo el método reportado por Pongrácz y Altbäcker (2003) ya que este método provee una excelente oportunidad para las condiciones en las que se mantiene a los gazapos de crianza artificial (Morgado et al., 2011). Este método consiste en registrar el peso del nido con la camada, mediante una balanza electrónica sobre la cual está el nido y obtener la varianza del peso registrado 6 veces durante un minuto, en lapsos de 10 segundos. Así, la actividad locomotora es equivalente al promedio de la varianza del peso de las camadas registrado en los DP6-DP8, en su correspondiente punto temporal. 1) Para el Grupo Control, el registro se realizó en el DP6 y 7 a los 120, 60, 30 y 15 minutos antes de la hora de la infusión y 15, 30, 60 y 120 minutos posteriores al momento de la alimentación (10:00 h) obteniendo el promedio de los dos días. En DP8, el registro fue en los mismos tiempos pero se privó de la sesión de infusión con la finalidad de registrar la persistencia del ritmo de actividad locomotora. Se realizó un ANOVA de una vía para determinar las diferencias entre la actividad locomotora entre los diferentes puntos temporales en sujetos alimentados (DP6-DP7) y sujetos privados de una sesión de alimentación (DP8). 2) Para el Grupo Variable, en el DP6 se registró actividad locomotora a los 120, 60, 30 y 15 minutos antes de la hora de la infusión y 15, 30, 60 y 120 minutos posteriores al momento de la alimentación (14:00 h); en el DP7 se registró actividad locomotora en los mismos puntos temporales que para el Grupo Control con la finalidad de comparar la actividad de ambos grupos a la misma hora, cuando el Grupo Variable no había sido alimentado. Además, en el DP7 se registró actividad locomotora en los mismos puntos temporales que en DP6, al rededor de las 14:00 h (hora de la infusión en DP6), con la finalidad de evaluar la posible sincronización de la actividad locomotora ante el último evento de alimentación. También, en el DP7 se registró actividad locomotora alrededor del momento de la alimentación que fue a las 22:00 h. Con el objetivo de corroborar la posible sincronización de la actividad locomotora ante el último evento de alimentación, en el DP8 se registró actividad locomotora en los mismos puntos temporales que en DP7, al rededor de las 22:00 h (hora de la infusión en DP7). Se realizó un ANOVA de una vía para determinar las diferencias entre la actividad locomotora entre los diferentes puntos temporales en sujetos alimentados (DP6-DP7) y sujetos privados de una sesión de alimentación (DP8).

4. RESULTADOS

Ganancia de peso corporal. El promedio del peso registrado en el DP1, antes de la cirugía, para el Grupo Control fue de 57.5g mientras que para el Grupo Variable fue de 72.33g. A partir de estos promedios establecimos el porcentaje de ganancia de peso corporal diaria para cada grupo experimental, el cual varió a través de los días tanto en el Grupo Control como en el Grupo Variable (Fig. 1).

Para el Grupo Control ($F_{(4,69)} = 84.562$; $P < 0.001$) la máxima ganancia de peso corporal fue en el día 5 de alimentación, diferente de los días 1 ($P < 0.001$), 2 ($P < 0.001$) y 3 ($P < 0.001$). También, se observó diferencia en el día de alimentación 4, diferente de los días 1 ($P < 0.001$), 2 ($P < 0.001$) y 3 ($P < 0.001$). En el Grupo Variable ($F_{(4,69)} = 31.216$; $P < 0.001$) la máxima ganancia de peso corporal también fue registrada en el día 5 de alimentación, diferente de los demás días ($P < 0.001$ contra todos los días). Se observa que el grupo control tuvo una ganancia de peso mayor que el Grupo Variable, el cual tuvo pérdida de peso en los primeros dos días de alimentación. Estos datos son importantes para asumir que la regularidad en la hora de alimentación es fundamental para el balance de energía de los gazapos, lo cual puede deberse a que el horario impredecible de alimentación no permite ajustar el metabolismo de los sujetos para la absorción de nutrientes.

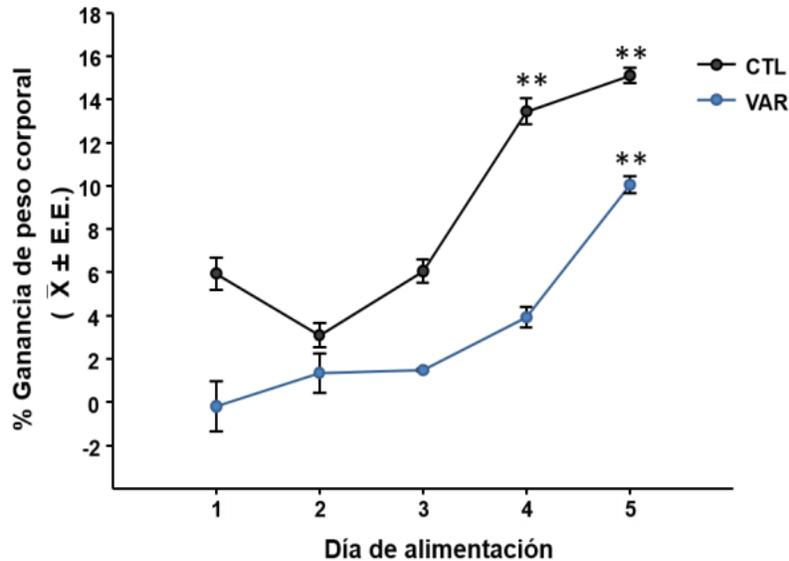


Figura 1. Porcentaje de ganancia de peso corporal en gazapos alimentados artificialmente. La infusión de alimento en un horario variable cada día (VAR) suprime la ganancia de peso corporal de los gazapos con respecto a los alimentados todos los días a la misma hora (CTL). Los asteriscos denotan diferencia significativa entre los puntos máximos y los mínimos en cada grupo (prueba post hoc Tukey, ** $P < 0.01$).

Actividad locomotora. Nuestro punto de partida fue analizar el incremento de la actividad locomotora antes de la llegada del alimento, similar a lo reportado previamente en gazapos de crianza artificial (Morgado et al., 2011), pero ahora ante la infusión de leche materna otorgada diariamente y comprobar la persistencia de tal ritmo en el Grupo Control. Observamos que la actividad locomotora del Grupo Control varió significativamente entre los puntos temporales estudiados ($F_{(7,15)} = 16.278$; $P < 0.001$, Fig. 2). La actividad máxima se registró 15 min antes de la infusión de alimento diferente de los puntos de actividad mínima, es decir, 120 y 60 min antes de la infusión de alimento ($P < 0.001$), también fue diferente de 30 min antes ($P = 0.016$), 60 ($P = 0.045$) y 120 min después ($P = 0.039$). La actividad de los gazapos continuó 15 min después de la infusión de alimento, siendo diferente de 120 y 60 min antes ($P = 0.002$ para ambos puntos). Asimismo, se encontró diferencia 30 min después de la infusión contra 120 ($P = 0.007$) y 60 ($P = 0.008$) min antes de la infusión de alimento.

De igual modo, a través de los puntos temporales registrados, observamos que la actividad locomotora del Grupo Control con ayuno varió significativamente ($F_{(7,15)} = 21.426$; $P < 0.001$, Fig. 2), registrando el pico máximo de actividad 15 minutos antes de la hora esperada de infusión de alimento ($P < 0.001$ contra 120 min antes y 30, 60 y 120 min después; $P = 0.009$ contra 60 y 30 min antes; $P = 0.001$ contra 15 min después). Además, se encontró diferencia 60 min antes de la hora esperada de infusión contra 60 ($P = 0.048$) y 120 ($P = 0.031$) min después de la hora esperada de infusión. También se encontró diferencia 30 min antes del horario esperado de infusión contra 120 min después ($P = 0.047$). Observamos que los gazapos alimentados todos los días a las 10:00 h incrementan su actividad horas antes de la infusión de alimento y posteriormente esta actividad desciende para permanecer quiescentes una vez que ha pasado el periodo de alimentación y que

este ritmo persiste aún en privación de una sesión de alimentación. Es decir, la actividad locomotora del Grupo Control está sincronizada a la hora de infusión.

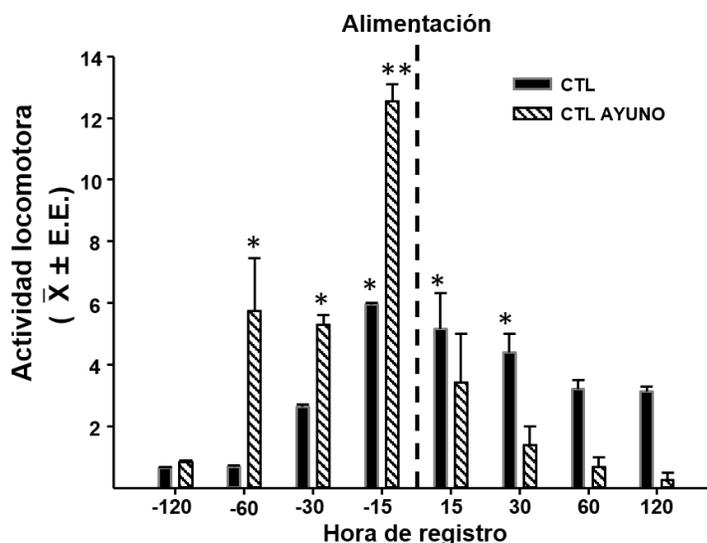


Figura 2. Actividad locomotora del Grupo Control. Se observa una sincronización de la actividad locomotora a la hora de la infusión de alimento (10:00 h) en el Grupo Control (CTL), mismo que persiste al siguiente día cuando ha sido omitida la sesión de alimentación (CTL AYUNO). La actividad locomotora es equivalente al promedio de la varianza del peso registrado de las camadas en los días posnatales 6 y 7 para CTL y 8 para CTL AYUNO, al rededor de la hora de infusión (10:00 h). La línea punteada representa el momento en que se infundió el alimento en su estómago. Los asteriscos denotan diferencia significativa entre los puntos máximos y los mínimos en cada grupo (prueba post hoc Tukey, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$).

Se comparó la actividad locomotora del Grupo Control contra el Grupo Variable en el DP7 con la finalidad de observar algún efecto de la hora del día en la distribución de la actividad antes de la hora de la comida en los sujetos del Grupo Control. En este grupo se encontró una variación con respecto al tiempo ($F_{(7,15)}=6.208$; $P=0.010$, Fig. 3), registrando diferencia 30 min antes de la infusión de alimento contra 120 y 60 min antes de la infusión ($P=0.018$) y contra 30 ($P=0.044$), 60 ($P=0.033$) y 120 ($P=0.019$) min después de la infusión. En el grupo VAR10:00 también se encontró variación con respecto al tiempo ($F_{(7,15)}=22.490$; $P<0.001$), teniendo la actividad máxima 60 min antes de las 10:00h, siendo diferente a 120 y 30 min antes ($P<0.001$), así como 60 y 120 ($P<0.001$) y 15 ($P=0.015$) min después. Además, se encontró diferencia 15 min antes de la infusión ($P=0.006$ contra 120, $P=0.009$ contra 30 min antes; $P=0.006$ contra 60 y $P=0.009$ contra 120 min después). También, se registró una diferencia de actividad 30 min después de las 10:00h contra 120 ($P=0.004$) y 30 ($P=0.005$) min antes, así como 60 ($P=0.004$) y 120 ($P=0.005$) min después de la infusión en Grupo Control. Como se aprecia en la Fig. 3, el Grupo Variable no tiene un patrón de actividad locomotora similar al Grupo Control, el cual muestra claramente un incremento de actividad antes de la infusión y un decremento posterior a la alimentación.

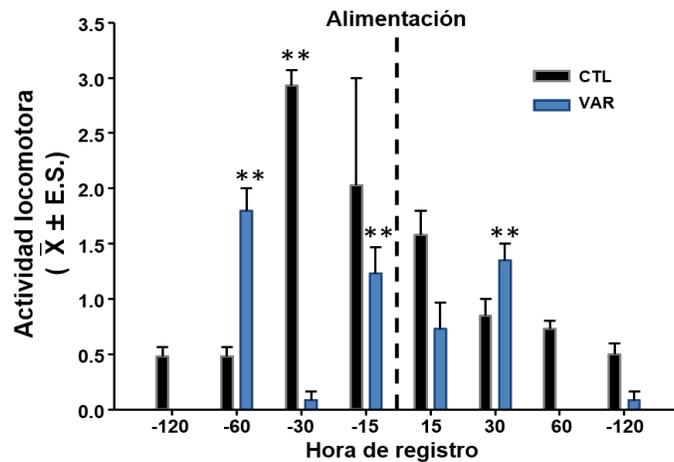


Figura 3. Actividad locomotora a las 10:00h. Se observa una sincronización de la actividad locomotora a la hora de la infusión de alimento (10:00 h) en el Grupo Control (CTL), mientras que el Grupo Variable (VAR) no muestra ningún patrón de actividad rítmica a esa hora. La actividad locomotora es equivalente al promedio de la varianza del peso registrado de las camadas en el día posnatal 7, en el correspondiente punto temporal, al rededor de la hora de infusión (10:00 h), de CTL. La línea punteada representa el momento en que se infundió el alimento en el estómago de los gazapos de CTL. Los asteriscos denotan diferencia significativa entre los puntos máximos y los mínimos en cada grupo (prueba post hoc Tukey, ** $P < 0.01$).

Nuestro principal objetivo fue mostrar que los gazapos alimentados a diferentes horas cada día son incapaces de mostrar actividad anticipatoria al momento de la alimentación. Como esperábamos, nuestros resultados indican que los gazapos no son capaces de predecir la hora de la alimentación sin haber establecido un horario fijo de comida, lo que comprobamos al analizar la actividad locomotora del Grupo Variable en el DP6 alrededor de la hora de infusión, que para ese día fue a las 14:00 h (Grupo Variable 14:00). En este grupo no se encontró variación entre los puntos temporales ($F_{(7,15)}=1.001$; $P=0.493$, Fig. 4A), indicando ausencia de ritmicidad en este parámetro.

Para ver un posible efecto de sincronización ante el último evento de alimentación se analizó la actividad en los puntos temporales correspondientes en el DP7, sin que ese día hubiesen sido alimentados a las 14:00 h, por lo que le llamamos Grupo Variable con Ayuno. En este grupo se encontró una variación entre los puntos temporales ($F_{(7,15)}=7.419$; $P=0.006$, Fig. 4A), donde se encontró diferencia a los 30 min antes del horario esperado de infusión contra 120 ($P=0.007$), 60 ($P=0.007$) y 15 ($P=0.008$) antes del horario esperado de infusión, así como 15 ($P=0.028$), 30 ($P=0.006$), 60 ($P=0.010$) y 120 ($P=0.012$) min después. A pesar de que hay un incremento 30 min antes de la posible infusión, los gazapos de este grupo no tienen una ritmicidad ya que los sujetos permanece prácticamente quiescentes la mayor parte del tiempo. Para comprobar la desincronización en el Grupo Variable se realizó una repetición del procedimiento anterior, en la siguiente sesión de alimentación que ocurrió a las 22:00 h (DP7) y en su respectiva fase de ayuno en DP8. En el grupo VAR22:00 no se encontró una variación entre los puntos temporales ($F_{(7,15)}=0.208$; $P=0.974$, Fig. 4B), y no se encontraron diferencias entre los puntos. En el grupo VAR22:00 AYUNO tampoco se encontró una variación entre los puntos temporales ($F_{(7,15)}=2.319$; $P=0.131$, Fig. 4B), y no se encontraron diferencias entre los puntos.

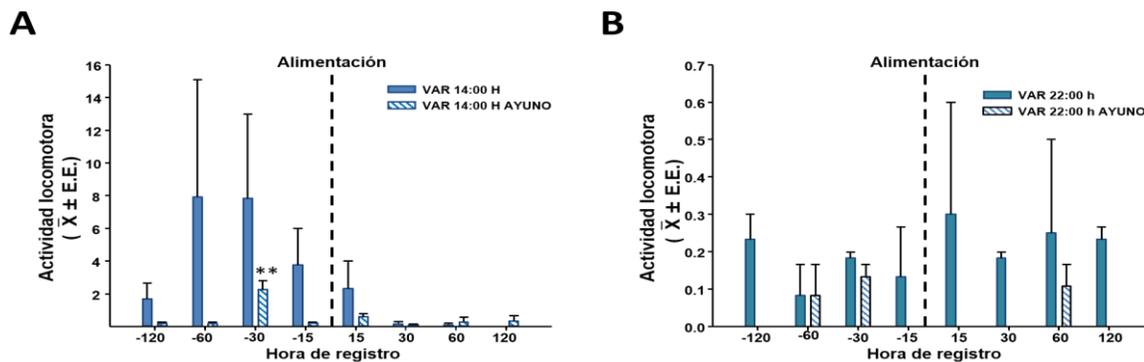


Figura 4. Actividad locomotora del Grupo Variable. Se observa una pérdida de la capacidad de predicción del momento en que serán alimentados los sujetos independientemente de la hora; ni cuando fueron alimentados a las 14:00h (VAR 14:00H) ni a las 22:00 (VAR 22:00) se muestra ningún patrón de actividad rítmico. Tampoco se observa un efecto del último evento de alimentación ya que al siguiente día (VAR AYUNO) tampoco se presenta ritmicidad en la actividad locomotora. La línea punteada representa el momento en que se infundió el alimento en el estómago de los gazapos. Los asteriscos denotan diferencia significativa entre los puntos máximos y los mínimos en cada grupo (prueba post hoc Tukey, $**P < 0.01$).

5. CONCLUSIONES

Al parecer, la regularidad temporal de alimentación es necesaria para mantener el equilibrio homeostático de los gazapos, alterando el ciclo de actividad-descanso. Los resultados sugieren que el sistema circadiano de los conejos neonatos está desincronizado ante la incapacidad de predecir el horario en que recibirán su alimento, por lo que este paradigma ofrece un buen modelo para estudiar la importancia de comer en un horario fijo diariamente para el buen funcionamiento del organismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. D. M. Arble, J. Bass, A. D. Laposky, M. H. Vitaterna, y F. W. Turek, "Circadian timing of food intake contributes to weight gain", *Obesity*, Vol. 17, 11, 2009, pp. 2100-2102.
2. J. Bass, y J. S. Takahashi, "Circadian integration of metabolism and energetics", *Science*, Vol. 330, 6009, 2010, pp. 1349-1354.
3. M. Caba, A. Tovar, R. Silver, E. Morgado, E. Meza, Y. Zavaleta, y C. Juárez, "Nature's food anticipatory experiment: entrainment of locomotor behavior, suprachiasmatic and dorsomedial hypothalamic nuclei by suckling in rabbit pups", *Eur. J. Neurosci.*, Vol. 27, 2008, pp. 432-443.

4. G. González-Mariscal, V. Díaz-Sánchez, A. Melo, C. Beyer, y J. S. Rosenblatt, "Maternal behavior in New Zealand white: quantification of somatic events; motor pattern, and steroids plasma levels", *Physiol. Behav.*, Vol. 55, 1994, pp. 1081-1089.
5. R. Hudson, y H. Distel, "The pattern of behavior of rabbit pups in the nest", *Behaviour*, Vol. 79, 1982, pp. 255-271.
6. B. Jilge, "Ontogeny of the rabbit's rhythms without an external zeitgeber", *Physiol. Behav.*, Vol. 58, 1995, pp. 131-140.
7. R. E. Mistlbecker, "Circadian food-anticipatory activity: formal models and physiological mechanisms", *Neurosci. Biobehav. Rev.*, Vol. 18, 1994, pp.171-195.
8. E. Morgado, M. K. Gordon, M. D. Minana-Solis, E. Meza, S. Levine, C. Escobar, y M. Caba, "Hormonal and metabolic rhythms associated with the daily scheduled nursing in rabbit pups", *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Vol. 295, 2008, pp. R690–R695.
9. E. Morgado, E. Meza, M. K. Gordon, K. Y. Pau, C. Juárez, y M. Caba, "Persistence of hormonal and metabolic rhythms during fasting in 7-to 9-day-old rabbits entrained by nursing during night", *Hormones and Behavior*, Vol. 58, 2008, pp. 465-472.
10. E. Morgado, C. Juárez, A. I. Melo, B. Domínguez, M. N. Lehman, C. Escobar, E. Meza, y M. Caba, "Artificial feeding synchronizes behavioral, hormonal, metabolic and neural parameters in mother-deprived neonatal rabbit pups", *Eur. J. Neurosci.*, Vol. 34, 2011, pp. 1807–1816.
11. P. Pongrácz, y V. Altbäcker, "Arousal, but not nursing, is necessary to elicit a decreased fear reaction toward humans in rabbit pups", *Dev. Psychobiol.*, Vol. 43, 2003, pp. 192-199.
12. R. Salgado-Delgado, M. Ángeles-Castellanos, N. Saderi, R. Buijs y C. Escobar, "Food intake during the normal activity phase prevents obesity and circadian desynchrony in a rat model of night work", *J. EMBO*, Vol. 151, 2010, pp.1019-1029.
13. J. Sierra-Johnson, A. L. Undén, M. Linstrand, M. Rosell, P. Sjogren, M. Kolak,... y M. L. Hellénus, "Eating meals irregularly: a novel environmental risk factor for the metabolic syndrome", *Obesity*, Vol. 16, 6, 2008, pp. 1302-1307.

EL APRENDIZAJE LÚDICO DE LA NOMENCLATURA INORGÁNICA

María Emelia Zamora López¹, Heraclio Victoria Moreno², Lydia María Pérez Díaz¹, María Dolores Guevara Espinosa¹ y J. Jesús Hinojosa Moya¹ Jorge Luís Zamora Sánchez³ ⁴Beatriz Espinosa Aquino

¹ Facultad de Ingeniería Química BUAP. ² Preparatoria Lic. Benito Juárez García BUAP. ³ Facultad de Ciencias de la Electrónica BUAP. ⁴ Instituto de Ciencias de la BUAP (ICUAP)

RESUMEN

Este trabajo consistió en diseñar un material didáctico, que pudiera manejarse en el salón de clase, conocer su utilidad y manejo; para reafirmar el aprendizaje de la nomenclatura en química inorgánica. Algunos alumnos presentan poco dominio al estructurar fórmulas químicas y darles un nombre correcto. Este es el motivo de crear la estrategia de enseñanza-aprendizaje, denominada "Círculo de Nomenclatura" que será un apoyo para complementar lo que ya se ha aprendido teóricamente del tema de nomenclatura de Química Inorgánica.

Para diseñar el material didáctico, se llevaron a cabo las siguientes consideraciones:

Ubicar la población a la cual se dirige el uso del material didáctico y ¿cuáles son los conocimientos que tienen del tema?, se diseñó el material (círculo) en tres partes, estas, se unen, y complementan para conseguir el aprendizaje, el material se construye de una forma novedosa, creativa y práctica favoreciendo el conocimiento de la Nomenclatura Inorgánica en los estudiantes; es una herramienta fácil de transportar, económica, y con el uso adecuado se logra un aprendizaje significativo en cada uno de los estudiantes. El material didáctico elaborado logró aumentar los niveles de aprendizaje de la nomenclatura inorgánica en los alumnos a los cuales les fue aplicado.

1. INTRODUCCIÓN

El aprendizaje de la nomenclatura química es complicado ya que contiene reglas para dar nombre a los compuestos estos, se han modificado con el tiempo y se seguirán modificando a medida que se obtengan nuevos compuestos o se establezcan acuerdos internacionales para designar a los ya existentes. Las reglas de nomenclatura actuales provienen de los acuerdos internacionales tomados en una asociación mundial de químicos, denominada International Union of Pure and Applied Chemistry conocida como IUPAC, por sus siglas en inglés (Union International de Química pura y Aplicada, UIQPA). (Rodríguez, 2004).

La didáctica juega un rol principal en el aprendizaje ya que facilita que los alumnos se apropien del conocimiento. El trabajo en equipo desarrolla la suma de esfuerzos individuales para alcanzar metas comunes.

La metodología de trabajo que se propone se aplica en el proceso de enseñanza-aprendizaje de la nomenclatura Inorgánica; consiste en trabajar con el material didáctico denominado Círculo de Nomenclatura

Se utiliza el principio de la ruleta, es muy sencillo, económico y fácil de manejar, consta de dos círculos el de mayor diámetro tiene información en el anverso y reverso

El círculo que se encuentra en la base contiene un resumen de cómo se forman los compuestos básicos inorgánicos y tres ventanas por donde se pueden observar los cationes, aniones, compuestos y una pestaña que oculta el nombre del compuesto que se ha formado:

Ante la dificultad que presentan los alumnos para su aprendizaje en algunos temas, se han desarrollado ciertas actividades que han influido en facilitar la comprensión del tema en estudio, el uso de material didáctico y del trabajo cooperativo son los métodos utilizados, en esta participación activa de los alumnos, que aprenden cuando escuchan a sus compañeros y hacen comentarios del tema en estudio, juntos construyen el conocimiento

2. TEORIA

Existen miles de compuestos químicos inorgánicos, se encuentran clasificados en 5 grupos básicos denominados: óxidos, hidróxidos, ácidos, hidruros y sales, cada una de estas sustancias tiene un nombre *común* y otro *sistemático*.

La *nomenclatura química* es la parte de la química que estudia y asigna los nombres a los elementos y compuestos que van surgiendo a través de los trabajos científicos; básicamente, los nombres de las sustancias químicas juegan un papel muy importante en el lenguaje de la Química, por lo que la nomenclatura es su pie derecho.

Tal nomenclatura se basa en reglas establecidas al momento de asignar el nombre a una sustancia, las reglas fueron elaboradas por un grupo de personas especialistas en el tema (Comisión de Nomenclatura de Química Inorgánica) de la International Unión of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), misma que presentó, en 1921, un sistema de nomenclatura *inorgánica* conocido hoy como Sistema de Nomenclatura Tradicional, y que hoy en día, ya no es recomendado por este organismo mundial para nombrar varias sustancias. (Del Bosque, 2005).

Años después la IUPAC recomendó utilizar el Sistema Stock, en honor a su autor el químico alemán Alfred Stock, muerto en 1946; más tarde aparece el Sistema de Proporciones, recomendado también por la IUPAC, pero como una alternativa u opción al Sistema Stock. Así pues, existen tres sistemas de Nomenclatura para utilizarlos sobre las sustancias inorgánicas, todos aprobados por la IUPAC, pero solo dos de ellos son los recomendados:

- *Sistema Tradicional*. Fue el primer sistema de la IUPAC; es obsoleto, pero aun utilizado.
- *Sistema Stock*. Es un sistema moderno; es el sistema oficial de la IUPAC
- *Sistema de Proporciones o estequiométrico*. Es una opción contemporánea de la IUPAC.

Se recalca que el nombre de una sustancia proviene de su fórmula y de las recomendaciones enmarcadas en las leyes del sistema de nomenclatura utilizado. (Chang, 2013).

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) ha recomendado una serie de reglas aplicables a la nomenclatura química de los compuestos inorgánicos; las mismas se conocen comúnmente como "El libro Rojo".¹ Idealmente, cualquier compuesto debería tener un nombre del cual se pueda extraer una fórmula química sin ambigüedad.

También existe una nomenclatura IUPAC para la Química orgánica. Los compuestos orgánicos son los que contienen carbono, comúnmente enlazados con hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y algunos halógenos. El resto de los compuestos se clasifican como compuestos inorgánicos. Estos se nombran según las reglas establecidas por la IUPAC.

Los compuestos inorgánicos se clasifican según la función química que contengan y por el número de elementos químicos que los forman, con reglas de nomenclatura particulares para cada grupo.

Una función química es la tendencia de una sustancia a reaccionar de manera semejante en presencia de otra. Los grupos de compuestos tienen propiedades características de cada función química, los ácidos, tienen propiedades del ion hidrógeno H⁺; y las bases tienen propiedades características de este grupo porque presentan al ion OH⁻ en estas moléculas..

Nomenclatura sistemática o IUPAC

También llamada racional o estequiométrica. Se basa en nombrar a las sustancias usando prefijos numéricos griegos que indican la atomicidad de cada uno de los elementos presentes en cada molécula. La atomicidad indica el número de átomos de un mismo elemento en una molécula, como por ejemplo el agua con fórmula H₂O, que significa que hay un átomo de oxígeno y dos átomos de hidrógeno presentes en cada molécula de este compuesto, aunque de manera más práctica, la atomicidad en una fórmula química también se refiere a la proporción de cada elemento en una cantidad determinada de sustancia. En este estudio sobre nomenclatura química es más conveniente considerar a la atomicidad como el número de átomos de un elemento en una sola molécula. La forma de nombrar los compuestos en este sistema es: prefijo-nombre genérico + prefijo-nombre específico. (Brawn, 2014).

De tal forma que la complejidad de nombrar a los diferentes compuestos o formulas presentes por los alumnos de nivel medio básico y superior al que se enfrentan al cursar por la materia de química, resulta ser importante la metodología de enseñanza profesor y la forma de aprendizaje del alumno.

Hablando de los aspectos metodológicos en la educación, (Rugarcía, 2005) dice: “Un método es la manera estructurada cómo se consigue un objetivo”. Para conseguirlo es necesario pensar, analizar ¿cómo, hacer para llegar a los resultados deseados? Sintetizar de forma crítica, en una forma integral lo que se encuentra en desorden dentro de un cúmulo de ideas, no es una tarea fácil, es un proceso que surge cuando se provoca un desarrollo intelectual en el ser humano.

Hasta la fecha científicos como Dewey, Piaget, Vigotsky entre otros, “no han distinguido ni integrado el quehacer intelectual y emocional de la conciencia, ni han aclarado del todo las operaciones mentales que un sujeto concreto debe realizar para desarrollar su “inteligencia” o sus estructuras de pensamiento”, educar es promover el aprendizaje utilizando estrategias que desarrollen las capacidades o potencialidades genéricas del ser humano, la metodología que sigan los profesores es diversa y variada, aprender depende de la forma en que los alumnos desarrollen sus habilidades de pensamiento. Pero no sólo los alumnos tienen prioridad en el método elegido también el o los profesores entran en esta dinámica por la forma en que desarrollen las actividades previstas para analizar un determinado tema en cuestión. (Rugarcía, 2005).

De lo mencionado anteriormente hoy en día, entre los métodos que el docente elige para impartir generalmente su cátedra en la educación superior se encuentran: el de exposición del profesor; exposición del profesor junto con discusión del grupo; seminario, en que se estudia a mayor profundidad el material didáctico señalado por el profesor para posteriormente analizarlo en clase un método más es el tutorial, donde el estudiante selecciona un tema para investigación y desarrolla un trabajo que periódicamente se presenta al profesor para su discusión. Sin embargo no se puede afirmar que haya un único método de enseñanza aplicable, porque cada una de las disciplinas es diferente las condiciones de trabajo son diferentes, los alumnos son diferentes, los estratos sociales diferentes, las culturas diferentes etc. (Sánchez, 1995).

Didáctica del aprendizaje

Trabajo en equipo

En un equipo de trabajo un conjunto de individuos cooperan para lograr objetivos. El equipo se coordina suma esfuerzos individuales, colaboran para alcanzar las metas comunes que estarán

bien definidas desde el inicio. Cada uno de los integrantes tienen responsabilidades que deben cumplir, tienen un objetivo, son productivos, cuando comienzan a trabajar en el aprendizaje, se aclaran hasta cierto grado las relaciones de autoridad de cada integrante.

La organización del trabajo

La organización es fundamental en el equipo o grupo de trabajo, esto deriva en el mejoramiento y la eficacia de la formación. Para ello se asignan tareas a cada uno de los integrantes a corto, mediano y largo plazo, la comunicación, establecimiento y conservación de relaciones en el equipo son muy importantes para que marchen las cosas en la solución de los problemas que puedan surgir en el momento de trabajar. Tareas como:

Diagnóstico

Administración de los procesos de grupo

Análisis y negociación de papeles

Reuniones de diagnóstico: “¿Cómo marchan las cosas?”

Solución de problemas,

Toma de decisiones,

Definición de papeles.

Designación de liderazgo

Nombramiento como responsable en primer y segundo lugar, son primordiales para evitar conflictos dentro del equipo de trabajo.

3. PARTE EXPERIMENTAL

La metodología de trabajo que se propone se aplica en el proceso de enseñanza-aprendizaje de la nomenclatura Inorgánica a nivel preparatoria principalmente; aunque se puede implementar a nivel licenciatura; esta metodología, consiste en trabajar con el material didáctico denominado “Círculo de Nomenclatura”, después de que el profesor encargado de la materia, ha dado las reglas de la nomenclatura y ha hecho ejercicios para que los alumnos conozcan el tema, el material didáctico (círculo de nomenclatura) será usado para reforzar el aprendizaje dado en la clase por el maestro, con su puesta en marcha, se eliminan aquellas dudas de los discentes y agilizan la mente de aquellos estudiantes que ya tienen una clara idea de lo que es la Nomenclatura Inorgánica. También es factible dar a los alumnos el material del círculo unos 15 días antes de llegar al tema de nomenclatura para que conozca las reglas y compuestos ahí establecidos y tenga la oportunidad de irse interesando en el tema, de tal forma que cuando el profesor comience a explicar la Nomenclatura el alumno ya tiene conocimientos previos del tema y puede hacer preguntas durante la explicación del tema. La forma de trabajar el Círculo de Nomenclatura es diversa se puede usar el principio de la ruleta, el cual es muy sencillo y fácil de manejar, el material consta de dos círculos:

El de mayor diámetro, se encuentra integrado por dos caras. (Figura 1a), contiene: aniones y cationes con sus cargas positivas y/o negativas, estos formarán las fórmulas de los compuestos inorgánicos, estableciendo los nombres de dichos compuestos de acuerdo con la IUPAC. Al reverso de la cara principal de la figura 1a, se describen las características y funciones químicas inorgánicas más usuales de la nomenclatura Inorgánica (figura 1b).

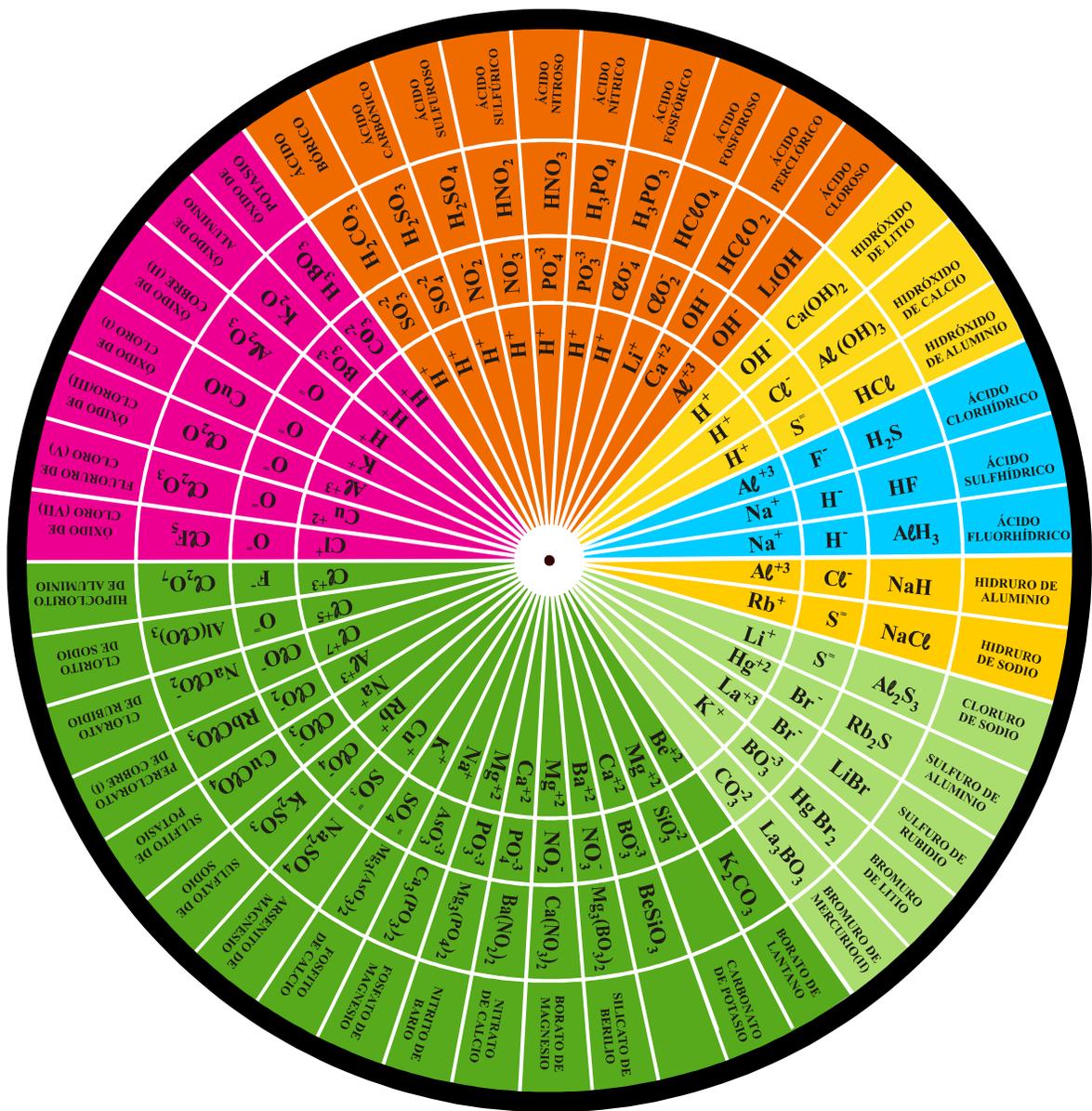


Fig.1a Circulo base de la ruleta contiene: iones y cationes de elementos químicos, compuestos formados a partir de los iones presentes y el nombre de los compuestos.

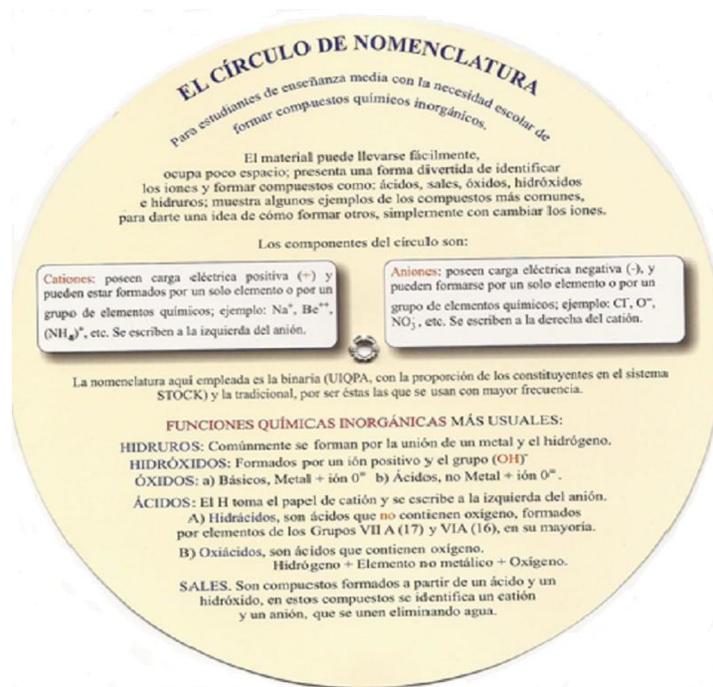


Fig. 1b, Indicación del uso, características y Funciones Químicas Inorgánicas más usuales de la Nomenclatura Inorgánica.

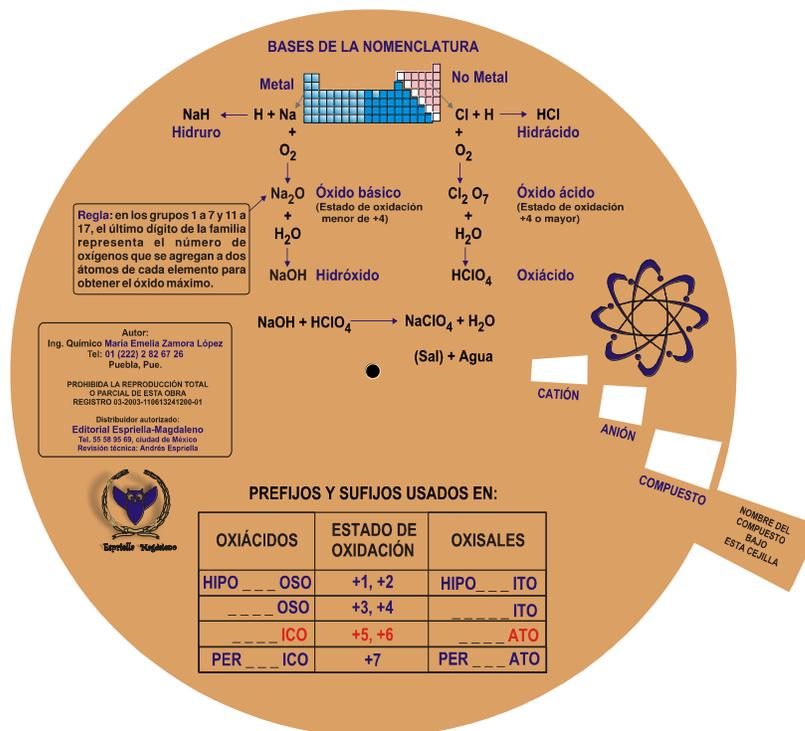


Fig. 2. Tendrá movimiento de giro. Contiene impreso un ejemplo a manera de resumen.

El segundo círculo (figura 2) se colocara sobre la figura 1a, y es el que tendrá movimiento de giro, para hacer diversas combinaciones (con los elementos de la Tabla Periódica) en la formación de las sustancias químicas. Contiene algunas reglas de Nomenclatura, ejemplos a manera de resumen de cómo se formar los compuestos inorgánicos, cual es el nombre correcto que le corresponde a cada compuesto y tres ventanas alineadas con la figura 1a en donde se pueden observar los cationes, aniones, compuestos y una pestaña (desfasada a propósito), que oculta el nombre del compuesto que se ha formado.

Es necesario unir los dos círculos del material didáctico en una imprenta, o con un broche que asegure su movimiento de tal forma que se encuentre en condiciones adecuadas para usarse.

Una vez que se han integrado los círculos y que se han dado las instrucciones para el uso del material didáctico se procede a realizar actividades de aprendizaje con los alumnos, una de ellas puede desarrollarse de la siguiente manera:

Se integran equipos de trabajo de cuatro a cinco alumnos y dentro del equipo se elige un integrante (alumno piloto) de preferencia el que más domine el conocimiento de la nomenclatura.

Las indicaciones dicen que, cada uno de los integrantes del equipo (excepto el alumno piloto) deberá girar el círculo y cuando pare de girar de acuerdo al punto de referencia, el alumno nombrará el compuesto formado. Cada alumno trabajará durante cinco minutos como máximo, en este tiempo lograrán formar al menos 10 compuestos químicos. El alumno piloto, observa que las instrucciones se cumplan tal como se ha estipulado, y anota los compuestos formados de cada uno de los alumnos integrantes de su equipo. Estos compuestos serán revisados posteriormente por el profesor.

Si el alumno ha cumplido acertadamente, el profesor puede darles una puntuación, adecuada a los compuestos formados.

Cuando el alumno no pudo dar nombre a los primeros tres compuestos, el equipo le ayudará a formarlos.

Otra alternativa es la siguiente:

El docente asigna el nombre correcto de aniones y cationes y los integrantes del equipo encuentren la fórmula del compuesto en el círculo, cooperando entre todos. También puede llevarse a cabo el proceso inverso, el docente propone a los estudiantes al menos diez fórmulas de compuestos y el equipo entregará por escrito, los aniones y cationes que integran cada uno de los compuestos que el profesor proporcione con anterioridad.

Cuando los alumnos han trabajado por 30 minutos se termina la actividad. La evaluación puede ser realizada durante la actividad en clase, o en otro momento.

La manera en la que se trabaje el material didáctico, Círculo de Nomenclatura mostrado en la figura 1, depende del docente y del grupo, esta solo es una opción de trabajo, la creatividad para el desarrollo de la actividad depende de cada uno de los profesores.

4. RESULTADOS

Se ha observado que en la actualidad se utilizan diversos métodos de enseñanza, si bien es cierto que se utiliza el método de exposición, sobre todo porque se tienen los medios de la tecnología al alcance, tales como la computación y el Internet; el alumno no sólo se queda con dicha exposición, debe analizarla y concluir que aprendizaje obtuvo, cabe mencionar que algunos docentes abusan de estos medios y en más del 50% de sus clases son exposiciones con diapositivas, esta forma de enseñanza cansa mucho al alumno de tal forma que se resiste a ir a clases. Otros docentes piden

a los estudiantes, temas especiales extensos para investigar a través de Internet, es tanta la información que descuidan otras materias por atender una sola.

La construcción de significados en los alumnos es una tarea que debe propiciar el profesor estableciendo relaciones, que conecten los intereses y expectativas de los alumnos.

5. CONCLUSIONES

El uso de este material didáctico es un gran apoyo para la comprensión y el aprendizaje de la nomenclatura inorgánica. El diseño del material es visualmente atractivo. El uso del círculo de nomenclatura inorgánica puede llevarse fácilmente, ocupa poco espacio; presenta una forma divertida de identificar los iones y la formación de compuestos. Esta aplicación de enseñanza provoca que los alumnos discutan, pregunten, reafirmen conocimientos, como un extra los alumnos que están atrasados en el desarrollo de la nomenclatura al preguntar a sus pares desarrollan una mayor confianza al pedir les aclaren donde aplicar las reglas y el aprendizaje se les facilita, para el docente es menos cansado ya que los alumnos que van más adelantados en el tema apoyan a sus compañeros y puede ir evaluando el aprendizaje de los estudiantes en el momento de que se está desarrollando la actividad, de tal forma que puede o no aplicar exámenes escritos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bonnet Romero, Florencia. Química 1. Segunda edición, Oxford University Press Harla. México, S.A. de C.V. 1997.
2. Brown, LeMay, Bursten, Química La ciencia Central. 12va Edición. México 2014
3. Del Bosque, Francisco Recio. Química Inorgánica. Tercera edición. Mc Graw-Hill. México, 2005.
4. Raymond Chang y Kenneth A.Goldsby. Química, 11va Edición. China 2013
5. Rodríguez, Rosa Medina y María Guadalupe Torres. Química 1. Octava edición. Honduras, 2004
6. Recomendaciones de la IUPAC para la nomenclatura de compuestos inorgánicos 2005
7. Rugarcía, A. (abril-junio 2005). Más allá de la resolución de problemas. Educación Química, No. 2 pp. 289,297.
8. Sánchez, M. (1995) Modelos Académicos: Temas de hoy en la educación Superior ANUIES 8, 59-61.
9. Santos, Verónica Escobar y Gladys Rodríguez de Vega. Ciencias naturales 3. Editorial McGraw-Hill. México, 2002.
10. Química general e inorgánica (Química 10). Editorial Santillana. Colombia, 1996.
11. William S. y G. William Daub. Química. Quinta edición. Editorial Prentice Hall. México, 198

ESTABILIDAD FOTOQUÍMICA DE PESTICIDAS COMERCIALES UTILIZADOS EN LA AGRICULTURA DEL ESTADO DE GUANAJUATO.

Gabriel Herrera-Pérez¹, Julieta Nohely Ortega-Aguilar¹, Rafael Vargas-Bernal¹, Esmeralda Rodríguez-Miranda²

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI), Departamento de Ingeniería en Materiales.

²Universidad de Guanajuato *Campus León*, División de Ciencias de la Salud

RESUMEN

El estado de Guanajuato es una región con una intensa actividad agrícola, por lo tanto es de esperar que en esta entidad se presente también un intenso consumo de pesticidas. De acuerdo a una búsqueda e información de datos desde el año 2012 en el INEGI se identificó que hay tres pesticidas comerciales de uso relativamente intenso, los cuales son: Nudrin 90 (metomilo), Hierbamina (2, 4-D) y el Captan (ftalamida). El interés de estos pesticidas está principalmente en sus características fisicoquímicas, ya que son resistentes a la fotodegradación y son muy solubles en agua, por consiguiente su uso masivo puede promover contaminación a los mantos acuíferos tanto superficiales como subterráneos. En este trabajo se diseñaron mezclas de estos pesticidas para comprobar su estabilidad fotoquímica se irradiaron con luz UV de 365 nm y una potencia de 100 Watts durante tiempo cortos (hrs) y largos (días). Para la identificación cualitativa y cuantitativa de las especies iniciales y finales se utilizó la espectroscopia UV-Vis. Los espectros de absorción se obtuvieron en la región UV-Vis de 180 a 850 nm. Se encontró que la Hierbamina presenta tres bandas de absorción principales a 200, 235 y 280 nm, esta última en soluciones relativamente diluidas desaparece, mientras que el Nudrin 90 y el Captan presentan solo una banda a 238 nm. Por lo tanto estas sustancias al formar mezclas dificulta su identificación y si la Hierbamina se encuentra relativamente en concentración mayor (10 veces o más) oculta la señal.

1. INTRODUCCIÓN

Varios estudios reportado en la literatura científica han demostrado que la concentración de soluciones de pesticidas puede ser reducida por la irradiación de luz UV, llevándose a cabo mediante la fotólisis, por lo tanto es conveniente que se identifique qué tan significativo puede ser la irradiación de la luz UV. La fotólisis es una de las principales vías de degradación en aguas para contaminantes orgánicos, principalmente se refiere a la fotodescomposición del contaminante, posteriormente la absorción de fotones de irradiación. Los radicales hidroxilo (OH) y carbonato (CO₃) reaccionaran con el oxígeno lo cual va originar la degradación o una serie de reacciones de oxidación para después completar la mineralización o producir moléculas amigables con el medio ambiente como CO₂ y H₂O. Se ha reportado que el radical OH puede ser formado por nitratos, nitritos, iones férricos; mientras que el radical CO₃ puede ser generado mediante las interacciones entre bicarbonato y otros radicales como OH y SO₄ (Jialin Peng, 2016).

2. TEORÍA

Los plaguicidas son productos químicos de los más utilizados en el mundo, hoy en día se encuentran entre los compuestos más peligrosos para el ser humano. Sin embargo, algunos pesticidas pueden ser beneficiosos para la disminución de las plagas, mientras que otros pueden

ser perjudiciales para el medio ambiente y pueden causar perturbaciones graves. Además, algunos pesticidas tienen un período de vida en el cual sus efectos pueden continuar por un gran período; pero algunos pesticidas se evaporan con mayor facilidad y rapidez que otros o bien algunos pueden degradarse más rápidamente en las superficies mientras que otros duran más tiempo. El uso agrícola de la tierra genera cambios ambientales y alteraciones en los ecosistemas. Si bien es posible identificar algunos de los factores y procesos que impulsan esos cambios, la complejidad de los sistemas agrícolas hace difícil su jerarquización. Los riesgos de que los insumos agrícolas (insecticidas, herbicidas, fertilizantes, enmiendas, agua de riego, organismos-cultivo, etcétera) o las formas de labranza de la tierra originen alteraciones ambientales pueden predecirse mediante investigación científica. Pero realizar una estimación certera de ellos no es tarea sencilla, ya que se fundamenta en inferencias construidas a partir de resultados experimentales que, frecuentemente, son de difícil verificación. La primera dificultad enfrentada por los investigadores que procuran estudiar esas alteraciones usualmente denominadas impacto ambiental es identificar qué factores determinan su nivel y qué parámetros se deben medir para evaluarlas. A pesar de que en la literatura científica abundan los intentos de contestar esas preguntas, la información disponible no parece suficiente para resolver el debate sobre los beneficios y riesgos ambientales del uso de pesticidas (Bedmar, 2016).

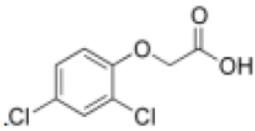
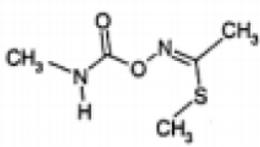
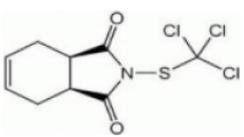
La región visible ha sido ampliamente aceptada como una técnica analítica rápida, no destructiva para el gran número de medios de comunicación y productos. Hoy en día desempeña un papel importante en muchos sectores, tales como los productos agrícolas y de los alimentos o de productos petroquímicos y productos farmacéuticos, como un laboratorio de rutina, en vivo o sistema de monitoreo en línea. La señal de espectrometría se utiliza para extraer información relacionada químicamente a partir de diferentes materiales, por lo general por técnicas quimiométricas. Esto es posible de acuerdo con la Ley de Beer-Lambert, la cual nos indica que la absorbancia está relacionada linealmente con la concentración de las sustancias químicas que componen a las muestras. Tan pronto como el material contiene centros de dispersión, lo que representa todos los fotones que han entrado en la muestra se convierte en un verdadero desafío. Algunos de ellos son absorbidos, algunos de ellos alcanzan el detector directamente; algunos después de haber recorrido una cierta distancia en los medios de comunicación; y, por último, algunos de los fotones salir de la muestra sin golpear el detector (Alexia Gobrecht, 2015).

Para la realización de este trabajo se tienen el interés de analizar tres pesticidas, de los más utilizados en el Estado de Guanajuato, por medio del proceso de fotólisis. Tabla 1.

3. PARTE EXPERIMENTAL

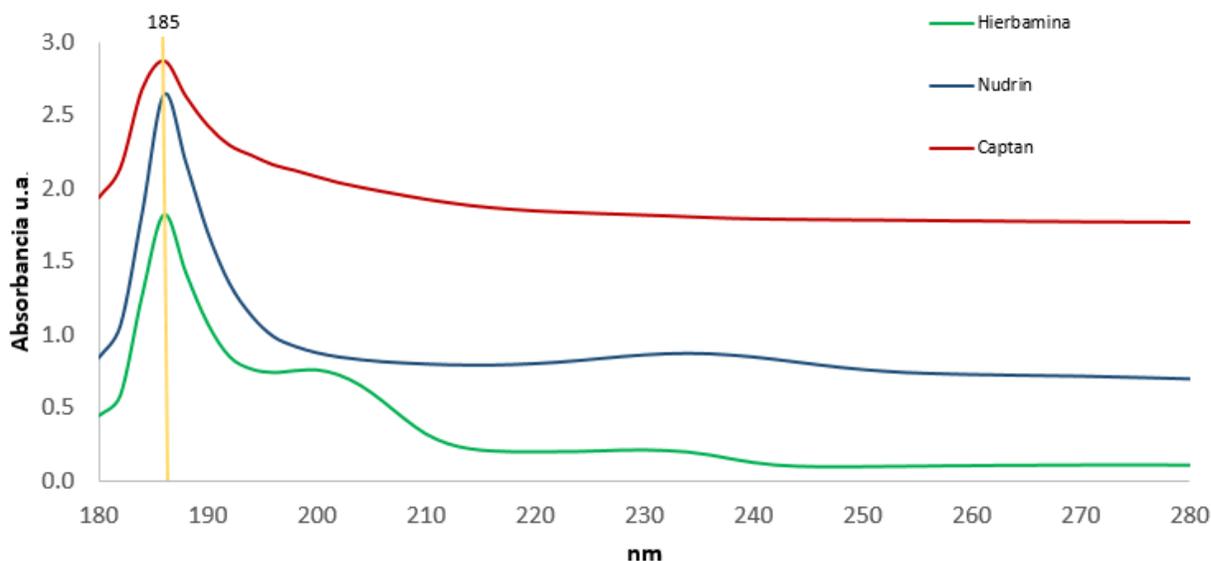
Se prepararon soluciones acuosas stock de cada uno de los pesticidas, se partió de compuestos grado reactivo y fueron preparadas considerando su grado de solubilidad a condiciones estándar; utilizando 5.4 mg de Captan en 10 ml, 100 mg de Nudrin en 250 ml y para el caso de la Hierbamina 250 mg en 100 ml, en todos los casos se utilizó agua tridestilada. Para la obtención de los espectros de las soluciones se empleó un espectrofotómetro UV-Vis marca Perkin-Elmer modelo Lambda 850, se comprueba que las soluciones saturan la escala absorbancia por lo que a partir de las soluciones iniciales se hicieron diluciones

Tabla 1. Pesticidas más empleados en el Estado de Guanajuato.

Pesticida	Fórmula molecular	Aplicación
Hierbamina (herbicida). 2,4-diclorofenoxiacético	 $C_8H_6Cl_2O_3$	Maíz, sorgo, arroz, trigo, cebada, caña de azúcar, etc.
Nudrin (insecticida). Metomilo: S-metil N-((metilcarbamoil) oxi) tioacetamidato	 $C_5H_{10}N_2O_2S$	Papa, chile, frijol, soya, cacahuete, alfalfa, jitomate, maíz, lechuga, etc.
Captan (fungicida). N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida	 $C_9H_8Cl_3NO_2S$	Cebolla, calabacita, chile, fresa, jitomate, sandía, melón, pepino, etc.

4. RESULTADOS

En la figura siguiente se muestra los espectros de cada uno de los analistas de interés, se identifica que los tres presenta una absorbancia fuerte a los 185 nm mostrando diferencia de simetría en la señal, siendo el caso del Captan la más asimétrica. Tanto la Hierbamina como el Nudrin presentan otras absorbancias significativas, siendo para el caso del Nudrin a 234 nm mientras que Hierbamina además absorbe en 203 y 234 nm. Para obtener una absorbancia entre 0 y 2 u. a. fue necesario utilizar una concentración de 0.1 mM para el caso de la Hierbamina, 2.5 μ M concentración de la solución del Nudrin y finalmente 1.8 mM para el caso del Captan.



5. CONCLUSIONES

Los resultados que se obtuvieron mediante espectroscopia UV-Vis hasta el momento muestran que los analitos de los pesticidas presentan diferente absorbatividad molar; siendo el Nudrin el que presenta la mayor.

AGRADECIMIENTOS

Estos primeros resultados forman parte del trabajo comprendido en el Proyecto Apoyado por el Tecnológico Nacional de México (TecNM-2014) en su Convocatoria 2014, con clave de registro 091.14-PD.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jialin Peng, "Photodegradation of nonylphenol in aqueous solution by simulated solar UV-irradiation: The comprehensive effect of nitrate, ferric ion and bicarbonate", in *Journal of photochemistry and photobiology A*, Vol. Chemistry 326, 2016, pp. 9-15.
2. Alexia Gobrecht, "Combining linear polarization spectroscopy and the Representative Layer Theory to measure the Beer-Lambert law absorbance of highly scattering materials", in *Analitica Chimica Acta*, 853, 2015, pp. 486-494.
3. Bedmar, Francisco, Oerke, E. C. (2006). Informe especial plaguicidas agrícolas. *The Journal of Agricultural Science*, 21, 144, pp 31–43.

LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DISMINUYE EN SUJETOS SOMETIDOS A UN HORARIO DE ALIMENTACIÓN VARIABLE

Yael L. Panes Gonzalez¹, Karina Uriostegui-Ortega¹, Erika I. Desales Millán¹, Tania Molina Jimenez², Claudia J. Juárez Portilla³, Elvira Morgado Viveros ¹, Albertina Cortés Sol¹

¹Facultad de Biología-Xalapa, Universidad Veracruzana; ²Departamento de Biología de la reproducción, UAM; ³Centro de Investigaciones Biomédicas UV.

RESUMEN

La restricción del alimento por periodos prolongados influye de manera negativa en la reproducción, modificando características cuantitativas como el número de espermatozoides. Se sabe que una rutina de alimentación en horarios fijos favorece la estabilidad de las condiciones fisiológicas internas mientras que la desestabilidad provoca desajustes a nivel metabólico y conductual. Sin embargo, hasta ahora se desconoce si la variabilidad en los horarios de alimentación afecta las características cualitativas y cuantitativas del contenido seminal. Por esta razón evaluamos las características macroscópicas (color, pH, viscosidad) y microscópicas (forma, tamaño, número de espermatozoides) de muestras del líquido seminal del epidídimo de ratas macho Wistar con diferentes condiciones de alimentación: a) individuos con libre acceso al alimento, b) alimentación en horario fijo de 2 h durante el periodo de oscuridad c) alimentación en horarios fijos de 2 h durante el periodo de luz, y d) condiciones de alimentación en horarios variables cada día. El tiempo de experimentación para todos los grupos de animales fue de 27 días. No se encontraron diferencias en los parámetros color y pH del líquido seminal pero existieron diferencias evidentes en la viscosidad (longitud del filamento mm). Por otra parte los resultados muestran que parámetros cuantitativos como el número de espermatozoides y la longitud total de los espermatozoides disminuyen en individuos sometidos a horarios de alimentación variable. Con estos resultados se sugiere que los horarios de alimentación variables generan problemas reproductivos en los machos.

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación proporcionada en horarios fijos es un importante indicador de tiempo para sincronizar la ritmicidad circadiana de órganos periféricos, la secreción de hormonas reguladoras de la ingestión de alimento y el peso corporal, así como de metabolitos circulantes (Krieger, 1974; Escobar *et al.*, 1998; Damiola *et al.*, 2000; Díaz-Muñoz *et al.*, 2000). Los requerimientos actuales de la población condiciona a las personas a perder los horarios establecidos de comida, debido a que se realizan actividades laborales o de placer sin importar si es de día o de noche, afectando negativamente la sincronización interna que los horarios de alimentación proveen a los organismos.

En años recientes, diferentes estudios han mostrado los efecto que la alteración de la ritmicidad biológica provoca en individuos de ambos sexos por: el trabajo nocturno, rotación de turnos y los viajes transmeridionales. En estas circunstancias, los individuos mantienen su actividad e ingieren alimento en horas no habituales, lo cual se ha visto reflejado en una desincronización interna. A causa de la desincronización los individuos presentan disturbios metabólicos, reproductivos (Knutsson, 2007; Salgado-Delgado *et al.*, 2010) así como una mayor predisposición al cáncer

(Davis y Mirik, 2006) y afecciones cardiovasculares y renales (Martino *et al.*, 2008; Scheer *et al.*, 2009). Otros estudios realizados en hombres y mujeres con trabajos de horarios nocturnos o con turnos rotatorios, se observó que presentan una alta liberación de hormonas esteroides como progesterona, estradiol y testosterona (Papantoniou *et al.*, 2015).

Este incremento en la producción de hormonas esteroides, la mayoría de las veces, genera una predisposición a padecer al cáncer de mama o endometrio en mujeres, así como cáncer de próstata en hombres (Viswanathan *et al.*, 2007; Sigurdardottir *et al.*, 2012; Jia *et al.*, 2013).

Respecto a las consecuencias que provoca una restricción prolongada de alimento en condiciones de laboratorio, se ha determinado que en roedores macho se disminuyen los niveles de testosterona y hormona luteinizante, provocando efectos negativos sobre los órganos reproductivos dependientes de andrógenos (Rehm *et al.*, 2008); mientras que una restricción de alimento leve puede bajar los niveles de testosterona y peso de la vesícula seminal, epidídimo y próstata. En aves de corral (los cuales presentan una estacionalidad reproductiva) se ha reportado una marcada disminución en el volumen del eyaculado y número de espermatozoides al ser expuestos a una reducción de alimento (Parker y McSpadden, 1943). En este sentido la desincronización interna sobre la fisiología reproductiva genera efectos en individuos adultos, pero además se tiene evidencia de que la limitación de la dieta de pollos jóvenes provoca un retraso en el crecimiento del testículo. En palomas estos efectos están relacionados con la supresión de la espermatogénesis y la reducción del tamaño de los testículos (McCarrison, 1919; Marrian y Parkes, 1928).

Como podemos ver, la irregularidad temporal en la ingestión de alimento puede provocar la una desincronización interna de forma similar a la generada por el trabajo nocturno o por restricción del alimento, de tal manera que predispone al organismo a presentar problemas metabólicos y reproductivos. Sin embargo, poco se ha explorado sobre los efectos de la desincronización interna a causa de la ingestión de alimento sin regularidad temporal sobre parámetros específicos de la biología reproductiva de los machos. Por tal motivo el objetivo de este trabajo es analizar el efecto de la alimentación en horarios impredecibles sobre características macro y microscópicas del contenido seminal de la rata macho de la cepa Wistar, con la finalidad de conocer más acerca de los posibles efectos que el alimento en horarios variable puede tener en la fisiología reproductiva, dado que esta práctica es cada vez más común en la sociedad actual.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sujetos experimentales

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar de 250-300g adultos jóvenes alojados en cajas de acrílico transparentes con medidas de 44 X 33 X 20 cm. Se mantuvieron durante 2 semanas, para su adecuación, en condiciones de bioterio con un ciclo de luz-oscuridad (12/12 h encendido a las 04:00 h considerado como ZT0) con agua y alimento *ad libitum*. Todos los procedimientos experimentales y de mantenimiento fueron realizados siguiendo lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y bajo la vigilancia del comité de Ética y Transparencia de la Facultad de Biología de la Universidad Veracruzana.

2.2 Grupos experimentales

Los machos fueron divididos al azar en cuatro grupos experimentales: 1) grupo *ad libitum* (AL, n=6) con alimentación *ad libitum* durante 27 días, fue considerado como grupo control ya que se mantuvo con alimentación habitual de roedores (Rodent Chow, Purina) en condiciones de bioterio; 2) grupo de alimentación fija nocturna (AFN, n=6), con disponibilidad de alimento de 21:00-23:00 h (ZT17-ZT19) durante 27 días, con el objetivo de generar la sincronización por alimento durante la fase de actividad; 3) grupo de alimentación fija diurna (AFD, n=6) con disponibilidad de alimento de

9:00-11:00 h (ZT5-ZT7) durante 27 días, con el objetivo de generar sincronización por alimento durante la fase de descanso de la especie, y 4) grupo de alimentación irregular (AIR, n=6) con alimentación diaria en diferentes horarios elegidos al azar durante dos horas al día, con un intervalo no menor de 18 h ni mayor de 36 h, durante 27 días (Tabla 1), con el objetivo de generar desincronización interna por horarios impredecibles de alimentación. Todos los grupos contaron con agua *ad libitum*.

Tabla 1. Horarios de alimentación del grupo irregular (AIR)

D1 00:00 - 02:00	D2 06:00 - 08:00	D3 16:00 - 18:00	D4 13:00 - 15:00	D5 20:00 - 22:00	D6 17:00 - 19:00	D7 14:00 - 16:00
D8 10:00 - 12:00	D9 19:00 - 21:00	D10 23:00 -	D11 - 01:00	D12 02:00 - 04:00	D13 07:00 - 09:00	D14 04:00 - 06:00
D15 12:00 - 14:00	D16 18:00 - 20:00	D17 15:00 - 17:00	D18 21:00 - 23:00	D19 22:00 - 00:00	D20 //://-//://	D21 05:00 - 07:00
D22 11:00 - 13:00	D23 09:00 - 11:00	D24 08:00 - 10:00	D25 17:00 - 19:00	D26 //://-//://	D27 01:00 - 03:00	D28 09:00 - 11:00

D=día experimental; //://=sin alimentación; relleno gris indica alimentación en fase de oscuridad.

2.3 Análisis de los parámetros macroscópicos

En el día 28 experimental después de ser sometidos a conducta sexual, se sacrificaron a los individuos con una sobre dosis de pentobarbital sódico (50 mg/Kg de peso) y se realizó la extracción del epidídimo del testículo derecho para obtener las muestras de líquido seminal. La cabeza del epidídimo fue diseccionada rápidamente y se tomaron 10 μ l de muestra con ayuda de una micropipeta diluyendo en formalina al 10% (1:50) para realizar posteriormente el conteo de espermatozoides. De forma inmediata se extrajo otra muestra de semen para analizar el color, pH y la viscosidad de la muestra. El color fue clasificado en tres tonalidades: blanco, grisáceo y amarillo por criterio del observador. La acidez fue medida con ayuda de un indicador de pH y la viscosidad de la muestra se realizó con ayuda de una pinza hemostática y un Vernier.

2.4 Conteo de espermatozoides

Se extrajo una gota de la muestra del semen fijado y los espermatozoides presentes en las casillas (para eritrocitos) se contaron en la cámara de Neubauer utilizando dos repeticiones (cuadrículas A y B) y teniendo un total de 10 casillas. Se consideró el criterio de exclusión de la línea inferior y derecha de los recuadros. Para obtener el número total de espermatozoides por muestra se aplicó la siguiente fórmula: Concentración = (no. células) (10000) / (no. cuadros) (factor de dilución). La dilución 1:50 se realizó (10 μ l de muestra en 500 μ l de formalina). Tanto el conteo de espermatozoides como la toma de imágenes para el análisis de la morfología y medición de la longitud de flagelo fueron realizados con ayuda de un microscopio óptico (Nikon E200).

3. RESULTADOS

Las características cualitativas macroscópicas (color y pH) no mostraron diferencias en ninguno de los grupos analizados, presentando el color blanco y un pH que varió entre 7 y 8. La morfología de los espermatozoides fue la característica para esta especie flagelo largo y cabeza en forma de hoz en todos los individuos analizados, sin embargo en las muestras de los grupos AFD y AIR se registró la presencia de la gota citoplasmática en la región media del flagelo; en menor proporción en el grupo de AFN y siendo imperceptible en las muestras del grupo AL. La viscosidad registrada por la longitud del filamento fue mayor en el grupo de animales sometidos a condiciones de alimentación fija y variable de los grupos AFN (de 5 a 15 mm), y AIR que varió de 7 a 15 mm en comparación con los animales mantenidos con alimento *ad libitum*, el cual varió de 2 a 9 mm (Fig. 1).

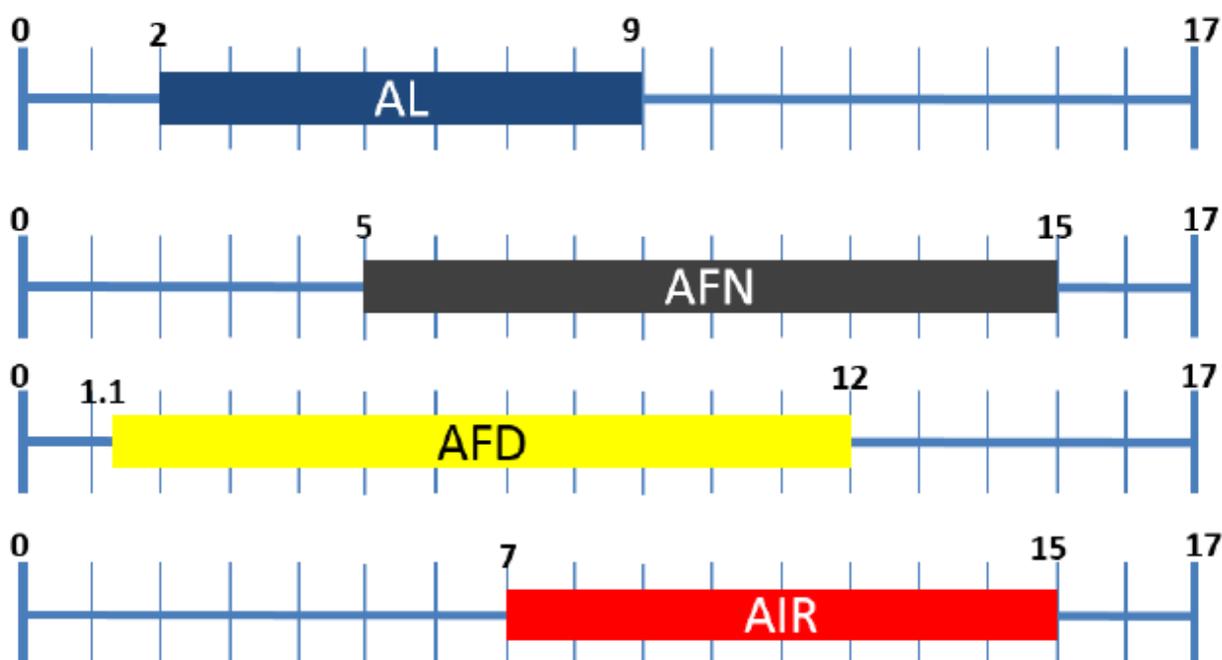


Figura 1. Longitud del filamento seminal en milímetros. Se muestran los límites máximos y mínimos del filamento en el Gpo *Ad libitum*, AL; el grupo con alimentación en la fase de oscuridad, AFN; con alimentación durante el día, AFD; y alimentación en horarios variables, AIR. Note que en el Gpo AIR y AFN, respectivamente, la longitud del filamento es mayor.

En cuanto al parámetro número de espermatozoides se encontró que para el grupo AL los valores variaron de 90 000 a 378 000 espermatozoides por mililitro de muestra; los individuos del grupo AFN de 150 000 a 374 000 espermatozoides por mililitro; el grupo de alimentación irregular AIR con valores de 126 000 a 324 000, encontrando en el grupo con alimentación en horario diurno, AFD, los valores fueron más estables y variaron de 218 000 a 276 000. Los límites mayores y menores de los datos son representados en la Figura 2.

La medición de la longitud total de los espermatozoides fue realizada con el software para imágenes (Adobe Photoshop, CC2014) en el objetivo 40X y la reglilla micrométrica ocular. Se consideraron 10 espermatozoides por campo visual elegidos de forma aleatoria para cada

individuo. Los resultados mostraron que en los tres grupos experimentales con alimentación tanto fija como variable (AFN, AIR y AFD respectivamente) la longitud total de los espermatozoides fue menor que el presentado en las muestras obtenidas del grupo AL que fue de 457 a 544 micras.

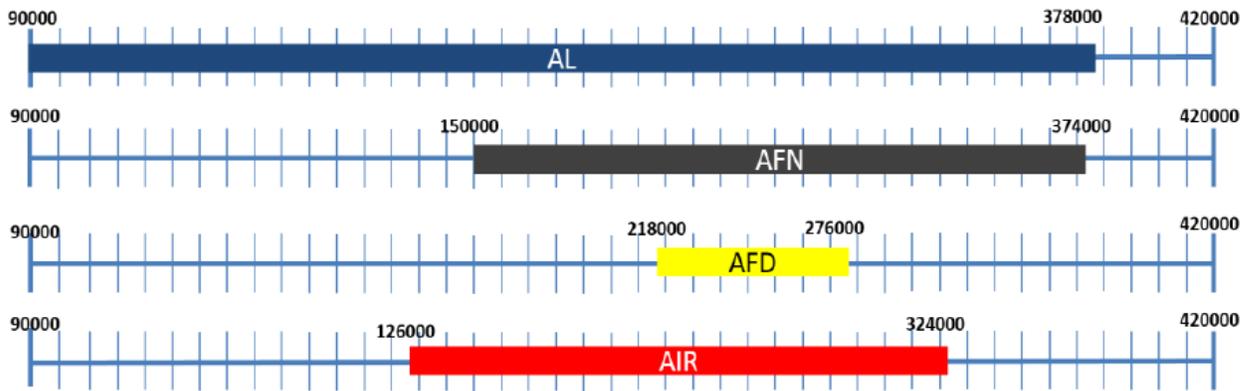


Figura 2. Número total de espermatozoides por mililitro de muestra, dilución 1:50. Se representan los límites mínimo y máximo para el filamento en el Gpo Ad libitum, AL; el grupo con alimentación en la noche, AFN; con alimentación durante el día, AFD, y alimentación en horarios variables, AIR. Note que en el Gpo AFN, y AL respectivamente, se localiza el dato de mayor número de espermatozoides.

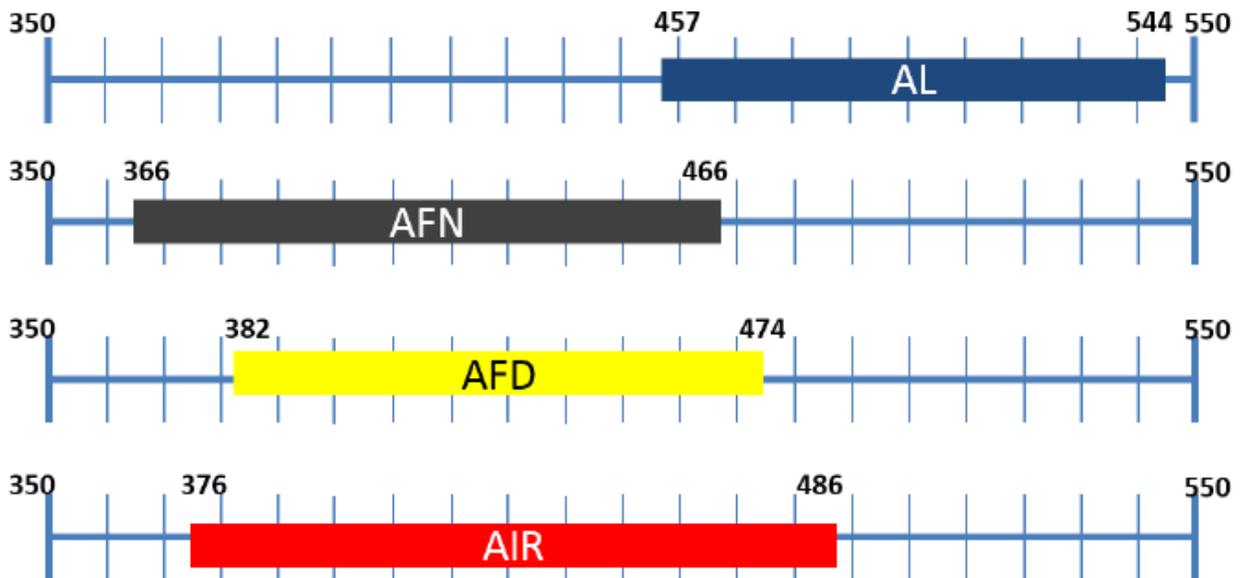


Figura 3. Longitud total de espermatozoides en los grupos experimentales analizados. Se muestran los límites mínimo y máximo de la longitud total del espermatozoide en el Gpo Ad libitum, AL; el grupo con alimentación en la noche, AFN; con alimentación durante el día, AFD y alimentación en horarios variables, AIR. Note que en el Gpo AL la longitud es mayor comparado con los grupos de alimentación fija y variable.

4. CONCLUSIÓN

Con estos resultados se sugiere que los horarios de alimentación variables generan problemas reproductivos en las ratas machos, generando alta viscosidad en el líquido seminal del epidídimo, problemas de maduración de los espermatozoides, la reducción en parámetros cuantitativos como la densidad espermática y la longitud total de los espermatozoides. Dado que la calidad del contenido seminal es baja en términos reproductivos, sugerimos que la alimentación en horarios variables genera consecuencias en el éxito reproductivo de los machos.

REFERENCIAS

1. F. Damiola, N. L. Minh, N. Preitner, B. Kornmann, F. Fleury-Olela, U. Schibler, "Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus", *Genes and Devel*, Vol. 14, 2000, pp. 2950-2961.
2. S. Davis, D. K. Mirick, "Circadian disruption shift work and the risk of cancer: a summary of the evidence and studies in Seattle", *Cancer Causes Control*, Vol. 17, 2006, pp. 539-545.
3. M. Díaz-Muñoz, O. Vázquez-Martínez, R. Aguilar-Roblero, C. Escobar, "Anticipatory changes in liver metabolism and entrainment of insulin, glucagon and corticosterone in food-restricted rats", *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Vol. 279, 2000, pp. 2048-2056.
4. C. Escobar, M. Díaz-Muñoz, F. Encinas, R. Aguilar-Roblero, "Persistence of metabolic rhythmicity during fasting and its entrainment by restricted feeding schedules in rats", *Am. J. Physiol.*, Vol. 274, 1998, pp.1309-1316.
5. Y. Jia, Y. Lu, K. Wu, Q. Lin, W. Shen, M. Zhu, "Does night work increase the risk of breast cancer? A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies", *Cancer Epidemiol.*, Vol. 37, 2013; pp.197-206.
6. D. T. Krieger, "Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity and brain amine periodicity", *Endocrinology*, Vol. 95, 1974, pp. 1195-1201.
7. K. L. Knutsson, K. Spiegel, P. Penev, E. Van Cauter, "The metabolic consequences of sleep deprivation", *Sleep. Med. Rev.*, Vol.11, 3, 2007, pp.163-178.
8. R. McCarrison, "The effects of a scorbutic diet on the adrenal glands", *Br. Med. J.* Vol. 2, 1919; pp. 200.
9. T. A., Martino, G. Y. Oudit, A. M Herzenberg, N. Tata, M. M. Koletar, "Circadian rhythm disorganization produces profound cardiovascular and renal disease in hamsters", *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Vol. 294, 5, 2008, pp. 1675-1683.
10. G.F. Marrian, "The effect of inanition and vitamin B deficiency on the adrenal glands of the pigeon", *Biochem. J.*, Vol. 22, 1928; pp. 836-844.
11. K. Papantoniou, A.P. Espinosa, J. Marcos, G. Castaño-Vinyals, X. Basagaña, E. Juanola Pagés, J. Mirabent, J. Martín, P. Such Faro, A. Gascó Aparici, B. Middleton, D. J. Skene, M. Kogevinas, "Increased and Mistimed Sex Hormone Production in Night Shift Workers", *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 24,5, 2015, pp. 854-63.
12. J. Parker, B. McSpadden, "Influence of feed restriction on fertility in male domestic fowls". *Poultry. Sci.*, Vol. 22, 2, 1943, pp.170-177.
13. J. Parker, B. McSpadden, "Seasonal variation in semen production in domestic fowls". *Poultry. Sci.*, Vol. 22, 2, 1943, pp. 142-147.
14. S. Rehm, T. White, E. Zahalka, D. Stanislaus, P. W. Rogely Boyce, "Effects of food restriction on testis and accessory sex glands in maturing rats". *Toxicologic. Pathology*. Vol. 36, 5, 2008, pp. 687-94.
15. R. Salgado-Delgado, M. Angeles-Castellanos, N. Sadari, R. Bujis, C. Escobar, "Food intake during normal activity phase prevents obesity and circadian desynchrony in a rat model of night work", *Endocrinology*, Vol. 151, 3, 2010, pp. 1-11.

16. F. A. Scheer, M. F. Hilton, C. S. Mantzoros, S. A. Shea, "Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment", *PNAS*, Vol. 106, 11, 2009, pp.4453-4458.
17. J. Sierra-Johnson, A. L. Undén, M. Linestrand, M. Rosell, P. Sjogren, M. Kolak, U. De Faire, R. M. Fisher, M. L. Hellénus, "Eating meals irregularly: a novel environmental risk factor for the metabolic syndrome", *Obesity*, Vol.16,6, 2008, pp. 1302-1307.
18. L.G. Sigurdardottir, U.A. Valdimarsdottir, K. Fall, J.R. Rider, S.W. Lockley, E. Schernhammer, "Circadian disruption, sleep loss, and prostate cancer risk: a systematic review of epidemiologic studies". *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, Vol. 21, 2012; pp.1002-11.
19. Viswanathan AN, Hankinson SE, Schernhammer ES. "Night shift work and the risk of endometrial cancer". *Cancer Res* Vol. 67, 2007; pp.10618-22.

OPTIMIZACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA EVALUAR EL COMPORTAMIENTO IN VITRO DE BIOMATERIALES TRIDIMENSIONALES

Ana Edith Higareda Mendoza¹, Ena Athenea Aguilar Reyes¹, Robin A. L. Drew² y Marco Aurelio Pardo Galván¹

¹ Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. ² Concordia University, Montreal, QC, Canadá

RESUMEN

Es reto actual de la bioingeniería de tejidos es desarrollar sustitutos óseos que funjan como soporte y favorezcan la regeneración ósea. El material de soporte deberá poseer características fisicoquímicas que promuevan la adhesión, proliferación y diferenciación celular para dar lugar a la osteogénesis, tener una función temporal, reabsorberse y sustituirse progresivamente por tejido óseo neoformado. Para ello es imprescindible la realización de estudios que permitan evaluar el comportamiento *in vitro* e *in vivo* de dichos biomateriales. Existen diversos estudios *in vitro* para evaluar la biocompatibilidad, osteoinductividad y osteoconductividad de los mismos, así como modelos celulares apropiados. Sin embargo, la mayoría han sido implementados para evaluar marcadores en monocapas celulares (doble dimensión). El reto actual es la reproducibilidad de las técnicas para biomateriales tridimensionales. Por lo anterior, el objetivo fue implementar modificaciones a diversos ensayos como: Azul de Alamar, actividad de alcalino fosfatasa, rojo de alizarina S, entre otros. Se lograron resultados reproducibles para la determinación del grado de adhesión, proliferación y diferenciación celular, así como para la cuantificación de deposición mineral. La reproducibilidad de los resultados se logró implementando pasos de lavado y recambio de medio de cultivo diario para los ensayos de Azul de Alamar, además de la lisis celular para la cuantificación de la actividad de alcalino fosfatasa, y el lavado exhaustivo para el ensayo de mineralización ósea.

1. INTRODUCCIÓN

La medicina regenerativa es un campo interdisciplinario cuyo objetivo final es el reemplazo, la reparación o la restauración de un tejido u órgano dañado. Este campo de investigación, llamado también ingeniería de tejidos, surge de la necesidad de reconstruir tejidos u órganos dañados por enfermedad, trauma o anomalías congénitas, tanto en niños como en adultos (1,2). El interés de las nuevas tecnologías biológicas, como la ingeniería de tejidos, es la regeneración de tejidos, que implica la restitución íntegra del tejido dañado. En este sentido, el hueso, la córnea y el hígado son los únicos tejidos del organismo, a excepción del tejido embrionario, que se restituyen sin cicatrices al cabo de un tiempo (3).

En los últimos años, las estrategias de ingeniería de tejidos se han convertido en una alternativa que busca mejorar la calidad de vida de los pacientes, así como superar la grave escasez y los largos tiempos de espera para un trasplante de órganos. En general, la escasez de órganos es un problema creciente en todo el mundo, debido al aumento en la incidencia de insuficiencia orgánica y la insuficiencia de donantes de órganos. En los Estados Unidos un paciente es añadido a la lista de espera de órganos cada 10 min, mientras que un promedio de 18 muertes/día se debe a la escasez de donantes (4). Esta problemática se ha visto incrementada por el estilo de vida, la

incidencia de accidentes, obesidad y el envejecimiento de la población; por ende, las soluciones ortopédicas de mayor demanda son la reparación de articulaciones y huesos, las fracturas, los tratamientos oral y maxilofaciales, la osteoporosis y los tumores óseos (4). A nivel mundial, el hueso es el segundo tejido más trasplantado (4). En México, la esperanza de vida promedio ha aumentado en las últimas décadas; la distribución por edad nos indica que el porcentaje de adultos mayores aumenta día a día y, con ello, los problemas relacionados al envejecimiento, como la osteopenia y de manera alarmante, la osteoporosis, lo que representa un grave problema de salud pública con consecuencias sanitarias, económicas y asistenciales, lo cual impacta negativamente en el presupuesto de la nación (5).

2. TEORÍA

El hueso es un tejido en constante renovación y que posee íntegra su capacidad de regenerarse. Sin embargo, dependiendo del tipo de defecto y los factores causales de las lesiones óseas, existen situaciones en las cuales la regeneración ósea puede verse truncada y es necesario utilizar técnicas que estimulen una correcta reposición del tejido. Esta constante renovación ósea, caracterizada por una homeostasis entre reabsorción y aposición ósea, renueva de un 5-10% del hueso total al año. El remodelado óseo existe toda la vida, pero el balance es positivo sólo hasta la tercera década. A partir de aquí, existe un predominio de la reabsorción y la masa ósea empieza a disminuir. En este proceso también participan factores mecánicos o traumáticos, cuya energía física provoca una zona de deformación y por ende de reabsorción; también participan algunos procesos infecciosos, alteraciones hormonales, genéticas, vasculares, nutricionales y neoplasias, que pueden llegar a establecer una pérdida ósea que supera la capacidad de respuesta regenerativa del sistema. (6)

Por consiguiente, se requiere idear terapias que promuevan la regeneración de un tejido óseo anatómico y funcionalmente idéntico al original, y que proporcionen un tratamiento terapéutico para las condiciones en las que las terapias actuales son inadecuadas (2,7-8). El uso de biomateriales reabsorbibles como andamios ha sido el pilar fundamental de las prácticas regenerativas, pues permiten guiar el proceso de regeneración aislando las células que no deben participar en éste y funcionando como una matriz en la que las células encuentran un lugar para adherirse, proliferar y especializarse para formar un tejido óseo funcional (6,9); esto se conoce como regeneración ósea guiada (ROG), y requiere del conocimiento de los mecanismos biológicos y moleculares que rigen la reparación del tejido, del reconocimiento de situaciones en que es necesario indicar el uso de esta técnica, de la disponibilidad de biomateriales adecuados para ser implantados en el sitio del defecto óseo, y de que se posean las destrezas clínicas para procurar el éxito de la regeneración ósea (6). La visión actual de las investigaciones interdisciplinarias pretende lograr a través de la ROG en biorreactores, la formación in vitro de tejido óseo tridimensional.

Los biomateriales pueden ser inertes (no provocan ningún tipo de reacción en el organismo) o bioactivos (provocan reacciones favorables que estimulan la regeneración ósea); estos a su vez pueden ser estables (permanecen en el organismo en la misma forma y tamaño), como implantes actuales de cadera, o reabsorbibles (se van degradando a medida que pasa el tiempo, favoreciendo con ello la función que realizan), como las suturas de tejidos internos que desaparecen a medida que el tejido se restaura (10). Los biomateriales utilizados como andamios en la ROG deben cumplir con algunos requisitos dependientes de la geometría, la composición química del material y las propiedades mecánicas óptimas para que la viabilidad celular, la proliferación y la regeneración sean posibles (6). Es decir, al momento de seleccionar o diseñar un andamio tridimensional se debe considerar que éste cumpla con ciertos criterios ideales, tales como (3,6,9-12): biocompatibilidad; biodegradabilidad; resistencia y compatibilidad mecánica; osteoinductividad; biofuncionalidad; alta porosidad y tamaño de poro adecuado para facilitar la implantación, difusión celular a través de toda la nanoestructura y favorecer la vascularización; de fácil y reproducible procesado, modificable y esterilizable, para obtener distintas configuraciones en atención al tipo y tamaño del defecto óseo; y debe ser de bajo costo.

El desarrollo de la ingeniería de tejidos en el área de biomateriales exhibe materiales que cumplen en mayor o menor grado estas propiedades. Existen familias de materiales con características que les hacen útiles para un rango específico de aplicaciones clínicas, por lo que, según sea la aplicación se debe seleccionar el biomaterial para garantizar el éxito de la de ROG.

En forma tradicional, los defectos óseos se han tratado implantando tejidos autólogos (fragmentos de hueso del paciente), alogénicos (hueso de cadáver acelular procesado), xenogénicos (porciones de hueso provenientes de animales) o en otros casos implantando materiales sustitutos sintéticos o también llamados materiales aloplásticos (metales, plásticos, cerámicos y vitrocerámicos); todos con ventajas y desventajas asociadas (6).

Los materiales utilizados hoy en día en la ingeniería de tejido óseo se pueden dividir en grupos básicos, como polímeros sintéticos o naturales, cerámicos, metales y materiales compuestos que combinan entre sí las propiedades de dos o más tipos de material. Dentro de estos, los materiales biodegradables centran su importancia como dispositivos mecánicos de apoyo temporal (suturas y los dispositivos de fijación ósea), ya que se espera que estos andamios sean gradualmente sustituidos por tejido óseo totalmente regenerado y funcional (13); en general, estos nanobiomateriales bioactivos y biodegradables imitan la matriz extracelular, constituyen un auténtico soporte celular y son, por tanto, capaces de estimular la regeneración del tejido y al mismo tiempo disminuyen las necesidades de futuras cirugías (3).

Aunque varios estudios han reportado una variedad de andamios con excelente biocompatibilidad y participación en la ROG, aún son urgentemente necesarios nuevos conceptos de diseño y técnicas de fabricación, así como la validación de los mismos en modelos celulares y animales. Un problema que no ha sido ampliamente estudiado es la fijación e integración de los andamios con la adhesión del tejido circundante. Para atacar este problema es necesario el diseño de andamios con superficies internas que promuevan la adhesión celular y guíen la diferenciación celular, con superficies externas diseñadas para asegurar su integración con el tejido circundante, evitando la extrusión y el movimiento. Esto implica también el investigar las relaciones que vinculan la composición y arquitectura de los materiales con el comportamiento mecánico y la capacidad para la osteogénesis. Una vez que se definan estas estrategias básicas, el conocimiento podrá utilizarse para diseñar novedosos sistemas capaces de manipular la bioquímica y respuesta celular. Estos materiales servirán para realizar estudios como el efecto de la rugosidad superficial de los andamios en la osteogénesis o sobre los perfiles de liberación de biomoléculas y/o fármacos. Adicionalmente, se podrán aplicar diversas herramientas para monitorear y manipular el medio ambiente fisicoquímico y para monitorear a nivel molecular los procesos celulares claves. (14)

En este contexto, la reproducibilidad de las técnicas empleadas constituye un reto al trabajar con estos biomateriales en tercera dimensión. El objetivo fue implementar modificaciones a diversos ensayos (proliferación, citotoxicidad, actividad de marcadores osteogénicos, de diferenciación y mineralización ósea) para minimizar el ruido de fondo y lograr la reproducibilidad cuantitativa.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Previamente a los ensayos biológicos, los andamios son caracterizados para garantizar que tienen la distribución de tamaño de poros adecuado, así como la porosidad y la interconexión de poros; se maquilan los andamios para tener las dimensiones 3-D y características de porosidad similares. Para los estudios celulares se utilizó la línea celular MC3T3-E1 que corresponde a preosteoblastos de ratón, que permanecen en estado proliferativo a menos que sea inducida la diferenciación, por el mismo andamio o por el uso de medios de cultivo osteogénico (suplementados con ácido ascórbico, dexametasona, y/o fosfato inorgánico).

Para observar la interconexión, el tamaño y distribución de poros se deshidrataron las muestras con soluciones crecientes de etanol y se recubrieron con cobre para ser observadas mediante microscopia electrónica de barrido (MEB).

Para evaluar viabilidad, adhesión y proliferación celular se colocó sobre cada material una suspensión celular de concentración conocida (suficiente para cubrir cada material) y se incubó durante 5 h para permitir la adhesión celular. Como control se utilizó una placa de cultivo con una superficie suficiente para tener una confluencia inicial entre el 30 y 50%. A las 5 h se determinó por microscopía el porcentaje de células adheridas en el cultivo control; cada biomaterial se colocó en una placa nueva y se le agregó medio de cultivo nuevo con 10% de volumen de Azul de Alamar, al igual que a los cultivos control, así como a la suspensión celular restante de cada compositor; se incubaron durante 3 h para posteriormente medir la reducción del azul de alamar y determinar el porcentaje de células adheridas a cada biomaterial, así como la concentración y viabilidad celular relativa en el tiempo cero. El ensayo se realizó a las 24, 48, 72 y 120 horas para observar la cinética de proliferación celular y determinar el inicio de la inducción a la diferenciación.

Se montaron cultivos con los biomateriales sembrados para tomar muestras los días 7, 10, 14, 21 y 28 para evaluar marcadores osteogénicos como la actividad enzimática de alcalino fosfatasa y el grado de mineralización realizando una tinción in situ con rojo de alizarina S, que permite contabilizar los depósitos de calcio por microscopia óptica y cuantificar el grado de mineralización por espectrofotometría (415 nm).

4. RESULTADOS

La reproducibilidad del grado de adhesión celular a un andamio determinado, y en relación a un control 2-D de poliestireno (placa de cultivo), se logró realizando lavados del andamio con PBS y cambiando a una placa de cultivo nueva y con medio nuevo cada que se añadía el Azul de Alamar (tiempo 0, 24, 48, 72 y 120 horas).

Existen diversos kits para determinar la actividad enzimática de alcalino fosfatasa (ALP), algunos son basados en la secreción de ALP y otros incluyen un paso de lisis celular para medir la ALP intracelular y la membranal. Se realizó un análisis del fundamento de cada kit; se optó por armar un ensayo basado en MUP (4-metilumbeliferil fosfato) y probar varios sistemas de lisis celular (Igepal, ProteoJet, soluciones hipotónicas). Los mejores resultados se obtuvieron lisando con Igepal.

Para ver el grado de mineralización ósea, uno de los métodos más utilizados es la tinción de depósitos de calcio con rojo de alizarina S. Para que el ensayo sea cuantitativo, el material se lava con PBS, se recupera el colorante fijado y se cuantifica el grado de mineralización por espectrofotometría (415 nm). El protocolo reportado habla de un número determinado de lavados (de 3 a 5), sin embargo es insuficiente y el colorante no fijado altera la cuantificación. Se modificó el protocolo para que la recuperación se hiciera posterior a una lectura del sobrenadante con una absorbencia menor a 0.005. Otros reportes sugieren recuperar las células del andamio con tripsina y luego realizar el proceso de tinción, sin embargo, con esta estrategia sólo se observa el calcio intracelular y el adherido a la membrana plasmática; perdiéndose el de la matriz extracelular.

5. CONCLUSIONES

Se lograron optimizar los ensayos de grado de adhesión, proliferación y diferenciación celulares; teniendo reproducibilidad entre las muestras de un mismo tipo de biomaterial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jimi E, Hirata S, Osawa K, Terashita M, Kitamura C, Fukushima H. The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects. *Int J Dent*. 2012, 2012:148261(1-7).
2. Ramakrishna V, Janardhan PB, Sudarsanareddy L. Stem Cells and Regenerative Medicine - A Review. *Annu Rev Res Biol*. 2011, 1(4):79-110.
3. Larena Pellejero A. Aplicaciones de nuevos nanomateriales en cirugía ortopédica y traumatología. *Pat Aparato Locomotor*. 2007, 5(2):116-124.
4. Liu Y, Lim J, Teoh SH. Review: development of clinically relevant scaffolds for vascularised bone tissue engineering. *Biotechnol Adv*. 2013, 31(5):688-705.
5. Diagnóstico y Tratamiento de Osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. México, Secretaría de Salud, 2013.
6. Suárez D. Principios básicos en regeneración ósea guiada. . *Acta bioclínica*. 2012, 2(3): 89-116.
7. Holzwarth JM, Ma PX. Biomimetic nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2011, 32(36):9622-9629.
8. Hoppe A, Güldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011, 32(11):2757-2774.
9. Dinatale E, Guercio E. Regeneración ósea guiada. *Acta Odont Venezolana*. 2008, 46(4):1-10.
10. Piña-Barba MC, Medina-Molotla N. Los materiales de implante. *Rev Mat Avan*. 2004, 3:6-12.
11. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol*. 2012, 30(10):546-54.
12. Velasco-Peña MA, Garzón-Alvarado DA. Implantes Scaffolds para regeneración ósea: Materiales, técnicas y modelado mediante sistemas de reacción-difusión. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2010, 29(1):141-154.
13. Vandrovcová M, Bačáková L. Adhesion, Growth and Differentiation of Osteoblasts on Surface-Modified Materials Developed for Bone Implants. *Physiol Res*. 2011, 60: 403-417.
14. Saiz E, Zimmermann EA, Lee JS, Wegst UG, Tomsia AP. Perspectives on the role of nanotechnology in bone tissue engineering. *Dent Mater*. 2013, 29(1):103-115.

DETERMINACIÓN DE NITRATO EN AGUA POR MEDIO DE ESPECTROSCOPÍA ULTRAVIOLETA

N. B. Jiménez Chávez, A. Montes Rojas, L. M. Torres Rodríguez

¹Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas

RESUMEN

La determinación de nitratos por espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis) generalmente se realiza a una longitud de onda (λ) que se localiza entre 203 a 220 nm [1, 2, 3]. En esta longitud de onda se ha podido conocer que no existe interferencia por iones como cloruro, sulfato, y materia orgánica; sin embargo, entre sus inconvenientes se encuentra que a esta longitud de onda el máximo de absorción no está bien definido y su dependencia con la concentración no es muy clara. Debido a esto se ha propuesto que la determinación se realice empleando el máximo de absorción que se encuentra alrededor de 302 nm [4], el cual está mejor definido. Solo que en esta propuesta, la metodología empleada es demasiado elaborada y no se conocen los efectos de otros iones. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos al determinar directamente la concentración de nitrato a una λ de 306 nm, en muestras sin turbidez, cuya concentración se encuentra entre 0.05 M y 0.1 M en presencia de sulfatos, cloruros o carbonatos. Entre los resultados obtenidos se encuentra que los componentes mencionados no afectan la determinación cuantitativa de nitratos, por lo que no es necesario un tratamiento previo a la muestra para su eliminación. Además, los datos de la determinación fueron obtenidos utilizando la λ del pico de absorción, así como empleando el área bajo la curva de dicho pico, encontrándose que ambos procedimientos son altamente confiables. Por lo anterior se sugiere que la determinación puede realizarse a la longitud de onda del pico de absorción de 306 nm de una manera más fácil, confiable y rápida.

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno inorgánico se encuentra presente en el ambiente en varias formas química, ya sea como amoníaco, nitritos o, una de las más comunes, en forma de nitrato [5]. Esta última especie presenta una toxicidad importante para los animales acuáticos [6] y los humanos, principalmente los infantes menores de 4 meses [7], ya que al ingresar al cuerpo y entrar en contacto con la sangre, el nitrato se convierte en nitrito, el cual sustituye al hierro en la hemoglobina e imposibilita el transporte del oxígeno provocando asfixia a quien lo padece. A este padecimiento se le conoce como, "metahemoglobinemia" y un rasgo característico en los humanos es que la piel toma una coloración azul.

Una de las vías por las el ión nitrato puede ingresar al cuerpo de manera directa es al tomar agua contaminada, y esto puede ocurrir debido a la incorporación de esta especie a los cuerpos de agua por el uso extensivo de fertilizantes o por la expulsión de desechos con altas concentraciones de esta especie.

En nuestro país el uso irracional del agua y su contaminación ha llevado a que una alta proporción de pozos se encuentre en sobreexplotación y que la concentración de nitratos ronde valores superior a los especificados por la normatividad (10 mg L^{-1} de nitrógeno como NO_3^-) [SEMARNAT,

OMS]. De esta manera es importante monitorear la cantidad de esta especie, de modo a impedir un riesgo para la salud humana. Esto lleva indudablemente a contar con metodologías que permitan la determinación de nitratos de manera fácil, confiable y práctica.

2. TEORÍA

La espectroscopía ultravioleta-visible utiliza la radiación electromagnética de las regiones cercana a ultravioleta, visible y cercana a infrarroja con una longitud de onda que va desde 190 nm hasta 780 nm. Los electrones de la capa de valencia de las moléculas absorben la energía y pasan de un estado basal a un estado excitado, liberando entonces exceso de energía en forma de calor, emitiendo un espectro cuyas transiciones electrónicas pueden ser cuantificadas. Esta transición ocurre desde un orbital con electrones a uno vacío. Las diferencias entre energías varían entre los diversos orbitales. Algunos enlaces, como los dobles, provocan coloración en las moléculas ya que absorben energía en la región visible así como en la UV.

Cuando un haz de radiación UV-Vis atraviesa una disolución conteniendo un analito absorbente, la intensidad incidente del haz es atenuada. Esta fracción de radiación que ha logrado traspasar la muestra es denominada transmitancia (T) ($T = I/I_0$). Es común que se utilice la absorbancia (A) en lugar de la transmitancia ($A = -\log T$), por estar relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente según la Ley de Beer-Lambert.

En absorción UV-Visible, pueden observarse las distintas transiciones electrónicas:

Transición $\sigma \rightarrow \sigma^*$ a longitudes de onda < 150 nm. Este tipo de transiciones se dan sobre todo en hidrocarburos que únicamente poseen enlaces C-H o C-C. La energía requerida para que tenga lugar esta transición es relativamente grande, perteneciente a la región espectral denominada ultravioleta de vacío.

Transiciones $n \rightarrow \sigma^*$ a longitudes de onda entre 150-200 nm. Correspondientes a hidrocarburos que poseen átomos con pares de electrones no compartidos (electrones de no enlace). La energía necesaria para que se produzca esta transición sigue siendo alta perteneciendo éstas a la región espectral UV Lejano.

Transiciones $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$ entre 200-700 nm. La mayoría de las aplicaciones de espectroscopia UV-Visible están basadas en transiciones que ocurren en esta zona. Se requiere que las especies participantes aporten un sistema de electrones. Las energías de excitación en las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ son medianamente altas, correspondiendo a la región UV Lejano y Próximo, mientras que las $n \rightarrow \pi^*$ son considerablemente menores, correspondiendo a la región visible del espectro.

Este método es altamente utilizado en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones con iones metálicos, compuestos inorgánicos y compuestos orgánicos altamente conjugados.

Este método ha sido utilizado ampliamente en la determinación de nitrato en agua y suelos. Básicamente se ha reportado en la literatura que los puntos de absorbancia de este ión son a 210, 220 y 302 nm. En la Figura 1 puede observarse el espectro de absorbancia del nitrato en estas regiones, en la que la absorbancia situada a 210 nm corresponde a una transición $n \rightarrow \sigma^*$, mientras que el pico ubicado en alrededor de 300 nm parece indicar una transición $n \rightarrow \pi^*$. Cabe mencionar que el pico de mayor longitud de onda puede distinguirse solo a mayores concentraciones.

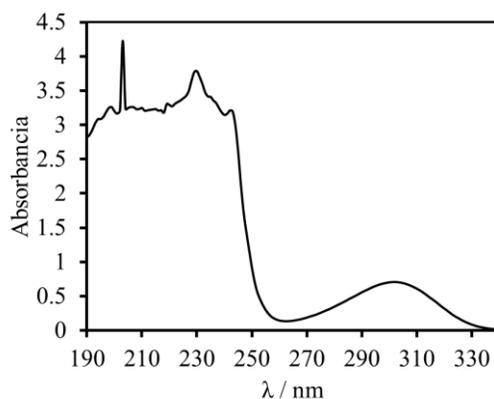


Figura 1. Espectro uv de de nitrato en agua.

Puede observarse con claridad que existe un pico de absorbancia bien definido a 210 y a 302 nm, este último cuando la concentración de nitrato es del orden de gramos, mientras que la primera es para concentraciones más bajas de dicho ión.

En la mayoría de los métodos reportados, el método general consiste en acidificar la muestra inicial, generalmente con ácido perclórico o sulfúrico, para eliminar la turbidez y minimizar la interferencia de otros iones como cloruro, posteriormente en caso de interferencia de materia orgánica se propone algunas opciones como calentar la muestra, agregar algún reactivo o simplemente restar la absorbancia de la misma a la absorbancia del nitrato, y finalmente obtener la lectura en absorbancia de la muestra problema.

Se ha encontrado que cuando la determinación se hace a 210 nm se alcanza un mejor límite de detección y la curva de calibración presenta una buena correlación lineal [1]. Al evaluar el efecto de interferencias se ha encontrado que los nitritos pueden ser eliminados con ácido sulfúrico y la materia orgánica con reactivo de alúmina [10].

Otros autores han hecho uso de este método en el análisis de aguas contaminadas [11, 12], proponiendo eliminar la interferencia de materia orgánica calentando la muestra a 100°C antes del análisis o restando la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 275 nm, correspondiente a la materia orgánica. Se ha reportado también que el nitrato presenta una banda ancha de absorción aproximadamente de 270 a 320 nm [4, 13], y en esta rango se reportó un estudio para la determinación empleando el método de mínimos cuadrados parciales seleccionando como región de estudio el intervalo de 250 a 310 nm, se compararon sus resultados con un método de referencia, el método Devarda,

El presente trabajo tiene como propósito exponer un método rápido y confiable para la determinación cuantitativa de nitrato en un rango de concentración molar de 0.001 M a 0.1 M en muestras sin turbidez.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para realizar este estudio, fue necesario preparar soluciones con diferente concentración del ión nitrato y de otros iones que pudieran ocasionar una interferencia [14, 15] en la lectura de éste. Se eligió realizar este experimento investigando si había efecto de interferencias por iones cloruro, sulfato o carbonato, ya que son los que comúnmente se encuentran presentes en aguas naturales acompañando al nitrato.

Las soluciones utilizadas en este trabajo fueron preparadas con sales grado reactivo, las cuales previamente se secaron en un horno a una temperatura de 110°C durante dos horas. Posteriormente, empleando estos reactivos se prepararon soluciones primarias de nitrato de potasio 1 M, sulfato de sodio 0.1 M, carbonato de sodio 0.1 M y cloruro de sodio 0.1 M, a partir de las cuales se prepararon las soluciones secundarias requeridas para llevar a cabo el estudio, Tabla 1. El agua utilizada para preparar las soluciones de trabajo fue obtenida de un dispositivo Millipore, la cual posee una resistividad de 18 MΩ cm.

Para el análisis por ultravioleta se empleó un espectrofotómetro de la marca Thermo Scientific modelo Genesis 10S uv-vis.

Tabla 1. Concentración molar de las soluciones empleadas en este trabajo.

	[NaCl] 0.01M	[Na ₂ SO ₄] 0.01 M	[Na ₂ CO ₃] 0.01 M	[Na ₂ SO ₄] [NaCl] [Na ₂ CO ₃] 0.01 M
KNO₃	0.001	0.001	0.001	0.001
	0.005	0.005	0.005	0.005
	0.01	0.01	0.01	0.01
	0.05	0.05	0.05	0.05
	0.1	0.1	0.1	0.1

Los espectros de absorción UV-vis de las soluciones fueron obtenidos en el intervalo de longitud de onda de 190 a 400 nm. Estos espectros fueron utilizados para realizar las curvas de calibración necesarias QUE SE PODRIAN UTILIZAR EN analizar muestras sintéticas y evaluar el efecto de los componentes de la solución en la determinación de la concentración de nitrato.

4. RESULTADOS

El primer paso fue obtener el espectro de soluciones estándar de concentración conocida de nitrato, los cuales se muestran en la Figura 1.

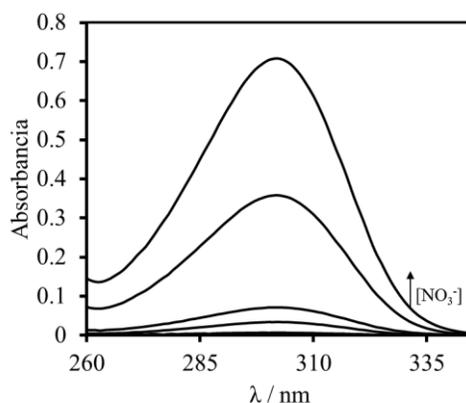


Figura 1. Espectros de las soluciones estándar con diferente concentración molar de KNO₃.

Puede distinguirse con claridad una curva bien definida situada entre 270 y 330 nm aproximadamente, con un pico alrededor de 306 nm, el cual está en función de la concentración del ión de interés.

Posteriormente se evaluó el espectro de soluciones de nitrato con una concentración conocida de otros compuestos para observar si se producía interferencia de alguno de ellos en la lectura. Dichos espectros se muestran en la Figura 2 (curvas con: a) cloruro, b) sulfato y c) carbonato).

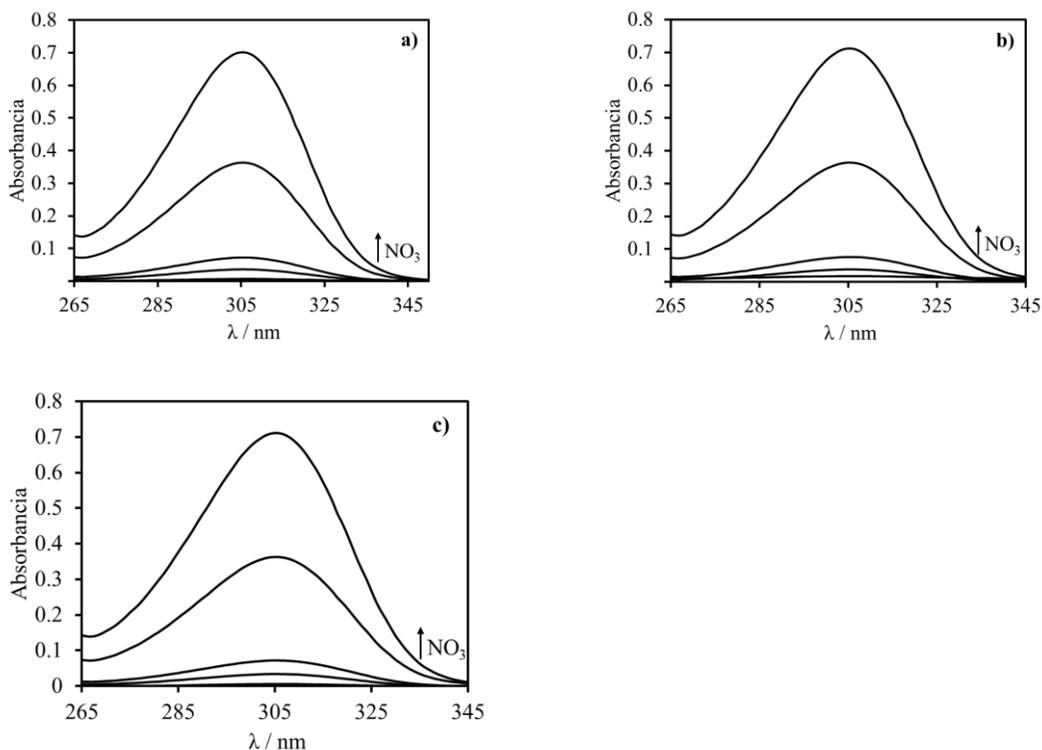


Figura 2. Espectro ultravioleta de las soluciones con 0.1 M de nitrato y 0.01 M de a) cloruro, b) sulfato y c) carbonato.

Se puede apreciar que en el rango de estudio del presente trabajo (de 270 a 320 nm) todas las muestras presentan el mismo comportamiento, es decir, una banda ancha de absorción correspondiente a la concentración de nitrato, y no se visualiza ninguna interferencia de los demás componentes en la solución.

Al compararlos con los espectros de las soluciones que contienen sólo nitrato (Figura 3) se puede señalar que la respuesta espectrofotométrica de todas las soluciones es prácticamente la misma, en el intervalo de estudio para la concentración de nitrato.

Con el objetivo de comprobar cuantitativamente que no hubiera efecto alguno de los otros componentes en la determinación de nitrato, se comparó la determinación de nitrato calculada a partir de varios métodos.

Uno de ellos fue calcular el área bajo la curva, para este cálculo se seleccionó la región situada entre 285 y 315 nm, como puede apreciarse en la Figura 3. Para determinar el área bajo la curva se obtuvo la ecuación de la misma y se desarrolló la primera derivada, posteriormente se sustituyeron los límites de longitud de onda entre los cuales se requirió calcular el área.

En este método se trató de relacionar la concentración de nitrato con el área bajo la curva; pero no fue posible encontrar una relación lineal entre los datos, como se muestra en la Tabla 2.

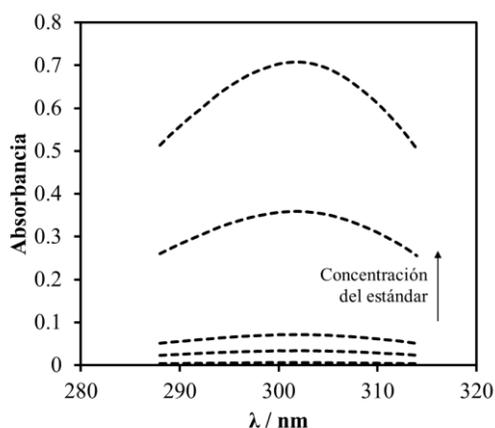


Figura 3. Área bajo la curva de absorbancia seleccionada para la determinación cuantitativa de nitrato de los espectros de los estándares.

Tabla 2. Relación entre área bajo la curva del espectro y concentración de nitrato.

[NO ₃] teórico	Ecuación de la curva	Área bajo la curva
0.001	$(1 \times 10^{-5})x^2 + 0.007x - 1.147$	2.32
0.005	$(6 \times 10^{-5})x^2 + 0.036x - 5.445$	1.26
0.01	$(1 \times 10^{-4})x^2 + 0.072x - 10.78$	49.58
0.05	$(6 \times 10^{-4})x^2 + 0.36x - 53.85$	2.75
0.1	$(1 \times 10^{-3})x^2 + 0.711x - 106.3$	464.37

Siguiendo lo escrito en la literatura, se comparó la concentración de nitrato calculada en diferentes longitudes de onda.

Se tomó la lectura de dos muestras con diferente concentración teórica de nitrato (0.01 y 0.05 M), la lectura se realizó después de haber calibrado el método correspondiente.

Las longitudes de onda seleccionadas fueron 210, 230 y 304 nm, acorde a lo encontrado en los reportes bibliográficos [11, 12, 13].

Al realizar un estudio más detallado de los datos, puede decirse que cuando la lectura se lleva a cabo a una longitud de onda de 230 nm se obtiene el menor nivel de confiabilidad que con los otros métodos. Si la determinación se realiza a una longitud de onda de 210 o 304 nm, el porcentaje de error es mucho menor.

Tabla 3. Comparación de la determinación de nitrato en diferentes longitudes de onda.

λ /nm	$[\text{NO}_3^-]_t$	Abs	$[\text{NO}_3^-]_c$	% Er
210 nm	0.01	3.01	0.014	-42.0
	0.05	3.20	0.043	14.2
230 nm	0.01	3.20	0.004	55.2
	0.05	3.58	0.060	-19.1
304 nm	0.01	0.08	0.011	-8.4
	0.05	0.41	0.057	-14.8

Al evaluar el espectro, se puede observar que en la región de 210 nm la curva presenta muchos picos que podrían provocar un cambio significativo en la determinación cuantitativa del ión de interés; sin embargo, en la región de 304 nm el espectro es visiblemente confiable.

Al evaluar a fondo esta región, se puede observar que los datos presentan una buena correlación lineal, como se muestra en la Figura 4.

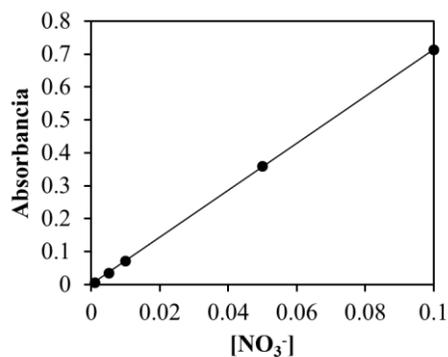


Figura 4. Curva de calibración de nitrato a 304 nm.

Se puede distinguir que desde una concentración de 0.001 M hasta 0.1 M se puede determinar con confiabilidad la concentración de nitrato en la muestra de agua analizada.

5. CONCLUSIONES

En base a los resultados, se comprobó que la determinación cuantitativa de nitrato a partir de una muestra de agua sin turbidez, puede realizarse con buen nivel de confiabilidad mediante el método espectrofotométrico, por ultravioleta a una longitud de onda de 304 nm.

Este método resulta además de gran utilidad por su rapidez y practicidad, ya que no se requiere un tratamiento previo a la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. Bastian, R. Weberling, F. Palilla, "Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Nitrate", *Anal. Chem.*, Vol. 29, 12, 1957, pp. 1795-1797.
2. F. A. J. Armstrong, "Determination of Nitrate in Water by Ultraviolet Spectrophotometry", *Anal. Chem.*, Vol. 35, 9, 1963, pp. 1292-1294.
3. NMX-AA-082-1986.
4. M. Bravo, A. C. Oliviere, B. Oelckers, "Nitrate determination in Chilean caliche samples by uv-visible absorbance measurements and multivariate calibration", *J. Chil. Chem. Soc.*, Vol. 54, 1, 2009, pp. 93-98.
5. J. A. Camargo, A. Alonso, "Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment", *Environ. int.*, Vol. 32, 2006, pp 831-849.
6. A. M. Fan, C. C. Willwhith, S. A. BOOK, "Evaluation of the nitrate drinking water standard with reference to infant methemoglobinemia and potential reproductive toxicity", *Reg. Tox. and Pharma.* Vol. 7, 1987, pp 135-148.
7. J. Harte, C. Holdren, R. Schneider, C. Shirley, "Toxics A to Z: A Guide to Everyday Pollution Hazards", 1991, University of California Press, Berkeley.
8. K. Ito, R. Nomura, T. Fujii, M. Tanaka, T. Tsumura, H. Shibata, T. Hirokawa, "Determination of nitrite, nitrate, bromide, and iodide in seawater by ion chromatography with UV detection using dilauryldimethylammonium-coated monolithic ODS columns and sodium chloride as an eluent", *Anal Bioanal Chem.*, Vol. 404, 2012, pp2513–2517.
9. I.M. Ferreira, S. Silva, "Quantification of residual nitrite and nitrate in ham by reverse-phase high performance liquid chromatography/diode array detector", *Talanta*, Vol. 74, 2008, pp 1598–1602.
10. P. A. Cawse, "The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry", *Analyst*, Vol. 92, 1967, pp 311-315.
11. F. A. J. Armstrong, "Determination of Nitrate in Water Ultraviolet Spectrophotometry", *Anal. Chem.*, Vol. 35, 1963, pp 1292-1294.
12. K. S. Johnson, L. J. Coletti, "In situ ultraviolet spectrophotometry for high resolution and long-term monitoring of nitrate, bromide and bisulfide in the ocean", *Deep-sea res.*, Vol. 49, 2002, pp 1291-1305.
13. R. P. Buck, S. Singhadeja, L. B. Rogers, "Ultraviolet absorption spectra of some inorganic ions in aqueous solutions", *Anal. Chem.*, Vol. 26, 1954, pp 1240-1242.
14. P. J. Milham, A. S. Awad, R. E. Paull, J. H. Bull, "Analysis of plants, soils and waters for nitrate by using an ion-selective electrode", *Analyst*, Vol. 95, 1970, pp 751-757.
15. A. Danie, D. Birot, M. Lehaitre, J. Poncin, "Characterization and reduction of interferences in flow-injection analysis for the in situ determination of nitrate and nitrite in sea water", *Anal. Chim. Acta*, Vol. 308, 1995, pp 413-424.

DIVERSIDAD DE PECES EN LA LAGUNA DE SONTECOMAPAN, VERACRUZ

Cortes-García Araceli y Rodríguez-Gutiérrez Martha

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, D.F. México.

RESUMEN

La importancia de las lagunas costeras estuarinas radica en su alta productividad, debido a la mezcla de sedimentos y nutrientes acarreados por dos masas de agua de diferente origen (Ayala *et al.*, 2007). La Laguna de Sontecomapan se encuentra localizada al suroeste del Estado de Veracruz, a 16 km del Municipio de Catemaco, su superficie es de 891 Ha. con una profundidad media de 1.50 m (Contreras, 1993). El objetivo de la investigación fue determinar las especies de peces presentes en época de lluvias y secas. El mayor número de especies determinaron en el periodo de secas siendo 14 especies pertenecientes a 10 familias y en el de lluvia se detectaron 11 especies que representaron a nueve familias. Entre los muestreos de lluvias y secas se obtuvo un total de 22 especies, menor al número reportado por Pérez y Torres (2000), quienes reportaron un total de 97 especies, entre las que se encuentran las 22 de éste estudio. La Laguna de Sontecomapan presenta una gran diversidad de especies en cuanto a peces por lo que es de interés evaluar su comportamiento.

1. INTRODUCCIÓN

La importancia de estudiar las lagunas costeras estuarinas radica en su alta productividad, debido a la mezcla de transportes de sedimento y nutrientes acarreados por dos masas de agua de diferente origen (Ayala *et al.*, 2007). Son cuerpos de agua litorales que tienen comunicación efímera o permanente con el mar (Contreras, 1985). Son ecosistemas susceptibles de ser aprovechados porque constituyen un punto estratégico de intercambio de materia y energía, estas regiones son importantes por el aporte a la producción pesquera, debido a que las especies que se capturan comercialmente dependen en algún momento de su ciclo biológico.

Los peces que habitan en los diferentes sistemas acuáticos del estado de Veracruz, han sido objeto de numerosas investigaciones; sin embargo, las publicaciones al respecto son relativamente escasas. Los trabajos que abordan el estudio de la comunidad de peces y ofrecen listados de especies son básicamente siete: Chávez (1972); Kobelkowsky (1985); Castro-Aguirre *et al.* (1986) y Castro-Aguirre (1986); Sánchez-Rueda (1986); López-López *et al.* (1991) y Cota y Santiago (1994).

La Laguna de Sontecomapan se encuentra localizada al suroeste del Estado de Veracruz, a 16 km del Municipio de Catemaco, se sitúa en la región de la cuenca que forman el volcán San Martín Tuxtla y la Sierra Santa Martha en Veracruz. Sus coordenadas son 18° 30' y 18° 34' de Latitud Norte, 95°00' y 95° 04' de Longitud Oeste. La superficie aproximada es de 891 ha con una profundidad media de 1.50 m (Contreras, 1993). Ésta Laguna ha sido estudiada en diversos aspectos tanto hidrológicos, geológicos y biológicos. Bajo éste contexto, la presente investigación tiene como interés contribuir al conocimiento de la ictiofauna, el objetivo de la presente es

comparar la biodiversidad íctica de la Laguna Sontecomapan, Veracruz, en época de secas y de lluvias.

2. METODOLOGÍA

En la Laguna de Sontecomapan, se ubicaron 10 estaciones de muestreo en dos temporadas de lluvias (septiembre 2009) y secas (diciembre 2010) Figura 1.

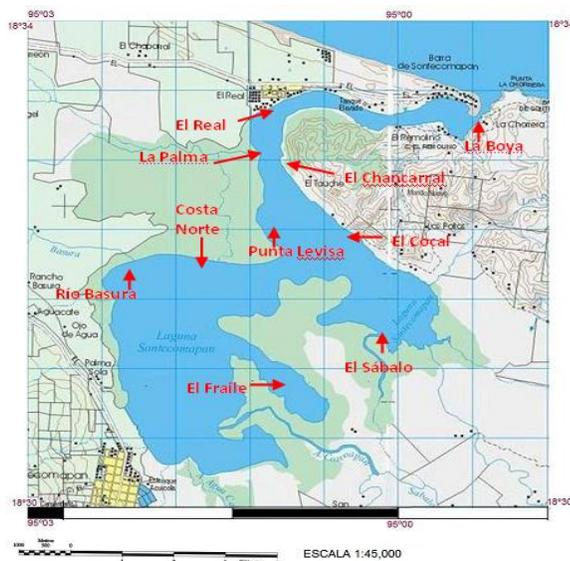


Figura 1. Ubicación de las estaciones muestreadas en la Laguna de Sontecomapan.

La captura de organismos se realizó con una red agallera de 300 m de largo y 3 m de ancho con una luz de malla de 2 1/4". En cada estación la red permaneció durante un periodo de una hora y media. Los organismos fueron identificados con las claves taxonómicas (Castro *et al.*, 1999 y Álvarez, 1970) y en el caso de los ciclidos con el libro de Freshwater fishes of Mexico (Miller *et al.*, 2005).

3. RESULTADOS

De las diez estaciones de muestro en lluvias, en Punta Levisa, El Chancarral, El Fraille y La Boya se obtuvieron organismos.

Se capturaron 11 especies que pertenecen a las familias Engraulidae, Batrachoididae, Carangidae, Lutjanidae, Cichlidae, Paralichthyidae, Achiridae, Gerreidae y Eleotridae, éstas dos últimas con 2 especies cada una.

De acuerdo al número de especies capturadas en cada estación se obtuvo: Punta Levisa 5 especies, seguido del Chancarral con 4, La Boya con tres y en El Fraille sólo se tuvo una (Tabla I).

En secas, se obtuvieron organismos en la mayoría de las estaciones salvo en La Palma y La Boya. Se determinó un total de 14 especies que representan a 10 familias, siendo las más frecuentes la Carangidae y Engraulidae (Tabla II).

Tabla I. Especies capturadas en lluvias

Estación	Especies capturadas
Punta Levisa	<i>Lutjanus griséus</i> <i>Anchoa hepsetus</i> <i>Opsanus beta</i> <i>Eleotris amblyopsis</i> <i>Cichlasoma urophthalmus</i>
El Chancarral	<i>Eleotris amblyopsis</i> <i>Dormitator maculatus</i> <i>Eucinostomus gula</i> <i>Citharichthys spilopterus</i>
La Boya	<i>Eucinostomus melanopterus</i> <i>Citharichthys spilopterus</i> <i>Caranx latus</i>
El Fraile	<i>Achirus lineatus</i>

Tabla II. Especies capturadas en secas

Estación	Nombre científico
El Chancarral	<i>Caranx latus</i>
	<i>Caranx hippos</i>
	<i>Cetengraulis edentulus</i>
	<i>Diapterus sp.</i>
	<i>Elops saurus</i>
	<i>Mugil cephalus</i>
	<i>Selene vomer</i>
Cocal	<i>Bairdiella chrysur</i>
	<i>Caranx hippos</i>
	<i>Cetengraulis edentulus</i>
	<i>Citharichthys spilopterus</i>
	<i>Mugil cephalus</i>
Punta Levisa	<i>Anchoa lamprotaenia</i>
	<i>Bairdiella chrysur</i>
	<i>Caranx latus</i>
	<i>Euguerres plumieri</i>
El Fraile	<i>Ariopsis felis</i>
	<i>Bairdiella chrysur</i>
	<i>Diapterus sp.</i>
	<i>Mugil cephalus</i>
Sábalo	<i>Ariopsis felis</i>
	<i>Elops saurus</i>
	<i>Lutjanus griseus</i>
Costa Norte	<i>Caranx latus</i>
	<i>Gobiomorus dormitor</i>
Basura	<i>Citharichthys spilopterus</i>
	<i>Gobiomorus dormitor</i>

4. DISCUSIÓN

Se obtuvo un total de 22 especies entre los muestreos de lluvias y secas, menor al número reportado por Pérez y Torres (2000), quienes reportan un total de 97 especies, Sin embargo, las especies identificadas en éste estudio también fueron reportadas por ellos.

De igual manera, de acuerdo a Rodríguez *et al.* (2010) en los muestreos realizados en épocas de lluvias y secas reportan un total 52 especies, 41 géneros y 24 familias, Reportando mayor número de especies en épocas de secas, al igual que en esta investigación.

La diferencia en el número de especies reportadas, muy probablemente está en función del arte de pesca empleado así como el tiempo de ejecución, aunado a las condiciones climáticas.

Por otra parte, con relación al número de especies identificadas entre lluvias y secas, en el presente trabajo fueron 11 y 14 respectivamente, coincidiendo las especies *Caranx latus*, *Citharichthys spilopterus* y *Lutjanus griseus* en ambas épocas y la primera con mayor abundancia en época de secas y la última en la de lluvias.

5. CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que Sontecomapan es una Laguna productiva y con alta diversidad ictiofaunística, lo cual es un indicador de la eficiencia de la energía trófica característica de las lagunas costeras.

Las especies más frecuentes fueron *Caranx latus*, *Citharichthys spilopterus* y *Lutjanus griseus*.

En la época de secas se determinó el mayor número de especies.

Caranx latus fue la especie más abundante, en la época de secas.

REFERENCIAS

1. Álvarez, V. J. 1970. Peces Mexicanos (claves). Secretaría de Industria y Comercio. Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México D.F. 166 Págs.
2. Ayala, P. L., Chávez, R. O. y Gómez, M. A. 2007. Métodos de diagnóstico y evaluación ecológica y poblacional de peces. Universidad Autónoma Metropolitana. Contribuciones Científicas. (2):145.
3. Castro A. J. L., Espinosa-Perez H. S., Schmitter –Soto J. J. 1999. Ictiofauna Estuarino-Lagunar y Vicaria de México. Ed. Limusa.
4. Castro-Aguirre, J. L. 1986. Estudios sistemáticos y ecológicos de la ictiofauna del sistema estuarino-lagunar Tuxpan-Tampamachoco, Veracruz, México. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. 233 p.
5. Castro-Aguirre, J. L., R. Torres-Orozco B., M. Ugarte A. & A. Jiménez. 1986. Estudios ictiológicos en el sistema estuarino-lagunar Tuxpan-Tampamachoco, Veracruz. I. Aspectos ecológicos y elenco sistemático. An. Esc. Nat. Cienc. Biol., IPN, México, 30: 155-170.
6. Contreras, E. F. 1993. Ecosistemas costeros mexicanos. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa. México. 167-168 p.
7. Cota, F. V. & R. Santiago B. 1994. Estudio de la estructura de las comunidades de peces de la laguna de Tampamachoco, Veracruz. Oceanología 1:149-173.

8. Kobelkowsky D., A. 1985. Los peces de la laguna de Tampamachoco, Veracruz, México. *Biótica* 10:145-156.
9. López-López, E., M. Salgado-Mejía & S. A. Guzmán del Proo. 1991. Un análisis estacional de la ictiofauna de la laguna de Tampamachoco, Ver., y sus hábitos alimentarios. *An. Esc. Nal. Cienc. Biol., IPN, México* 34: 81-107.
10. Miller, R. R., Minckley, W. L. y Norris, S. M. 2005. *Fresh Water Fishes of Mexico*. University of Chicago. 652 p.
11. Pérez, H. M, y Torres, O. B. R. 2000. Evaluación de la riqueza de especies de peces en las lagunas costeras mexicanas: Estudio de un caso en el Golfo de México *Rev. Biol. Trop* 48 (2-3): 11.
12. Sánchez-Rueda, M. P. 1986. Contribución al conocimiento de la ictiofauna del sistema estuarino-lagunar Tuxpam-Tampamachoco, Veracruz, México (1983-1984). Tesis profesional. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Area de Ciencias del Mar, Departamento de Biología Marina. La Paz, B.C.S., México. 102 p.
13. Rodríguez, V. A., Cruz, G. A. y Vázquez, L. H. List of the ichthyofauna in the Sontecomapan Lagoon, Veracruz, México. 2010. *BIOCYT*. 3(9):107-121

PROPUESTA DEL USO ALGORITMOS COMO ESTRATEGÍA DIDACTICA EN LA ENSEÑANZA BÁSICA DE LA NOMENCLATURA QUÍMICA INORGANICA

¹Lidia Meléndez Balbuena, Blanca Martha Cabrera Vivas¹ Susana Muñoz Avila¹, Guadalupe López Olivares, Martha Sosa Ribadereyna¹, Alejandra Castro Lino¹, Silvia Vázquez Montiel¹

¹Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

Uno de los problemas serios que tienen los estudiantes en el estudio de los diferentes cursos de química es la comprensión inadecuada de los conceptos y leyes. El rico lenguaje de la química ha trascendido al mundo cotidiano: los términos aforo, destilar, disolver o reaccionar forman parte de nuestro lenguaje coloquial. Y así vemos que la actualidad, el problema de la nomenclatura química, conjunto de reglas utilizadas para asignar nombres a las sustancias químicas afecta seriamente a los estudiantes de los diferentes niveles escolares con resultados poco alentadores. Es de difícil comprensión para los educandos porque su complejidad exige un alto nivel de abstracción, que pocos alumnos alcanzan en los primeros cursos de licenciatura, mucho menos lo logran en el bachillerato y sólo algunos en la secundaria. En el presente trabajo se destaca la utilidad del uso de *esquemas de algoritmos y tarjetas* como medios visuales activos que ayudan a superar la complejidad del aprendizaje de la nomenclatura química con la enseñanza tradicional. La estrategia fue aplicada a treinta estudiantes del primer cuatrimestre de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP. Se muestran los resultados obtenidos de la implementación del uso de *esquemas de algoritmos y tarjetas* en el proceso de enseñanza- aprendizaje de la nomenclatura en química inorgánica. El uso de Esquemas de Algoritmos ayudo a los estudiantes a desarrollar sus habilidades relacionadas en identificar al grupo funcional al que corresponde cada uno de los compuestos, al mismo tiempo reconocen la importancia de conocer el grupo funcional para aplicar correctamente las reglas de nomenclatura.

1. INTRODUCCIÓN

La química es una de las asignaturas escolares que presentan serios problemas en su comprensión y enseñanza tanto en el nivel medio superior como en los niveles iniciales de una licenciatura, según diversas investigaciones realizadas en distintos contextos, edades, y niveles educativos (Chamizo, 1996; Driver, 1989). Estas investigaciones muestran que la dificultad principal que tienen los estudiantes en la comprensión de los conceptos químicos está relacionada con la necesidad de contar con un pensamiento abstracto que les permita representar un modelo de interpretación de los conceptos abordados en la asignatura de química. El rico lenguaje de la química ha trascendido al mundo cotidiano: los términos aforar, destilar, disolver o reaccionar forman parte de nuestro lenguaje coloquial. Y así vemos que en el siglo XXI, el problema de la nomenclatura química (conjunto de reglas utilizadas para asignar nombres a las sustancias químicas) afecta seriamente a los estudiantes de los diferentes niveles escolares. El dominio de la nomenclatura química inorgánica básica es difícil de lograr, y aunque el tema se aborda en los cursos de química de diversos niveles de escolaridad, los resultados son poco alentadores. Su complejidad exige un alto nivel de abstracción, que pocos alumnos alcanzan en los primeros cursos de licenciatura, mucho menos lo logran en el bachillerato y sólo algunos en la secundaria. Según los científicos, ignorar el uso de la nomenclatura química sería abandonar voluntariamente

una herramienta de mucho valor en la concepción y exposición de las relaciones químicas. Es por ello que una de las responsabilidades de la comisión de símbolos, terminologías y unidades perteneciente a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (conocida por sus siglas en inglés como IUPAC) es asegurar la claridad, la precisión y el acuerdo amplio en el uso de los símbolos por todos los químicos y editores de revistas científicas. En este trabajo se propone el uso de Esquemas de Algoritmos como medios visuales activos que ayudan a superar la desventaja de la enseñanza tradicional (Orlik,1991), funcionan típicamente sobre la motivación extrínseca de los alumnos, apoyados con tarjetas que contienen las reglas de nomenclatura y características que identifican a los compuestos.

2. METODOLOGÍA

En este trabajo se aplicó el uso de los esquemas de algoritmos y tarjetas en el proceso enseñanza-aprendizaje de la nomenclatura química inorgánica. La estrategia didáctica fue aplicada a veinte estudiantes del primer cuatrimestre de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP. Se dio inicio con la exploración de los conocimientos previos de los estudiantes, relacionados con la nomenclatura química inorgánica, a través de la aplicación de un cuestionario que consta de tres módulos. El módulo 1 consiste en identificar grupos funcionales a través de la fórmula del compuesto, en el módulo 2 se pide nombrar los compuestos y en el módulo 3 escribir la fórmula a partir del nombre del compuesto. Para la evaluación final fue aplicado el mismo cuestionario con la finalidad de determinar si el estudiantes presento avances favorables en escribir y nombrar correctamente los compuestos inorgánicos haciendo uso de los algoritmos propuestos.

Descripción de la estrategia

1. Se proporcionó información, a través de un documento (Ciriano, 2007), de las características de los diversos compuestos inorgánicos a nombrar, como son: su composición, es decir, el número y tipos de átomos que los constituyen, los diversos grupos funcionales que los caracterizan, así como las reglas de nomenclatura establecidas por la IUPAC para nombrarlos y escribir su fórmula química.

Los alumnos trabajaron el documento en equipos de cuatro personas, llevaron a cabo su análisis, con la finalidad de obtener la información necesaria para construir los esquemas de algoritmos y tarjetas.

2. Se construyeron tres esquemas de algoritmos, con los cuales es posible identificar si los compuestos son binarios, ternarios o poliatómicos, y a qué grupo funcional corresponden cada uno de los compuestos en cuestión (figuras 1, 2 y 3).

3. Haciendo uso de las reglas de nomenclatura establecidas por la IUPAC, los estudiantes identificaron las propiedades estructurales de cada tipo de compuesto y elaboraron tarjetas, que contienen sus características de composición y estructurales, así como las reglas para nombrarlos y escribir sus fórmulas correctamente.

4. Los Esquemas de algoritmos y las tarjetas fueron utilizados para resolver una serie de ejercicios relacionados con el nombre y la fórmula de los compuestos. Esta actividad nos permite evaluar la eficacia del uso de los esquemas de algoritmos y las tarjetas, y al mismo tiempo el avance de cada uno de los estudiantes.

5. Finalmente, se aplicó el mismo examen que fue utilizado como diagnóstico de los conocimientos previos, en este caso sin que utilicen los esquemas de algoritmos ni las tarjetas, con la finalidad de evaluar su avance en el conocimiento, comprensión y aplicación de las reglas de nomenclatura.

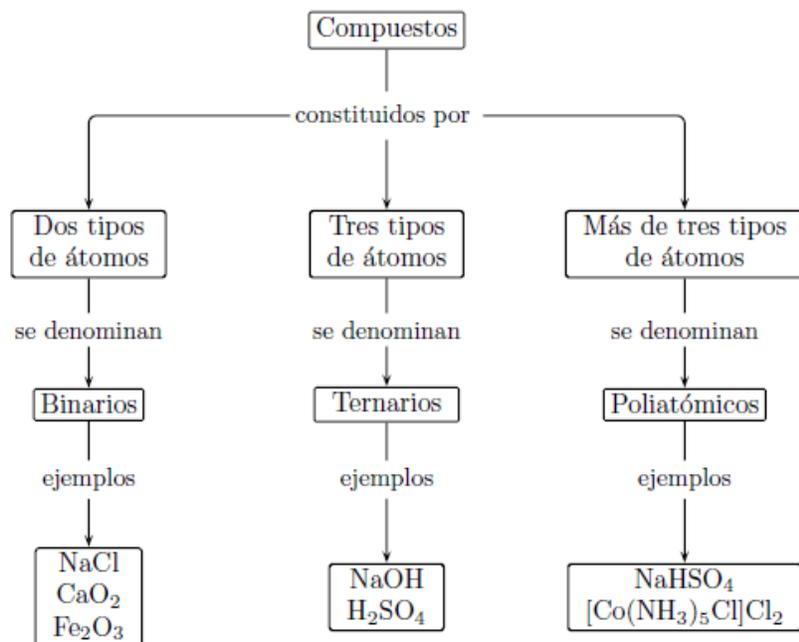


Figura 1. Algoritmo de identificación de los compuestos binarios ternarios y poliatómicos.

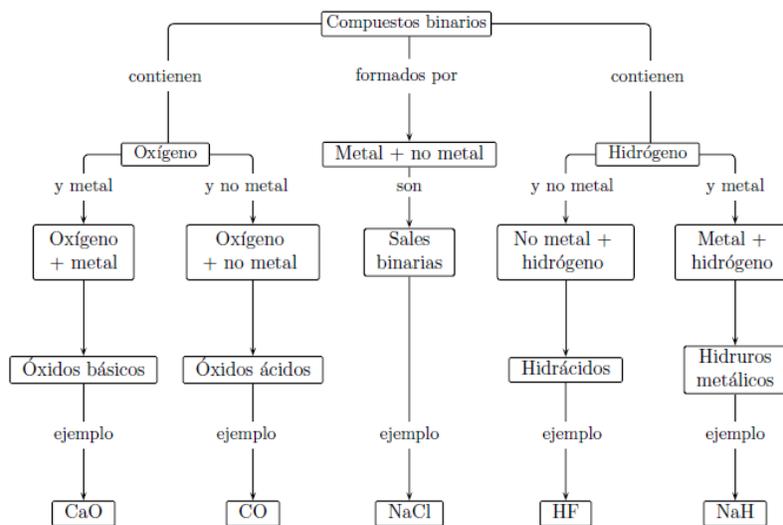


Figura 2. Algoritmo de identificación de los compuestos binarios.

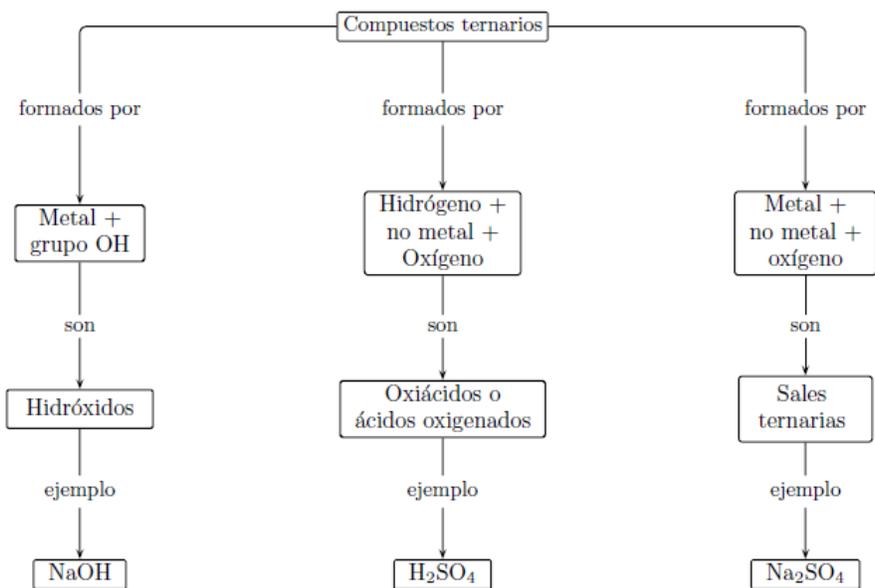


Figura 3. Algoritmo de identificación de los compuestos ternarios y poliatómicos.

Examen diagnóstico

Módulo 1. Los compuestos químicos se encuentran clasificados en grupos funcionales, con base en el tipo de elementos que los constituyen. Relaciona las siguientes columnas:

- a. CsHSO_4 () Hidróxido
- b. H_2S () Sal ternaria oxigenada
- c. SnCl_2 () Óxido básico
- d. CO_2 () Sal ácida
- e. AlH_3 () Oxácido
- f. H_3PO_4 () Hidruro metálico
- g. MgO () Sal binaria
- h. $\text{Pt}(\text{OH})_4$ () Óxido ácido
- i. K_2CrO_4 () Hidrácido

Módulo 2. Escribe el nombre de las siguientes fórmulas químicas.

- a. CsHSO_3
- b. H_2S
- c. SnCl_2
- d. SeO_2
- e. CaH_2
- f. HClO
- g. CrO_2
- h. $\text{Zr}(\text{OH})_3$
- i. K_2CrO_4
- g. KHS
- h. $\text{Al}(\text{H}_2\text{PO}_4)_3$

Módulo 3. Escribe la fórmula química de las siguientes sustancias.

- Hidróxido cuproso
- Ácido selenhídrico
- Carbonato de calcio
- Anhídrido carbónico
- Fosfato ácido de potasio
- Ácido bromoso
- Cromato de potasio
- Fluoruro de cobalto(II)
- Cloruro de cobalto(III) hexahidratado
- Sulfato ácido de hierro(III)

NOMENCLATURA DE OXIDOS BASICOS. (metal + oxígeno)

Para dar nombre a estos compuestos, se escribe el término OXIDO, la preposición DE, y a continuación el nombre del METAL seguido de su número de oxidación en romano y entre paréntesis.

CuO óxido de cobre(II)

Cu₂O óxido de cobre(I)

Ejemplo del tipo de ejercicios que los estudiantes resuelven, se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Ejercicio propuesto

Escribir la fórmula de los compuestos formados al combinar los iones por intersección de filas y columnas.

	OH ¹⁻	I ¹⁻	H ¹⁻	SO ₄ ²⁻	IO ¹⁻	O ²⁻
Cu ²⁺	1	8	15	22	29	36
Ag ¹⁺	2	9	16	23	30	37
Ni ³⁺	3	10	17	24	31	38
Pb ⁴⁺	4	11	18	25	32	39
Fe ²⁺	5	12	19	26	33	40
Fe ³⁺	6	13	20	27	34	41
Zn ²⁺	7	14	21	28	35	42

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis del examen diagnóstico se presentan a continuación, se resaltan los principales logros y dificultades encontrados después de analizar las respuestas al cuestionario diagnóstico aplicado.

Logros

Identifican al elemento por su símbolo.

Identifican si el elemento es metal o no metal.

Muestran menos problemas para nombrar los compuestos binarios.

Conocen algunas reglas de la nomenclatura química inorgánica.

Toman en cuenta la electronegatividad de los elementos.

Dificultades

Muestran dificultad en la determinación de los números de oxidación.

Tienen problemas en la identificación de los grupos funcionales.

Muestran mayor dificultad para escribir la fórmula química que para nombrar un compuesto.

Confunden los ácidos ternarios con los binarios.

Tienen dificultades en aplicar exactamente las reglas de nomenclatura

El análisis de los resultados obtenidos del examen diagnóstico revela que los alumnos carecen de los conocimientos básicos necesarios para el aprendizaje del tema de la nomenclatura química inorgánica, muestran dificultad en la identificación de los grupos funcionales que caracterizan a los diferentes compuestos químicos y en consecuencia aplican incorrectamente las reglas de nomenclatura, así como también presentan dificultades en la determinación de los números de oxidación de los elementos que constituyen la fórmula química, dando como resultado nombres incorrectos y fórmulas mal escritas.

Estos resultados revelan que muchos de los métodos tradicionales de enseñanza utilizados en instituciones universitarias no cubren las necesidades educativas de los estudiantes, dado que los alumnos presentan dificultades en la comprensión y aplicación de conceptos, en descubrir su pertinencia y en transferir conocimientos.

Aplicación de la estrategia

Los esquemas de algoritmos diseñados y las tarjetas, fueron aplicados a una serie de ejercicios en los cuales el estudiante primero construyó su fórmula correcta, identificó con ayuda de los algoritmos si el compuesto es binario o ternario y a qué grupo funcional corresponde y finalmente, con ayuda de las tarjetas, proporcionó el nombre correcto del compuesto. Para aprovechar bien este tipo de esquemas, cada estudiante debe tener copia de los esquemas de algoritmos, con los que trabaja constantemente hasta que aprende bien el procedimiento. En este proceso el alumno, a través del uso de los algoritmos y tarjetas, logró familiarizarse con los grupos funcionales y las reglas de nomenclatura química inorgánica.

Por último, se aplicó el mismo cuestionario utilizado en el diagnóstico de conocimientos previos, el cual fue contestado sin el uso de los esquemas de algoritmos ni las tarjetas. Las tablas 2, 3 y 4 muestran el número de alumnos que lograron respuestas correctas en la aplicación del examen diagnóstico antes y después de ser aplicada la estrategia.

Tabla 2. Resultados comparativos del Módulo 1, antes y después de la implementación de la estrategia.

Identificación del grupo funcional del compuesto formulado	No. Alumnos con respuesta correcta antes de la implementación de la estrategia.	No. Alumnos con respuesta correcta después de la implementación de la estrategia.
CsHSO_4	-	15
H_2S	3	19
SnCl_2	20	20
CO_2	10	20
AlH_3	-	19
H_3PO_4	4	20
MgO	2	20
$\text{Pt}(\text{OH})_4$	10	20
K_2CrO_4	-	18

Tabla 3. Resultados comparativos del Módulo 2, antes y después de la implementación de la estrategia.

Nombrar el compuesto	No. Alumnos con respuesta correcta antes de la implementación de la estrategia.	No. Alumnos con respuesta correcta después de la implementación de la estrategia.
CsHSO_3	-	15
H_2S	4	18
SnCl_2	16	20
SeO_2	11	20
CaH_2	-	19
HClO	4	20
CrO_2	2	20
$\text{Zr}(\text{OH})_3$	10	20
K_2CrO_4	-	18
KHS	-	18
$\text{Al}(\text{H}_2\text{PO}_4)_3$	-	19

Tabla 4. Resultados comparativos del Módulo 3, antes y después de la implementación de la estrategia.

Escribir la fórmula química de las siguientes sustancias.	No. Alumnos con respuesta correcta antes de la implementación de la estrategia.	No. Alumnos con respuesta correcta después de la implementación de la estrategia.
Hidróxido cuproso	3	16
Ácido selenhídrico	2	16
Carbonato de calcio	7	20
Anhídrido carbónico	-	20
Fosfato ácido de potasio	-	18
Ácido bromoso	-	19
Cromato de potasio	-	18
Fluoruro de cobalto(II)	4	19
Cloruro de cobalto(III) hexahidratado	5	18
Sulfato ácido de hierro(III)	-	17

Al comparar los resultados del examen diagnóstico aplicado antes y después de la estrategia, se observa que los resultados obtenidos son notablemente mejores después de aplicar la estrategia, pues en este caso los alumnos logran identificar si el compuesto es binario, ternario o poliatómico, así como identificar con mayor acierto a qué grupo funcional corresponden, facilitando de esta manera la elección de las reglas de nomenclatura a aplicar y consecuentemente nombrar y escribir correctamente los compuestos químicos.

4. CONCLUSIONES

La práctica de la utilización de esquemas de algoritmos apoyados con las tarjetas en las clases de química muestra que este método ayuda a los estudiantes a adquirir habilidades en la resolución de problemas en química. Para aprovechar bien este tipo de esquemas, cada estudiante debe tener copia del esquema de algoritmo, con el cual trabaja constantemente hasta que aprende bien el procedimiento. Otra tarea importante para los estudiantes es que deben elaborar sus propios esquemas de algoritmos. Esta tarea les ayuda a comprender mejor cómo lograr la solución y muestra al profesor cómo es su progreso. Además, los estudiantes pueden elaborar sus propios esquemas de algoritmos de buena calidad y después el profesor puede discutir en grupo este trabajo, que sirve muy bien para el desarrollo de sus habilidades. El uso de tarjetas fue de gran utilidad debido a que los estudiantes, después de identificar al compuesto, recurren a consultar la información contenida en la tarjeta para dar su nombre correcto como lo establecen las reglas de nomenclatura.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chamizo, J. A. Enseñar lo esencial acerca de lo más pequeño, Educación Química, 1996 7(1), pp. 7-12.
2. Chang, R. Química., 4ª ed., McGraw-Hill, México, 1992, p. 254-255.
3. Ciriano, M, y Roman, P.. Nomenclatura química inorgánica. Recomendaciones de la IUPAC de 2005. Prensa universitarias de Zaragoza. 2007.
4. Driver, R, Guesne, E. y Tiberghien, A. (1989). Ideas científicas en la infancia y en la adolescencia, MEC, Morata, Madrid, pp. 19-30 y 225-258.
5. Flores, F. y Gallegos, C. L. Preconceptions and relations used by children in the construction of food chains, Journal of Research in Science Teaching, 1994, 31(3), pp. 259-272.
6. Bodroga, E. y Leong. D. Herramientas de la mente, el aprendizaje en la infancia desde la perspectiva de Vygotsky. Pearson Prentice Hall, México, 2004. pp. 2-14.
7. Llórenis, M. J. (1991) Comenzando a aprender química. Ideas para el diseño curricular, Aprendizaje Visor(1991). España.
8. Orlik, Y. Using schemes-algorith. ms for solving chemical problems. 14th Biennial Conference on Chemical Education, Clemson, p.51.1996.
9. Orlik, Y. (2002) QUÍMICA. Métodos Activos de Enseñanza Aprendizaje. Grupo Editorial Iberoamérica, México. 2002, pp. 224-227.
10. Pozo, J. I., Gómez Crespo, M.A., Limón, M., Sanz Serrano, A. Procesos cognitivos en la comprensión de las ciencias: las ideas de los adolescentes sobre la química, CIDE., Madrid, 1991.
11. Whitten, K. W; Davis, R. E. y Peck, M. Química General. Quinta edición. Ed. Mc Granw Hill. España, 1998.

RESCATE DE LA PRESA SAN LUCAS XOCHIMANCA

María Patricia Domínguez Echeverría,^a Ximena Barrientos Domínguez^b y Ulises Uriel Guzmán Dorantes^c.

^a Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada de Hueso # 1100 Col. Villa Quietud, C.P. 04960, México, D.F. ^b Universidad Nacional Autónoma de México. *Campus C.U.*, Posgrado de la Facultad de Arquitectura. ^c Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería, (PAE). *Campus C.U.*

RESUMEN

Introducción: a 25 años de lucha de la Comisión de Rescate de la presa San Lucas Xochimanca, ubicada en el centro de la delegación Xochimilco, lo único que queda es “la letrina más grande del Distrito Federal”. La Presa se ha convertido, al igual que los ríos que bajan la montaña de Topilejo, en un verdadero basural lleno de botellas y bolsas de plástico, llantas viejas, animales muertos, aunado el hecho de estar recibiendo el drenaje proveniente del Reclusorio Preventivo Varonil Sur, llenándose de excremento y otros desechos, creando un verdadero foco de infección.

Teoría: la presa San Lucas, vaso regulador del agua pluvial hacia los canales de la demarcación, sufre una verdadera contaminación, la cual ha sido denunciada por los vecinos a la delegación Xochimilco y al Sistema de Aguas, pero la respuesta ha sido insuficiente, aún a pesar del desazolve de cinco hectáreas de la presa y la clausura de descargas clandestinas. Acciones futuras precisan de *un modelo de gestión hídrica integral* que garantice adecuados aspectos tecnológicos y presupuestales, fundamentalmente dirigido a las delegaciones del sur de la Ciudad de México: Milpa Alta, Tláhuac, Xochimilco y Tlalpan.

Metodología: nuestro equipo de trabajo interdisciplinario, realizó estudios microbiológicos y fisicoquímicos (conductividad, pH, oxígeno), de acuerdo a la Norma Oficial NOM-127-SSA1-1994 referente a la salud ambiental agua para uso y consumo humano y sus límites permisibles de calidad, para determinar la calidad del agua de la presa, cuyos resultados se hicieron llegar a la Delegación.

Conclusiones: 1) Conductividad: alto grado de mineralización de las aguas, fuera de las Normas mexicanas y no aptas para el riego. 3) El pH fuera del rango permitido para sustentar la vida acuática. 4) Oxígeno disuelto: valores mínimos. Los indicadores microbiológicos hallados en distintas regiones de la ribera de la presa reportan: enterococos, coliformes fecales, *E. coli* y colifagos, así como quistes de *Cryptosporidium*.

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace más de diez años, la presa San Lucas Xochimanca, localizada en la delegación Xochimilco, ha presentado una severa contaminación por las descargas de aguas negras y residuales de los ríos que bajan de la montaña de Topilejo, entre ellos, los ríos Santiago, San Mateo y San Francisco. El Reclusorio Sur, así como los asentamientos vecinos descargan sus aguas residuales al río Santiago, que vierte sus aguas a la presa.

Ante tal problemática, en abril de 2010, se formó el Comité San Lucas Xochimanca por una diversidad de pobladores, con el fin de rescatar la presa San Lucas. El Comité realiza, entre otras tareas, un Foro del Agua, donde se brinda información, propuestas, y se vinculan con otras asociaciones civiles y académicos de la UNAM, la UAM y la UACM. Como resultado de las denuncias de este foro, la Comisión de Derechos Humanos del Distrito Federal, emitió la recomendación 01/2013 en su boletín 48/13, el cual fue dirigido a la Secretaría de Gobierno del Distrito Federal, a la Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal, al Sistema de Aguas de la Ciudad de México y a la Delegación Política de Xochimilco por la contaminación del río Santiago con las aguas residuales del Reclusorio Varonil Sur (Plata, 2014).

Como consecuencia de esa recomendación, el 19 de abril de 2014, el periódico *La Jornada* dio a conocer una nota en su sección *Capital*, donde informaba que “el gobierno del Distrito Federal destinará 311 millones de pesos para el rescate del río Santiago durante 2014-2017, para dar cumplimiento a la recomendación” (Bolaños, 2014).

Sin embargo, hasta el momento, las autoridades no han llevado a cabo acciones para remediar la severa contaminación de la presa, cuya función es la de ser un vaso regulador del agua pluvial hacia los canales de la demarcación, los cuales utilizan su agua para el riego de frutas y verduras de la zona chinampera. Vecinos de la unidad habitacional Nativitas, ya han presentado tanto problemas en la piel como problemas gastrointestinales (Cruz, 2008).

El manejo de la calidad del agua de los ríos para los países en desarrollo, implica un proceso muy complejo y de interés nacional, ya que no puede separarse del bienestar humano. La calidad del agua se determina por la presencia y la cantidad de contaminantes, así como de factores físico-químicos tales como pH, la conductividad, la cantidad de sales y de la presencia de fertilizantes. La actividad humana tiene una gran influencia en alterar todos estos factores, al depositar residuos en el agua y añadir sustancias y contaminantes ajenos a su forma natural. Así, la calidad del agua es relevante por los diversos roles que esta cumple: fuera del curso del río se destina al uso doméstico, agrícola e industrial y como medio para la acuicultura y manejo de vida silvestre en general.

2. TEORÍA

La presa San Lucas, inaugurada en 1946, por la administración de Miguel Alemán, es un vaso regulador del agua pluvial hacia los canales de la demarcación, la cual, desde hace 25 años, recibe la descarga de aguas residuales tanto del Reclusorio Sur (con una población de ocho mil internos), así como las descargas de los ríos Santiago, San Mateo y San Francisco, que son contaminados desde que bajan de la montaña de Topilejo, donde los asentamientos humanos descargan sus aguas negras y residuales, así como desechos al pasaje de los ríos: plásticos, ropa usada, llantas de automóviles; también se encuentran animales muertos como vacas o perros inflados y en estado de putrefacción. Las aguas de estos ríos, están intubadas solo en pequeños tramos. De esta manera, la ausencia de intubación, así como de una cultura ambiental en la población, ha permitido que se arrojen desechos sin ninguna reflexión seria en cuanto a los riesgos de esta situación ambiental.

Estos problemas de contaminación de la presa, que han sido denunciados por los vecinos a la delegación Xochimilco (siempre sin recursos), al Sistema de Aguas, bajo la gestión de Alejandro Martínez Pérez, a la Comisión Nacional del Agua (Conagua), bajo la gestión de José Luis Lueguez, han dado una respuesta insuficiente; todas las autoridades en materia se han *turnado* la responsabilidad unos a otros, y, aún a pesar del desazolve de cinco hectáreas de la presa y la clausura de descargas clandestinas, la problemática continúa.

De esta manera, en un futuro cercano se precisan acciones encaminadas a *un modelo de gestión hídrica integral* que garantice aspectos tecnológicos y presupuestales adecuados, fundamentalmente dirigido a las delegaciones del sur de la Ciudad de México: Milpa Alta, Tláhuac, Xochimilco y Tlalpan. Asimismo, urge plantear una visión multidimensional más compleja, que integre un *diálogo interdisciplinario*. Debido a ello, la apuesta teórico-metodológica debe apuntar a la integración de *equipos interdisciplinarios* por un lado, y por el otro, *integrar la acción ciudadana* dentro de la propia planeación del proyecto (González *et al*, 2010). Es decir, “un estudio integrado de un sistema complejo, donde está en juego la totalidad del sistema, sólo puede ser obra de un equipo con marcos epistémicos, conceptuales y metodológicos compartidos” (García, 1994).

3. PARTE EXPERIMENTAL

El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad fisicoquímica y microbiológica de las aguas de la Presa San Lucas Xochimanca, que permita construir una línea de base adecuada para los estudios de impacto ambiental.

Para ello, se realizó un recorrido por la Presa San Lucas Xochimanca, así como la ribera de los ríos Santiago, San Mateo y San Francisco, desde su salida por la montaña de Topilejo, para detectar visualmente el deterioro ecológico tomando fotografías en varios recorridos y posteriormente se llevaron a cabo los indicadores fisicoquímicos y microbiológicos a lo largo de varias estaciones de muestreo.

Siguiendo la Norma Oficial Mexicana (NOM-127-SSA1-1994) referente a la salud ambiental, agua para uso y consumo humano y sus límites permisibles de calidad, se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos para la evaluación de la calidad del agua: pH, temperatura, oxígeno disuelto, y conductividad. Los parámetros microbiológicos fueron coliformes totales y fecales.

Tanto los parámetros fisicoquímicos como los microbiológicos, se evaluaron en la primavera del 2015. Los muestreos se registraron en puntos alejados de las orillas, en sistemas homogéneos, recogiendo la cantidad adecuada para sub-muestras y todo lo que significa obtener muestras representativas del total. Las muestras fueron llevadas el mismo día al Laboratorio de Aguas y Suelos de la UAM-X y almacenadas a 4°C. Se procesaron tres réplicas paralelas de cada muestra.

El pH, fue medido con un pH metro digital portátil Hanna modelo 2041 y la conductividad (mS) medida con un conductímetro HACH modelo 2041.

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran que las aguas de la Presa de San Lucas Xochimanca, presentan problemas fisicoquímicos, de acuerdo a la Norma Oficial NOM-127-SSA1-1994. En cuanto a los indicadores microbiológicos se encontró un recuento alto de bacterias coliformes totales en varias estaciones de muestreo, con altos índices de quistes de *Cryptosporidium*, lo cual les da el carácter de no aptas para actividades con contacto directo y para el riego de frutas y verduras que se desarrollan a ras de suelo en la zona de Xochimilco, característico para el cultivo. Para resolver esta problemática, es necesario aplicar una modificación del ecosistema, situación que se ha agravado, debido a la falta de un plan de manejo integral adecuado.

Los resultados de los factores fisicoquímicos medidos, mostraron lo siguiente:

Temperatura

Considerando la temperatura desde el punto de vista de la vida acuática, en flujo de aguas corrientes, no debe aumentar el valor natural en más de 3 °C. (Rivera y Muñoz Pedreros, 1999). En nuestro estudio, la temperatura varió entre 8.1 y 25,7°C. Con base a ello, las aguas de la presa San Lucas Xochimanca cumplen con los requisitos mínimos para la vida acuática.

Conductividad

La conductividad, k , es una medida del grado de mineralización de las aguas (sales disueltas), como también de la carga iónica presente. Esta medida indica la capacidad de una solución acuosa para transmitir una corriente eléctrica. Esta capacidad, depende de la presencia de iones, de su concentración, valencia, movilidad, así como de la temperatura ambiental. De esta manera, la presencia de la mayoría de los compuestos inorgánicos (aniones: cloruros, nitratos, fosfatos, sulfatos) serían buenos conductores, contrariamente a la presencia de compuestos orgánicos (con la presencia de carbono) no disociables en agua, tales como los derivados fenólicos, alcoholes, azúcares, aceites).

La teoría nos dice que las aguas de menos de 1.2 mS/cm o 1200 μ S/cm, no plantean ningún problema; sin embargo, aguas que presentan una conductividad por encima de 2.5 mS/cm, no son aconsejables para el riego.

****Los valores encontrados fueron de 38.7 a 209 mS/cm, que no están dentro de lo estipulado por las Normas Mexicanas y no son aptas para el riego.

pH

Considerando el requisito para aguas de riego (NOM), éstas deben tener un pH entre 5,5 y 9,0. El requisito para la vida acuática, es de 6 a 9 unidades de pH.

****El pH de la presa San Lucas Xochimanca presenta un rango de 9.1-9.4, por lo cual las aguas de la presa presentan problema para ser utilizadas como aguas de riego.

Oxígeno disuelto

La norma vigente estipula que las aguas con valores de oxígeno disuelto por debajo de 5ppm, no son aptas para la vida acuática.

****El oxígeno disuelto en la presa San Lucas Xochimanca se presentó en un rango de 4.3 a 5 ppm, estando algunas estaciones de muestreo por debajo de los valores mínimos de la norma vigente, por lo que no permiten sustentar la vida acuática.

Determinar la concentración de oxígeno es trascendental, ya que su presencia y concentración es esencial para sustentar las formas superiores de vida, así como para evaluar los efectos de potenciales agentes contaminantes, principalmente por el balance de oxígeno en el sistema.

Indicadores microbiológicos

El anteproyecto de norma de calidad para la protección de las aguas continentales superficiales, establece para coliformes fecales en las aguas que se utilicen en actividades con contacto directo y el riego de frutas y hortalizas que se desarrollan a ras de suelo y que habitualmente se consumen sin proceso de cocción, un máximo de 1000 coliformes fecales/100 ml, y 2000 coliformes totales/100 ml.

La norma secundaria de calidad ambiental contempla, para coliformes totales y fecales cinco categorías que van desde clase de excepción hasta clase 4, en un rango desde 10 a menos de 10000 NMP por 100 ml. (CONAMA, 2000).

La presa presentó, en coliformes totales un mínimo de 67 y un máximo de 6300 expresado como NMP/100ml. En cuanto a coliformes fecales se presentó un mínimo de 14 y un máximo de 632 NMP/100 ml. Lo anterior permite señalar que existen al menos cuatro estaciones en las cuales se superaron los valores máximos de coliformes totales, lo que las convierte en agua no apta para

actividades con contacto directo y para riego de frutas y hortalizas, poniendo en riesgo las actividades agrícolas de Xochimilco.

5. CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos medidos en la presa San Lucas Xochimanca mostraron que:

Temperatura / cumple con los requisitos mínimos para la vida acuática.

Conductividad / fuera de lo estipulado por la NOM:

pH / No cumple el requisito de la NOM para la vida acuática.

Oxígeno disuelto / Varias estaciones de la presa no cumplen el requisito de la NOM para sustentar la vida acuática.

Los indicadores microbiológicos realizados.

Existen al menos cuatro estaciones de la presa San Lucas Xochimanca, en las cuales se superaron los valores máximos de coliformes totales, lo que las convierte en agua no apta para actividades con contacto directo y para riego de frutas y hortalizas, poniendo en riesgo las actividades agrícolas de Xochimilco.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bolaños, S. (2014, 19 de abril). "Destinará el GDF \$311 millones para el rescate del río Santiago, en Xochimilco". México: *La Jornada, Capital*.
2. Cárdenas, J. (2003). *La calidad de las aguas para estudiantes de Ciencias Ambientales*. Bogotá: Universidad Distrital, Colombia.
3. CONAMA. Comisión Nacional del Medio Ambiente. (2000). "Anteproyecto de Norma de Calidad para la protección de las aguas continentales superficiales". *Exenta* N° 198. (2000).
4. Cruz, F. (2008, 18 de mayo). "Denuncian severa contaminación de la presa San Lucas Xochimanca". México: *La Jornada*, p 16.
5. García, R. (1994). "Interdisciplinariedad y Sistemas Complejos". En: Leff, Enrique (comp.), *Ciencias Sociales y Formación Ambiental*. Barcelona, España: Ed. Gedisa-UNAM.
6. González, R., Hernández, M., Cohen, P. y Sáenz, Z. (2010). *Rescate de ríos urbanos*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Coordinación de Humanidades, Programa Universitario de estudios sobre la Ciudad.
7. "Guías para la Calidad del Agua Potable". (1985). Volumen 1. Recomendaciones. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud.
8. Kemmer, N. y McCallion, J. (1989). *Manual de Agua*. México: Ed. Mc Graw Hill. Volúmenes 1 al 3.
9. NOM-127-SSA1-1994. "Salud Ambiental agua para uso y consumo humano – Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse al agua para su potabilización". Tomada del sitio: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html>
10. Plata, S. (2014, 17 de mayo). "Distrito Federal San Lucas Xochimanca lucha por rescatar su presa". México: *La Jornada del campo*.
11. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (1997). NORMAS OFICIALES MEXICANAS NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996, NOM-003-SEMARNAT, 1997. México: Semarnat.

12. Rivera, N. y Muñoz-Pedreras (1999). "Parámetros Químicos relevantes para el estudio de impacto ambiental en un río del sur de Chile. Santiago: *Información Tecnológica*, 10 (5), 91-101 (1999).
13. Suárez, L. (2012, 31 de mayo). "En 25 años la presa de San Lucas Xochimanca se volvió una letrina". México: *La Jornada*, p.37.

ELABORACION DE PELÍCULAS A PARTIR DE ALMIDÓN Y COPOLIMERO INJERTO ALMIDÓN-G-PCL

Peralta González Coyolcaltzin¹, Ramírez Hernández Aurelio¹, Conde Acevedo C. Jorge¹, Moreno Navarro Gpe. Leticia¹.

¹Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec.

RESUMEN

Se llevó a cabo la elaboración de películas de almidón y del copolímero injerto almidón-g-PCL sintetizado a diferentes temperaturas por medio del método casting. Se realizó su caracterización por la técnica instrumental de Rayos X. El análisis de los difractogramas permite concluir que a partir de los 130°C, el pico de la PCL es mayor con respecto a temperaturas inferiores. Esto significa que a temperaturas mayores el ordenamiento de las cadenas aumenta. Además, se determinó el porcentaje de permeabilidad a gases y el grado de degradación biológica de las películas. Encontrando que la degradación biológica se lleva completamente a los 30 días. Siendo la película de PCL la más resistente. La permeabilidad es variable en todas las formulaciones de las películas y su degradación hidrolítica aumenta conforme pasando el tiempo.

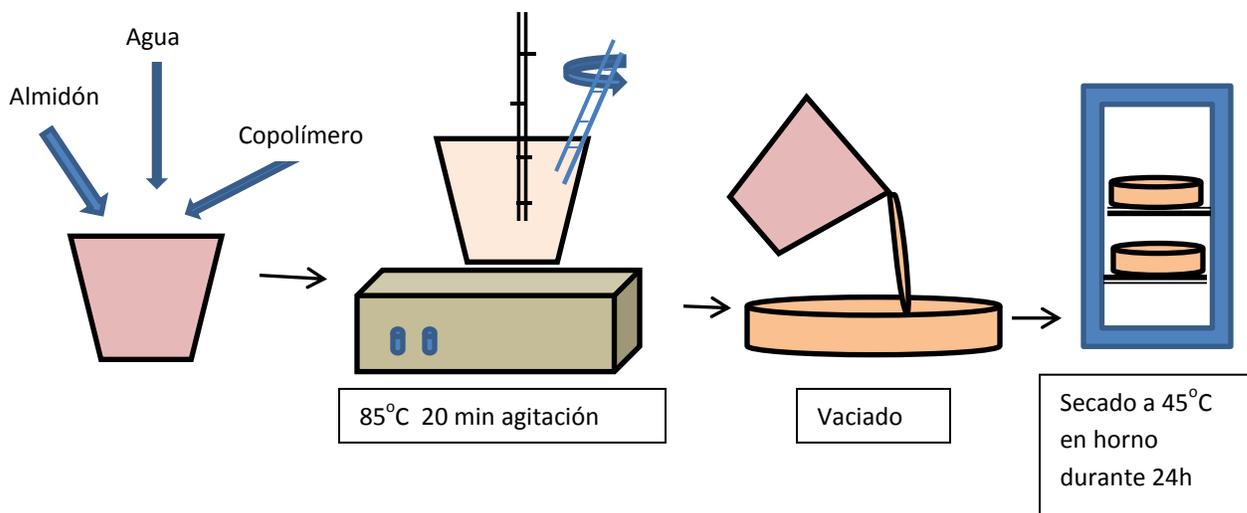
1. INTRODUCCION

Las películas de almidón también llamadas “almidón plastificado” presentan propiedades mecánicas similares a la de los plásticos convencionales cuando el almidón es modificado ya sea de manera física o química. Además, son completamente biodegradables y composteables. El almidón plastificado puede combinarse con plásticos para generar nuevos materiales con propiedades físicas y químicas, diferentes a los materiales de partida.⁶ Por ejemplo, las mezclas de policaprolactona y almidón han demostrado ser completamente biodegradables. Sin embargo, debido a la incompatibilidad entre el almidón (hidrofílico) y la PCL (hidrofóbica), las propiedades mecánicas no son las adecuadas para ser una alternativa ante el uso desmedido de los plásticos convencionales. Esta falta de adhesión entre el almidón y la PCL constituye la principal desventaja de estas películas. Desde un punto de vista, la incorporación de la PCL a la estructura del almidón, es decir, la modificación química del almidón con la PCL, almidón-g-PCL, puede generar películas con propiedades físicas y químicas similares a plásticos de uso común.^{1,2}

Uno de los procesos principales para la formación de las películas es el “proceso húmedo”, que involucra la dispersión o solubilización de los biopolímeros en una solución para la formación de película, seguida por la evaporación del solvente. Un ejemplo es el método casting, en el cual luego de formada la solución de los componentes de película, se realiza la evaporación del solvente a temperatura y humedad controladas.³ El método casting ha sido usado para la elaboración de películas de almidón.^{4,5}

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Elaboración de las películas. El esquema 1 ilustra de manera general el procedimiento general para la formación de las películas de almidón de plátano macho y del copolímero usando el método casting.



Esquema 1. Elaboración de las películas por el método casting

2.2 Biodegradación de las películas. Las pruebas de biodegradación de las películas elaboradas fue de acuerdo a la norma ASTM D -1708 y estas se realizaron en un espacio convencional de un terreno ubicado en la Universidad del Papaloapan en San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca. Este lugar se eligió debido a un mejor control para el acceso y la manipulación de las muestras. Las muestras fueron enterradas durante la temporada primavera -verano del 2015. Las películas fueron cortadas en muestras de 5 x 5 cm, se tomó el peso inicial de las muestras y se etiquetaron. Las muestras se colocaron sobre un agujeró de 15 cm de profundidad y se colocó tierra encima. Se colocaron tres muestras de cada película. Las muestras se recuperaron a los 8, 15, 30 y 60 días de exposición.^{7,8} El porcentaje de degradación se calculará a partir de la ecuación [1].

$$\text{Porcentaje de biodegradación (\%)} = \frac{=(masa\ final) \times 100}{masa\ inicial} \quad [1]$$

Donde la masa final es la masa recuperada en un tiempo dado.

2.3 Determinación de la permeabilidad al vapor de agua y a gases. La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se midió usando el método ASTM E96 [120] con algunas modificaciones. Las muestras se ubicaron en celdas de permeación de boca de área conocida, las cuales contenían agua destilada o soluciones salinas. Las celdas de permeación una vez ensambladas y las películas correctamente selladas a las mismas, se pesaron y ubicaron en un ambiente de humedad y temperatura conocidas con adecuada circulación de aire. La diferencia de presión parcial de vapor de agua existente a ambos lados del film proporciona la fuerza impulsora para el flujo de vapor a través de la película. La ganancia o pérdida de peso de las celdas fue monitoreado en función del tiempo, obteniéndose una recta luego de alcanzado el estado estacionario. Los

cambios de peso se registraron mediante una balanza analítica CX series Citizen con una precisión de 0.0001 g. La pendiente de las rectas, G, fue calculada mediante regresión lineal y la permeabilidad al vapor de agua fue calculada de acuerdo a la siguiente ecuación

$$WVP = \frac{GL}{A\Delta p} \quad [2]$$

donde G es la pendiente de la recta de cambios de peso en función del tiempo, L el espesor del film, A es el área expuesta del film y Δp es la diferencia de presión de vapor de agua a través del film.

3. RESULTADOS

3.1 Elaboración de las películas de almidón y del copolímero. Se llevó a cabo la elaboración de las películas por medio del método casting. Las cuales se obtuvieron con éxito y en la **Figura 1** se presentan algunas de las fotografías tomadas de estas. La primera corresponde a la película de almidón de plátano macho (1), (2) y (3) corresponden a las películas de almidón/Almidón-g-PCL/ y del copolímero Almidón-g-PCL, respectivamente.

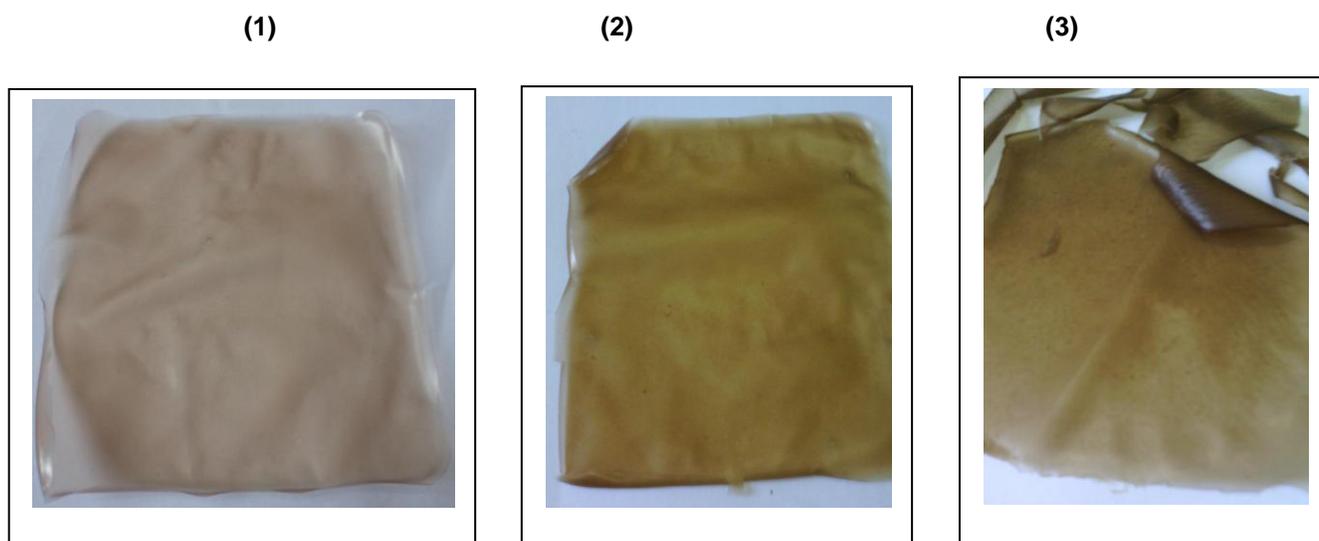


Figura 1. Películas de almidón (1), del almidón/almidón-g-PCL (2) y del copolímero almidón-g-PCL.

Comparando las tres fotografías se puede observar que las tres presentan tonalidades diferentes. La tendencia de transparencia sigue el siguiente orden Pel. 1 > Pel. 2 > Pel. 3. Esta tendencia se debe probablemente a las diferencias de la cristalinidad y amorficidad que tiene cada película.

En la **Figura 2** se presenta los difractogramas de rayos X de las primeras 5 películas, en los cuales se distinguen los picos de difracción característicos de la policaprolactona y del almidón, los cuales se generan a los ángulos $2\theta = 21.42, 22.05$ y 23.81° para la PCL, y para el almidón a los ángulos $2\theta = 5.6, 15.01$ y 16.89° , para este último presenta una morfología tipo C.

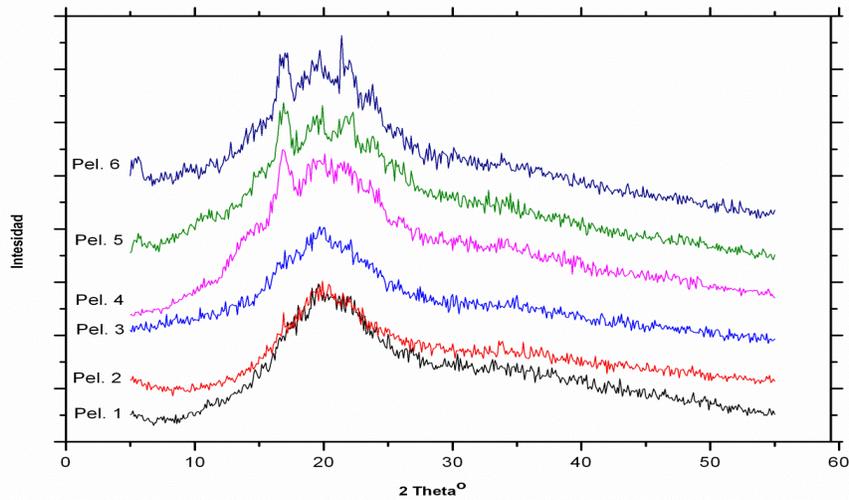


Figura 2. Diffractogramas de las películas de almidón y del copolímero almidón-g-PCL

Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros investigadores [9]. Se observa que al aumentar la temperatura de síntesis del copolímero aumenta la intensidad de las señales de la PCL y del almidón. Esto probablemente se deba a que las cadenas PCL y del almidón se reorganizan en forma lineal cuando la temperatura de secado de la película permanece constante y este resultado concuerda con lo observado por los espectros de FTIR.

Se llevó a cabo la hidrólisis acuosa de PCL en la **Figura 3** se presentan los resultados.

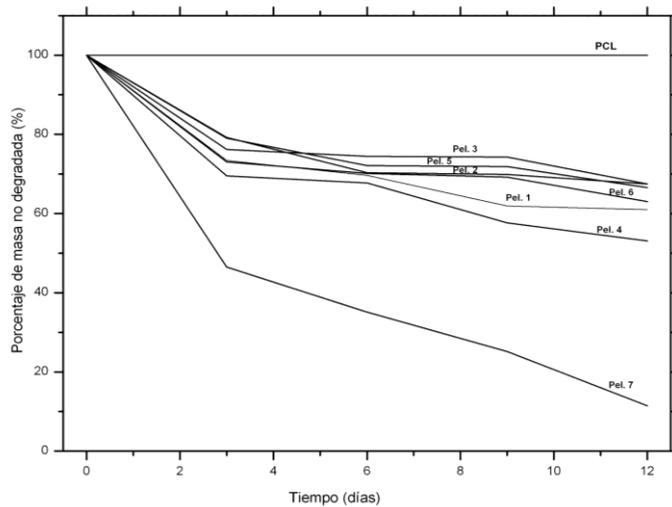


Figura 3. Hidrólisis acuosa de las películas.

La película del copolímero injerto almidón-g-PCL (Pel. 7) se degrada hasta un 90% a los 12 días mientras que la de almidón (Pel. 1) se degrada hasta un 40% aproximadamente, en el mismo tiempo. A partir de este resultado se concluye que las películas del copolímero son más degradables que las películas de almidón. Mientras que la temperatura de síntesis del copolímero hace que las películas almidón/copolímero sean más resistentes afecta la degradación hidrolítica. Esto se debe probablemente a la disminución de grupos hidroxilos de los polímeros con los cuales pudiera interactuar con el agua. copolímero. Por otra parte, las películas de solo PCL, tal como se esperaba, tienen escasa humedad debido a sus características químicas y físicas, es hidrofóbica.

Se llevó a cabo el estudio de la permeabilidad al vapor de agua de las películas de almidón y del copolímero. En la **Figura 4** se presentan estos resultados.

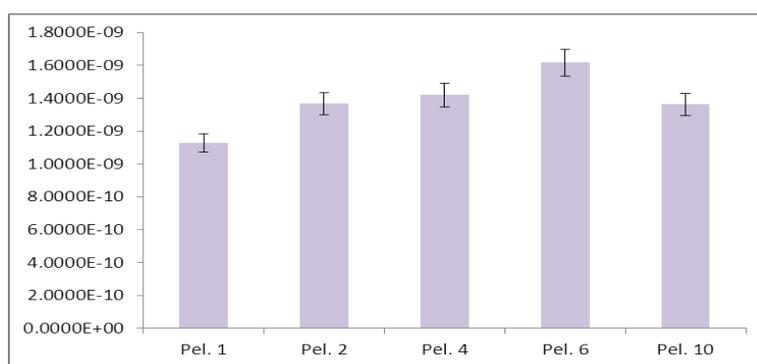


Figura 4. Permeabilidad al vapor de agua de las películas.

El efecto de la temperatura de síntesis del copolímero sobre la permeabilidad al vapor de agua aumenta a medida que aumenta la temperatura de síntesis haciendo una estructura menos densa y como consecuencia más permeable.

4. CONCLUSIONES

Se llevó a cabo con éxito la elaboración de películas de almidón y del copolímero almidón-g-PCL por medio del método casting. La caracterización por FTIR y rayos X indican que las cadenas de PCL se reorganizan en forma lineal conforme aumenta la temperatura de síntesis del copolímero.

La biodegradación de las películas se lleva a cabo a los 30 días. Este resultado permite concluir que las películas son altamente biodegradables en este tiempo.

BIBLIOGRAFIA

1. Singh R.P., Pandey J.K., Rutot D., Dege P., Dubois P.; Biodegradation of poly(ϵ -caprolactone)/starch blends and composites in composting and culture environments: The effect of compatibilization on the inherent biodegradability of the host polymer". Carbohydrate Research. 2003: 338 (17), 1759-1769,

2. R. Mani, M. Bhattacharya, J. Tang; "Functionalisation of polyesters with maleic anhydride by reactive extrusion". *Polym. Sci. A. Polym. Chem.* 1999: 37, 1693-1702.
3. Sánchez-Aldana D, Contreras-Esquivel C, Nevárez-Moorillón V, Aguilar C. Characterization of edible films from pectic extracts and essential oil from Mexican lime. *CyTA - Journal of Food.* 2015: 13(1), 17-25.
4. Hernández O., Emaldi U., Tovar J. In vitro digestibility of edible films from various starch sources. *Carbohydrate Polymers.* 2008: 71(4), 648-655.
5. Valderrama-Solano A., Rojas de Gante C. Development of biodegradable films based on blue corn flour with potential applications in food packaging. Effects of plasticizers on mechanical, thermal, and microstructural properties of flour films. *Journal of Cereal Science.* 2014: 60(1), 60–66.
6. Flieger M, Kantorovpa M, Rezanka T., Votruba J. 2003. Biodegradable plastics from renewable sources. *Folia Microbiologica.* 2003: 48(1), 27-44.
7. Ali Shah A, Hasan F, Shah Z, Kanwal N, Zeb S. Biodegradation of natural and synthetic rubbers: A review. *Int Biodeterior Biodegradation.* 2013: 83, 145-157.
8. Norma ASTM D 1708. Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics, Vol. 8.01, Filadelfia (USA): (USA): American Society for Testing and Materials, 2003.
9. Pelissari F., Andrade-Mahecha M., Amaral-Sobral P., Menegalli F. (2013). Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids.* 30, 681-690.

SÍNTESIS DE BIS- Y TRIS-ISOTIOUREAS ALIFÁTICAS DERIVADAS DEL BENZOTIAZOL

Cruz Alejandro*¹, García-Báez Efrén V.¹ y Bautista-Ramírez María Esther²

Instituto Politécnico Nacional-UPIBI, ¹Departamento de Ciencias Básicas, ²Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica. Av. Acueducto s/n, Barrio la Laguna Ticomán, México, D. F., 07340, Mexico., Proyecto SIP- 20150392.

RESUMEN

En esta investigación reportamos avances en la investigación sobre la síntesis de bis- y tris-guanidinas derivadas del benzotiazol. El procedimiento consiste de tres pasos a) Obtención del ditiometilcarboimidato benzotiazol a partir del 2-aminobenzotiazol con disulfuro de carbono en medio básico, b) La reacción de dos o tres equivalentes molar del ditiometilcarboimidatobenzotiazol con un equivalente molar de la correspondiente di- o tri-aminas aromáticas o alifáticas en reflujo de etanol para obtener las correspondientes bis- o tris-Smetilisotioureas. c) Reacción de las bis- o tris-isotioureas con aminas para obtener las bis- o tris-guanidinas correspondientes. La reacción procede por ataque nucleofílico de las bis- o tris-aminas sobre el grupo carboimidato del ditiometilcarboimidatobenzotiazol, probocando el desplazamiento de moléculas de HSMc. Las isotioureas aún contienen un grupo S-Me, esto permite una segunda sustitución con aminas alifáticas o aromáticas para conducir a las correspondientes bis- o tris-guanidinas. Las estructuras de los compuestos se asignaron por Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C. Se logró sintetizar un compuesto mixto que contiene el grupo isotiourea y guanidino, cuya estructura se determinó por difracción de rayos-X.

Palabras clave: 2-aminobenzotiazol; dithiometilcarboimidatobenzotiazol; isotiourea; bis-isotiourea; tris-isotiourea.

1. INTRODUCCIÓN

La síntesis de compuestos guanidina es muy importante en síntesis orgánica, puesto que existen compuestos con actividad biológica y farmacéutica que contienen este grupo.² Por otro lado, estos compuestos se pueden usar como ligantes en la preparación de complejos metálicos.³

Típicamente, la síntesis de estos compuestos involucra el tratamiento de una amina con especies amidina y carbodiimida.

Un método adecuado para obtener guanidinas es por condensación de una amina con una carbodiimida. Sin embargo, se requiere de un catalizador para llevarse a cabo.⁴ Se encontró que complejos metálicos^{2, 5-12} son eficientes catalizadores con una amplia gama de aminas primarias aromáticas y aminas secundarias alifáticas. Sin embargo, se reportó que esta reacción con aminas secundarias alifáticas requirió de elevadas temperaturas de reacción y/o tiempos de reacción prolongados.⁷⁻¹² Recientemente, se ha encontrado que complejos hetrobimetálicos, son altamente activos como precatalizadores para la adición de aminas a carbodiimididas.¹³ Inclusive, la doble adición de diaminas aromáticas a carbodiimididas produce las correspondientes bisguanidinas con rendimientos casi cuantitativos a 25°C, y la reacción con diaminas alifáticas procede a 40-60°C para dar las correspondientes bisguanidinas con excelentes rendimientos.

En este trabajo se reporta un método para la obtención de bis- y tris-guanidinas derivadas del benzotiazol por un método fácil y sin catalizadores.

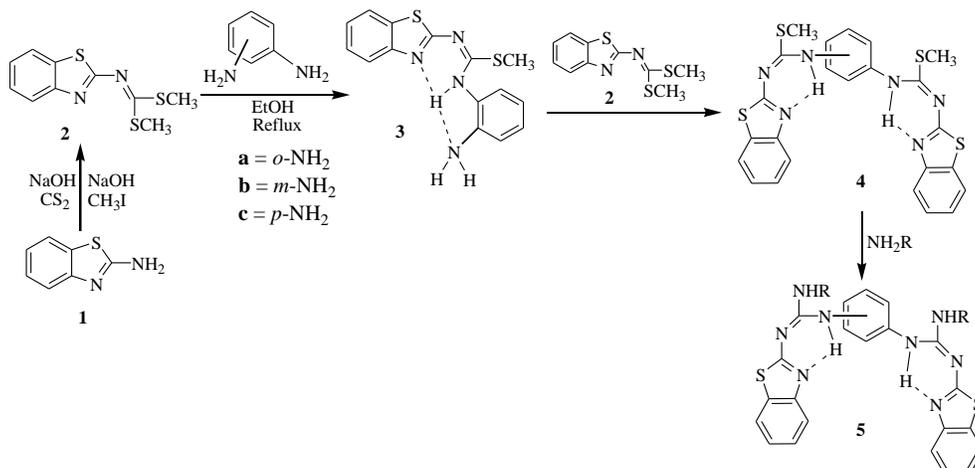
2. METODOLOGÍA

Se utiliza como intermediario el ditiometilcarboimidatobenzotiazol **2**, el cual se obtiene por reacción del 2-aminobenzotiazol **1** con NaOH, CS₂ y CH₃I, esquema 1. Se sabe que la reactividad del compuesto **2** se debe a la facilidad con que se desplazan 2 moléculas de HSMe como grupo saliente por el uso de aminas alifáticas y aromáticas para obtener Smetilisotiureas y posteriormente guanidinas¹⁴⁻¹⁹. Con base en esto, propusimos sintetizar bis- y tris-Smetilisotiureas y sus correspondientes bis- y tris-guanidinas por reacción de dos equivalentes molares del compuesto **2** con un equivalente molar de bis- y tris-aminas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reacción de los isómeros *o*-, *m*- y *p*-fenilendiaminas en reflujo de etanol por 24 horas arrojaron los siguientes resultados: La reacción con la *orto*-fenilendiamina produce la isotiurea **3a** en mezcla con un equivalente del compuesto **2** sin reaccionar. El espectro de RMN de ¹H del compuesto **3** presenta una señal NH ancha en 11.9 ppm en CDCl₃. El desplazamiento de esta señal a alta frecuencia, es indicativo de la formación de un puente de hidrógeno intramolecular entre el proton NH de la *o*-fenilendiamina y el átomo de nitrógeno del benzotiazol, se propone que este protón también participa en una interacción por puente de hidrógeno con el par de electrones del nitrógeno del segundo grupo amino, como se indica en el esquema 1, esta condición hace que el intermediario **3a** sea suficientemente estable para ser aislado. La señal para el SCH₃ está como un singulete en 2.46 ppm, cuya integración es 3:8 en relación con los átomos de hidrógeno de los anillos aromáticos. En el espectro de RMN ¹³C presenta 15 señales, lo que está de acuerdo con la estructura propuesta. Un criterio que explica por qué la reacción falla en el caso de la *o*-fenilendiamina, se debe al efecto estérico en la posición *orto* del segundo grupo NH₂ y la fuerte interacción por puente de hidrógeno con el par de electrones libres del nitrógeno de la *o*-anilina, los que son impedimentos para la segunda sustitución del grupo SMe, lo que impide la formación de la correspondiente bis-isotiurea.

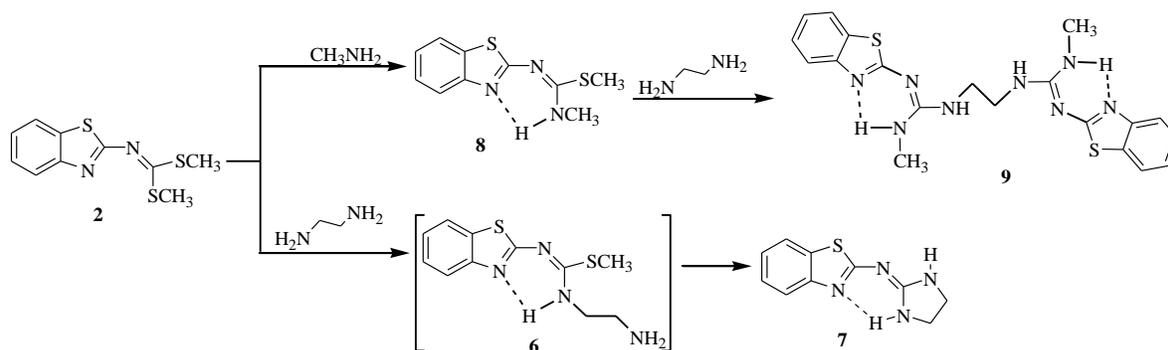
Las reacciones con *meta*- y *para*-fenilendiaminas, produjeron las bis-isotiureas **4b** y **4c** respectivamente, esquema 1. En RMN de ¹³C se observaron 13 y 11 señales para los compuestos **4b** y **4c**, respectivamente. Las bis-isotiureas **4b,c** contienen un grupo SMe, el cual puede ser sustituido por aminas alifáticas para obtener las bis-guanidinas, reacciones que están en estudio.



Esquema 1.- Bis-isotiureas **4** y **5** por reacción de **2** con *m*- y *p*-fenilendiaminas.

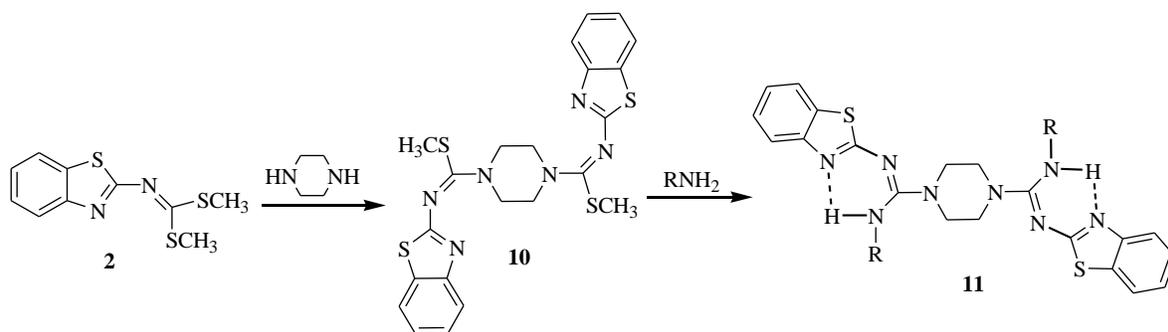
Por otro lado, con el propósito de obtener bis-isotiureas derivadas de la etilendiamina y piperazina, llevamos a cabo la misma reacción con el ditiometilcarboimidato **2** y la correspondiente diamina en una relación molar 2:1, esquema 2.

En la reacción con etiléndiamina, los compuestos observados en RMN de ^1H y ^{13}C correspondieron al 2-imidazolidinenobenzotiazol **7** en mezcla con un equivalente de **2** sin reaccionar. Los dos nitrógenos de la etiléndiamina son fuertemente básicos que cuando se forma in situ la isotiurea **6**, el segundo grupo amina reacciona de inmediato para sustituir el segundo grupo SMe, esto impide la formación de la correspondiente bis-isotiurea. El espectro de RMN de ^1H del compuesto **7** presenta una señal ancha en 7.9 ppm (2H) y un singulete en 3.54 ppm (4H), 42.4 ppm (^{13}C). Una estrategia para la síntesis de la etilén bisguanidina **9**, fue obtener primero la Smetilisotiurea **8** derivada de la metilamina y la subsecuente reacción de esta con la etiléndiamina, sin embargo esta última reacción no condujo a la bisguanidina **9**, en su lugar, se obtiene el copuesto **7**.



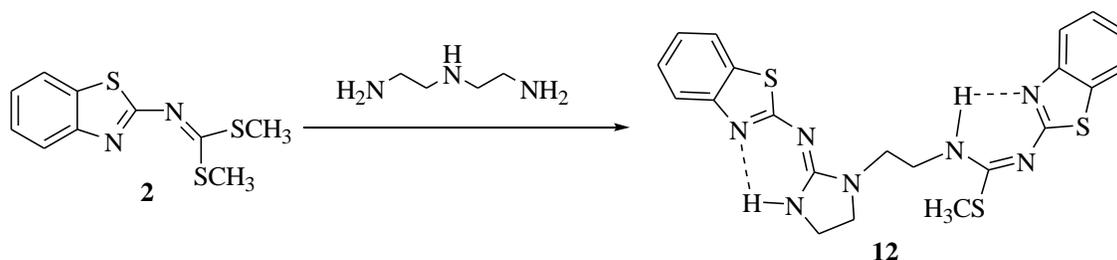
Esquema 2. Reacciones del ditiometilcarboimidato benzotiazol **2** con etilén diamina.

En la reacción con la piperazina, esquema 3, los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto **10** presentan en la zona alifática, dos señales en 3.94 (8H), 2.26 (6H) y 47.65, 16.68 ppm, respectivamente, lo que está de acuerdo con la simetría del compuesto **10**. El compuesto **10** se hizo reaccionar con dos equivalentes de metilamina para obtener la bis-guanidina **11** correspondiente. Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto **11**, presentan en la zona alifática, dos señales en 3.94 (47.65) y 2.26 (16.68) ppm, respectivamente, la integración de las señales de los átomos de hidrógeno es 8:6. En la zona aromática, se presentan las respectivas dos señales dobles y dos señales triples, lo que está de acuerdo con la estructura simétrica del compuesto **11**.



Esquema 3. bis-isotiurea **7** y bis-guanidina **8** obtenidas por reacción del ditiometilcarboimidato benzotiazol **2** con piperazina, respectivamente.

La misma reacción se llevó a cabo con un equivalente de dietiléntriamina y dos equivalentes del compuesto **2**, lo que condujo a un compuesto mixto **12**, el cual contiene un grupo guanidina y un grupo isotiurea, esquema 4. En RMN de ^1H se observan dos señales NH, en 10.92 y 8.86 ppm, que corresponden a los hidrógenos puenteados con los átomos de nitrógeno de los anillos de benzotiazol, respectivamente. En la zona alifática se observan un singulete en 2.54 ppm para grupo SMe y señales en 3.6-3.7 ppm que corresponden a los grupos metileno.



Esquema 4. Reacción de **2** con dietiléntriamina para obtener un compuesto bifuncional **12**.

El compuesto **12** se recrystalizó de una solución de etanol y su estructura se estudió por difracción de rayos-X, figura 1. Las interacciones de los grupos NH con los átomos de nitrógeno de los anillos benzotiazol, hacen que los sistemas guanidina e isotiurea, estén en el plano de los respectivos anillos de benzotiazol, unidos por los carbonos de los grupos metileno.

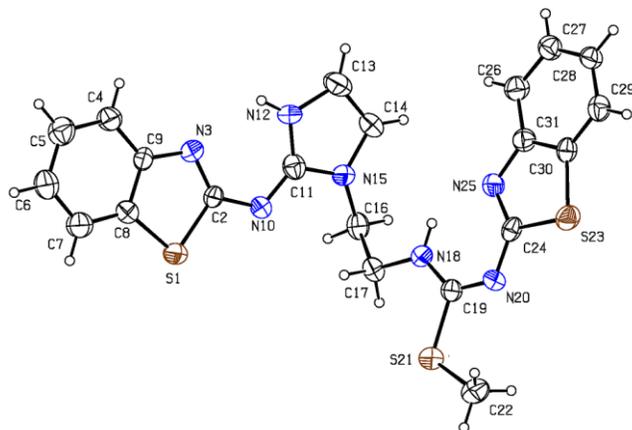


Figura 1. Estructura de difracción de rayos-X del compuesto **12**.

Tablas de distancias y ángulos de enlace del compuesto **12**.

Distancias de enlace (Angstrom).

S(1)-C(2)	1.772(9)	S(1)-C(8)	1.715(10)	S(21)-C(19)	1.781(10)	S(21)-C(22)	1.784(11)
S(23)-C(24)	1.757(8)	S(23)-C(30)	1.741(8)	N(3)-C(2)	1.303(11)	N(3)-C(9)	1.356(12)
N(10)-C(2)	1.348(12)	N(10)-C(11)	1.330(12)	N(12)-C(11)	1.343(12)	N(12)-C(13)	1.454(14)
N(15)-C(11)	1.354(12)	N(15)-C(14)	1.448(12)	N(15)-C(16)	1.465(12)	N(18)-C(17)	1.453(11)
N(18)-C(19)	1.331(12)	N(20)-C(19)	1.315(11)	N(20)-C(24)	1.354(10)	N(25)-C(24)	1.333(11)
N(25)-C(31)	1.400(11)						

Ángulos de enlace (Grados)

C(2)-S(1)-C(8)	88.7(4)	C(19)-S(21)-C(22)	102.6(5)	C(24)-S(23)-C(30)	90.7(4)
C(2)-N(3)-C(9)	110.2(7)	C(2)-N(10)-C(11)	117.7(8)	C(11)-N(12)-C(13)	113.0(8)
C(11)-N(15)-C(14)	110.9(8)	C(11)-N(15)-C(16)	121.8(7)	C(14)-N(15)-C(16)	124.7(8)
C(17)-N(18)-C(19)	125.6(7)	C(19)-N(20)-C(24)	118.5(8)	C(24)-N(25)-C(31)	112.5(7)
S(1)-C(2)-N(3)	115.2(7)	S(1)-C(2)-N(10)	114.8(6)	N(3)-C(2)-N(10)	130.0(8)

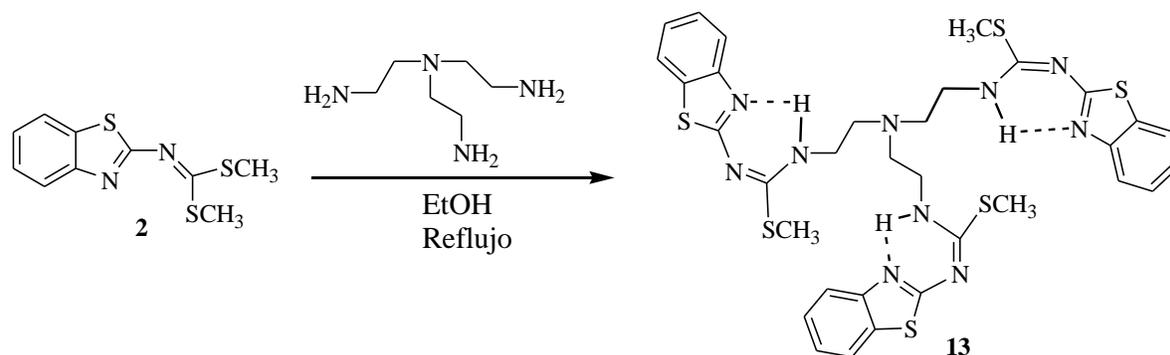
Ángulos de torsión (Deg.)

S(1)-C(2)-N(10)-C(11)	-172.3(7)	N(3)-C(2)-N(10)-C(11)	5.6(14)	N(12)-C(11)-N(10)-C(2)	1.1(15)
N(15)-C(11)-N(10)-C(2)	176.8(8)	N(10)-C(11)-N(15)-C(16)	14.2(13)	N(12)-C(13)-C(14)-N(15)	-9.0(10)
N(15)-C(16)-C(17)-N(18)	-64.2(10)	S(21)-C(19)-N(18)-C(17)	4.3(12)	S(21)-C(19)-N(20)-C(24)	177.8(7)
N(18)-C(19)-N(20)-C(24)	-0.8(15)	S(23)-C(24)-N(20)-C(19)	178.5(7)	N(25)-C(24)-N(20)-C(19)	-1.8(14)
N(12)-C(11)-N(15)-C(14)	-6.3(10)	N(15)-C(11)-N(12)-C(13)	0.0(11)		

Nr Typ Res Donador --- H...Aceptor [ARU] D - H H...A D...A D - H...A

1	Intra	1	N(12) --H(12) ..N(3)	[]	0.86	2.20	2.733(11)	120
2	Intra	1	N(18) --H(18) ..N(25)	[]	0.86	2.03	2.681(10)	132
3	Intra	1	C(17) --H(17A) ..S(21)	[]	0.97	2.62	2.959(10)	101

La reacción de **2** con la tris-etiléntetramina condujo a la tris-isotiourea **13**, esquema 5.



Esquema 5. Reacción del ditiometilcarboimidatobenzotiazol **2** con tris-etilén teramina para obtener la tris-isotiourea **13**.

4. CONCLUSIONES

Las reacciones de dos equivalentes de dimetilcarboimidatobenzotiazol **2** con un equivalente de las anilinas *m*- y *p*-sustituidas en reflujo de etanol, permitieron aislar las bis-isotiureas correspondientes. Las bis-isotiureas reaccionan con dos equivalentes de metilamina y conducen a las correspondientes bis-guanidinas. En las mismas condiciones, la dietiléntriamina y trisetiléntetramina reacciona con dos equivalentes del compuesto **2** para conducir a un al compuesto **12** que contiene un grupo guanidina y un grupo isotiurea y la tris-isotiurea **13**, respectivamente.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. (a) The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th ed.; Gilman, A. G., Goodman, L. S., Rall, T.W., Murad, F., Eds.; Pergamon: New York, NY, **1990**; p 899; (b) Hu, L. Y.; Guo, J.; Magar, S. S.; Fischer, J. B.; Burke-Howie, K. J.; Durant, G. J. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4281; (c) Manimala, J. C.; Anslyn, E. V. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3909.
2. (a) Ishikawa, T.; Kumamoto, T. *Synthesis* **2006**, *5*, 737; (b) McManus, J. C.; Genski, T.; Carey, J. S.; Taylor, R. J. K. *Synlett* **2003**, 369; (c) McManus, J. C.; Carey, J. S.; Taylor, R. J. K. *Synlett* **2003**, 365; (d) Ishikawa, T.; Isobe, T. *Chem.-Eur. J.* **2002**, *8*, 552; (e) Kovacevic, B.; Maksic, Z. B. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1523; (f) Costa, M.; Chiusoli, G. P.; Taffurelli, D.; Dalmonago, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 1541; (g) Simoni, D.; Rondanin, R.; Marini, M.; Banrchelo, R.; Imidiata, F. P. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1607; (h) Ma, D.; Cheng, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 713.
3. (a) Barker, J.; Kilner, M. *Coord. Chem. Rev.* **1994**, *133*, 219; (b) Bailey, P. J.; Pace, S. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *214*, 91; (c) Coles, M. P. *Dalton Trans.* **2006**, 985; (d) Edelmann, F. T. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2253; (e) Edelmann, F. T. *Adv. Organomet. Chem.* **2008**, *57*, 183; (f) Rowley, C. N.; DiLabio, G. A.; Barry, S. T. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 1983; (g) Foley, S. R.; Zhou, Y.; Yap, G. P. A.; Richeson, D. S. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 924; (h) Dagonne, S.; Guzei, I. A.; Coles, M. P.; Jordan, R. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 274; (i) Coles, M. P.; Swenson, D. C.; Jordan, R. F. *Organometallics* **1998**, *17*, 4042; (j) Milanov, A. P.; Thiede, T. B.; Devi, A.; Fischer, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17062; (k) Ong, T. G.; Yap, G. P. A.; Richeson, D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8100; (l) Rohde, J. U.; Lee, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9162; (m) Shen, H.; Chan, H. S.; Xie, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12934.
4. (a) Tin, M. K. T.; Thirupathi, N.; Yap, G. P. A.; Richeson, D. S. *Dalton Trans.* **1999**, *17*, 2947; (b) Tin, M. K. T.; Yap, G. P. A.; Richeson, D. S. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 6728.
5. Montilla, F.; Pastor, A.; Galindo, A. *J. Organomet. Chem.* **2004**, *689*, 993.
6. Ong, T. G.; O'Brien, J. S.; Korobkov, I.; Richeson, D. S. *Organometallics* **2006**, *25*, 4728.
7. (a) Zhou, S. L.; Wang, S.; Yang, G.; Li, Q.; Zhang, L.; Yao, Z.; Zhou, Z.; Song, H. *Organometallics* **2007**, *26*, 3755; (b) Li, Q. H.; Wang, S.; Zhou, S.; Yang, G.; Zhu, X.; Liu, Y. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6763.
8. Shen, H.; Chan, H. S.; Xie, Z. W. *Organometallics* **2006**, *25*, 5515.
9. (a) Zhang, W. X.; Nishiura, M.; Hou, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16788; (b) Zhang, W. X.; Nishiura, M.; Hou, Z. *Chem.-Eur. J.* **2007**, *13*, 4037; (c) Zhang, W. X.; Nishiura, M.; Hou, Z. *Synlett* **2006**, 1213.
10. (a) Alonso-Moreno, C.; Carrillo-Hermosilla, F.; Garcés, A.; Otero, A.; López-Solera, I.; Rodríguez, A. M.; Antiñolo, A. *Organometallics* **2010**, *29*, 2789; (b) Zhang, W. X.; Li, D.; Wang, Z.; Xi, Z. *Organometallics* **2009**, *28*, 882; (c) Li, D.; Guang, J.; Zhang, W.-X.; Wang, Y.; Xi, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1816.
11. Du, Z.; Li, W.; Zhu, X.; Xu, F.; Shen, Q. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8966.

12. Zhu, X.; Du, Z.; Xu, F.; Shen, Q. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6347.
13. Zhang, X.; Wang, Ch.; Cunwei Qian, C.; Fubin Han, F.; Xu, F.; Shen, Q. *Tetrahedron* **2011**, *67* 8790-8799 Heterobimetallic dianionic guanidinate complexes of lanthanide and lithium: highly efficient precatalysts for catalytic addition of amines to carbodiimides to synthesize guanidines.
14. Merchán, F.; Garín, J.; Meléndez, E.; Tejero, T. 2-(2-Benzimidazolylamino)-benzothiazoles and 2-(2-Imidazolidinylidenamino)-benzothiazoles. *Synthesis* 1982, doi:10.1055/s-1982-30068.
15. Garín, J.; Meléndez, E.; Merchan, F.L.; Ortiz, D.; Tejero, T. Facile synthesis of 8-aryl-amino and 8-hetarylamino purines and their 1- and 3-deaza analogs. *Synthesis* 1985, doi:10.1055/s-1985-35505
16. Merchan, F.L.; Garín, J.; Meléndez, E.; Tejero, T. A facile synthesis of 2-(2-benzothiazolyl-amino)-1,3-heterazoles. *Synthesis* 1987, doi:10.1055/s-1987-27946.
17. Cruz, A.; Gayosso, M.; Contreras, R. Syntheses of optically active 2-(2-benzothiazolyl-imino)-heterazolidines. *Heteroat. Chem.* 2001, *12*, 586–593.
18. Cruz, A.; Padilla-Martínez, I.I.; García-Báez, E.V. A synthetic method to access symmetric and non-symmetric 2-(N,N'-disubstituted)guanidinebenzothiazoles. *Molecules* 2012, *17*, 10178–10191.
19. Cruz, A.; Padilla-Martínez, I.I.; García-Báez, E.V.; Juárez-Juárez, M. S-Methyl-(-N-aryl and -N-alkyl)isothioureas derived from 2-aminobenzothiazole. *ARKIVOC* 2008, *v*, 200–209.

ESTATUS TAXONÓMICO DEL GÉNERO *Notomastus* (Polychaeta: Capitellidae) DE LAS COSTAS MEXICANAS.

María Elena García-Garza

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Biosistemática. C.P. 66450, San Nicolás de los Garza, Nuevo León.

RESUMEN

El género *Notomastus* fue establecido por Sars (1851) para *N. latericeus*. Esta especie fue descrita para Bergen, Noruega. De acuerdo a los antecedentes se reportan 14 especies de *Notomastus* para las costas mexicanas, Salazar-Vallejo (1996), Salazar Vallejo y Londoño-Meza (2004). El objetivo principal de este estudio fue analizar el estatus taxonómico del género *Notomastus* de las costas mexicanas, realizando una revisión taxonómica de las especies descritas para esta zona, examinando material tipo y no tipo de diversas colecciones nacionales e internacionales. Se realizaron descripciones y re descripciones detalladas de cada especie, generando claves de identificación, y destacando la distribución geográfica de cada especie.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Notomastus* fue establecido por Sars (1851) para *N. latericeus* con los siguientes atributos: "Tórax con 12 segmentos incluyendo el peristomio aqueto y 11 setíferos con setas capilares; abdomen sólo con ganchos cubiertos. Cuerpo cónico sin tentáculos, ojos laterales, papilas presentes. Branquias ausentes". Esta especie fue descrita para Bergen, Noruega. A pesar de que no fue anotado por Sars, la especie tipo de *Notomastus* presenta el primer setífero birrámeo. Eisig (1887) subdivide el género en dos subgéneros: *Tremomastus*, para especies con poros genitales bien desarrollados y *Clistomastus*, para especies con poros genitales rudimentarios o ausentes. Posteriormente, Fauvel (1927) utiliza *Notomastus sensu stricto* en lugar del subgénero establecido por Eisig. Hartman (1947) redefine *Notomastus sensu stricto* y *Notomastus* (*Clistomastus*) clarificando los mismos caracteres utilizados por Eisig. *Notomastus* es un género muy diverso, actualmente incluye 40 especies válidas, sin embargo consideramos que se han incluido especies que no concuerdan con los atributos que define el género. *N. luridus* Verrill (1873) es la primera especie incluida en el género que presenta el primer setífero unirrámeo, posteriormente Eisig en 1887 incluye a *N. formianus* compartiendo la misma característica morfológica y así, se han anexado otras especies con el mismo carácter, *N. aberans*, *N. anoculatus*, *N. bromensis*, *N. chrysosetus*, *N. hemipodus*, *N. tenuis*, *N. torquatus*, *N. ouanaryensis*, *N. polyodon*, *N. teres* y *N. variegatus*.

Además, *N. hedlandica* pose setas capilares en los primeros dos segmentos abdominales y *N. exsertilis* presenta los 10 segmentos torácicos y los dos primeros abdominales con setas capilares. Por esta razón consideramos prioritario el establecimiento de un nuevo género para las especies con el primer setífero unirrámeo, y del mismo modo, para los que presentan capilares en el abdomen, así como para el que presenta 10 segmentos torácicos y capilares en los dos primeros segmentos abdominales.

De acuerdo a la literatura se reportan 9 especies de *Notomastus* para el Gran Caribe Salazar-Vallejo (1996) *N. americanus* (Day 1973), *N. daueri* (Ewing 1982), *N. hemipodus* (Hartman 1947), *N. latericeus* (Sars 1851), *N. lineatus* Eisig 1887, *N. lobatus* (Hartman 1947), *N. luridus* (Verrill 1873), *N. ouanaryensis*, (Gravier 1901) y *N. tenuis* (Moore 1909). Cabe indicar que la especie *N. lobatus* es reasignada al género *Rashgua*, (ver Green 2002), por carece de notosetas en la parte abdominal, presentar lóbulos neuropodiales alargados y lóbulos notopodiales pequeños y *N. americanus* fue sinonimizado con *N. hemipodus* (ver García Garza et al 2012); Para el Pacífico mexicano Salazar Vallejo & Londoño-Meza (2004), reportan 14 especies, de las cuales 5 se considerarían anfiamericanas: *N. americanus*, *N. hemipodus*, *N. latericeus*, *N. lineatus* y *N. tenuis* por presentar su distribución tanto en el Caribe como en el Pacífico mexicano.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El material biológico examinado, proviene de 3 fuentes, material tipo, material no tipo, y material de las campañas de muestreo:

Material tipo: Se realizaron estancias en las colecciones del Los Angeles County Museum of Natural History, Allan Hancock Foundation (LACM-AHF), y en el Natural History Museum of London (BMNH) en Londres. Se solicitó material al Zoologisches Institut and Zoologisches Museum, Universität Hamburg (ZMH), a la California Academy of Sciences, Philadelphia (CAS), y al Muséum National d' Histoire Naturelle (MNHN) de París.

Material No Tipo: Se realizó una estancia en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología - UNAM Colección del Lab. de Ecología y Biodiversidad de Invertebrados Marinos, se solicitó en préstamo material de las colecciones: El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, Colección de Referencia Lab. de Poliquetos; Universidad del Mar campus Puerto Ángel, Oaxaca, Colección particular de poliquetos (BZ-pc); Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Unidad Mazatlán, Colección de Referencia de Invertebrados, Lab. de Invertebrados Bentónicos; material recolectado de cruceros oceanográficos del Centro de Investigaciones Científicas y Estudios Superiores de Ensenada; materiales de la Universidad Autónoma de Baja California Sur y el material depositado en la Colección Poliquetológica del Lab. de Zoología de Invertebrados no Artrópodos de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

Campañas de Muestreo: Se realizaron 3 campañas respectivamente en los años 2004, 2005 y 2006 en la zona entre mareas de las costas de Baja California, Baja California Sur, Sinaloa, Sonora, Nayarit, Jalisco y Colima, esto con la finalidad de incrementar el material biológico y tener mejor representatividad del área de estudio. Los muestreos se realizaron localizando en las áreas de estudio los diferentes hábitats en los cuales las especies de *Notomastus* podrían encontrarse. Las tomas de muestras se efectuaron en forma manual, tamizando arena, con tamices de luz de malla 0.5 y 1.0 mm, en la zona de entre mareas a una profundidad de 0.50 m a 3.0 m. Los organismos fueron relajados bajando la temperatura del recipiente en que se encontraban, y fijados en formaldehído al 10% en agua marina. Ya en el laboratorio, el material fue lavado con agua corriente de la llave y separado, los organismos, se preservaron en alcohol etílico al 80%, posteriormente se identificaron a nivel específico, basándose en la literatura disponible hasta el momento. Se examinaron los caracteres taxonómicos más importantes: forma del prostomio, distribución de setas capilares en el tórax, presencia o ausencia de setas capilares en el primer notopodio, número de segmentos transicionales entre el tórax y el abdomen, forma y número de ganchos, órganos nucales, presencia o ausencia de branquias, órganos laterales, poros nefridiales y forma del pigidio.

3. RESULTADOS

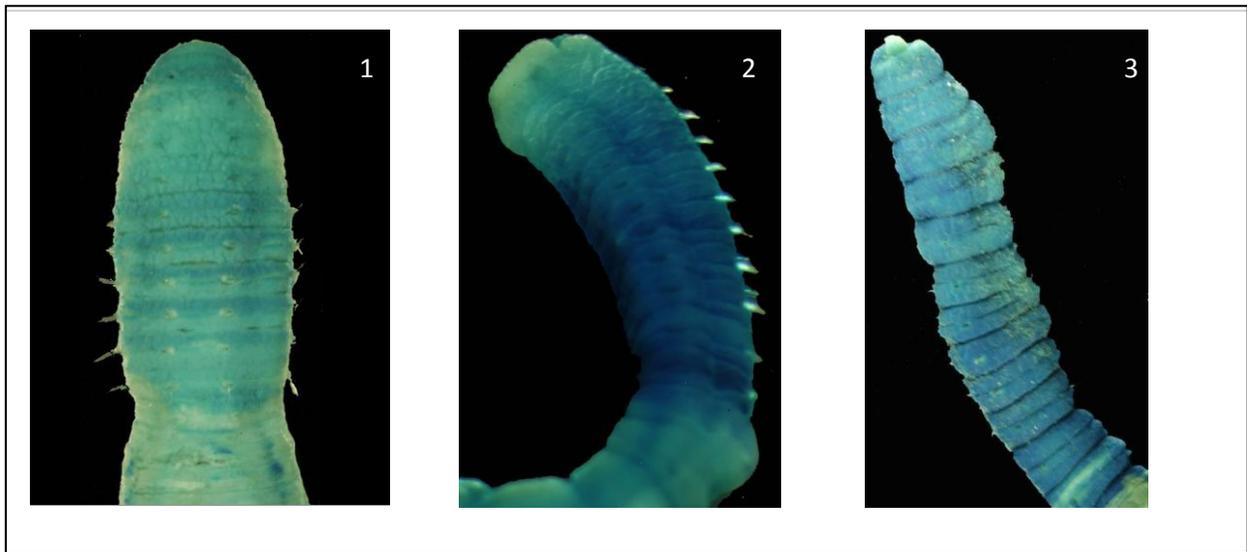
Se recolectaron y determinaron un total de 200 especímenes, pertenecientes al género *Notomastus*. Se enumera la lista sistemática de las especies examinadas. La clasificación

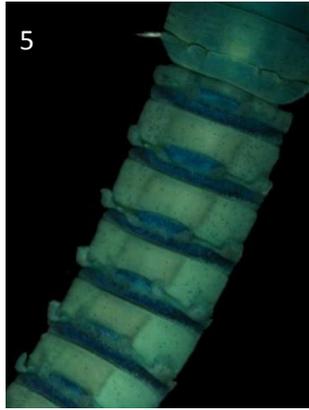
taxonómica para géneros se basó en el esquema propuesto por Fauchald (1977), a nivel específica se utilizó literatura especializada, De León González *et al.*, 2009.

SECCIÓN TAXONÓMICA

Familia Capitellidae

- 1.- *N. abyssalis* Fauchald, 1972
- 2.- *N. angelicae* Hernández Alcántara y Solís-Weiss, 1998
- 3.- *N. cinctus* Fauchald, 1972
- 4.- *N. daueri* Ewing, 1982
- 5.- *N. fauchaldi* García-Garza y de León-González, 2015
- 6.- *N. hemipodus* Hartman, 1947
- 7.- *N. landini* García-Garza y de León-González, 2015
- 8.- *N. lobulatus* García-Garza y de León-González, 2015
- 9.- *N. magnus* Hartman, 1947
- 10.- *N. polyodon* Gallardo, 1968
- 11.- *N. precocis* Hartman, 1960
- 12.- *N. sonora* Kudenov, 1975





Claves para las especies del género Notomastus en las costas mexicanas.

1 Primer segmento unirrámeo	2
- Primer segmento birrámeo	3
2 (1) Segmentos torácicos con reborde medio dorsal y lóbulos neuropodiales expandidos, segmentos abdominales con lóbulos notopodiales y neuropodiales expandidos, con terminación digitiforme	<i>N. polyodon</i> Gallardo, 1968 P
- Segmentos torácicos sin reborde medio dorsal ni lóbulos neuropodiales expandidos, segmentos abdominales con lóbulos notopodiales reducidos y lóbulos neuropodiales expandidos, sin terminación digitiforme	<i>N. hemipodus</i> Hartman, 1960 G, P
3(1) Segmentos torácicos con mezcla de setas capilares y ganchos cubiertos	4
- Segmentos torácicos sin mezcla de setas	5
4(3) Últimos dos o tres neuropodios torácicos con ganchos cubiertos	<i>N. precocis</i> Hartman, 1960 P
- Último neuropodio torácico con ganchos cubiertos	6
5(3) Segmentos abdominales con lóbulos notopodiales y neuropodiales evidentes	7
- Segmentos abdominales con lóbulos notopodiales y neuropodiales reducidos	8
6(4) Prostomio con palpo anterior; ojos presentes; epitelio claramente teselado	<i>N. angelicae</i> Hernández-Alcántara & Solís-Weiss, 1998 P
- Prostomio sin palpo, ojos ausentes; epitelio ligeramente teselado	<i>N. daueri</i> Ewing, 1982 G
7(5) Segmentos abdominales con lóbulos notopodiales y neuropodiales conectados continuamente por una membrana	9
- Segmentos abdominales con lóbulos notopodiales y neuropodiales solo conectados lateralmente	<i>N. sonorae</i> Kudenov, 1975 P
- Segmentos abdominales con lóbulos notopodiales y neuropodiales libres	10
8(5) Ganchos cubiertos notopodiales en fascículos libres a lo largo del abdomen	<i>N. sp.</i> 3 P
- Ganchos cubiertos notopodiales en fascículos notopodiales fusionados a partir del segmento 26	<i>N. abyssalis</i> Fauchald, 1972 P
9(7) Lóbulos notopodiales con terminaciones digitiformes; papilas dorsales dispersas en segmentos abdominales	<i>N. fsuchaldi</i> P
- Lóbulos notopodiales sin terminaciones digitiformes; sin papilas dorsales	<i>N. cinctus</i> Fauchald, 1972 P
10(7) Lóbulos notopodiales fusionados	11
- Lóbulos notopodiales libres	12
11(10) Lóbulos neuropodiales robustos y expandidos hasta la parte dorsal; sin branquias	<i>N. lobulatus</i> García-Garza de León-González, 2015) P
- Lóbulos neuropodiales no modificados; con branquias.....	<i>N. magnus</i> Hartman, 1947 P
12(10) Con proyecciones digitiformes laterales a los lóbulos notopodiales y neuropodiales	<i>N. sp.</i> 5 P
- Sin proyecciones digitiformes laterales a los lóbulos notopodiales y neuropodiales	<i>N. landini</i> (García-Garza de León-González, 2015) P

Distribución Geográfica: P= Pacífico mexicano G=Golfo de México

4. CONCLUSIONES

De acuerdo a los antecedentes se conocían 14 especies para la zona de estudio. Con la aportación de esta investigación se ajustan a 12 especies devidamente corroboradas con el material tipo, de las colecciones: Los Angeles County Museum of Natural History, Allan Hancock Foundation (LACM-AHF), Natural History Museum of London (BMNH), Zoologisches Institut and Zoologisches Museum, Universität Hamburgo (ZMH), California Academy of Sciences, Philadelphia (CAS), y del Museum National d' Histoire Naturelle de Paris.

Se analizó que algunas especies previamente reportadas para nuestro país, por distintos autores no lo son en realidad y están bajo otro nombre. Así como también algunas descripciones originales no evidencian estructuras morfológicas importantes que presentan los especímenes tipo. Sumando con esto, otro factor más que genera confusión en las determinaciones de los organismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Berkeley E, & Berkeley C. 1941. On a collection of Polychaeta from southern California. Bulletin of the Southern California Academy of Science 40: 16-60.
2. Blake J.A. 2000. Family Capitellidae Grube, 1862 In: Blake JA, Hilbig B, Scott PV (Eds) Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and the Western Santa Barbara Channel. Volumen 7. Annelida Part 4, Polychaeta: Flabelligeridae to Sternaspidae: Santa Barbara Museum of Natural History, California, 47-96.
3. Day, J.H. 1955. The Polychaeta of South Africa. Part 3. Sedentary species from cape shores and estuaries. Journal of the Linnean Society of London, Zoology, 42 (287): 407-452.
4. Day J.H. 1967. A monograph on the Polychaeta of Southern Africa. British Museum of Natural History Publications 656: 1-878.
5. Eisig, H. 1887. Monographie der Capitelliden des Golfes von Neapel. Fauna and Flora des Golfes von Neapel 16: 1-906.
6. Ewing, R.M. 1982. A partial revision of the genus *Notomastus* (Polychaeta: Capitellidae) with a description of a new species from the Gulf of Mexico. Proceedings of the Biological Society of Washington, 95(2): 232-237.
7. Fauchald, K. 1972. Benthic polychaetous annelids from deep water off Western Mexico and adjacent areas in the Eastern Pacific Ocean. Allan Hancock Monographs in marine Biology 7: 1-155.
8. Fauchald, K. 1977. The polychaete worms Definitions and keys to the Orders, Families and Genera. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 28, 190pp.
9. Fauvel, P. 1927. Polychètes sédentaires. Addenda aux errantes, arachiannélides, myzostomaires. Faune de France Paul Lechevalier, Paris 16: 1-494.
10. García-Garza, M.E. & de León-González, J.A. 2011. Review of the Capitellidae (Annelida, Polychaeta) from the Eastern Tropical Pacific region, with notes on selected species. ZooKeys 151: 17-52.
11. García Garza, M.E. & Harris, L.H. & de León González, J.A. 2012. Redescription of *Notomastus hemipodus* Hartman, 1945 and *N. tenuis* Moore, 1909 (Polychaeta: Capitellidae). Proceedings of the Biological Society of Washington, 125(1): 1-11.
12. García-Garza M.E. & J.A. de León-González. 2015. The genus *Notomastus* (Polychaeta: Capitellidae) in the Gulf of California, Mexico, with the description of three new species. Proceedings of the Biological Society of Washington 128(2):176-189.
13. Green, K.D. 2002. Capitellidae (Polychaeta) from the Andaman Sea. Phuket Marine Biological Center Special Publication, 24, 249-343.

14. Grube, A.E. 1850. Die Familien der Anneliden. Archiv für Naturgeschichte, Berlin, 16 (1): 249-364.
15. Grube, A.E. 1862. Noch ein Wort über die Capitellen und ihre Stelle im Systeme der Anneliden. Archiv für Naturgeschichte, Berlin, 28(1): 366-378.
16. Hartman, O. 1947. Polychaetous annelids Part IV. Capitellidae. Allan Hancock Pacific Expeditions, 10(4): 391-481.
17. Hartman, O. 1960. Systematic account of some marine invertebrate animals from the deep basins of southern California. Allan Hancock Pacific Expeditions, 22:69-215.
18. Hartman, O. 1963. Submarine canyons of Southern California, 3. Systematics: Polychaetes. Allan Hancock Pacific Expeditions, California 27: 1-93.
19. Hartman, O. 1969. Atlas of the Sedentariate polychaetous annelids from California. Allan Hancock Foundation, University of Southern California, 812 pp.
20. Hartmann-Schröder, G. 1965. Die Polychaeten des Sublitorals. In: Hartmann-Schröder, G. and Gerd Hartmann, Zur Kenntnis des Sublitorals der chilenischen Küste unter besonderer Berücksichtigung der Polychaeten und Ostracoden. (Mit bemerkungen über den Einfluss sauerstoffarmer Strömungen auf die Besiedlung von marinen Sedimenten.). Mitteilungen aus dem Hamburgischen zoologischen Museum und Institut 62: 59-305.
21. Harris, L.H. 2014. World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org> at VLIZ. (accessed 11 November 2014).
22. Hernández Alcántara, P. & Solís Weiss, V. 1998. Capitellids (Polychaeta: Capitellidae) from the continental shelf of the Gulf of California, Mexico, with the description of a new species, *Notomastus angelicae*. Proceedings of the Biological Society of Washington, 111: 708-719.

INFLUENCIA DEL AÑEJAMIENTO EN LAS PROPIEDADES DEL DIÓXIDO DE TITANIO-BORO

Ilse Larissa Acosta Mendiola¹, Claudia Esmeralda Ramos Galván¹, Marcos Rafael Estrada Duque², Ricardo García-Alamilla², María Isabel Arregoitia Quezada² y Sergio Robles Andrade¹

¹ Depto. De Ingeniería Química del Instituto Tecnológico de Ciudad Madero. ² Centro de Investigación en Petroquímica secundaria del ITCM

RESUMEN

Se preparó hidróxido de titanio por el método sol-gel y se doxo con 1% de boro a partir de ácido bórico. La pérdida de peso que acompañó a la transformación de la etapa hidróxido a la etapa de óxido fue de aproximadamente 27%. Mediante difracción de rayos X se identificó en todos los materiales la fase anatasa con ligeros cambios en el tamaño de cristalita y mediante espectroscopia infrarroja se identificó la presencia del boro. La densidad relativa de los materiales varió ligeramente siendo la de los materiales puros de alrededor de 0.6 g/cm³ y las de los materiales modificados con boro de alrededor de 0.5 g/cm³. Las pruebas de foto-actividad en presencia de luz ultravioleta indicaron que todos los materiales son activos en la decoloración de azul de metileno.

1. INTRODUCCIÓN

La preparación de óxidos metálicos mediante el método sol-gel se ha estudiado en gran extensión en los últimos años y se ha reportado que mediante este método se pueden modificar las propiedades físico-químicas de óxidos metálicos modificando los parámetros de síntesis, con lo cual se abre la posibilidad de diseñar materiales meso-microporosos con gran reproducibilidad; recientemente se ha reportado que el boro reduce la energía de banda prohibida lo que lo hace adecuado para efectuar reacciones en presencia de luz visible 1,2, bajo esta premisa, el objetivo de este trabajo fue preparar dióxido de titanio mediante el proceso sol-gel y modificarlo mediante la adición de ácido bórico en la etapa de hidróxido, analizando el efecto de variar el tiempo de añejamiento a 48, 72 y 96 horas.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de TiO₂. El hidróxido de titanio precursor del TiO₂ se preparó mezclando isopropóxido de titanio con 1-propanol a 65°C por 1 hora, posteriormente la mezcla se hidrolizó añadiendo una mezcla de 1-propanol en agua a una velocidad de 2 mL/min. La reacción de hidrólisis se continuó por 2 h manteniendo la temperatura a 65°C, posteriormente la gel húmedo obtenido se añeja 48, 72 y 96 h, después del añejamiento los tres materiales obtenidos se secaron a 100°C. Finalmente el hidróxido seco se calcino en tres etapas, en la primera etapa, el sólido se calentó a una velocidad de 1°C/min hasta 200°C de temperatura, alcanzada esta temperatura se incrementó a una velocidad de 3°C/min hasta alcanzar 450°C manteniendo esta temperatura constante por 2 horas y enfriando a temperatura ambiente y finalmente el sólido se calcinó de temperatura ambiente a 450°C empleando una velocidad de calentamiento de 5°C/min manteniendo esta última temperatura por 2 horas. Los materiales resultantes se denotan como TiO₂-48, TiO₂-72 y TiO₂-96.

La modificación del óxido de titanio con boro se realizó disolviendo ácido bórico en alcohol en un matraz agitado magnéticamente en el cual se añadió el hidróxido de titanio en polvo manteniendo la suspensión durante 1 h. El polvo recuperado se secó a 100°C y se calcinó de la misma manera que los materiales puros. Los materiales resultantes se etiquetaron como: B-TiO₂48, B-TiO₂72 y B-TiO₂96.

3. RESULTADOS

El hidróxido de titanio al ser calentado a 450°C sufrió una pérdida de peso 27% en promedio para los tres tiempos de añejamiento, esta reducción en el peso es consecuencia de la remoción de agua y solvente ocluida en la estructura porosa del material aunada a la combustión de la materia orgánica usada en la síntesis por efecto de la temperatura y la atmosfera oxidantes empleada en la calcinación así como a la deshidroxilación que sufre el material. Por otra parte, la densidad aparente de los materiales no varía en gran extensión, sin embargo los materiales modificados con boro tienden a ser menos densos que los materiales puros. La tabla 1. Resume los valores de densidad de los 6 fotocatalizadores, observándose que los materiales dopados presentan alrededor de 0.55 g/cm³ de densidad contra 0.60 g/cm³ para los materiales dopados con boro.

Tabla 1. Densidad y fase cristalina de TiO₂ puro y boro/TiO₂

Clave de material	Densidad g/cm ³	Fase Cristalina
48-TiO2	0.63	Anatasa
72-TiO2	0.70	Anatasa
96-TiO2	0.60	Anatasa
48B-TiO2	0.55	Anatasa
72-BTiO2	0.55	Anatasa
96-BTiO2	0.52	Anatasa
TiO2-P25	0.10	Anatasa

Los patrones de difracción de rayos X de los materiales 48-TiO₂ y 48-BTiO₂ así como 96-TiO₂ y 96-BTiO₂ indican que el dióxido de titanio puro y modificados con boro tiene la mismos picos de difracción los cuales identifican a la estructura anatasa con tamaños de cristal alrededor de 10-12 nm. La degradación de azul de metileno en presencia de luz UV mostró que todos los materiales fueron activos.

La degradación obtenido a 90 minutos con el material 48-TiO₂ fue del 99% a este mismo tiempo el material 48-BTiO₂ degradado 96% del colorante, mientras 96-TiO₂ degradado a 90 minutos de irradiación 94% y el 96-BTiO₂ degradado 92%. Estos resultados muestran que el boro no tiene un efecto positivo sobre la degradación del colorante empleando luz UV. Este fenómeno podría estar relacionado con una menor adsorción del colorante tal y como se puede observar en las figuras 3 y 4, en las cuales a los 30 minutos de estar el material con agitación sin irradiación la absorbancia es menor en el material que contiene boro respecto a material puro.

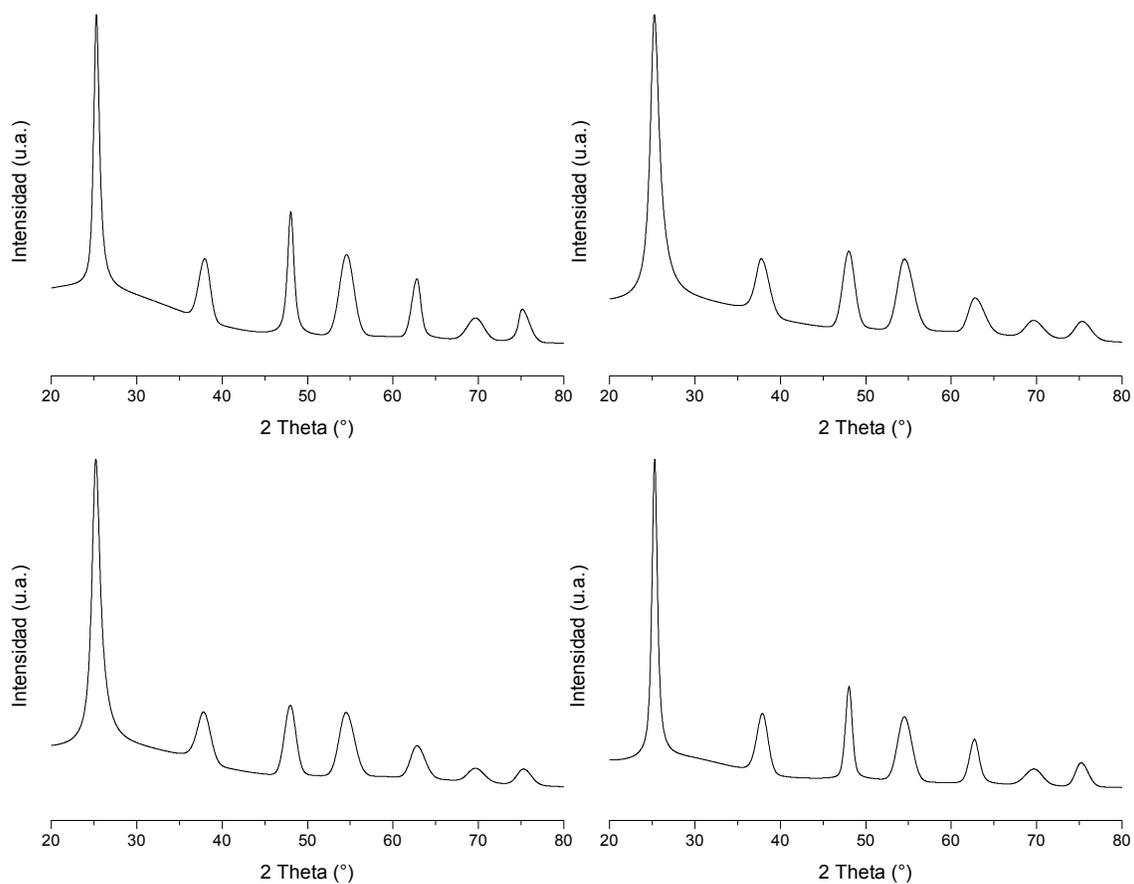
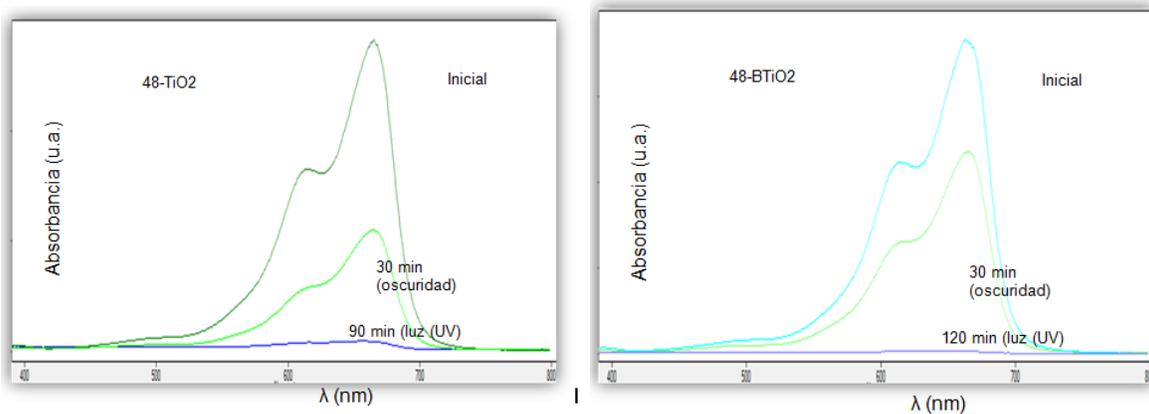


Figura 2. Patron de difracción de 48-TiO₂ y 48-BTiO₂



Las figuras 3 y 4 muestran los espectros UV de la degradación de azul de metileno (10 ppm)

4. CONCLUSIONES

La presencia del boro en el dióxido de titanio no presenta un efecto benéfico sobre la degradación del azul de metileno cuando se emplea luz ultravioleta como fuente energética. La densidad sin embargo sí varía con la presencia del boro lo que indica que el tamaño de partícula es más pequeño y esto podría ser adecuado para reacciones que se efectúan en presencia de luz visible.

AGRADECIMIENTO

AL TNM por el apoyo económico otorgado a través del proyecto 5531.15-P

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Liang, Y. Yuling, L. Xinrong, F. Ruiking, S. Yan, L. Shuio, Z. Lingyun, F. Xiao, T. Pengxiao, X. Riu, Z. Weinzhi, W. Yangzeng, Ma. Liqun, A direct synthesis of B-doped TiO₂ and its photocatalytic performance on degradation of RhB, *Applied Surface Science* 265 (2013) 36– 40.
2. A. Zaleska, J.W. Sobczak, E. Grabowska, J. Hupka. "Preparation and photocatalytic activity of boron-modified TiO₂ under UV and visible light. *Applied Catalysis B: Environmental* 78 (2008) 92–100

ESTUDIO DE INTERFERENCIAS QUÍMICAS, ESPECTRALES Y DE MATRIZ EN LA DETERMINACIÓN DE SB POR EAAE

Guerrero L, L, Méndez S, C. J., Moreno M, M A, González L, M., Pedraza A, G.

CEACA, Fac de Química. Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, CP 76010, Querétaro, Qro (México).

RESUMEN

Se estudiaron las interferencias de matriz, químicas y espectrales de los elementos cromo (Cr) valencias (III) y (VI), arsénico (As), níquel (Ni) y zinc (Zn) en la determinación de antimonio (Sb) por espectroscopia electrotrémica. Se preparó una curva de calibración de Sb, soluciones con una concentración constante del analito y concentraciones variables de los interferentes, todas en ácido acético al 3%. Todos los elementos estudiados presentaron interferencias químicas al reducir el valor de la absorbancia de un blanco de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de antimonio hasta valores por debajo del límite de cuantificación a excepción del níquel en donde la absorbancia dio valores cuantificables de antimonio pero menores a los reales y se repitió el análisis con diluciones de este elemento. Estos resultados arrojaron concentraciones de Sb en las que no hubo diferencia estadísticamente significativa con los del blanco. En los elementos analizados no se encontraron interferencias espectrales ya que los valores de absorbancia no superaron a los del blanco. Finalmente, en el estudio de las interferencias de matriz, se preparó una matriz sintética con todos los interferentes y esta vez variando la concentración del Sb se observó que si bien la absorbancia disminuía respecto a los valores de la curva, no lo hacía tan drásticamente como con los interferentes por separado. Debido a que el solvente se elimina en la etapa del tratamiento de la muestra con la programación de temperatura del instrumento, estas interferencias no se catalogaron como de matriz, sino como químicas. Es posible que la programación de temperatura no sea la adecuada para disociar estos compuestos y esto provoque el efecto descrito. Será necesario identificar al compuesto o compuestos que forma el antimonio y cómo eliminar las interferencias químicas descritas para lograr una buena determinación del antimonio

1. INTRODUCCIÓN

El trióxido de antimonio es utilizado como catalizador en la reacción de condensación en la producción industrial de PET (polietilen tereftalato). Se ha observado que el Sb puede quedarse en el PET y lixivarse hacia los líquidos contenidos en los recipientes. [De Jesus, 2016]

Estudios demuestran que la actividad humana es responsable de la presencia de antimonio en el ambiente. [Shoty, 2007]. La Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-201-SSA1-2013, establece que el límite máximo permisible de Sb en agua de consumo es de $5 \mu\text{g/L}$ para lo cual se utiliza espectroscopía de absorción atómica por horno de grafito ya que las concentraciones de Sb por lixiviación en PET reportadas son de $10\text{-}300 \text{ mg kg}^{-1}$, por ello se necesita una técnica con buena sensibilidad y con límites de detección bajos. [De Jesus, 2016]. Las interferencias espectrales ocasionadas pueden ser por elementos con una absorbancia similar al antimonio, por lo cual fueron motivo de estudio ya que si se tienen interferencias en el análisis de concentraciones bajas de Sb, se pueden dar valores erróneos por lo tanto es necesario el conocimiento de estas interferencias para poder realizar análisis correctos.

2. TEORÍA

Al tratarse de una matriz nueva, es necesario que se estudien los efectos de interferentes presentes en el material de referencia a usar en la determinación.

El antimonio es ampliamente usado en las aleaciones para aumentar la resistencia de los metales tales como el zinc, en el caso del metal inglés; y junto con otros elementos como el arsénico en el metal Babbit. Estas especies están presentes en la matriz de análisis (envases PET) de la metodología a emplear, por lo que podrían presentar interferencias químicas en la determinación del antimonio al darse aleaciones en la etapa de atomización dadas por las temperaturas a las cuales llegan los metales.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentación. Espectrofotómetro de absorción atómica por horno de grafito marca VARIAN. Celda de grafito pirrolizado con plataforma de L'vov, con las condiciones que se indican en la Tabla 1

Tabla 1. Condiciones de trabajo óptimas

Paso	Temperatura, °C	Tiempo, s	Flujo de Argón, mL min ⁻¹
1	110	20.0	3.0
2	150	20.0	3.0
3	700	10.0	3.0
4	750	10.0	3.0
5	800	10.0	0.0
6	1900	2.0	0.0
7	2000	4.0	0.0
8	2000	1.0	3.0

3.2 Curva de calibración. La curva de calibración se hizo cada día antes de realizar las mediciones de los interferentes. Se prepararon concentraciones de estándar a 0, 30, 40, 50, 60 y 70 µg/L de Sb en ácido acético al 3%(v/v).

3.3 Interferencias químicas y espectrales. Se prepararon soluciones individuales con las siguientes concentraciones de interferentes (Tabla 2)

Tabla 2. Concentración de interferentes preparados

Interferente	Concentración (mg L ⁻¹)					
Arsénico (III)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Cromo (III)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
Cromo (VI)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
Zinc (II)	0	10	11	12	13	14
Níquel (II)	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
Níquel (II)	0.000	0.002	0.004	0.006	0.008	0.010

Cada una contenía 50 µg L⁻¹ de Sb en ácido acético al 3% (v/v).

3.4 *Interferencias de matriz.* Se tomaron las concentraciones más bajas para cada interferente de la Tabla 2 y se prepararon 6 matraces con 0, 30, 40, 50, 60 y 70 µg L⁻¹ de Sb en ácido acético al 3%(v/v).

4. RESULTADOS

4.1 *Curva de calibración.* En la Figura 1 se muestra la curva de calibración (se hicieron 5, una por día y se presenta la del día 2)

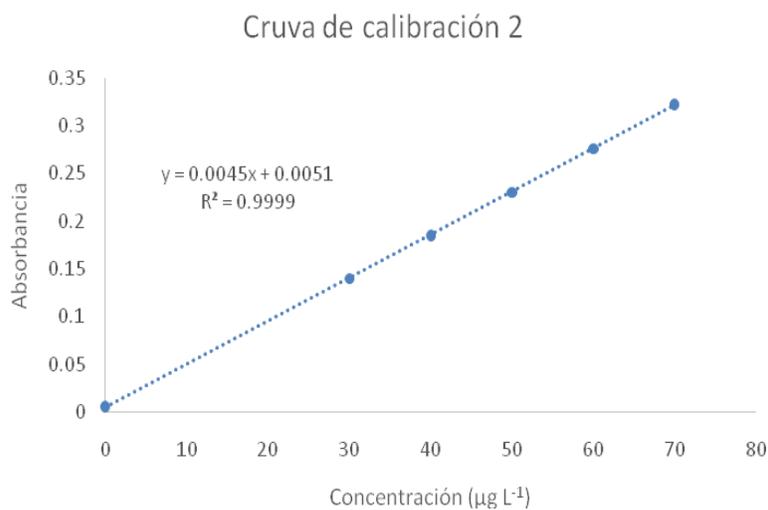


Figura 1. Curva de calibración.

Los parámetros de calidad (sensibilidad y límites de detección y cuantificación se indican en la Tabla 3

Tabla 3. Parámetros de calidad para las curvas

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
L.D. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.026	0.004	0.023	0.008	0.032
L.C. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.043	0.007	0.039	0.014	0.052
Sensibilidad	0.0057	0.0045	0.0037	0.0065	0.0065

4.2 *Interferencias químicas y espectrales.* Se analizaron las interferencias de Arsénico, Cromo (III y VI), Zinc, Níquel y Níquel a menor concentración y se muestran en las Figuras 2 a la 7

Y después se hizo análisis de Sb en presencia de alguno de los interferentes y con los resultados obtenidos se hizo un Análisis estadístico por comparación de medias por t de Student (Tablas 4 y 5)

$$H_0: \mu = \bar{x}$$

$$H_1: \mu < \bar{x}$$

$$\alpha = 0.05$$

$P > \alpha$ Acepta H_0 y $P < \alpha$ Rechaza H_0

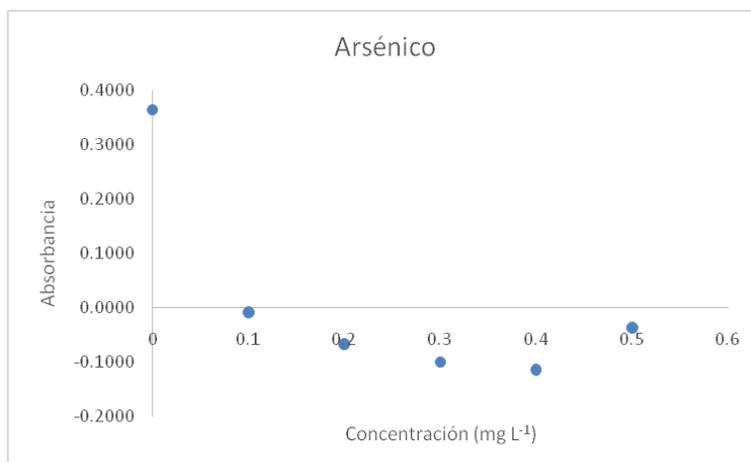


Figura 2. Interferencia con Arsénico

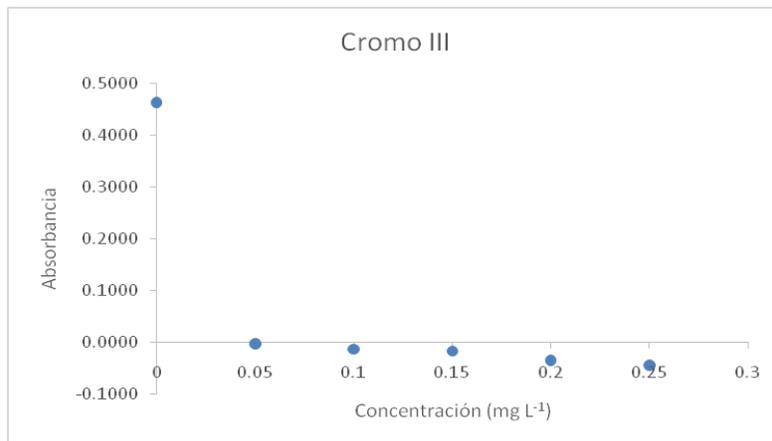


Figura 3. Interferencia con Cromo (III)

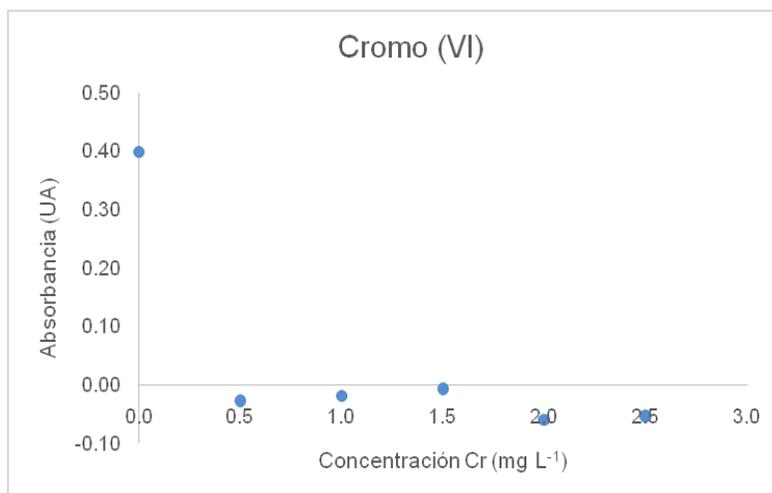


Figura 4. Interferencia con Cromo (VI)

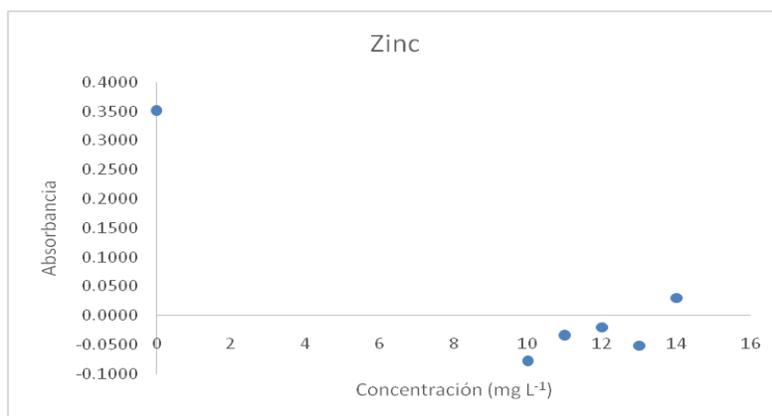


Figura 5. Interferencia con Zinc

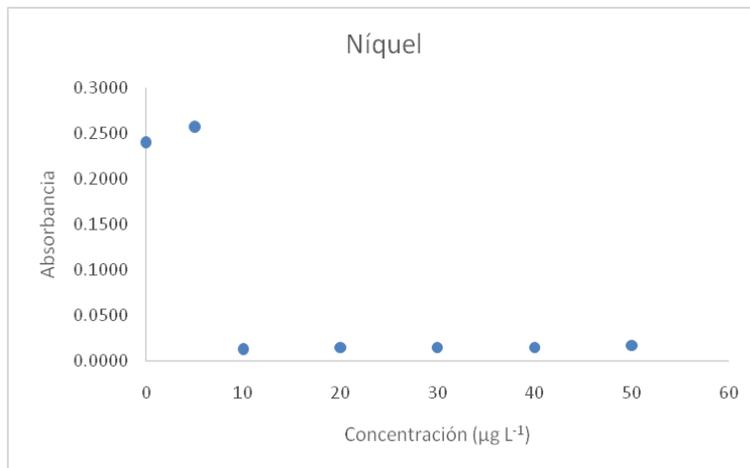


Figura 6. Interferencia con Níquel

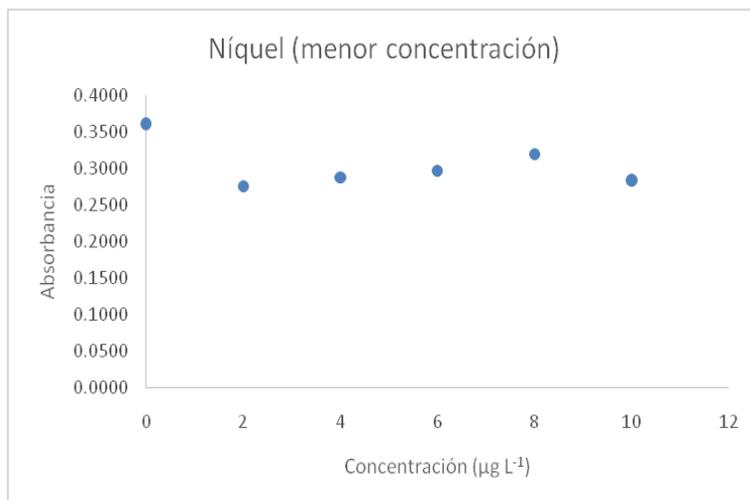


Figura 7. Interferencia con Níquel (menor concentración)

Tabla 4. Resumen prueba t de Student

Concentración (µg L ⁻¹)	Absorbancia	p	Hipótesis
2	0.2752	0.000	Rechazada
4	0.2880	0.080	Aceptada
6	0.2968	0.092	Aceptada
8	0.3193	0.074	Aceptada
10	0.2840	0.000	Rechazada

Tabla 5. Concentraciones determinadas con interferencia de Ni

Concentración teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sb	Concentración Ni ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentración medida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sb
50		2	41.27	
50		4	43.25	
50		6	44.60	
50		8	48.06	
50		10	42.63	

4.3 Interferencias de matriz. Se realizó análisis para ver la interferencia de matriz (Figura 8), se prepararon soluciones de Sb y se hizo el análisis de las mismas, teniendo concentraciones reales y calculadas (Tabla 6)

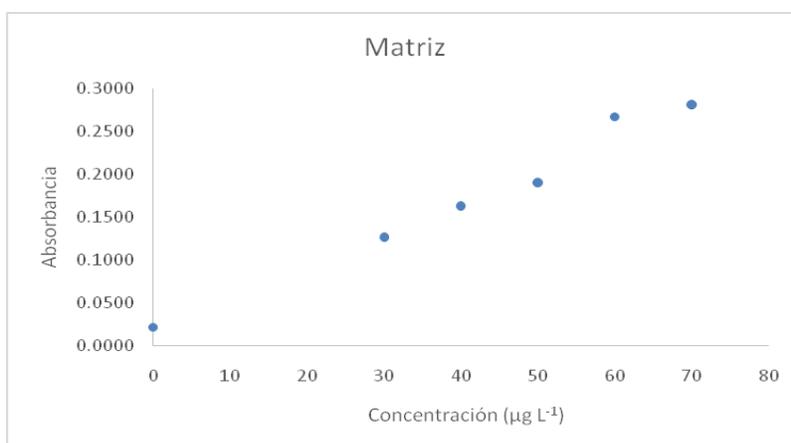


Figura 8. Matriz completa

Tabla 6. Concentraciones determinadas en la matriz completa

Concentración teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sb	Concentración medida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sb
0		2.55	
30		18.71	
40		24.28	
50		28.49	
60		40.29	
70		42.48	

5. DISCUSIÓN

Con las condiciones óptimas empleadas en la programación de temperatura del tratamiento de la muestra (tabla 1), se obtuvieron rectas de las curvas de calibración con una buena linealidad y la sensibilidad necesaria para detectar y cuantificar con sus límites respectivos, las concentraciones tan bajas de antimonio en muestras reales.

Interferencias químicas

Debido a que en el análisis de Sb con los elementos presentó disminución en los valores de absorbancia para las distintas concentraciones de los metales, se cree que hay interferencias de tipo químicas (Figuras 2 a 7), donde a distintas concentraciones de los elementos interferentes se observa que el valor de la absorbancia es menor respecto al blanco, en el cual no hay otro elemento más que el antimonio. Como se había previsto en la parte de teoría, es posible que el Sb forme una aleación con los metales en la etapa de atomización del tratamiento de la muestra. La temperatura proporcionada en esta etapa, no es probablemente, la suficiente para que ocurra la disociación de los metales y tener al antimonio en su estado atómico para poder cuantificarlo. En el caso del níquel se observó una menor disminución de la absorbancia de las muestras, al grado de superar el límite de cuantificación y, por tanto, poder dar un valor de antimonio que el instrumento detecta. Obviamente el valor es mucho menor que el real; sin embargo es el hecho de que supere el límite lo que hizo que se prepararan nuevas soluciones con concentraciones de Ni menores y se midieran en el instrumento. Esto se observa en la Figura 8, donde los valores de absorbancia se acercaban más al valor del blanco. Para comprobar esto, se realizó la prueba estadística de análisis de medias por t de Student. Los valores de p mostrados en la tabla 4 se obtuvieron con el software de análisis estadístico "Minitab 15", éstos fueron quienes determinaron el rechazo o aceptación de la hipótesis nula descrita en la tabla mencionada. Si bien la mayoría de los puntos no es estadísticamente diferente del valor del blanco; saber cuál es el valor medido por el instrumento sirve de comparación e ilustra el efecto que conlleva tener un interferente en la muestra. Como se observa en la tabla 6, los valores son menores, como se esperaba debido a sus absorbancias, pero gracias a la prueba, se determina que son estadísticamente iguales a la concentración real. En general, todos los elementos analizados presentan interferencias químicas; sin embargo hay algunos que provocan una menor disminución en la absorbancia de la muestra como lo es el níquel, y que con concentraciones más bajas; el efecto producido no es distinguible estadísticamente. Ya que las interferencias químicas son cuando el analito, en este caso el antimonio, forma un compuesto o aleación que es termoestable a la temperatura de atomización. Habría que analizar, por supuesto, que estas nuevas condiciones logran una linealidad y sensibilidades tan buenas como las que se obtuvieron en este experimento.

Interferencias espectrales

Debido a que el valor de las absorbancias en cada análisis con los metales no superó el valor del blanco para que fuese estadísticamente distinto, se puede decir que no hay interferencias de tipo espectral para la determinación de antimonio con la longitud de onda empleada en este análisis que fue de 217.4 nm. Esto se puede deducir con las tablas de longitudes de onda a las cuales se realiza la determinación de los elementos que se trataron como interferentes.

Interferencias de matriz

Para asemejarse lo más posible a las muestras reales, se tomaron las concentraciones menores de los interferentes y se varió la concentración del Sb como si se fuera a realizar una curva de calibración. Los resultados de este análisis se ven en la Figura 8, donde se observa una disminución de la absorbancia de las muestras. Sin embargo, esta variación no es tan drástica como en los casos anteriores donde solo se contaba con la presencia de un metal. Los valores de las concentraciones están por encima del límite de cuantificación por lo que se despliegan en la

tabla 6, se resalta que da un valor por debajo de la concentración real de Sb en la muestra. Si bien este efecto no es considerado una interferencia de matriz, sino más bien química, la solución para este problema podría ser una que sí se aplica a interferencias de matriz, en donde se trata de asemejar lo más posible, la curva de calibración a las condiciones de las muestras. Otra solución podría ser que se realizara una curva por adición de estándar en lugar de una por estándar externo, así la matriz y sus componentes no interferirían en la determinación del antimonio.

6. CONCLUSIONES

En la cuantificación de antimonio por espectroscopia electrotermica se observa una clara interferencia al verse disminuida la absorbancia de las soluciones estándar de composición analito-interferente comparando con aquellas que solo contenían el analito de interés, esto pudiendo deberse a la posible formación de una especie termoestable a las condiciones de trabajo (aleación). No se observó el aumento de la absorbancia con ninguna de las especies analizadas por lo cual se deduce la inexistencia de interferencias espectrales en esta metodología. La matriz utilizada en este proyecto presenta una interferencia clara al comparar la curva de calibración del analito puro y la curva obtenida con la solución matriz-analito, esta interferencia corresponde técnicamente a las interferencias sumadas de los diversos interferentes que a la matriz en sí.

Al realizar un análisis específico de la interferencia producida por cada sustancia dentro de la matriz se obtiene una disminución de la absorbancia en función del aumento de la especie interferente

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Jesus, A., Dessuy, M. B., Huber, C. S., Zmozinski, A. V., Duarte, Á. T., Vale, M. G. R., & Andrade, J. B. 2016. Determination of antimony in pet containers by direct analysis of solid samples using graphite furnace atomic absorption spectrometry and leaching studies. *Chemical Journal*, 124, 222-227.
2. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-201-SSA1-2013, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias.
3. Shotyk, W., & Krachler, M. 2007. Contamination of bottled waters with antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) increases upon storage. *Environmental science & technology*, 41(5), 1560-1563. View Article Online / Journal

SINTESIS DE TETRACLOROPALADIATO (II) Y EVALUACIÓN DE SU EFECTO CITOTÓXICO Y ANTINEOPLÁSICO EN ADENOCARCINOMA MAMARIO

Héctor Alejandro Bacilio Beltrán¹, Salvador Alberto Alcaraz García¹, María José Moreno Aceves¹,
María Luisa Muñoz Almaguer¹ y Gabriel Palacios Huerta¹

¹ Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías

RESUMEN

El cáncer es una enfermedad que puede afectar cualquier parte del organismo, caracterizada por la multiplicación rápida de células anormales que se extienden y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo. Según la OMS es una de las principales causas de muerte a nivel mundial provocando 8.2 millones de muertes en 2012 [1]. El cáncer de mama es el más común entre las mujeres representando el 16% de los cánceres femeninos [2].

Con tratamiento quirúrgico, quimioterapia y/o radioterapia, el adenocarcinoma mamario puede presentar mejorías significativas e incluso puede ser erradicado. Sin embargo, hasta el momento no se conoce un tratamiento farmacológico (quimioterapia) cuyos efectos secundarios sean poco significativos, sin mencionar su limitada o nula selectividad [3].

Tomando en cuenta los efectos tanto benéficos como perjudiciales de la quimioterapia actual, buscamos una alternativa que mejore la eficiencia y eficacia de este tratamiento, su selectividad y disminuir los efectos colaterales asociados a esta, a través del uso del complejo Tetracloropaladiato (II) como fármaco antineoplásico.

En esta investigación se pretende: Sintetizar el complejo Tetracloropaladiato (II) y estabilizarlo en solución buffer. Posteriormente evaluar la citotoxicidad del fármaco en la línea celular SK-BR-3 y determinar su selectividad con células PMEC. Asimismo el evaluar el efecto antineoplásico del fármaco en *Rattus norvegicus*. Hasta el momento se ha conseguido exitosamente sintetizar el complejo y se ha determinado su formulación como medicamento. Actualmente se trabaja en su evaluación citotóxica.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad que puede afectar cualquier parte del organismo, caracterizada por la multiplicación rápida de células anormales que se extienden y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo. Según la OMS es una de las principales causas de muerte a nivel mundial provocando 8.2 millones de muertes en 2012 [1]. El cáncer de mama es el más común entre las mujeres representando el 16% de los cánceres femeninos [2].

Con tratamiento quirúrgico, quimioterapia y/o radioterapia, el adenocarcinoma mamario puede presentar mejorías significativas e incluso puede ser erradicado. Sin embargo, hasta el momento no se conoce un tratamiento farmacológico (quimioterapia) cuyos efectos secundarios sean poco significativos, sin mencionar su limitada o nula selectividad [3].

El efecto antineoplásico de los citostáticos no es selectivo sobre las células tumorales, por lo que los tejidos sanos y sobre todo los de rápido crecimiento también se ven afectados [3-5]. Entre los

efectos adversos más frecuentes en los pacientes figuran nefropatía, daño hepático, náuseas y vómitos [6].

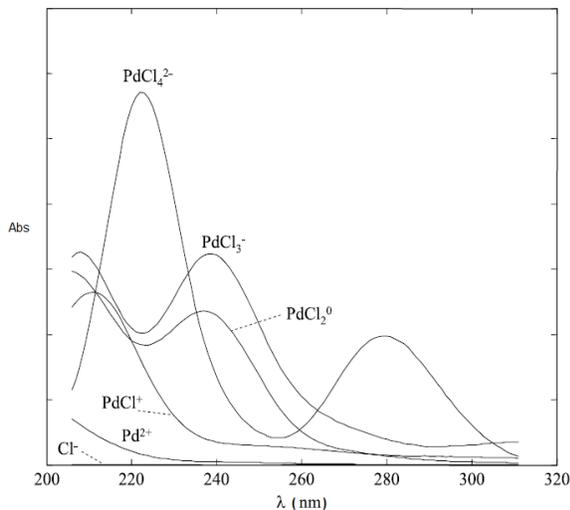
Un complejo es una especie química formada por la asociación de 2 o más moléculas o iones interactuantes [7]. Los complejos de coordinación se formulan convencionalmente como consistentes en un ion o átomo central rodeado por un grupo de otros átomos, iones o moléculas pequeñas llamándose estas últimas ligandos [8]. Es evidente que el complejo debe poseer algunas propiedades diferentes a la de sus componentes; de otro modo, no habría ninguna evidencia de su existencia. Entre las propiedades que pueden alterarse en la formación de complejos se encuentran la solubilidad, absorción de energía, conductancia, comportamiento de partición y reactividad química. Estudiando dichas propiedades del sustrato (centro metálico), en función de la concentración del ligando, puede reconocerse y describirse cuantitativamente la formación de complejos de coordinación [7].

Para sintetizar el complejo (fármaco) y formular el medicamento que lo contiene ha sido necesaria la construcción del diagrama logC-pL para los intermediarios (especie química que participa en la reacción pero que no aparece en la ecuación química global: que es producida en un paso pero es consumida en el paso posterior [9]) $\text{PdCl}_4^{2-} - \text{PdCl}_3^- - \text{PdCl}_2^0 - \text{PdCl}^+ - \text{Pd}^{+2}$ para $\text{Pd}^{+2} = 10^{-2}\text{M}$ en la reacción de formación del Tetracloropaladiato (II); debido a que la estabilidad y coexistencia de los intermediarios depende directamente de la concentración del ligando y con este diagrama se determinaron las concentraciones de los reactivos para la síntesis y la concentración de algunos excipientes (sustancias que se agregan a los medicamentos para servirles de vehículo, posibilitar su administración y/o proporcionarles estabilidad). Asimismo se consideran los equilibrios simultáneos asociados a la formación del complejo Tetracloropaladiato (II) en solución acuosa, los cuales producen un desplazamiento en la constante de solubilidad (Ks) el cual determina la actividad farmacológica selectiva del complejo en el organismo y su estabilidad en el medicamento.

El Pd^{+2} es un catión ácido muy hidrolizable, sin embargo la formación de complejos clorurados estabiliza considerablemente al Pd^{+2} . Asimismo el índice de coordinación (cantidad de ligandos asociados al centro metálico) de los complejos clorurados del Pd (II) depende de la concentración de Cl^- presente [10].

Según los principios generales de la síntesis de fármacos la formación del complejo $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ se clasifica como una síntesis total ya que es la síntesis química de un compuesto a partir de productos relativamente sencillos [11].

Las condiciones de trabajo de cualquier sistema son las principales variables de las que dependen los resultados obtenidos cuando el sistema termodinámico ha alcanzado el equilibrio, es por esto que es imprescindible determinar los parámetros de trabajo, considerar su control y un monitoreo continuo de las variaciones de las mismos mientras se lleva a cabo la reacción [12]. Para la síntesis del complejo, los factores que influyen son: temperatura [1], tiempo de síntesis [13], concentración del ligando [10,14], concentración del centro metálico y pH [10].



Jean-François Boily y Terry M. Seward publicaron en 2005 los espectros UV de los

Imagen 1. Espectros continuos de Cloropaladiatos. [15]

complejos intermediarios de las reacciones de formación del $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ a partir de Pd^{+2} y Cl^- que se muestran en la Imagen 1. Así mismo se publicó que las especies dominantes en el equilibrio son solo dos $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ y $[\text{PdCl}_3]^{-1}$ (el Tetracloropaladiato (II) en mayor cantidad) como preveía el diagrama de equilibrios construido y que los máximos de absorbancia para $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ son 222 y 280 nm y para $[\text{PdCl}_3]^{-1}$ son 205 y 237 nm [15].

La constante condicional relaciona la concentración del producto formado ML, la concentración del catión metálico sin reaccionar $[\text{M}]'$ y la concentración del ligando sin reaccionar en el equilibrio principal $[\text{L}]'$. El adjetivo de condicional implica que esta constante no es constante sin que dependa de las condiciones experimentales. Lo más importante de la utilización de constantes condicionales es que una vez conocida dicha constante puede ser utilizada de idéntica forma a como se utilizan las constantes de equilibrio, lo que permite el estudio de sistemas complicados de una manera bastante sencilla [10]. Son las constantes condicionales en los diferentes sistemas (síntesis, medicamento, organismo) los que determinan la formación del complejo (síntesis), la estabilidad del complejo (medicamento) y la estabilidad farmacológica antineoplásica selectiva (organismo).

El objetivo de este trabajo es que considerando los efectos tanto benéficos como perjudiciales de la quimioterapia actual, se busca una alternativa que mejore la eficiencia y eficacia de este tratamiento, su selectividad y la disminución de los efectos colaterales asociados a esta a través de la síntesis y uso del complejo Tetracloropaladiato (II) como fármaco antineoplásico.

2. EXPERIMENTACIÓN

La síntesis, identificación y cuantificación del complejo Tetracloropaladiato (II) se llevaron a cabo en los Laboratorios de Química General y en el de Síntesis Organometálica del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara. Para la etapa de síntesis se realizó un modelo estadístico de 2 factores con 12 replicas de síntesis y para la validación de repetitividad y reproducibilidad del método de análisis espectrofotométrico UV se usó un diseño de 3 factores con 80 replicas para reproducibilidad y un diseño de 3 factores con 40 replicas para repetitividad. El análisis estadístico se realizó con Statgraphics. La linealidad del método de análisis se verificó en 13 puntos de concentración en rango de 15.0 ppm a 35 ppm con ayuda de una graficadora HP50g.

Se estandarizó un volumen para síntesis de 20mL con fines prácticos y económicos. La temperatura se mantuvo en control mediante el uso de baño maría con ayuda de una parrilla termoagitadora Zeigen 78HW-1 y se monitoreo con termómetro infrarrojo Aprobe IR608A. Se utilizó una solución valorada SV07 Ácido Clorhídrico 8.0 M preparada siguiendo estándares farmacopeicos [16] y se pesó aproximadamente 35.7 mg de precursor PdCl_2 (Sigma-Aldrich) en balanza analítica Mettler Toledo MS204S. Se corren al unisonó síntesis con estándar primario de PdCl_2 (Sigma Aldrich).

Para la identificación de la formación del complejo, se realizaron 4 corridas de síntesis. Se utilizó barrido UV-Vis en el Espectrofotómetro Thermo Scientific Genesys 10s UV-Vis siguiendo lineamientos de verificación farmacopeicos [16]. Se usaron como referencia los espectros UV reportados de los cloropaladiatos reportados por Boily & Seward [15]. Una vez confirmada la repetitividad y reproducibilidad del método de análisis por espectrofotometría se procedió a cuantificar el Tetracloropaladiato presente en la síntesis de manera indirecta haciendo dilución en agua destilada libre de CO_2 , condicionando al sistema para la única existencia del Tricloropaladiato formado a partir del Tetracloropaladiato debido a la disminución de concentración del ligando como consecuencia de una perturbación en el equilibrio entre las especies.

En los equilibrios de formación de complejos también es interesante conocer la forma de realizar diagramas logarítmicos $\log C - \text{pL}$, ya que con frecuencia los problemas de equilibrios que se

presentan en la práctica se resuelven difícilmente de forma algebraica, siendo fácil su resolución gráfica. La formación de complejos de índice de coordinación elevado puede ser comparada a la formación de un ácido poliprótico a partir de la base. Por tanto, todo el tratamiento matemático que se efectuó para calcular las ecuaciones correspondientes en los diagramas logarítmicos log C – pH es válido para los diagramas log C – pL [10]. La construcción del diagrama log C – pL de cloropalladiatos y paladio inicial se realizó modelando las siguientes ecuaciones, a partir de la ley de Guldberg – Waage y las ecuaciones de coexistencia de especies, y graficando en Excel:

$$[\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_4^{+2}]_{(\text{ac})} = \frac{[\text{Pd}^{+2}]_i \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}K_{f1}}}{[\text{Cl}^-]^4 + [\text{Cl}^-]^3 \frac{1}{K_{f4}} + [\text{Cl}^-]^2 \frac{1}{K_{f4}K_{f3}} + [\text{Cl}^-] \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}} + \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}K_{f1}}} \quad (1)$$

$$[\text{PdCl}(\text{H}_2\text{O})_3^+]_{(\text{ac})} = \frac{[\text{Pd}^{+2}]_i [\text{Cl}^-] \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}}}{[\text{Cl}^-]^4 + [\text{Cl}^-]^3 \frac{1}{K_{f4}} + [\text{Cl}^-]^2 \frac{1}{K_{f4}K_{f3}} + [\text{Cl}^-] \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}} + \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}K_{f1}}} \quad (2)$$

$$[\text{PdCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2^0]_{(\text{ac})} = \frac{[\text{Pd}^{+2}]_i [\text{Cl}^-]^2 \frac{1}{K_{f4}K_{f3}}}{[\text{Cl}^-]^4 + [\text{Cl}^-]^3 \frac{1}{K_{f4}} + [\text{Cl}^-]^2 \frac{1}{K_{f4}K_{f3}} + [\text{Cl}^-] \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}} + \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}K_{f1}}} \quad (3)$$

$$[\text{PdCl}_3(\text{H}_2\text{O})^-]_{(\text{ac})} = \frac{[\text{Pd}^{+2}]_i [\text{Cl}^-]^3 \frac{1}{K_{f4}}}{[\text{Cl}^-]^4 + [\text{Cl}^-]^3 \frac{1}{K_{f4}} + [\text{Cl}^-]^2 \frac{1}{K_{f4}K_{f3}} + [\text{Cl}^-] \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}} + \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}K_{f1}}} \quad (4)$$

$$[\text{PdCl}_4^{-2}]_{(\text{ac})} = \frac{[\text{Pd}^{+2}]_i [\text{Cl}^-]^4}{[\text{Cl}^-]^4 + [\text{Cl}^-]^3 \frac{1}{K_{f4}} + [\text{Cl}^-]^2 \frac{1}{K_{f4}K_{f3}} + [\text{Cl}^-] \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}} + \frac{1}{K_{f4}K_{f3}K_{f2}K_{f1}}} \quad (5)$$

En las cuales: $[\text{Pd}^{+2}]_i$ es la concentración molar de paladio inicial, $[\text{Cl}^-]$ representa la concentración molar de cloruro (ligando), K_{f1} , K_{f2} , K_{f3} , y K_{f4} son las constantes de formación de los cloropalladiatos.

Para la síntesis se siguió este procedimiento: se colocó en un matraz erlen meyer 0.0002 moles PdCl_2 posteriormente se agregaron 2 ml de HCl 8 M y se agitaron suavemente hasta disolución completa. Una vez disuelto, se adicionaron 14 ml de agua destilada libre de CO_2 al matraz y se disolvió con agitación constante. Se calentó el sistema de 45 a 55°C durante 2 horas y durante el tiempo de calentamiento colocó un vidrio de reloj con un hielo en la boca de matraz y se cambió cuando fue necesario. Se dejó enfriar el sistema a temperatura ambiente. Se transfirió la solución a un matraz aforado clase A de 20 ml y se llevó a la marca de aforo con agua destilada.

Para comprobar la dependencia de la existencia de cloropalladiatos en función de la concentración del ligando se

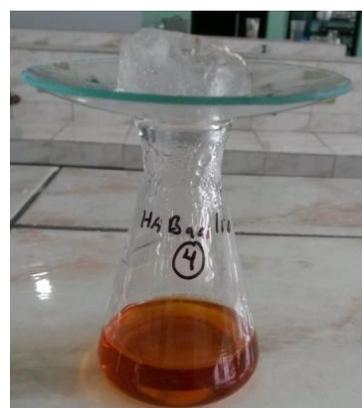


Imagen 1. Síntesis del complejo

realizaron dos diluciones de la síntesis, una con agua destilada (disminuyendo así la concentración de ligando a $pL = 2.3979$) y otra con cloruro de sodio 1M (aumentando la concentración de ligando a $pL = 0.0009$). Posteriormente se analizaron por UV para obtener los espectros de absorción y determinar la especie existente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

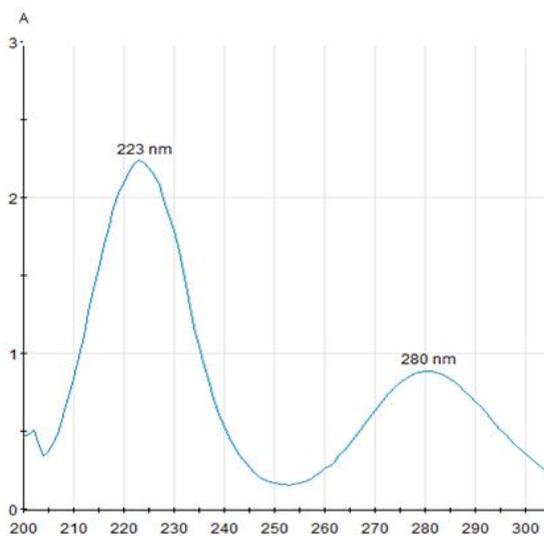


Imagen 3. Espectro de absorción UV que evidencia de la síntesis del $[PdCl_4]^{2-}$. Recobro = 99.64%

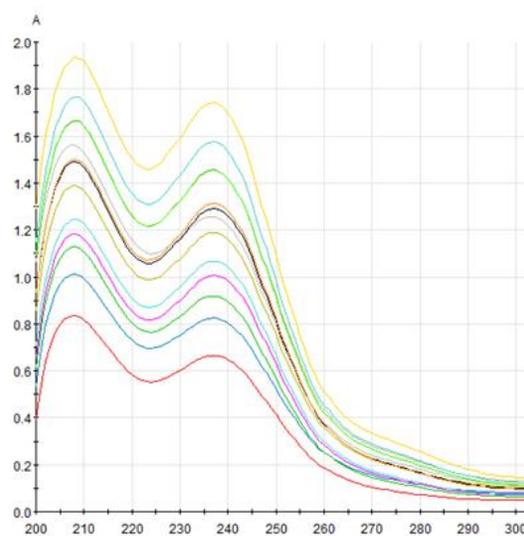


Imagen 4. Análisis de linealidad del método espectrofotométrico. $r = 0.9958$

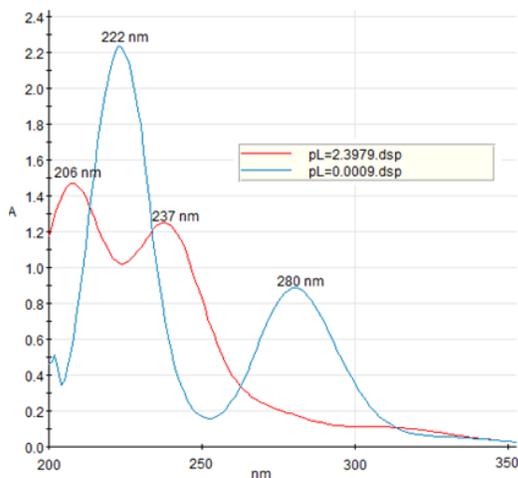


Imagen 5. Dependencia de existencia de cloropaladiatos en función de la concentración de ligando.

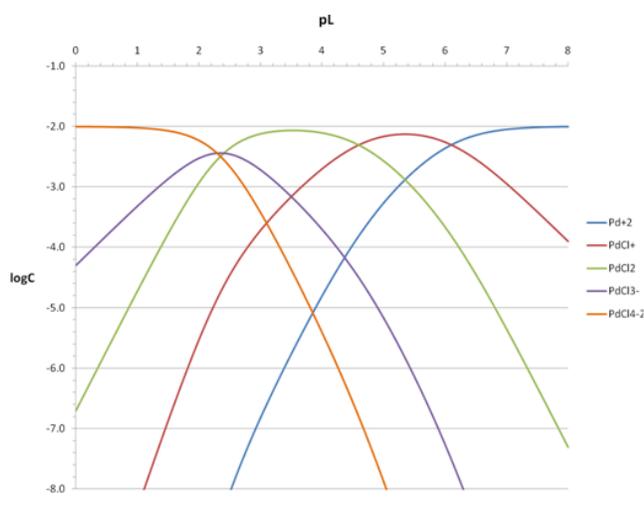


Imagen 6. Diagrama $\log C$ - pL de cloropaladiatos $PdCl_4^{2-} - PdCl_3^- - PdCl_2^0 - PdCl^+ - Pd^{+2}$ cuando $Pd_i^{+2} = 10^{-2} M$

Existe evidencia estadísticamente significativa de que el analista, la muestra analizada y el día que se efectúa el análisis no influyen en la repetibilidad y reproducibilidad del método espectrofotométrico. Asimismo ni el analista ni la corrida de síntesis afectan la reproducibilidad del método de síntesis. Todo con un nivel de confianza del 95%.

Se comprobó que el índice de coordinación del cloropaladiato depende de la concentración del ligando, asimismo se verificó experimentalmente que el diagrama log C-pL predice confiablemente la especie existente en el sistema. Esta información es valiosa, pues si el complejo sigue el comportamiento del diagrama, con la concentración plasmática de cloruros ($pL=1$) el complejo será lo suficientemente estable para ejercer su efecto antineoplásico.

Por otra parte, el desplazamiento de la constante de solubilidad ($pK_{s_{Pd(OH)_2}}=28.50$ [10]) debido a concentración de ligando (formación de complejos), determina la selectividad del Tetracloropaladiato (II) sobre las células tumorales. Según los cálculos con la constante condicional en condiciones plasmáticas ($pK'_{Pd(OH)_2}=17.08$) el Pd^{+2} formando cualquiera de sus cloro complejos precipita a un pH de 6.96 inactivando así su efecto citotóxico. Considerando que el pH de células tumorales es menor a 6.5 y en células normales es mayor a 7.3 [17], el complejo permanecerá activo frente a células tumorales y se inactivará frente a células normales.

4. CONCLUSIONES

El análisis instrumental constituye una evidencia experimental clara de la síntesis del complejo Tetracloropaladiato (II) bajo las condiciones dadas al sistema, además de que la especie predominante es el $[PdCl_4]^{2-}$. La selectividad citotóxica del $[PdCl_4]^{2-}$ es atribuida al desplazamiento de la K_s la cual es responsable de su actividad farmacológica dependiente de pH^+ . Con los resultados de este estudio se prevén teóricamente buenos resultados en la aplicación del complejo como un antineoplásico más efectivo y también más selectivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. (2015). Datos y cifras sobre el Cáncer. Recuperado el 15 de octubre de 2015 de <http://www.who.int/cancer/about/facts/es/>
2. Organización Mundial de la Salud. (2016). Recuperado el 19 de Febrero de 2016 de: www.who.int/topics/cancer/breastcancer/es/index1.html
3. A. Sánchez. Fundamentos de oncología. AS, México (2014).
4. Asociación Bioquímica Argentina Bioquímica y patología clínica (Vol. 69-70). Argentina: La asociación (2005).
5. A. Neal, P. Hoskin. Clinical oncology: a textbook for students. EA, UK (1994).
6. P. Lorenzo, A. Moreno, I. Lizosain, J. Leza, M. Moro. Farmacología Básica y Clínica. Médica Panamericana, Argentina (2009).
7. A. Gennaro. Remington Farmacia, Vol. 1. Médica Panamericana, Argentina (2003).
8. F. Cotton, G. Wilkinson. Química Inorgánica Avanzada. Limusa, México (2005).
9. P. Atkins, J. Loretta. Principios de química. Médica Panamericana, Argentina (2006).
10. F. Burriel, F. Lucena, S. Arribas, J. Hernández. Química Analítica Cualitativa. Thomson, España (2006).
11. C. Escolano, P. Camps. Química farmacéutica I, Vol. 1. Universitat de Barcelona España (2009).
12. P. Atkins, J. de Paula. Química Física. Médica Panamericana, Argentina (2008).
13. Síntesis de Compuestos Inorgánicos y Organometálicos. El autor, España (2012).

14. W. Griffinth, S. Robinson. Gmelin Handbook of Inorganic Chemistry Pd Palladium: Palladium Compounds. Springer, Alemania (1989).
15. J.F. Boily, T. Seward. Palladium(II) chloride complexation: Spectrophotometric investigation in aqueous solutions from 5 to 125°C and theoretical insight into Pd-Cl and Pd-OH₂ interactions. 69 [15], 3773-3789 (2005).
16. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM, México (2014).
17. C. Partidas. La química del cáncer. CLP, Venezuela (2014).

RESPUESTA DE LA *Drosophila melanogaster* A DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA DE LA LUZ

Mesa Cornejo Viviana Matilde¹, Aparicio Fernández María del Rayo Ángeles¹, Mejía Sánchez Jorge Enrique¹

¹Centro Universitario de los Lagos' Universidad de Guadalajara

RESUMEN

La *Drosophila melanogaster* (Dm) es considerado un excelente sistema biológico para realizar diferentes ensayos genéticos, biológicos o biofísicos. Existen en la actualidad diversa información del efecto que puede tener la luz sobre su comportamiento, apareamiento, desarrollo, etc.

El efecto de la luz (radiación visible) en los organismos ha sido estudiado en muchos ámbitos, desde la importancia del ritmo circadiano para determinar los patrones de sueño y alimentación de los animales y sus consecuencias en el metabolismo, regeneración celular y actividad cerebral [1], hasta los efectos de las longitudes de onda de la luz sobre la orientación y sensibilidad magnética de la Dm [2]. La importancia de la interacción entre la luz y los sistemas biológicos para entender el comportamiento y desarrollo de organismos vivos, ha propiciado el desarrollo de nuevas áreas del conocimiento como la biofotónica o la optogenética.

En este trabajo se utilizaron diferentes longitudes de onda del espectro visible para identificar alteraciones en el desarrollo de este organismo. Los resultados sugieren que las longitudes de onda utilizadas influyeron en el desarrollo normal de la Dm, así como en el número y género de los individuos obtenidos.

1. INTRODUCCIÓN

Los efectos de la luz (radiación visible) en los organismos ha sido estudiados desde diferentes puntos de vista. Desde el estudio del ritmo circadiano donde se determinan los patrones de sueño y alimentación de los animales, y por consecuencia su metabolismo, regeneración celular y actividad cerebral [1], hasta los efectos de las longitudes de onda de la luz sobre la orientación y sensibilidad magnética de la *Drosophila* [2]. La importancia de la interacción entre luz y sistemas biológicos para entender el comportamiento y desarrollo de organismos vivos, le ha abierto las puertas a nuevas áreas del conocimiento como la biofotónica o la optogenética.

2. TEORÍA

El desarrollo en el área de iluminación con diodos emisores de luz (led), ha permitido una forma sencilla y más precisa, de poder investigar el efecto de la radiación visible en diferentes sistemas. La generación de nuevos materiales emisores de radiación, la invención del led de luz blanca junto con los diferentes dispositivos ópticos han permitido simular de forma muy precisa la radiación en el espectro visible.

La luz blanca con led, se obtiene partiendo de una emisión en el ultravioleta o azul, convirtiendo esta en visible a través del uso de fósforo. Dependiendo de los fósforos que se usen se obtiene

temperaturas de color muy cálidas (2700 K) hasta muy frías (9000K) [3]. Por otra parte un filtro óptico, es un dispositivo que puede seleccionar una banda de longitud de onda, y eliminar el resto. Esto se logra, ya sea reflejando las frecuencias no deseadas, o recubriendo un sustrato transparente con algún material con propiedades absorbentes de la luz. Los filtros de paso de banda filtran las longitudes de onda por encima y por debajo de ciertos límites.

La *Drosophila Melanogaster* utiliza al menos tres fotoreceptores, los criptocromos que son los fotoreceptores del color azul, los ojos compuestos (ocelos) y los Hofbauer-Buchner (H-B) eyelet, los cuales cubren la radiación ambiental para el ciclo día/noche. Estos organismo han mostrado diferente sensibilidad visual para varias longitudes de onda, por ejemplo, cuando son expuestas a radiación roja son fisiológicamente insensibles, a diferencia de cuando se utiliza el espectro en el rango del azul que ocurre su máxima sensibilidad al ciclo día/noche[4].

3. OBJETIVO

Determinar alteraciones en el ciclo de vida de la *Drosophila melanogaster* después de ser expuestas a tres longitudes de onda de la luz diferentes.

4. PARTE EXPERIMENTAL

A. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se utilizaron cepas de Dm de tipo silvestre y Dm con mutaciones visibles en ojos: *sepia*, *Lobe* y *white* (Tabla 1). Las cepas fueron sembradas por triplicado, en frascos de vidrio de borosilicato de 250ml (KIMAX) previamente lavados y esterilizados. A cada frasco se les adicionó medio de cultivo especial para Dm y 2 hembras y 2 machos de cada rasgo. De igual manera se montaron cultivos control.

Tabla 1. Características morfológicas utilizadas de *Drosophila melanogaster*.

				
A. Ojos sepia	B. Ojos Lobe	C. Ojos white	D. Ojos silvestres	E. Diferencias sexuales

B. SISTEMA LUMÍNICO

El sistema se conformó por triplicado utilizando cajas de las mismas medidas, las cuales fueron aisladas de la luz exterior con el fin de asegurar una distribución uniforme de la radiación en todos los frascos.

Cada caja contenía 1 frasco de cada una de las mutaciones, iluminadas por lámparas led de 3W con conector E27, las cuales funcionan con 3 led's de luz blanca. A continuación de cada lámpara se colocaron filtros ópticos (Newport) con una transmitancia del 50%, centrados en las siguientes

longitudes de onda: 460 nm (azul), 530 nm (verde) y 650 nm (rojo), con una tolerancia de ± 2 nm, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Montaje realizado para las diferentes longitudes de onda.		
		
A. 460 nm (azul)	B. 530 nm (verde)	C. 650 nm (rojo)

5. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Después de monitorear el ciclo de vida en cada uno de los cultivos experimentales y controles, no se observaron diferencias en los estadios de huevo y larva, sin embargo las pupas se tardaron en aparecer en los cultivos experimentales 2 días más que los controles.

Los primeros adultos se observaron, en los medios experimentales, dos días después que en los frascos control.

En cuanto al número de adultos la relación experimental es: controles fue de 2:5.

La relación entre número de machos (m): número de hembras (h) en los controles fue de 4m:5h respectivamente, mientras que en los cultivos experimentales fue de 0m:5h para la luz verde; 5m:7h para la luz azul y de 2m: 2h para la luz roja.

Lo anterior lleva suponer que las hembras no serían tan dependientes de la longitud de onda como los machos.

No se observaron diferencias morfológicas en la primera generación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alexander M. Vaiserman, Anatoly V. Pizaruck, Albert N. Timchenko, Vladimir P. Voitenko, Natalya M. Koshel and Pavel E. Grigoriev. Life extension in *Drosophila* maintained under lengthened light/dark regime. *Biogerontology*. 2008; 9: 345–350.
2. J. B. Phillips and O. Sayeed. Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass orientation in *Drosophila melanogaster*. *J. Comp. Physiol. A* 1993; 172:303-308.
3. Mar Gandolfo de Luque. Luz blanca y LED: Soluciones sostenibles para unas ciudades más habitables. *Física y sociedad*. 2011 Junio. 21: 40-41.

4. P. Subramaniana, R. Sivaperumal and G. Suthakar. Rhythmic expression patterns of locomotor activity in mutants of *Drosophila melanogaster* under different wavelengths of light. *Biological Rhythm Research*. 2009 Junio.(40)3: 279-287.

“ESTUDIO DE LA BIODEGRADACIÓN DE DETERGENTES LÍQUIDOS COMERCIALES DOMÉSTICOS PARA EL LAVADO DE ROPA, USADOS EN LA ZMG, JALISCO”

Samantha Reyes Sánchez¹, Ma. De Jesús Medina Ledesma², Eire Reynaga Delgado³, Alma Elizabeth Rojas Romero⁴

1 Departamento de Farmacobiología, CUCEI, Universidad de Guadalajara, 2 Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería.

RESUMEN

El lavado de la ropa es una de las actividades básicas en el aseo, los productos disponibles para este cometido son variables en marcas y características, aun así todos son unidos por el uso de surfactantes cuya función es favorecer el desprendimiento de las manchas, estos ingredientes son unos de los contaminantes más importantes de aguas superficiales, aun así, no son los únicos compuestos altamente contaminantes que tienen. Ante las alarmantes consecuencias de estos productos se desarrollaron los surfactantes biodegradables los cuales en un periodo de tiempo relativamente rápido son afectados por las bacterias cambiando sus propiedades contaminantes. Muchos de los productos actuales de lavado de ropa se jactan de ser biodegradable solo por el uso de un tensoactivo biodegradable, sin tomar relevancia de que un detergente no solo está compuesto por este ingrediente. **Objetivo:** analizar la biodegradación de detergentes líquidos para ropa comercial de uso doméstico, empleados en la ZMG. Cuantificar la cantidad de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5), Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM) y comparar con la normatividad vigente en el país relacionada con la descargas de aguas a cuerpos receptores. **Materiales y métodos:** se empleó un estudio experimental transversal con la elección de 15 muestras a conveniencia a las cuales se les practicó las pruebas de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5), Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM) así como la cuantificación de la biodegradabilidad mediante la relación Demanda Bioquímica de Oxígeno / Demanda Química de Oxígeno (DBO5 / DQO). Se utilizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos factores para revisar si el detergente o la dilución afecta significativamente la DBO5, la DQO y el SAAM. **Resultados:** los detergentes líquidos para lavado de ropa reportaron altos niveles de Demanda Química de Oxígeno y de Demanda Bioquímica de Oxígeno, mostraron bajos coeficientes de biodegradabilidad. El análisis cluster dividió los detergentes en tres grupos de poca, media y alta biodegradabilidad y el análisis de varianza (ANOVA) mostró que ninguno de los factores tiene una diferencia estadísticamente significativa.

1.- INTRODUCCIÓN

Los detergentes para lavado de ropa han ido incluyendo en sus formulaciones diversos ingredientes para volver la rutina de la limpieza algo más simple, cómodo y rápido aunque provechoso para la sociedad, para el medio ambiente no ha sido tan beneficioso. Varios de los componentes no se saben si son biodegradables o no, además varios de ellos pueden afectar tóxicamente a los animales en ríos, lagos y mares. (8)

2.- TEORÍA

Biodegradable es la característica que poseen algunas sustancias químicas de poder ser utilizadas como sustrato por microorganismos para producir energía y crear sustancias vitales para la vida. Cuando hablamos de biodegradabilidad nos referimos a la capacidad intrínseca de una sustancia a ser transformada en una estructura química más simple por vía microbiana. Cabe destacar que no todos los microorganismos son capaces de degradar todos los tipos de compuestos. (4)

La velocidad de la biodegradación de los compuestos depende de varios factores extrínsecos a la molécula e intrínsecos a esta. Entre los extrínsecos encontramos la cantidad de microorganismos, la cantidad de nutrientes, el pH del ambiente, temperatura, grado de aireación y concentración del compuesto. (9)

En cuanto a los factores intrínsecos de la molécula, la biodegradación es muy sensible a la estructura de estas por lo que ciertas características estructurales afectaran la velocidad, tales como:

- Incremento del peso molecular.
- Incremento átomos de carbono en la molécula.
- Incremento de núcleo aromáticos.

En el tema de los detergentes gracias a estudios se sabe que en estos compuestos la naturaleza del grupo hidrófobo afecta drásticamente la biodegradación mientras que el grupo hidrófilo no tiene mucha relevancia. (1)

Algunas legislaciones en el mundo mencionan que un paquete de detergente puede poner la palabra “biodegradable” si el tensoactivo pierde su propiedad e reducir la tensión superficial un 90% después de 28 días de ser vertido al agua, pero las leyes no suelen mencionar nada respecto al resto de los ingredientes que pueden llegar a ser hasta un 80% del detergente (8). Cuando se aumenta la concentración de tensoactivos, se incrementa significativamente el periodo de adaptación de la bacteria al medio y disminuye la velocidad de degradación. (5)

Los detergentes son productos usados en la limpieza de superficies y objetos, estos están formados principalmente por un tensoactivo el cual afecta la tensión superficial, lo que provoca una disminución en la fuerza de adhesión de las partículas a una superficie otros (2). Los detergentes líquidos para lavado de ropa contienen: Ingredientes básicos de detergentes líquidos para lavado de ropa, surfactante, Ablandadores de agua, Agentes alcalinizantes, Blanqueadores, Agentes antirepositantes, Abrillantadores ópticos, Conservador, Aditivos de proceso, Reguladores de espuma, Inhibidores de la corrosión. Los detergentes causan contaminación expresada de diferentes maneras al ser vertidos en cuerpos de agua receptores. A continuación se mencionan y explican brevemente:

Formación de espumas: principalmente causadas por la presencia de tensoactivos. La espuma dificulta la sedimentación primaria debido a que engloba las partículas, también afecta la dilución del oxígeno en agua volviéndolo más difícil. (6)

Inhibición de la oxidación: un contenido alto de detergentes puede inhibir por completo la actividad bacteriana celulolíticas. (6)

Alteración de la transferencia y la disolución del oxígeno: forman una capa protectora que dificulta la renovación del oxígeno disuelto. (6)

Acción en la fauna: los detergentes hacen difícil la obtención de oxígeno para la vida acuática además de provocar lesiones en las branquias de los peces. También elimina la capa de grasa de las plumas de las aves lo que puede ocasionarles la muerte por frío. (2)

Eutrofización: los fosfatos actúan como fertilizantes de las algas, aumentando su población lo que conlleva a que se vaya agotando el oxígeno del agua para el uso de otros seres vivos acuáticos. Cuando las algas se acumulan en el lago hacen que sea menos profundo, debido a la descomposición por vía anaerobia de esta materia vegetal se produce metano, amoníaco y ácido sulfhídrico produciendo mal olor. (3)

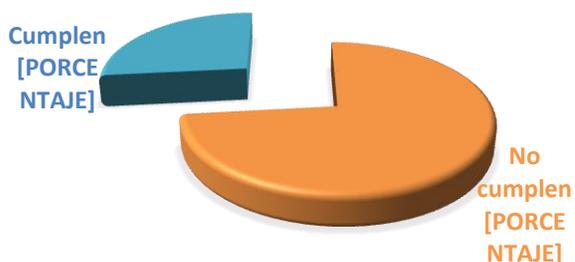
En nuestro país la comisión nacional del agua (CONAGUA) analiza la calidad del agua a través de una red nacional de monitoreo (RMN). La CONAGUA entre sus principales indicadores de la calidad del agua se destacan la Demanda Bioquímica de Oxígeno en 5 días (DBO5), Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la concentración de Sólidos Suspendidos Totales (SST). El DBO5 se usa para conocer la materia orgánica presente en el agua. El DQO se utiliza en la detección de sustancias no provenientes de descargas urbanas (CONAGUA 2012). La prueba de Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM) es otra prueba que nos permite analizar la calidad del agua al ser capaz de identificar la presencia de tensoactivos aniónicos tales como los ABS, LAS y esterres de sulfonatos. (7)

3. PARTE EXPERIMENTAL.

Se eligió la muestra a conveniencia visitando 5 supermercados de la ZMG, eligiendo los que estuvieran presentes en todos los supermercados y también aquellos en cuya etiqueta mencionaran que son biodegradables, se seleccionaron un total de 15 detergentes líquidos de uso doméstico para lavado de ropa los cuales se numeraron del 1 al 15 para su análisis. Se les realizó tres técnicas distintas de análisis de aguas. Demanda Química de oxígeno (DQO), Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM), todas ellas según las normas técnicas mexicanas NMX-AA-028-SCFI-2001, NMX-AA-012-SCFI-2001, NMX-AA-030-SCFI-2001, NMX-AA-030/1-SCFI-2012 y NMX-AA-039-SCFI-2001. Los resultados fueron vaciados en una base de datos. Los cálculos fueron realizados en el programa Excel 2010 y en lo estadístico se usó el programa Statgraphics Centurion 2011. Los resultados de biodgradabilidad se compararon contra la norma NMX-R-019-SCFI-2011, para revisar si los detergentes entran en los límites máximos permisibles de contaminantes a cuerpos receptores se compararon los resultados con la norma NOM-067-ECOL-1994. Los datos se desarrollaron en un estudio experimental transversal.

Gráfico No 1. Cumplimiento de los límites máximos permisibles de la norma NOM-067-ECOL-1994 en la determinación de DBO5.

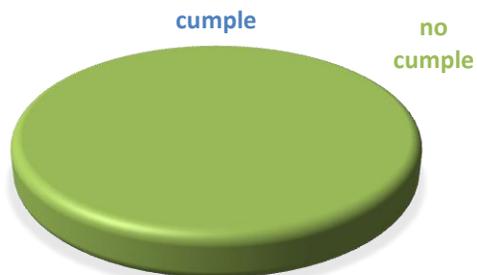
De las 15 muestras analizadas solo 4 de ellas estuvieron dentro de los límites máximos permisibles en la prueba de Demanda Bioquímica de Oxígeno, esto corresponde a un 27%, el 73% restante supero estos límites. Esta prueba evalúa la cantidad de materia orgánica que las bacterias son capaces de digerir.



	Frecuencia	Porcentaje (%)
Cumplen	4	27
No cumplen	11	73
Total	15	100

Gráfico No 2. Cumplimiento de los límites máximos permisibles de la norma NOM-067-ECOL-1994 en la determinación de DQO.

De las 15 muestras analizadas solo de ellas estuvo dentro de los límites máximos permisibles en la prueba de Demanda Química de Oxígeno, que evalúa la materia orgánica total del producto.



	Frecuencia	Porcentaje (%)
Cumplen	0	0
No cumplen	15	100
Total	15	100

Gráfico No 3. Cumplimiento de los límites máximos permisibles de la norma NOM-067-ECOL-1994 en la determinación de SAAM.

De las 15 muestras analizadas toda estuvieron dentro de los límites máximos permisibles en la prueba de Sustancias Activas al Azul de Metileno que evalúa la presencia de tensoactivos aniónicos.



	Frecuencia	Porcentaje (%)
Cumplen	15	100
No cumplen	0	0
Total	15	100

Gráfico No 4. Análisis de Varianza de los factores dilución y detergente

Ni el factor dilución ni el factor detergente tuvieron una diferencia estadísticamente significativa en los promedios del coeficiente de biodegradabilidad (DBO₅/ DQO) cuando son usados a dilución recomendada por el fabricante y a conveniencia.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor P
Factores				
A: Detergente	2.0196E7	14	1.44257E6	0.5505
B: Nivel	3.16061E6	1	3.16061E6	0.1618
Residual	1.17135E8	74	1.58291E6	
Total (Corregido)	1.40492E8	89		

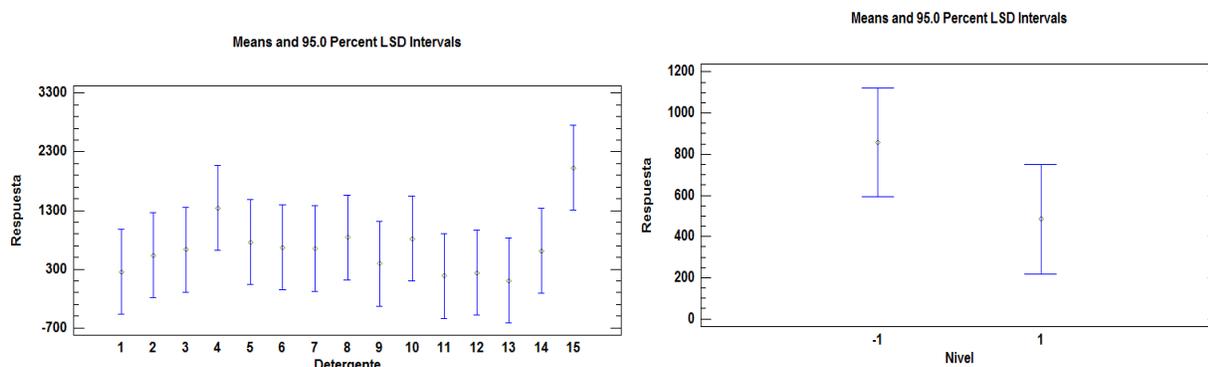


Gráfico No 5. Análisis cluster de la biodegradabilidad

Se detectó un primer grupo en el cual el coeficiente de biodegradabilidad incluye a los más altos en el análisis, un segundo grupo con los coeficientes de biodegradabilidad más bajos y un tercer grupo con coeficientes de biodegradabilidad intermedios, notándose que el grupo de poca biodegradabilidad es el más grande. Aun así, ningún detergente cumplió la norma de biodegradabilidad de la norma NMX-R-019-SCFI-2011 que establece que el coeficiente de biodegradabilidad debe de ser mayor o igual a 0.5.

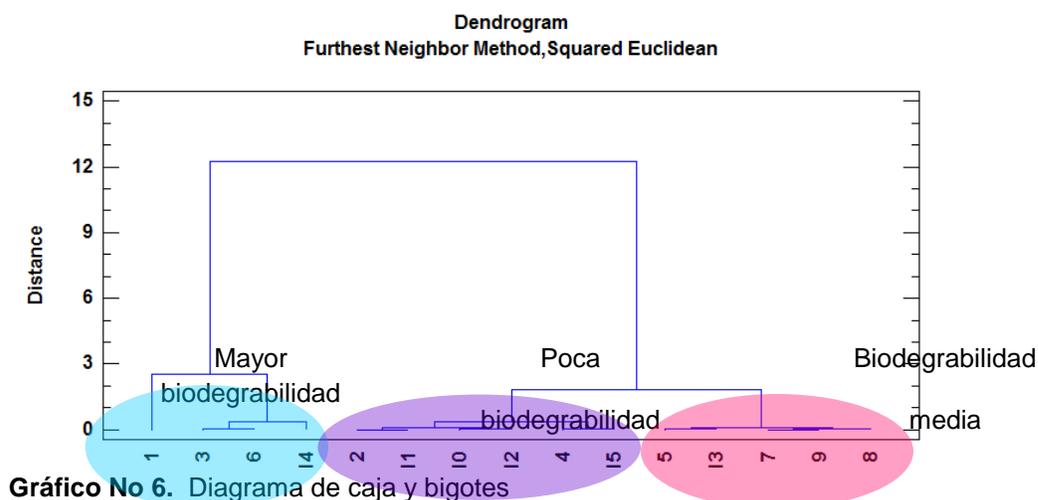


Gráfico No 6. Diagrama de caja y bigotes

Las observaciones están dispersas entre los 0.1 y los casi 0.5 valores de relación DBO₅/DQO.

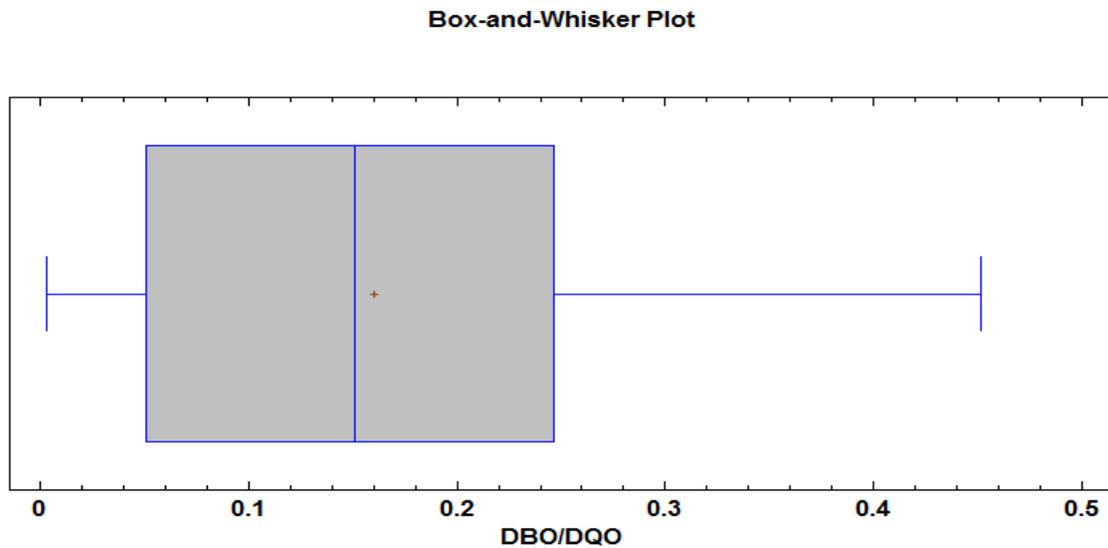
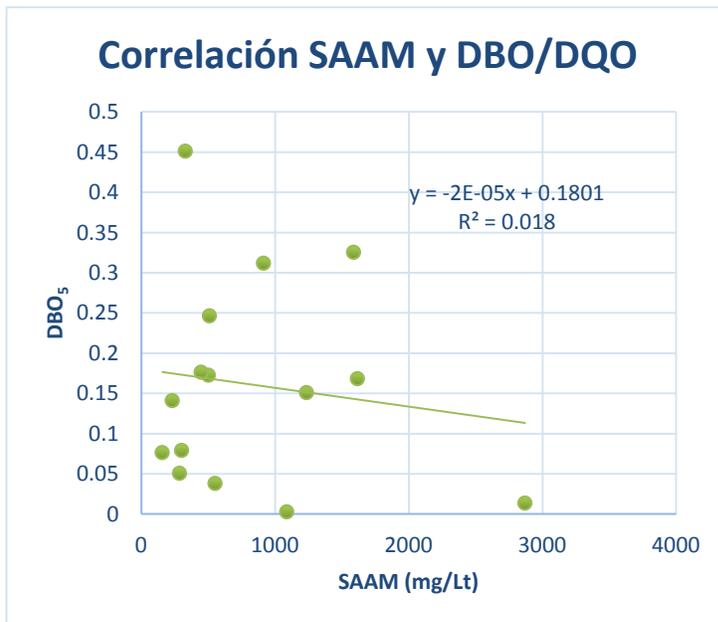


Gráfico No 7. Correlación de Sustancias Activas al Azul de Metileno y coeficiente de biodegradabilidad.

La relación de las Sustancias Activas al Azul de Metileno y el coeficiente de biodegradabilidad, al tener un coeficiente de correlación menor a 0.1 nos indica que estos dos factores no tienen relación alguna y que el tensoactivo no afecta la biodegradabilidad del detergente.



Coefficiente biodegradación	SAAM
0.451333486	329.2809314
0.079298563	301.3768552
0.325620476	1588.149455
0.002900616	1088.07966
0.151161666	1235.640504
0.312009879	914.0393332
0.172775904	501.8640726
0.168486267	1617.026098
0.176513951	447.8187636
0.038256754	551.7582611
0.076601235	156.3475824
0.050847518	285.8958721
0.141224614	231.6847775
0.246585352	509.6469609
0.013773054	2869.99509

4. CONCLUSIONES.

Ninguno de los detergentes analizados cumplió la normatividad mexicana de biodegradabilidad. Dentro del estudio cuatro detergentes estuvieron dentro de los límites máximos permisibles de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), ninguno de ellos estuvo dentro del rango de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y todos los detergentes estuvieron dentro de los límites máximos para Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM). Se observó que la dilución no afecta la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y los Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM). En ambas situaciones los parámetros guardan congruencia con el aumento de la dilución, además se comprobó que aunque se use un tensoactivo biodegradable esto no asegura que el detergente en su totalidad lo sea.

BIBLIOGRAFÍA

5. Cognis Mexicana, S.A. de C.V. 2001. El uso de los agentes tensoactivos en la preparación y evaluación de su biodegradabilidad [Internet]. [Consultado el 28 de ene del 2015] Disponible en: <http://www.detextiles.com/files/TENSOACTIVOS%20Y%20BIODEGRADABILIDAD.pdf>
6. Gender K, Arnao J. 2005. Estudio de la biodegradación de los detergentes comerciales domésticos de nuestro país [Tesis] Universidad de Guayaquil.
7. Guarguati JM, Ramirez F. 2008. Evaluación toxicológica de la influencia de los detergentes provenientes del efluente del RAP de la UPB, sobre el crecimiento y desarrollo de *Spirodella* sp [Tesis]. [Bucaramanga(CO)]: Universidad Pontificia Bolivariana.
8. Guerra FJ, Struck A, Villalobos SA. Biodegradabilidad de contaminantes: Prueba de biodegradabilidad e inhibición de compuestos orgánicos por DBO y VCO [Internet] Mexico: Universidad Iberoamericana; 2008 [Consultado el 10 de oct del 2015] Disponible en: http://fjartnmusic.com/Personal/8o_Semestre_files/LIAPreP8.pdf
9. Lechuga M.M. 2005 Biodegradación y toxicidad de tensoactivos comerciales [Tesis]. [Granada]: Universidad de Granada. p. 51-54.
10. Montenegro López R.R. 2005. Evaluación de la incidencia en el medio ambiente entre un detergente líquido biodegradable y varios detergentes convencionales en máquinas de lavado industrial [Internet] [Consultado el 16 de Nov del 2014] Disponible en: http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/10065/1/27522_1.pdf
11. Norma mexicana NMX-AA-039-SCFI-2001. Análisis de aguas - determinación de sustancias activas al azul de metileno (saam) en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba.
12. Opciones. 2002. Los detergentes. Opciones [Internet]. [Consultado el 7 de nov del 2015]; N°2: 5-20. Disponible en: <http://www.cprac.org/consumpediamed/sites/all/documents/02detergentes.pdf>
13. Sibila M.A. 2008. Evaluación de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de tensoactivos en el medio acuático marino [Tesis]. [Cadiz (UCA)]: Universidad de Cadiz. p. I2-I11

APROVECHAMIENTO SUSTENTABLE DE LA CASCARA DE PIÑA (*Ananas comosus* L. Merrill) COMO ADSORBENTE NATURAL PARA LA REMOCIÓN DE METALES PESADOS EN AGUA

Cintya Valerio Cárdenas, Helen Lázaro Flores, Patricia de la Cruz Burelo

Universidad Popular de la Chontalpa, Carretera Cárdenas-Huimanguillo Km 2.0, Cárdenas, Tabasco.

RESUMEN

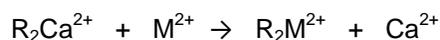
En este trabajo se investigó la biosorción de Fe (II) por biomasa de cáscara de piña seca y triturada, con tratamiento de reticulación con CaCl_2 . En un primer estudio se evaluó la capacidad de biosorción de la biomasa variando el tiempo de contacto, manteniendo el $\text{pH}=5$ y el tamaño de la partícula. La microscopía electrónica de barrido mostró la presencia del metal Fe (II) atrapado en la biomasa.

1. INTRODUCCIÓN

El estado de Tabasco es uno de los estados con mayor producción de piña, siendo la *Ananas comosus* L. Merrill la que se siembra en la región de la Chontalpa. En esta región se procesan anualmente 260 toneladas, generando hasta 156 toneladas de residuos (cáscara, corona y pulpa) cuyo destino final son los basureros causando una contaminación ambiental. El desarrollo de tecnologías sustentables permite dar soluciones a los problemas de los residuos agrícolas. Otra preocupación a tratar son las descargas de sustancias al agua como lo son los metales pesados. Estos están considerados como uno de los grupos más peligrosos debido a su baja biodegradabilidad y su alta toxicidad a bajas concentraciones. Entre los procesos más comunes utilizados para tratar efluentes con metales pesados son: carbón activado, intercambio iónico, extracción con solventes y flotación no convencional. Algunos de estos procesos implican altos costos de operación para su activación y regeneración. El interés de utilizar los materiales naturales como adsorbentes es por que contienen en su composición polímeros naturales que permitan retener en su interior tanto moléculas orgánicas como inorgánicas. En este caso, la biosorción ocurre cuando el catión Fe^{2+} se une por interacción electrostática a los sitios aniónicos presentes en la pectina. La pectina es un polímero de origen natural presente en gran cantidad en las frutas y vegetales.

2. TEORÍA

Las pectinas al ser tratadas con Ca (II), este ión se une a la cadena poligalacturónica. La remoción de metales por pectina tratada se da básicamente por intercambio iónico entre el ión Ca^{2+} y iones metálicos en solución hasta lograr un equilibrio. Los grupos carboxilo presentes en las moléculas de pectina son los que llevan a cabo el intercambio iónicos.



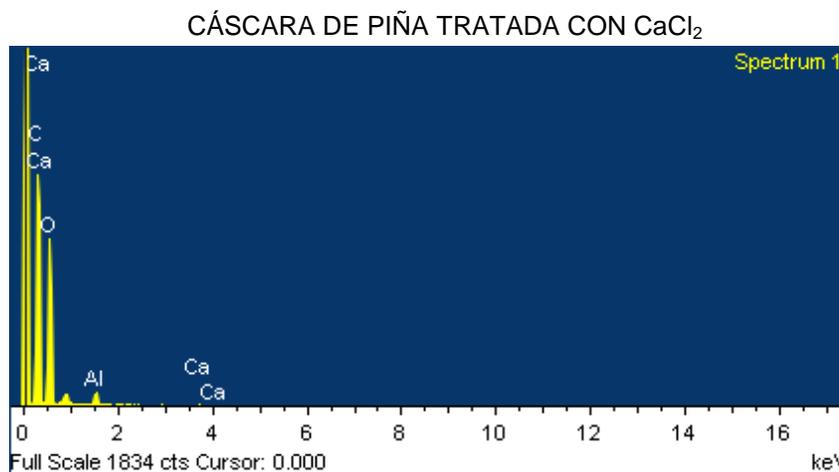
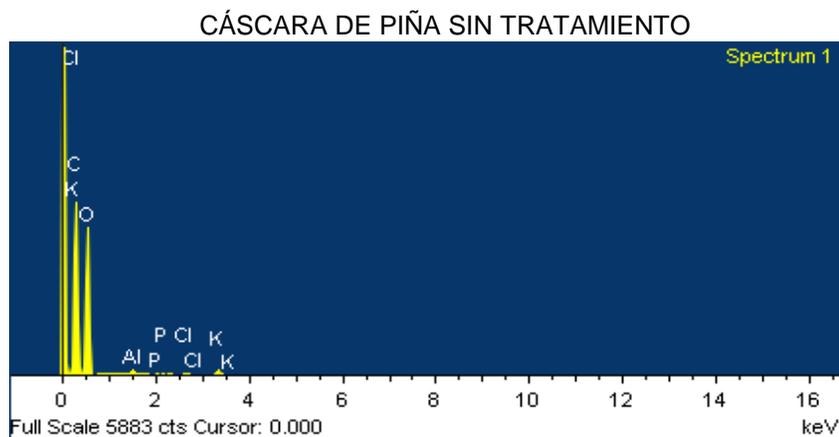
Las cáscaras de frutas, comúnmente la de naranja ha sido ampliamente estudiada y utilizada para la biosorción de metales como Pb(II), Cu(II), Cr(VI). El objetivo que se plantea en este trabajo de investigación es evaluar la capacidad biosorbente de la cáscara de piña reticulada, para la eliminación de metales pesados en medio acuoso, en particular el Fe. Este metal es muy abundante en la región de la Chontalpa, el cual genera grandes problemas a la población ya que se encuentra en el agua de tipo domestico.

3. PARTE EXPERIMENTAL

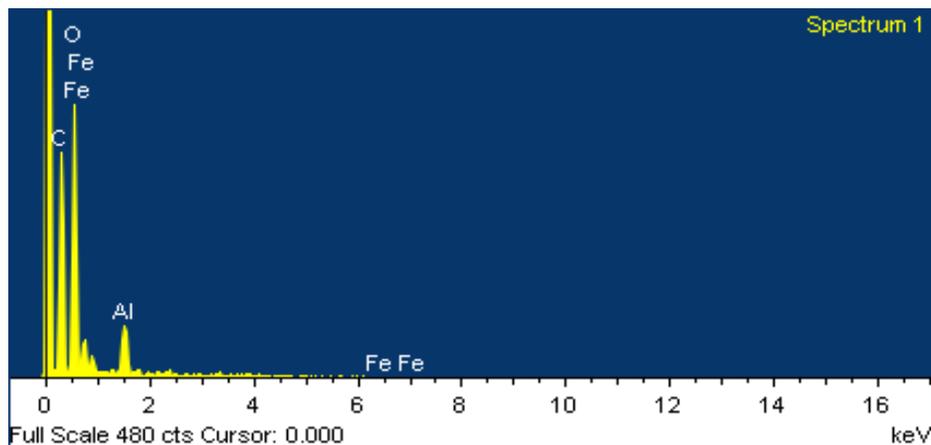
Las cáscaras de piña fueron cortadas en fracciones, se lavaron para eliminar compuestos indeseables como azúcares y suciedad. Posteriormente se seco por 24 horas al sol y 12 en un horno de laboratorio a 80°C, con el fin de eliminar toda la humedad. Las cáscaras secas se tritularon y se cribaron en un tamiz formado por una malla #40. El sólido obtenido fue tratada con CaCl_2 0.2 M ajustando a un pH 5, La mezcla se mantuvo en agitación constante a 200 rpm por 24 horas. Después la mezcla se lavó varias veces para eliminar el exceso de calcio, se filtró y se secó en un horno a 80°C por 24 horas. Se preparó una solución acuosa de FeSO_4 a una concentración de 100mg/L, a esta solución se le agregó la biomasa y se ajusto el pH a 5 variando el tiempo de contacto.

4. RESULTADOS

El resultado obtenido por microscopía electrónica de barrido se muestra en los siguientes espectros, donde se puede observar la biosorción de los metales por la biomasa.



CÁSCARA DE PIÑA TRATADA CON FeSO₄



5. CONCLUSIONES

La cáscara de piña es un buen candidato para usarse como adsorbente en la remoción de metales pesados, ya que logró retener en su interior al Fe(II).

El tratamiento de reticulación con CaCl₂ favoreció la biosorción del metal por intercambio iónico.

El pH de 5 y el tiempo de contacto de 4 horas fueron los parámetros adecuados para que ocurriera el intercambio iónico del Ca(II) por el Fe(II).

BIBLIOGRAFÍA

1. R. O. Cañizares Villanueva, "Biosorción de metales pesados mediante el uso de la biomasa bacteriana", Revista Latinoamericana de Microbiología, Vol. 42, 2000, pp. 131-143.
2. M. L. Pinzón, "Eliminación de Cadmio, Cinc y Cromo de efluentes líquidos por biosorción mediante Posidonia Oceánica." Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química. Grupo de Investigación en Tecnología del Agua, Universidad de Murcia, España.
3. J. C. Muñoz, "Biosorción del Plomo (II) por cáscara de naranja *citrus cinecis* pretratada". Tesis de licenciatura de Químico. Universidad Nacional del Mayor de San Marcos, Facultad de química e ingeniería química, Lima-Perú.
4. A. F. Cardona Gutiérrez, D. D. Cabañas Vargas, A. Zepeda Pedreguera, "Evaluación del poder biosorbente de cáscara de naranja para la eliminación de metales pesados, Pb (II) y Zn (II)", Ingeniería, Vol 17(1), 2013, pp. 1-9.

PERFILES DE EXPRESIÓN DEL GEN EIF3F EN CÉLULAS DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B DEL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

Alicia Areli Bautista Tejeda, Marco Aurelio Pardo Gálvan y Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo

RESUMEN

La Leucemia Linfoblástica Aguda es la causa más común de cáncer en niños y adolescentes. Un factor en el desarrollo de un cáncer es la alteración en la expresión de genes involucrados en la proliferación y/o muerte celular. La desregulación de la transcripción o de la traducción causa anomalías en la expresión génica. El factor eucariótico de iniciación 3 (eIF3) es un complejo multiproteínico, del cual forma parte la subunidad f (eIF3f), quien tiene una función en el inicio de la traducción. eIF3f está relacionado con el ciclo celular, mostrando un perfil de expresión bifásico con máximos en las fases S y M.¹ Existen estudios sobre el nivel de expresión del gen eIF3f en muestras tisulares de diferentes neoplasias malignas que sugieren su incidencia en la oncogénesis.² Por lo tanto el objetivo general de este trabajo es identificar el patrón de expresión del gen eIF3f en células B de pacientes diagnosticados de *novo* con Leucemia Linfoblástica Aguda, mediante Citometría de Flujo. Los resultados muestran que las células B leucémicas presentan un patrón de expresión bifásico, y la cantidad relativa de eIF3f es dependiente de la fase del ciclo celular en la que se encuentre.

1. INTRODUCCIÓN

En México, el Registro Nacional de Cáncer en niños y adolescentes reporta una población de 3,569 pacientes menores de 20 años durante el período del 2005 al 2010, y las leucemias representan un 30% de los diagnósticos, siendo las leucemias linfoides las más comunes. De estas últimas, la leucemia linfoblástica aguda con afectación del linaje B es la más frecuente en niños y adolescentes. Aún se desconoce la etiología del cáncer, el cual se ha asociado con una gran variedad de anormalidades genómicas con comportamientos clínicos heterogéneos, que pueden deberse a la diversidad de factores ambientales, estilos de vida, hábitos, alimentación y genética; lo cual explica las diferencias epidemiológicas encontradas entre diferentes países. Por lo mismo, y a pesar del aumento en el conocimiento científico en torno al cáncer, el diseño y uso de fármacos específicos dirigidos a blancos terapéuticos concretos no ha sido suficiente para erradicar esta patología, ni para desplazar a los procedimientos clásicos en el manejo de la enfermedad. Esto se debe a que aun no se conocen todos los productos génicos que pudieran estar interaccionando durante el desarrollo del cáncer, ni están descritas en su totalidad todas las funciones moleculares y celulares involucradas. Así, la generación de conocimiento en torno a la genética de un cáncer en particular es necesaria, para identificar marcadores de diagnóstico temprano o para desarrollar nuevos blancos terapéuticos con mayor potencial.

2. TEORÍA

La leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es una neoplasia que se caracteriza por la proliferación y el crecimiento descontrolado de células provenientes del linaje linfoide; en donde los blastos han

perdido su capacidad de diferenciarse y se convierten en las células predominantes en médula ósea, interfiriendo con la hematopoyesis.³

El desarrollo de la célula B en fases tempranas se lleva a cabo en médula ósea y terminan su maduración en órganos secundarios. En la leucemia linfoblástica aguda la célula B cancerígena evade los mecanismos de control y pierde la capacidad de autoregularse durante las fases tempranas de su desarrollo. Por lo tanto las células dañadas no son capaces de entrar en apoptosis ni son capaces de detener su ciclo celular; como consecuencia los blastos se someten a ciclos celulares continuos que conllevan a la proliferación de linfocitos B que no culminan su maduración.⁴

El ciclo celular es un conjunto ordenado de sucesos irreversibles que conducen al crecimiento de la célula y la división de ésta en dos células hijas. En los organismos multicelulares, como el ser humano, el control preciso del ciclo celular durante el desarrollo y el crecimiento es crítico para determinar el tamaño y la forma de cada tejido. La replicación celular es controlada por una red compleja de vías de señalización que integran señales extracelulares acerca de la identidad y el número de las células vecinas, y señales intracelulares sobre el tamaño de la célula y el programa de desarrollo.⁵

El ciclo celular somático se define como el periodo entre dos divisiones mitóticas, y el tiempo transcurrido desde el fin de una mitosis y el inicio de la siguiente es llamado Interfase. El periodo de división, es llamado Fase M. La Interfase se subdivide en: Fase S (Síntesis): en esta etapa la célula duplica su material genético. Fase G1 y G2 (G de "Gap" o intervalo): aquí la célula es altamente activa en su biosíntesis, lo cual le permite incrementar su tamaño aumentando el número de proteínas y orgánulos y proveer del material necesario para la siguiente fase.⁵

Los períodos de transición entre cada fase son los instantes del ciclo celular eucarionte, altamente regulado, donde existe un incremento en la síntesis de proteínas específicas que serán necesarias para que avance a la fase siguiente. Los tres puntos de control principales se sitúan en la interfase, concretamente en las transiciones de G1 a S, S a G2 y de G2 a M. Un cuarto punto de control se localiza en plena mitosis.⁵

La ejecución precisa del ciclo celular requiere de la expresión, también precisa, de proteínas claves. La traducción es uno de los procesos relacionados con el flujo de la información; permitiendo que la información almacenada en el DNA y a través de un intermediario de RNA, se traduzca a proteínas, para poder producir los componentes necesarios para los distintos procesos celulares, como el ciclo celular.¹

La traducción es un proceso usualmente dividido en tres fases: la INICIACIÓN donde se ensambla el ribosoma con el mRNA a ser traducido, la ELONGACIÓN donde se forman los enlaces peptídicos en el centro catalítico del ribosoma, y la TERMINACIÓN donde se libera el péptido. La fase de iniciación de la traducción es la más controlada ya que marca la velocidad de la síntesis de proteínas. Los principales componentes que controlan el inicio de la traducción son los factores eucarióticos de inicio de la traducción (eIF's).⁶

El factor de iniciación de la traducción eucariótico 3 (eIF3) tiene una función central en el ensamblaje de los complejos en la iniciación de la síntesis de proteínas; es el factor de iniciación más complejo, con una masa molecular aproximada de 800 kDa. En mamíferos consta de hasta 13 subunidades no idénticas que varían de tamaño, nombradas de eIF3a hasta eIF3m. Se ha reportado que, en mamíferos, solo tres de las cinco subunidades conservadas en todos los eucariotes (eIF3a, b, c) y tres subunidades no conservadas (eIF3e, f, h) son indispensables para mantener un nivel adecuado de síntesis de proteínas, y que el resto de las subunidades sólo modulan la actividad del complejo eIF3.⁶

En humanos, el gen de eIF3f se encuentra codificado en el cromosoma 11p15.4, contiene 8 exones y 7 intrones; y codifica a una proteína de 357 aminoácidos que tiene un peso molecular de 38.5 kDa, aunque en corrimiento electroforético tiene un peso de 47 kDa debido a la composición aminoacídica del amino terminal. Gutiérrez-Fernández y colaboradores⁷ reportaron que en el extremo amino terminal, los primeros 90 aminoácidos contienen un 60% de prolina y alanina que le confiere un carácter hidrofóbico, y lo llamaron dominio PA. eIF3f contiene un dominio Mpr1p, Pad1p N (MPN) por lo que se considera parte de la familia Mov34; este dominio abarca del aminoácido 91 hasta el 298. El dominio MPN permite la interacción proteína – proteína, y las proteínas que contienen este dominio se han encontrado en diferentes complejos proteínicos involucrados en procesos tan diversos como la iniciación de la traducción, la degradación de proteínas vía proteasomal y regulación de la transcripción. Por último, en su extremo carboxilo terminal presenta un motivo llamado TOS que interacciona con la cinasa mTOR, que modula la síntesis de proteínas mediante la fosforilación de la cinasa 1 de la proteína ribosomal S6 (S6K1).⁸

eIF3f es una proteína de la cual aun no se definen todas sus funciones; se conoce que eIF3f muestra características de unión proteína-proteína excepcionales, ya que también interactúa establemente con proteínas involucradas en procesos diferentes al inicio de la traducción.⁸ Por ejemplo Csibi y colaboradores⁹ reportan que eIF3f sirve como andamio entre mTORC1 y S6K1 en la vía de síntesis de proteínas. Si se incrementa la expresión de eIF3f, se incrementa la actividad de mTORC1, lo que conlleva a la fosforilación de S6K1 y 4E-BP1 (inhibidor del proceso de activación de los RNAm); como resultado se tiene el aumento en la síntesis de proteínas en un modelo muscular que tiene como consecuencia la hipertrofia muscular. Por el lado contrario, Lagirand-Cantaloube y colaboradores¹⁰ mencionan que MAFbx tiene como blanco eIF3f, para ubiquitinar y degradarlo en el proteosoma. En un modelo muscular, la sobreexpresión de MAFbx induce a atrofia por la degradación de eIF3f. Gutiérrez-Fernández y colaboradores⁷ encontraron la interacción física directa con el receptor α 1B y estimula la actividad adrenérgica. Debido a todas las interacciones que presenta eIF3f independientes al complejo de eIF3 se le considera una proteína ubicua.

Harvey y colaboradores¹¹ proponen que eIF3f podría participar en la progresión tumoral; encontraron una elevación de la proteína eIF3f en la línea celular MDA-MB-435 de carcinoma mamario con metástasis macroscópica, en comparación con otras en menor estadio de agresión. Shi y colaboradores¹² reportan una expresión disminuida de eIF3f en distintas muestras tumorales en comparación con su correspondiente tejido sano; por ejemplo, en tumores de páncreas y vulva, disminuido en el 100%, 90% en tumores mamaros, y 70% en tumores de ovario e intestino delgado. Doldan y colaboradores¹³ proponen que la disminución de eIF3f en Cáncer de Páncreas y Melanoma, es debida a una pérdida alélica en el gen eIF3f, evaluada a través de la pérdida de microsatélites en el brazo corto del cromosoma 11. Cheng y colaboradores¹⁴ encontraron una correlación directa entre la disminución en la expresión de eIF3f y el avance en el estadio del cáncer gástrico; proponen que la disminución en eIF3f puede participar en la progresión y la recurrencia de cáncer gástrico.

En células hemáticas, Miyamoto y colaboradores¹⁵ demostraron que el complejo formado por eIF3 y su asociación con los ribosomas pudiera contribuir en la velocidad del inicio de la traducción durante la activación de los linfocitos T; con respecto a eIF3f, reportan que no hay diferencias en la expresión del mensajero de un linfocito T activado (proliferación in vitro) y un linfocito T inactivo (estado quiescente natural).³³

Sin embargo, Higareda-Mendoza y Pardo-Galván¹ encontraron que en células A549 (adenocarcinoma pulmonar) el patrón de expresión del gen eIF3f está abatido en estado quiescente, comparado con células en proliferación, y que la expresión del gen eIF3f presenta dos máximos durante la fase S temprana y la transición G2/M del ciclo celular (un perfil de expresión bifásico); encontraron que al alterar el perfil de expresión de eIF3f, por sobreexpresión o por silenciamiento del mismo, se induce a muerte celular programada, concluyendo que su expresión

es controlada en tiempos específicos durante el ciclo celular. El perfil de expresión fue corroborado en las líneas celulares HepG2 (carcinoma hepatocelular) y Ramos (linfoma de Burkitt).³⁴

Pregunta de investigación:

¿Acaso el perfil de expresión de eIF3f en células B leucémicas difiere de su correspondiente en células no cancerosas?

3. PARTE EXPERIMENTAL

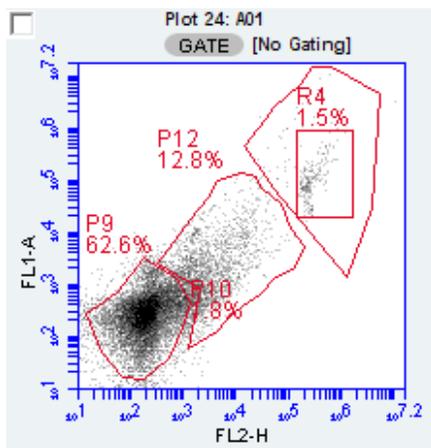
Con autorización por parte de los comités de investigación y de bioética de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” y del Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”, se incluyeron pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda, de reciente diagnóstico y sin haber recibido tratamiento alguno, donde se incluyeron muestras obtenidas de médula ósea y sangre periférica (se obtuvieron en tubos con EDTA).

En las muestras de médula ósea se realizó la separación de linfocitos y monocitos viables por centrifugación en gradiente de densidad de polisacarosa y diatrizoato de sodio (Lympholyte®-H de Cedarlane, Canada). Se identificaron las fases del ciclo celular y su relación con la expresión del gen eIF3f por citometría de flujo, donde las células seleccionadas se permeabilizaron con solución fijadora (Formaldehído/Glutaraldehído/ PBS) por 15 minutos a 4°C, se centrifugaron por 10 minutos a 480g's; cada pelleta celular se lavó y resuspendió en solución PBS/EDTA. A las muestras de células permeabilizadas se les añadió suero fetal bovino para bloquear, el anticuerpo específico para eIF3f y el anticuerpo secundario conjugado con un fluorocromo FITC. Las muestras de lavaron con PBS/EDTA/SFB y se resuspendieron con una mezcla de yoduro de propidio y RNasa, se incuban a temperatura ambiente y en obscuridad durante 30 min. Las muestras se procesan en un citómetro de flujo BD Acurri C6 (BD Biosciences, USA), pudiendo identificar el promedio relativo de la concentración de eIF3f de las células que se encuentran en las fases G0/G1, S y G2/M del ciclo celular.

En las muestras de sangre periférica se separaron las células B mediante selección negativa con RosetteSep™ Human B Cell Enrichment Cocktail (Steamcells™ technologies). La células no deseadas están marcadas para su eliminación mediante complejos tetraméricos de anticuerpos que reconocen CD2, CD3, CD16, CD36, CD56, CD66b y glicoforina A en eritrocitos. La identificación de las fases del ciclo celular y su relación con la expresión del gen eIF3f se realizó por citometría de flujo, y se utilizó el mismo procedimiento que el de médula ósea.

4. RESULTADOS

Hasta el momento las células B aisladas mediante RosetteSep™ Human B Cell Enrichment Cocktail (Steamcells™ technologies) con el cual se obtuvieron arriba del 95% de células B. El método de citometría de flujo fue validado por el grupo de trabajo.¹⁶ Con el programa ModFit LT 4.0 (Verity Software House, USA) se determinó el porcentaje de células en cada fase del ciclo celular (G0/G1, S y M). Los datos fueron verificados con el propio “software” del equipo; la expresión de la proteína eIF3f, medida como la intensidad del fluorocromo FITC (FL1-A). Con el software se pueden seleccionar poblaciones celulares que son específicas a una fase del ciclo celular y que se agrupan de acuerdo a la concentración de la proteína de interés (medida a través de la intensidad de FITC), siempre que ésta presente una expresión diferencial con respecto a las distintas fases del ciclo celular. La tabla de la figura 1 registra los promedios y medianas de la intensidad de FITC de las poblaciones seleccionadas, las cuales representan células en las fases G0/G1, S y G2/M.



Tiempo (h)	%G0/G1	%S	%G2/M	Media FL1-A G0/G1	Media FL1-A S	Media FL1-a G2/M
Paciente A	62.6	12.18	1.5	368	2,960.00	37,261.00

Figura 1. Registro de la expresión relativa de la proteína eIF3f de las poblaciones seleccionadas, las cuales representan células del Paciente A en las fases G0/G1 (P9 en el gráfico), S (P10) y G2/M (R4). La tabla muestra promedios de la intensidad de FITC (FL1-A) en relación a las poblaciones celulares de las fases del ciclo celular.

5. CONCLUSIONES

El perfil de expresión bifásico de eIF3f se conserva en células B leucémicas, encontrándose un primer pico máximo de intensidad en la transición de G1/S y un segundo en la transición de G2/M. lo que concuerda con lo encontrado en otras líneas celulares cancerosas (A549, HepG2 y Ramos).

BIBLIOGRAFÍA

1. Higareda-Mendoza AE, Pardo-Galván MA. Expression of human eukaryotic initiation factor 3f oscillates with cell cycle in A549 cells and is essential for cell viability. Cell Division. 2010;5:10.
2. Shi J, Kahle A, Hershey JW, Honchak BM, Warneke JA, Leong SP, Nelson MA. Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f deregulates translation and apoptosis in tumor cells. Oncogene. 2006;25:4923–4936.
3. Terreros E, De León RE, Sánchez E, Aguilar LB, Guzmán LO, Martínez-Murillo C. Guía de práctica clínica: Diagnóstico y tratamiento de Leucemia Linfoblástica Aguda. México: Secretaría de Salud. 2009.

4. Eswaran J, Sinclair P, Heidenreich O, Irving J, Russell LJ, Hall A, Calado DP, Harrison CJ, Vormoor J. The pre-B-cell receptor checkpoint in acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia*. 2015; 29(8):1623-31.
5. Lodish H, Berk A, Lawrence S, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular cell biology*. 5ta edición. EUA: W. H. Freeman; 2003.
6. Herráez Ángel. *Biología molecular e ingeniería genética*. 2da edición. España: Elsevier, 2012
7. Gutiérrez-Fernández MJ, Higareda-Mendoza AE, Gómez-Correa CA, Pardo-Galván MA. The eukaryotic translation initiation factor 3f (eIF3f) interacts physically with the alpha 1B-adrenergic receptor and stimulates adrenoceptor activity. *BMC biochemistry*. 2015 Oct 23;16(1):25.
8. Marchione R, Leibovitch SA, Lenormand JL. The translational factor eIF3f: the ambivalent eIF3 subunit. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2013 Oct 1;70(19):3603-16.
9. Csibi A, Cornille K, Leibovitch MP, Poupon A, Tintignac LA, Sanchez AM, Leibovitch SA. The translation regulatory subunit eIF3f controls the kinase-dependent mTOR signaling required for muscle differentiation and hypertrophy in mouse. *PLoS One*. 2010 Feb 1;5(2):e8994.
10. Lagirand-Cantaloube J, Offner N, Csibi A, Leibovitch MP, Batonnet-Pichon S, Tintignac LA, Segura CT, Leibovitch SA. The initiation factor eIF3-f is a major target for Atrogin1/MAFbx function in skeletal muscle atrophy. *The EMBO journal*. 2008 Apr 23;27(8):1266-76.
11. Harvey S, Zhang Y, Landry F, Miller C, Smith JW. Insights into a plasma membrane signature. *Physiological genomics*. 2001 Jan 1;5(3):129-36.
12. Shi J, Kahle A, Hershey JW, Honchak BM, Warneke JA, Leong SP, Nelson MA. Decreased expression of eukaryotic initiation factor 3f deregulates translation and apoptosis in tumor cells. *Oncogene*. 2006 Aug 10;25(35):4923-36.
13. Doldan A, Chandramouli A, Shanas R, Bhattacharyya A, Leong SP, Nelson MA, Shi J. Loss of the eukaryotic initiation factor 3f in melanoma. *Molecular carcinogenesis*. 2008 Oct 1;47(10):806-13.
14. Cheng Y, Jia C, Li G, Li H. Expression of eukaryotic initiation factor 3f is associated with prognosis in gastric carcinomas. *Oncology research and treatment*. 2014;37(4):198-202.
15. Miyamoto S, Patel P, Hershey JW. Changes in ribosomal binding activity of eIF3 correlate with increased translation rates during activation of T lymphocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2005 Aug 5;280(31):28251-64.
16. Medina García DL, Higareda-Mendoza AE. Análisis de la expresión proteínica dependiente del ciclo celular en mamíferos. *Tercer Verano Niclolaita de Investigación* 2014, pp. 71-74.

ESTUDIO CRISTALOGRAFICO DE UN FOTODIMERO CUMARINICO

Efrén Venancio García Báez, Itzia Irene Padilla Martínez, Abigael Avendaño

Instituto Politécnico Nacional-Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología-Departamento de Ciencias Básicas-Área de Química

RESUMEN

Las cumarinas son compuestos químicos orgánicos pertenecientes a la familia de las benzopironas, las cuales han mostrado evidencias de muchas actividades biológicas que están aprobadas para algunos usos médicos como productos farmacéuticos. La actividad registrada de las cumarinas y de sus derivados es, entre otras, antitumoral, antiarrítmicos, antiinflamatorios, antisépticos, analgésicos (alivio del dolor) y contra la hipertensión, la osteoporosis y el VIH. También se usan en tratamientos contra el asma y han sido empleadas contra el linfedema. Las cumarinas puras reaccionan fotoquímicamente a través del doble enlace C-C del anillo del grupo pirano, la razón es la cercanía en el estado sólido de las estructuras de las cumarinas que interacciona de forma intermolecular, al recibir la radiación uv-vis dos cumarinas se dimerizan para formar un ciclobutano con los respectivos grupos de la cumarina restantes en sus estructura. En este estudio cristalográfico se describen las diferentes interacciones intermoleculares del fotodimero de la cumarina en cuestión en el arreglo cristalino, observándose que existen interacciones intermoleculares C=O...Br entre los fotodimeros para formar cintas supramoleculares, también se observan la presencia de las interacciones intermoleculares del grupo carbonilo con los hidrógenos del sistema aromático para dar interacciones del tipo C-H...O=C.

1. INTRODUCCION

La cumarina es un compuesto químico orgánico perteneciente a la familia de las benzopironas, cuyo nombre según la IUPAC es 2H-cromen-2-ona. En su estado normal (estándar) se caracteriza por una estructura cristalina e incolora. A este esqueleto se le pueden adicionar diferentes residuos formando la familia de las cumarinas. Las cumarinas se consideran un grupo de metabolitos secundarios de las plantas. Etimológicamente, «cumarina» deriva de la palabra francesa coumarou, utilizada para referirse al haba de Tonka. Se encuentra de forma natural en gran variedad de plantas, y en alta concentración en el Haba de Tonka (*Dipteryx odorata*), grama de olor (*Anthoxanthum odoratum*), asperula olorosa (*Galium odoratum*), gordolobo (*Verbascum spp.*), hierba de búfalo (*Hierochloe odorata*), canela de Cassia (*Cinnamomum aromaticum*), trébol de olor (*Melilotus ssp.*) y *Panicum clandestinum*.

Aunque la cumarina en sí no tiene propiedades anticoagulantes, ésta se transforma por acción de gran variedad de hongos en el anticoagulante natural dicumarol. Esto ocurre como resultado de la producción de la 4-hidroxycumarina, además (en presencia de formaldehído de origen natural) da lugar al dicumarol, un producto de fermentación y micotoxinas. Esta sustancia fue responsable de la enfermedad hemorrágica conocida históricamente como "enfermedad del trébol dulce" del ganado que se alimenta de este forraje. A raíz del estudio de esta enfermedad se han podido

sintetizar gran variedad de agentes anticoagulantes, similares al dicumarol, como por ejemplo la warfarina.

La cumarina tiene valor clínico en sí misma, como modificador de edemas. Se sabe que las benzopironas cumarínicas como la 5,6 benzopirona, benzopirona 1,2, diosmina estimulan los macrófagos para degradar el albumen extracelular, lo que permite una reabsorción más rápida de los líquidos edematosos.

2. TEORIA

La fotoquímica es el estudio de las transformaciones químicas provocadas o catalizadas por la emisión o absorción de luz visible o radiación ultravioleta. Una molécula en su estado fundamental (no excitada) puede absorber un quantum de energía lumínica, esto produce una transición electrónica y la molécula pasa a un estado de mayor energía o estado excitado. Una molécula excitada es más reactiva que una molécula en su estado fundamental.

El fenómeno fotoquímico precisa de fases principales:

1. Recepción de la energía luminosa
2. Reacción química propiamente dicha.

Según se opere con una sustancia única o con un sistema de varios cuerpos en presencia, se realizará, bien una descomposición de la sustancia en sus elementos (fotólisis), bien una combinación de varios cuerpos en uno solo (fotosíntesis).

La cristalografía de rayos X es una técnica experimental para el estudio y análisis de materiales, basada en el fenómeno de difracción de los rayos X por sólidos en estado cristalino.

Los rayos X son difractados por los electrones que rodean los átomos por ser su longitud de onda del mismo orden de magnitud que el radio atómico. El haz de rayos X emergente tras esta interacción contiene información sobre la posición y tipo de átomos encontrados en su camino. Los cristales, gracias a su estructura periódica, dispersan elásticamente los haces de rayos X en ciertas direcciones y los amplifican por interferencia constructiva, originando un patrón de difracción. Existen varios tipos de detectores especiales para observar y medir la intensidad y posición de los rayos X difractados, y su análisis posterior por medios matemáticos permite obtener una representación a escala atómica de los átomos y moléculas del material estudiado.

Max von Laue realizó los primeros experimentos de cristalografía de rayos X en 1912. Von Laue, William Henry Bragg y William Lawrence Bragg desarrollaron inicialmente la teoría de difracción de cristales, tarea a la que pronto se sumaron otros científicos. A lo largo del siglo XX tuvieron lugar varios avances teóricos y técnicos, como la aparición de los superordenadores y el uso de sincrotrones para la producción de rayos X, que incrementaron la capacidad del método para determinar las propiedades estructurales de todo tipo de moléculas: sales, materiales inorgánicos complejos, proteínas y hasta componentes celulares como los ribosomas. Es posible trabajar con monocristales o con polvo microcristalino, consiguiéndose diferentes datos en ambos casos: para las aplicaciones que requieren solo una caracterización precisa de los parámetros de la red cristalina, puede ser suficiente la difracción de rayos X por polvo; para una dilucidación precisa de las posiciones atómicas es preferible trabajar con monocristales.

Dada la relación existente entre la estructura tridimensional de las moléculas y sus propiedades químicas y físicas, la cristalografía ha contribuido al avance en varias disciplinas científicas como la química, la biología molecular, la geología, la física aplicada y la ciencia de materiales. La amplia disponibilidad de tubos de rayos X, complementada con el desarrollo de fuentes de rayos X de alta intensidad ha aumentado significativamente su impacto en estos campos de investigación así

como en áreas con aplicaciones industriales, como el desarrollo de fármacos y la mineralogía aplicada. La mayor limitación de este método es la necesidad de trabajar con sistemas cristalinos, por lo que no es aplicable a disoluciones, a sistemas biológicos in vivo, a sistemas amorfos o a gases. En algunos casos, los rayos X pueden romper los enlaces químicos que mantienen la integridad estructural, lo que resulta en un modelo distorsionado de la molécula estudiada. Este problema afecta especialmente a los materiales de interés biológico.

3. PARTE EXPERIMENTAL.

Los cristales de los compuestos de interés se analizaron en un Difractómetro de difracción de rayos X- Apex II con CCD Area Detector marca Bruker a temperatura ambiente empleando primeramente el mejor cristal y montado en fibra de vidrio con resina epoxica a la cabeza del goniómetro, estos cristales se alinearon de forma óptica empleando cámaras fotográficas. Se buscaron primeramente la celda unitaria empleando el programa APEX y luego ajustada la celda y sistema cristalino se realizó la colección de datos correspondientes para cada cristales, la Reducción de datos se realizó por medio del programa SAINT, La solución de la estructura se realizó por métodos directos empleando SHELXTL y el refinamiento de la estructura se realizó por SHELXTL. Las distancias C-H tanto de metilo, metino y aromático se fijaron de acuerdo al sistema rígido tomado como base la hibridación de los átomos de carbono. Tablas y dibujos se realizaron por medio del programa PLATON y Mercury.

4. RESULTADOS

El compuesto de interés cristaliza en un sistema monoclinico P, cuyas constantes de celda son $a=10.9127(6)\text{Å}$, $b=11.5343(7)\text{Å}$, $c=11.5543(8)\text{Å}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=103.053(2)^\circ$, $\gamma=90^\circ$, con grupo espacial ***P 2₁/n*** con una molécula definida en la unidad asimétrica y dos moléculas en la celda unitaria. Ver tabla 1.

La figura 1 muestra un diagrama ORTEP de la estructura molecular del fotodimero de interés, se puede ver con claridad la formación del anillo ciclobutano del proceso de dimerización. Todas las distancias C-C aromático, C=O, C-O, C-Br están en concordancias con estructuras similares reportadas, ver tabla 2

En un análisis de las interacciones intermoleculares de las moléculas del fotodimero en la red cristalina, se observa una interacción del Br5 con el O14 de uno de los carbonilos de los grupos acilo C5-Br...O14=C14 3.269Å, 158.3° que mantienen unidos en un listón supramolecular a lo largo del eje a. Esta interacción se aprecia en la figura 2.

Existe una interacción adicional entre el carbonilo C11=O11 y un hidrogeno del anillo aromático del tipo C6-H6...O11=C11 2.335 Å, 167.4°.

Tabla 1.

Compuesto	
formula	C ₁₅ H ₁₃ N ₁ O ₂
M (g mol⁻¹)	252.0
Crystal system	Monoclinico
Space group	P 2 ₁ /n
a (Å)	10.9127 (6)
b (Å)	11.5343 (10)
c (Å)	11.5543 (8)
α (°)	90
β (°)	115.320(2)
γ (°)	90
V (Å³)	1416.77(7)
Z	4
ρ_{calcd.} (g cm⁻³)	1.40
μ (mm⁻¹)	0.088
F (0,0,0)	252.0
Crystal size (mm)	0.20 × 0.20 × 0.10
Temp. (K)	100 (2)
θ range (°)	2.3–25.4
Reflections collected	10315
Independent reflections	2588
Data/restraints/parameters	2588/0/175
Goof	1.139
R (int)	0.030
Final R indices [I > 2σ(I)], R¹/wR²	0.067/0.156
Largest diff. peak/hole (eÅ)	1.135/-0.903

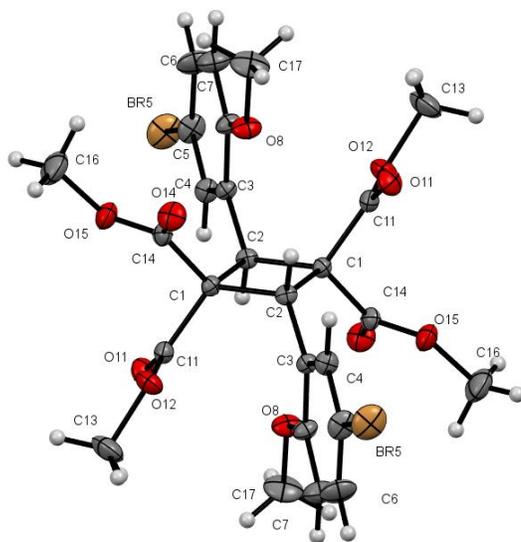


Figura 1-diagrama Ortep del fotodimero

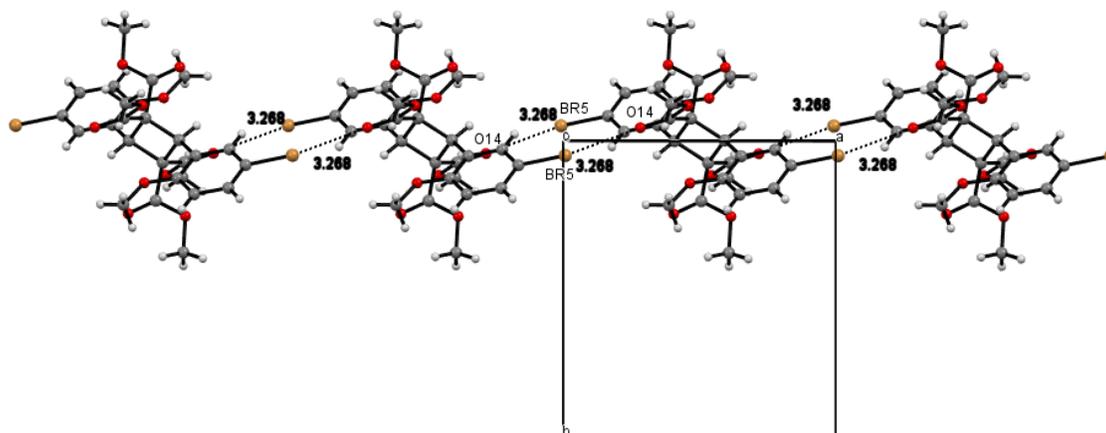


Figura 2. Formación del cintón supramolecular del fotodimero

TABLA 2: Distancias de enlace para el fotodimero	
Br(5) - C(5)	1.906(6)
O(8) - C(8)	1.347(6)
O(8) - C(17)	1.417(8)
O(11) - C(11)	1.191(6)
O(12) - C(11)	1.327(6)
O(12) - C(13)	1.463(7)
O(14) - C(14)	1.187(6)
O(15) - C(14)	1.331(6)
O(15) - C(16)	1.450(8)
C(1) - C(2)	1.568(6)
C(1) - C(11)	1.540(7)
C(1) - C(14)	1.541(7)
C(1) - C(2)a	1.559(6)
C(2) - C(3)	1.506(6)
C(3) - C(4)	1.375(6)
C(3) - C(8)	1.403(7)
C(4) - C(5)	1.366(8)
C(5) - C(6)	1.387(9)
C(6) - C(7)	1.389(8)
C(7) - C(8)	1.376(8)

Ángulos de enlace para el fotodimero			
C(8) - O(8) - C(17)	119.9(4)	O(8) - C(8) - C(3)	114.4(4)
C(11) - O(12) - C(13)	115.9(4)	O(8) - C(8) - C(7)	125.2(5)
C(14) - O(15) - C(16)	116.9(5)	C(3) - C(8) - C(7)	120.4(4)
C(2) - C(1) - C(11)	112.0(4)	O(11) - C(11) - O(12)	127.0(4)
C(2) - C(1) - C(14)	119.1(4)	O(11) - C(11) - C(1)	124.2(5)
C(2) - C(1) - C(2)a	90.7(3)	O(12) - C(11) - C(1)	108.8(4)
C(11) - C(1) - C(14)	104.5(4)	O(14) - C(14) - O(15)	125.0(5)
C(11) - C(1) - C(2)a	119.4(4)	O(14) - C(14) - C(1)	125.6(5)
C(14) - C(1) - C(2)a	111.8(4)	O(15) - C(14) - C(1)	109.4(4)
C(1) - C(2) - C(3)	123.5(4)	O(8) - C(8) - C(3)	114.4(4)
C(1) - C(2) - C(1)a	89.3(3)		
C(3) - C(2) - C(1)a	121.3(4)		
C(2) - C(3) - C(4)	120.2(4)		
C(2) - C(3) - C(8)	121.8(4)		
C(4) - C(3) - C(8)	118.0(4)		
C(3) - C(4) - C(5)	121.3(5)		
Br(5) - C(5) - C(4)	120.0(4)		
Br(5) - C(5) - C(6)	118.4(4)		
C(4) - C(5) - C(6)	121.6(5)		
C(5) - C(6) - C(7)	117.5(6)		
C(6) - C(7) - C(8)	121.3(6)		

5. CONCLUSIONES

El fotodimero analizado presenta interacciones intermoleculares entre las moléculas a través de los átomos de bromo con los oxígenos de los carbonilos, del tipo C=O...Br, que mantiene unido un listón supramolecular que se prolonga a lo largo del eje a.

Existe además una interacción adicional de los oxígenos de los carbonilos con uno de los hidrógenos del anillo aromático del tipo C-H...O=C.

Estas dos interacciones en conjunto son las causantes de mantener el enrejado cristalino del sólido.

Los autores agradecen a la SIP-IPN por apoyo económico al proyecto 20150280.

BIBLIOGRAFIA

1. Musiliyu A. Musa, John S. Cooperwood, and M. Omar F. Khan, *Curr Med Chem.* 2008; 15(26): 2664–2679.
2. S. Ayala-Hurtado, I. Y. Flores-Larios, I. I. Padilla-Martínez, F. J. Martínez-Martínez, E. V. García-Báez, A. Cruz & H. Höpfl *Supramolecular Chemistry*, 2007, 19(8), 629-640

DETERMINACION DE METALES EN VINO DE MESA

Abraham Jiménez Hernández¹, Ismael Soto López¹, Lidia Meléndez Balbuena¹, Guadalupe López Olivares¹, Alejandra Castro Lino¹

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Laboratorio de química Inorgánica Ext: 7376.

RESUMEN

El vino es conocido por sus diferentes efectos beneficios para la salud de quienes lo consumen, la composición de los vinos está influenciada por múltiples factores dependientes de influencias como el área específica de producción, tipo de uva, suelo, clima, modo de cultivo, elaboración, transporte y almacenamiento. Los iones son los mejores descriptores para diferenciar entre vinos similares o procedentes de diferentes puntos de una región o del mundo. Por esta razón podemos intuir que encontraremos presentes a ciertos metales: como hierro (Fe), zinc (Zn), magnesio (Mg), en este estudio se han cuantificado las concentraciones de dichos iones, además de las propiedades fisicoquímicas de estos, para este trabajo se emplearon vinos procedentes de dos regiones de México para así realizar una comparación con un vino de origen chileno, así para evaluar las concentraciones de los iones ya mencionados y distintos elementos pueden estar presentes en los vinos. Los niveles obtenidos se encuentran en los valores establecidos por la NOM-159-SCFI-2004 y NOM-142-SSA1-1995 vigentes en nuestro.

Palabras clave: vino, análisis, espectroscopia, muestra, metales.

Wine is known for its different effects health benefits of those who consume the composition of wine is influenced by multiple dependent factors influences such as specific production area, type of grape, soil, climate, mode of cultivation, processing, transport and storage. Ions are the best descriptors to differentiate between similar or from different parts of a region or the world wines. For this reason we can guess that find present certain metals such as iron (Fe), zinc (Zn), magnesium (Mg) in this study were quantified the concentrations of these ions, in addition to the physicochemical properties of these, for this work wines from two regions of Mexico were used to also make a comparison with a wine of Chilean origin, so to evaluate concentrations of ions aforementioned and other elements may be present in the wines. The levels obtained are in the values established by NOM-159-SCFI-2004 and NOM-142-SSA1-1995 force in our country.

KeyWords: Wine, analysis, spectroscopy, sample, metals

1. INTRODUCCIÓN

El análisis los vinos es de sumo interés para viticultores, bromatólogos, vinateros quienes deben conocer la composición de la vid y la medida en que se afectan por las alteraciones producidas por factores externos, conviene conocer bien el tipo de uva, las condiciones del viñedo, factores climatológicos, grado de madurez de la uva, y los diversos procedimientos de elaboración del vino y cuantos factores hayan podido influir sobre la composición de este. se debe conocer lo suficiente para determinar, a partir de los resultados analíticos la calidad de un vino y descubrir falsificaciones o adiciones a este de otras sustancias no permitidas por la ley, la dilución del vino; es uno de los productos más cuidadosos en su elaboración por parte de los vinateros y uno de los productos con mayor demanda.

Antecedentes

En 1879 en Alemania se creó un estatuto de control de análisis de todos los productos nutritivos contenidos en el vino, en 1892 se decretó la "ley de comercio del vino, tráfico de bebida derivadas del vino y de todo tipo de productos alcohólicos". En 1909 comenzó la primera "Ley vinícola" propiamente dicha (R.G.B.L. 1909). El cumplimiento de las mencionadas leyes condujo a la unificación de las técnicas analíticas, lo que exigió perfeccionar los métodos existentes a fin de facilitar el descubrimiento de cualquier falsificación de vino, posteriormente en 1896 en Alemania se promulga la "ley de análisis" químicos del vino, 1920 se publicó por segunda vez este mismo decreto en el boletín Oficial de la República Federal alemana, 5 de mayo de 1960, número 86 de la gaceta oficial, aparece dicho decreto-ley en su forma más reciente donde se adjuntan los progresos de la química moderna, se refiere a los procedimientos autorizados para la elaboración de vinos y ordena los análisis obligatorios de este, bebidas alcohólicas y similares las cuales contenga jugo de fruta ("Allgemeine Verwaltungsvorschrift").

2. METODOLOGÍA

Las pruebas de mosto se realizan antes de iniciar la fermentación. Antes de que este comience a fermentar, conviene agregar a cada una de las muestras de 0.5 -1 mL de formalina (solución de formaldehído al 40 %) a fin de evitar el comienzo de la fermentación (no debe agregarse meta bisulfito potásico). Si el mosto se halla en plena fermentación; se analiza el vino nuevo después de eliminar el anhídrido carbónico mediante agitación intensa. Es importante que cada muestra vaya conveniente etiquetada, indicando el origen (marca), tipo de la uva, botella y cantidad de

3. MATERIALES Y MÉTODOS

VARIABLES EVALUADAS

La materia prima utilizada fue vino tipo Cabernet Sauvignon, de la marca Domec perteneciente al municipio de San Luis de la Paz, Guanajuato. Segundo perteneciente a la marca la Cetto procedente de procedencia chilena, y el tercero perteneciente a la marca concha y toro los cuales fueron evaluados por las siguientes variables

pH

La medición se realiza con un potenciómetro (pH-metro) calibrado a pH=7 y pH=4. Se toma una alícuota de 20 mL de vino en un vaso de precipitados y se realiza la medición por triplicado. La media de los valores obtenidos será el valor final de pH.

Determinación de la densidad del mosto

La densidad del mosto indica la calidad del jugo de uva, normalmente se emplea para su determinación en una pesa mostos de vidrio (Öchsle) también se puede emplear un refractómetro para dicha medición, también empleando un picnómetro este nos permite determinar la densidad del vino es decir su peso específico para utilizarlo debemos pesarlo limpio, vacío, seco, se llena con agua destilada una vez lleno debe cerrarse y colocarse a baño maría, a 20 °C para que la temperatura del picnómetro y el agua se equilibren pasados 20 minutos se retira del baño maría y se seca. El nivel del agua destilada formará un menisco en el cuello del picnómetro, posteriormente lleno de agua debe pesarse tres veces; el valor promediando de los tres resultados será nuestro resultado final.

Medición de la densidad del vino: Se pesa el picnómetro vacío y se anota el peso y posteriormente se le coloca el vino hasta llenar evitando que se derrame, se vuelve a pesar el picnómetro lleno tres veces; y se calcula la densidad mediante la siguiente fórmula.

(Fórmula 1) La densidad, “d”, se calcula por la fórmula:

$$d=(c-a)/(b-a)$$

Donde a= el peso del picnómetro vacío

b= el peso del picnómetro lleno de agua hasta el enrase

c=el peso del picnómetro lleno de vino hasta el enrase.

Después de haber sido utilizado durante cierto tiempo debe volver a determinarse el peso del picnómetro, vacío y lleno de agua.

Determinación del % alcohol

Se debe calibrar el refractómetro con agua destilada después con alcohol debido a la solución que en este caso el vino contiene una N cantidad de alcohol, se realizan disoluciones de etanol-agua para realizar la curva de calibración correspondiente al alcohol y se miden los grados Brix y los índices de refracción. Después de realizar la curva de calibración se mide el índice de refracción y los grados Brix de cada una de las muestras los valores obtenidos se interpolan en la curva de calibración obtenida para saber el N% de alcohol contenido en cada muestra. Esta medición se realiza por triplicado. También se toma la temperatura.

Determinación de la acidez titulable

La determinación de la acidez se lleva a cabo tomando cierta cantidad del vino y añadiendo una solución de hidróxido potásico o hidróxido de sodio suficiente para neutralizar la acidez propia del vino la cantidad volumétrica empleada nos permite calcular la acidez titulable todos los vinos contiene diversas clases de ácidos con distintos pesos moleculares, por lo que se ha convenido en expresar la acidez total de los vinos de uva u de fruta en términos de ácido tartárico, la acidez total expresa en términos del ácido tartárico. La determinación de cada uno de los diversos ácidos contenidos en los vinos, es un proceso sumamente complejo y lento, carente de interés en las bodegas vivificadoras.

La determinación de la acidez total de un vino se realiza tomando 25 mL de vino el cual se calienta a 50 °C con agitación constante a continuación se va adiciona NaOH 0.33 N , hasta que vire es decir cambie su color (punto de neutralización se manifiesta al oscurecer del vino y por el olor, debemos eliminar el anhídrido carbónico calentándolo y con agitación constante). La cantidad consumida de NaOH expresada en mL es directamente proporcional con la cantidad de acidez del vino (g/L). También en otros casos se puede determinar las cantidades de ácido málico, láctico, cítrico, acético y tartárico contenido.

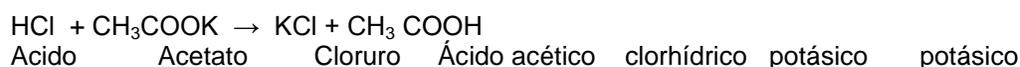
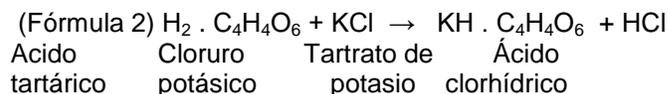
Determinación de los azúcares

La determinación de azúcares se realiza por medio de un refractómetro de la misma manera que como se determina el % de alcohol y solo se calibra el refractómetro con agua. La curva de calibración se realiza con disoluciones de agua-sacarosa midiendo los grados Brix y el índice de refracción. Después de realizar la curva de calibración se mide el índice de refracción y los grados Brix de cada una de las muestras de vino los valores obtenidos se interpolan en la curva de calibración obtenida para saber los azúcares contenidos en cada muestra. La determinación se realiza por triplicado. NOTA: En cada determinación se debe anotar la temperatura.

Determinación de ácido tartárico

El ácido tartárico representa la acidez madura de un vino joven y, teniendo en cuenta que no sufre la descomposición de los ácidos que tienen lugar en el vino, conviene determinar la cantidad de ácido tartárico contenida en un vino joven, cuya acidez total está constituida fundamentalmente por ácido málico y en menor cantidad por ácido tartárico. La determinación del ácido tartárico permite deducir la cantidad exacta del mismo contenida en el vino y constituye un criterio para apreciar la calidad del vino.

La determinación cuantitativa del ácido tartárico se lleva a cabo agregando al vino cloruro potásico, ácido acético, acetato potásico: de esta manera se transforma el ácido tartárico en tartrato de potasio:



El tartrato de potasio formado durante este proceso precipita al agregar alcohol; seguidamente debe procederse a su filtración y titulación.

Se emplean 100 ml de vino en un vaso de precipitados que contiene ya 2 ml de ácido acético glacial, se agrega 1 ml de acetato potásico al 20% y 15 g de cloruro potásico. Se agita y se agregan 21 ml de alcohol (96%), se aprecia la cristalización del tartrato potásico. A partir del momento en que se inicia, posteriormente se debe refrigerar durante 15 horas posteriormente se filtra para separar y eliminar los cristales de tartrato potásico. El precipitado se lava con una solución de 15 g de cloruro potásico disuelto con 100 ml de agua con 20 ml de alcohol de 96% (vol.) se vierte sobre papel filtro, esta operación se repite dos veces, a continuación, se lavan el precipitado y el filtro con la solución de lavado en cantidades mínimas, de modo que el total del líquido utilizado para el lavado del vaso, los cristales y el filtro no exceda de 20 ml. El precipitado recogido en el filtro se disuelve con agua desionizada y se calienta hasta el punto de ebullición se recoge el líquido en el vaso. La disolución obtenida de esta se titula con NaOH 0.25 N, usando como indicador azul de bromotimol.

Cálculos: Si se ha empleado para la titulación sosa 0.25 N; en 1 litro de vino deberá haber la siguiente cantidad de ácido tartárico:

$$X = 0.375 * (a + 0.6) \text{ g de ácido tartárico}$$

Esta fórmula introduce un factor de corrección para compensar la cantidad de tartrato que permaneció disuelto en el filtrado inicial y durante los lavados. Este factor está representado por los 0.6 ml de sosa 0.25 N que se añaden al título, determinado experimentalmente.

Determinación de metales por absorción atómica

Las determinaciones analíticas de los iones se realizaron mediante espectroscopia de absorción atómica de llama, con un espectrómetro VARIAN Spectra AA. Las determinaciones se han realizado por triplicado, reactivos son disoluciones de los estándares de 0.5, 1, 1.5, 2 ppm de Fe, Zn, Mg, a partir de las soluciones patrón de 1000 ppm. Se calibra con cada uno de los estándares y se revisa la lectura de la absorbancia de cada uno de estos para realizar las curvas de calibración.

Terminada la curva de calibración se realiza la medición de las muestras de vino.

Se calcula la concentración de cada una interpolando en la curva de calibración para poder determinar la concentración de iones presentes.

Análisis estadístico

Cada muestra se considera como un vector con los valores de Fe, Zn, Mg. A fin de evitar la influencia de las magnitudes de las medidas se realizó un pretratamiento de los datos (auto-escalado) al valor medio de cero y varianza de la unidad. Las técnicas de reconocimiento de pautas aplicadas han sido: análisis de componentes principales, análisis discriminante lineal. Todo el estudio estadístico se ha llevado a cabo con el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus 4.0 (Tabla 1)

Elemento	Técnica	Llama	Lámpara	λ (nm)	Slit (nm)	Dilución	Intervalo de trabajo (ppm)
Fe	EEA	Aire/Acetileno	5	248.3	0.2	20/25	0.5-2.0
Zn	EEA	Aire/Acetileno	5	213.9	1.0	20/25	0.5-2.0
Mg	EEA	Aire/Acetileno	4	285.2	0.5	1/25	0.5-2.0

Tabla 1: Calibración de AA

Presencia de metales

Se realizaron tres pruebas para saber si estaban presentes los iones a evaluar en las muestras de vino:

- 1.- Titulación complejo métrica la cual nos dio como resultado (+) a la presencia de iones en las muestras.
- 2.- UV-Vis para identificar picos de absorción representativos para cada ion (figura 1) que estuviere presente en las muestras. Se hizo un segundo barrido ahora con soluciones de cloruro férrico (FeCl) para comprobar si el metal que se tenía presente era hierro (Figura 2)
- 3.- Espectro de infrarrojo para concluir que los picos que nos muestra el figura 3 en aproximadamente 550 cm^{-1} correspondían a hierro se comprobó esto con infrarrojo realizado a la solución de FeCl.

Como se muestra en los espectros existe la presencia de iones de Fe correspondiente a determinar, es decir, se pudo comprobar que el hierro esta presente en el vino en mayor cantidad, con estas pruebas solo se determinan si estan o no presentes los metales de forma cualitativa no cuantitativa.

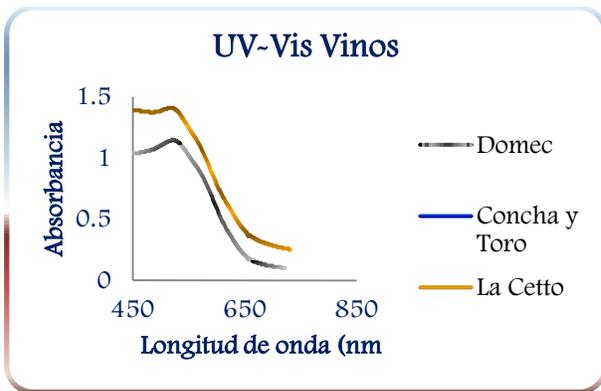


Figura 1: Espectro UV-Vis de cada uno de los vinos

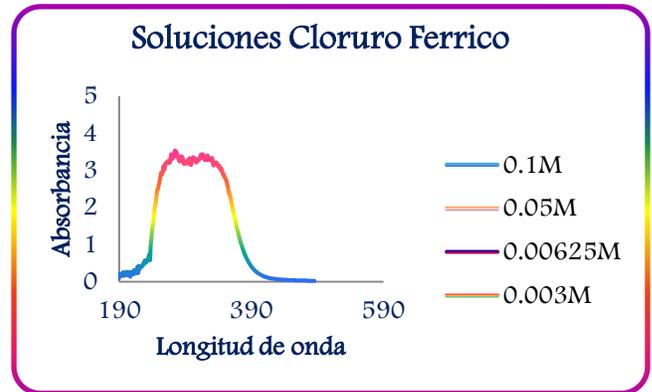


Figura 2 Espectro UV-Vis de FeCl

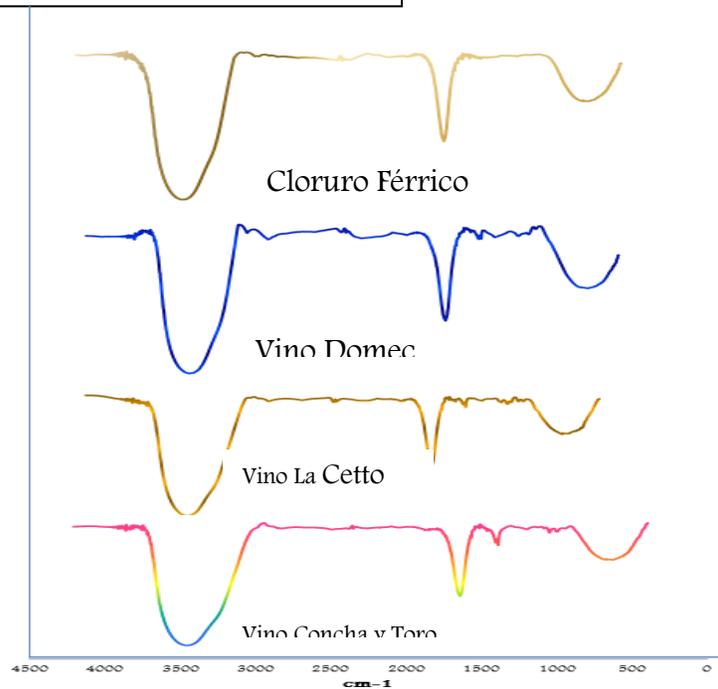


Figura 3 Espectro UV-Vis de FeCl

Los iones evaluados fueron Fe, Zn, y Mg se determinaron por absorción atómica de flama los resultados obtenidos se presentan en las siguientes figuras para cada uno de los iones se realizó una curva de calibraciones correspondientes. Los resultados para Fe 0.1 ppm (figura4), Zn (20-27) (Figura 5), Mg (0.1)(Figura 6) /, como extra en nuestras determinaciones no encontramos la presencia de Pb. Las concentración de Zn no varía con respecto a las reportadas en la bibliografía de 1.5 ppm. En cuanto a Fe y Mg las normas oficiales no reportan valores máximos permisibles.

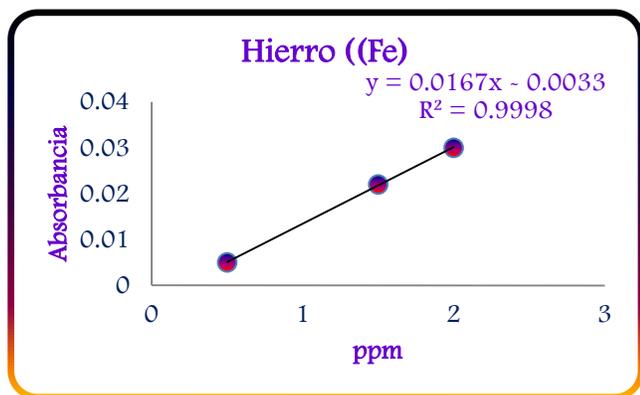


Figura 4 Curva de calibración de Fe en ppm

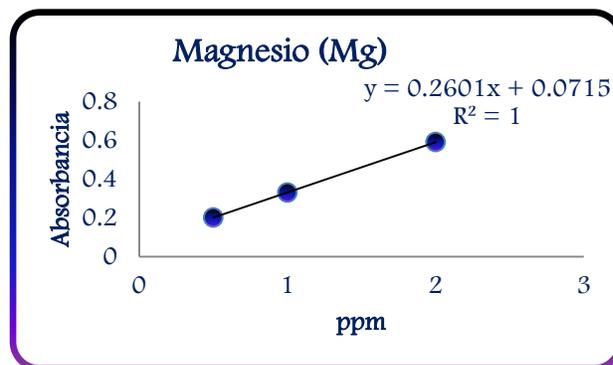


Figura 5 Curva de calibración de Mg en ppm

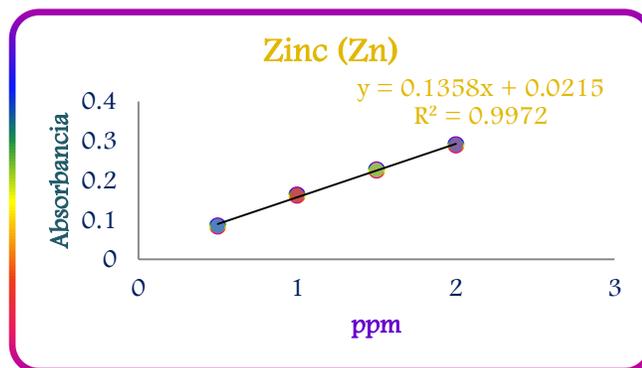


Figura 6 Curva de calibración de Zn en ppm

4. CONCLUSIONES

El pH se encuentra entre 2.9 y 4.2, que se considera normal, empleando la NOM 142-SSAA1/SCFI-2014. Aplicable a bebidas alcohólicas, especificaciones y métodos de prueba para la determinación y presencia de ácidos como, tartárico, málico, láctico, cítrico, acético, donde se comprueba que los valores son normales y además la composición también confirma la presencia de iones metálicos que son Fe, Zn y Mg. en concentraciones aceptadas para bebidas alcohólicas, por lo tanto Los niveles obtenidos para otros iones son bajos(no son permisibles en el límite de detección de la técnica empleada) bajos, no superando en ningún caso los límites máximos permitidos por la legislación vigente aplicable en nuestro país (NOM-142-SSA1-1995 y NOM-159-SCFI-2004) para cada uno de dichos agentes

BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández Moreno D., Soler F,(2012) Metales pesados y metaloides en vinos rosados de la d.o. "ribera del guadiana". M. Centro de Unidad de Toxicología. Fac. de Veterinaria (UEX).
2. Font I. Playán P. Gudiño A.(2011) industria vinícola mexicana y las políticas agroindustriales: panorama general Profesores Investigadores UAM-A, México.
3. García RG., Hernández M D (2010) Evaluación química del vino de semeruco (*Malpighia spp.*) producido en el estado Falcón, Venezuela. Versión digital consultada en 01/15/2016
4. J.P. Pérez Trujillo, J.E. Conde; S. Frías (2014) Contenido en metales mayoritarios y oligoelementos de los vinos dulces de lanzarote y la palma, Argentina pp 128-240.
5. NOM-142-SSA1/SCFI-2014, Bebidas alcohólicas. Especificaciones y métodos de prueba.
6. NORMA Oficial Mexicana NOM-159-SCFI-2004, Bebidas alcohólicas. Especificaciones y métodos de prueba.
7. NORMA Oficial Mexicana NOM-142-SSA1-1995, Bienes y servicios. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.
8. Trujillo Pérez J.P; Conde J.E; Frías S. (2013) Contenido en metales mayoritarios y oligoelementos de los vinos dulces de Lanzarote y la palma. México
9. Vogt E. (2012) Fabricación de vinos. Editorial Acriba. Zaragoza España, p.p 156-220
10. Vogt E et Al, (2014) El vino: obtención, elaboración y análisis, Acriba, España, p.p294Rev (2015) Volumen 8

MICROORGANISMOS CULTIVABLES AISLADOS DEL AIRE, EN LA CIUDAD DE PUEBLA Y MODELADO MATEMÁTICO DEL TRANSPORTE AEROBIOLÓGICO

Yaritza Estanislao-Sierra¹, Ramón Gudiño-Fernández¹, María de la Cruz Meneses-Sánchez¹, Patricia Suárez-Albores¹, Claudy Villagran-Padilla¹, Marta Lobo Sánchez¹

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

La contaminación del aire que respiramos tanto en áreas urbanas como rurales tiene diferentes clases de partículas y microorganismos que son causa de enfermedades respiratorias, alérgicas y gastrointestinales, generando un problema de salud pública a nivel mundial. Como indicadores de contaminación atmosférica, se utilizan contaminantes criterios como el Material Particulado (PM), pero los verdaderos responsables de las infecciones son los microorganismos asociados a él (bioaerosoles). El comportamiento aerodinámico que presentan estas partículas está condicionado a sus propiedades físicas (forma, tamaño y densidad) y condiciones medioambientales (corrientes de aire, humedad y temperatura). En este trabajo se aislaron microorganismos cultivables presentes en el aire, en zonas de alta concentración vehicular y densidad poblacional ubicadas en diferentes zonas de la Ciudad de Puebla, por el método de sedimentación en placa, obteniendo como resultado una colección de 1020 cepas bacterianas (conservadas para posteriores estudios), además de la identificación de 18 géneros de hongos. Se seleccionó un modelo matemático que permitiera determinar el desplazamiento aerobiológico probable de los microorganismos, que en las zonas urbanas se encuentra asociado a diversas fuentes antropogénicas como el flujo vehicular, contaminación del suelo, etc., que aunado a la velocidad y dirección del viento facilita la introducción de partículas a la atmósfera a diferentes alturas. Los resultados obtenidos han permitido obtener una estimación del grado de contaminación del aire en la ciudad de Puebla, siendo información clave para conocer tanto los factores de riesgo ambiental, los riesgos de exposición de la población y los efectos en la salud humana. Esta información podría servir de apoyo en el diseño de políticas preventivas y correctivas para estos factores.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental en la Ciudad de Puebla, es un problema que se ha incrementado en los últimos años, debido principalmente al incremento poblacional, el flujo vehicular y al correspondiente aumento de su radio urbano. El desarrollo de la actividad productiva e industrial ha impactado fuertemente en los cambios físicos y biológicos del medio ambiente urbano; en consecuencia, la contaminación atmosférica en la Ciudad de Puebla se presenta como uno de los problemas ambientales más relevantes por sus efectos negativos en la calidad de vida de las personas, afectando la salud y el bienestar general de la población expuesta. Las investigaciones relacionadas con la calidad de aire y su impacto en la salud de la población y el cambio climático han sido orientadas principalmente a la caracterización de partículas abióticas, dando lugar a establecer políticas de prevención y control a través de acciones que garanticen el cumplimiento de las Normas Oficiales Mexicanas, de manera coordinada entre gobierno y sociedad, de esta forma, el Gobierno del Estado de Puebla, a través de la Secretaría de Sustentabilidad Ambiental y Ordenamiento Territorial, en coordinación con la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales del Gobierno Federal SEMARNAT, elaboraron el Programa de Gestión de la Calidad del

Aire para el periodo 2012 – 2020 (proAire), el cual establece las líneas de acción que garantizan el mejoramiento de la calidad del aire que respiramos. Sin embargo, el aire además de partículas abióticas, contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos que se han adaptado a estas condiciones ambientales, lo que ha favorecido su dispersión y supervivencia en la atmósfera, por lo que la proliferación de enfermedades causada por este tipo de microorganismos patógenos oportunistas dispersos por el aire y el fenómeno de multirresistencia a diferentes antibióticos, antisépticos y desinfectantes constituye una amenaza sanitaria para los seres vivos.

2. TEORÍA

Las evidencias del impacto del cambio climático sobre la salud son cada día más consistentes (Banco Mundial, 2010; Patz *et al.*, 2000), las temperaturas extremas (calor y frío) están asociadas con aumentos de morbi-mortalidad general, en la mayoría de los casos por enfermedades cardiovasculares y respiratorias (Martínez *et al.*, 2004). Un estudio realizado en la ciudad de Marsella reveló que el número de bacterias se incrementaba con la temperatura y la velocidad del viento; la identificación de las bacterias mostró que la localización geográfica tenía influencia cualitativa y cuantitativa sobre la biota del aire, observándose un incremento global de los microorganismos, sobre todo en el área urbana (Di Giorgio *et al.*, 1996). La contaminación del aire en áreas urbanas y metrópolis, es causa de enfermedades respiratorias en la población más vulnerable. Es común que se usen como indicadores de contaminación, contaminantes criterio como: material particulado (PM10, PM2.5), pero los verdaderos responsables de las enfermedades e infecciones son los microorganismos asociados a él, que son conocidos con el nombre de bioaerosoles (Cox y Whithes, 1995). La contaminación del aire ha sido también un campo de estudio, por su relación con el aumento de pacientes ambulatorios debido a enfermedades respiratorias y a la mortalidad diaria (CEPIS/OPS, 2011). Históricamente los residuos generados por las actividades humanas se han descargado al ambiente con la idea errónea de que tarde o temprano se degradarán o desaparecerán. El resultado es que actualmente las huellas de la actividad humana son evidentes en prácticamente cualquier lugar, incluso en aquellos que se encuentran alejados de los sitios donde se generan esos residuos. Un buen ejemplo de problemas ambientales que tienen implicaciones tanto locales como globales son los atmosféricos, de los cuales, los más importantes, por sus efectos sobre la salud de la población y los ecosistemas naturales, son la disminución de la calidad del aire, el fenómeno de cambio climático global y la reducción del espesor de la capa de ozono estratosférico. La gestión de la calidad del aire requiere información de diversos tipos, destacando la que se refiere a la identificación de los principales generadores de emisiones, del volumen y composición de éstas, así como de la concentración de los contaminantes en la atmósfera (SEMARNAT (b), 2012). La supervivencia, reproducción y dispersión de los microorganismos en el aire, dependen en gran medida de la temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, luz, fuentes de alimento, etc. Actualmente la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) menciona que no es posible establecer criterios numéricos para la valoración de contaminantes debido a que los datos epidemiológicos que existen son insuficientes para describir las relaciones exposición-respuesta (ACGIH, 2005); por lo que la información recopilada en este trabajo sobre la calidad microbiológica ambiental, las características del entorno y las posibles alteraciones a la salud, puede contribuir para establecer guías que faciliten la evaluación de la exposición a dichos contaminantes. El presente estudio se realizó en el periodo 2012-2013 en la zona urbana de la Ciudad de Puebla, obteniendo datos experimentales acerca de la carga microbiológica del aire en diferentes puntos de la ciudad, a partir de estos resultados y por medio de un modelo matemático se ha podido establecer la probable carga de contaminantes biológicos que se está generando en los sitios muestreados para las temporadas 2014-2016, considerando para ello la actividad antrópogénica y las condiciones climatológicas en las diferentes etapas de cada año.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Se divide en tres etapas:

TOMA DE MUESTRA. Inicialmente se realizan dos tomas de muestra del aire (mañana y tarde) en diferentes zonas del área urbana de la Ciudad de Puebla, por el método de Sedimentación en placa, utilizando medios selectivos para hongos y bacterias, con un tiempo de exposición de 15 a 20 min a una altura promedio de 1.75 m. En el momento de la toma de muestra se consideran diferentes factores que podrían incrementar o disminuir la presencia de carga microbiana en el ambiente como temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, precipitación pluvial y observaciones del entorno como flujo vehicular, densidad poblacional y actividades antropogénicas.

IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA. Después de incubar las muestras de 18-24 h, se observan las características macroscópicas y microscópicas de los microorganismos cultivables (hongos y bacterias), se realiza el conteo de colonias por placa y se procede al aislamiento e identificación fenotípica de las cepas cultivables y se conservan en ultracongelación.

MODELADO MATEMÁTICO. Para determinar la concentración de microorganismos aislados en Unidades Formadoras de Colonias por metro cúbico (UFC/m³) se utilizó la ecuación de Omeliansky (Omeliansky, 1940)

$$N = 5a \times 10^4 (bt)^{-1}$$

Donde:

N = Unidades Formadoras de Colonias por metro cúbico (CFU/m³).

a = Número de colonias contadas por caja Petri

b = Área de la placa en cm²

t = Tiempo de exposición en min

Para determinar el flujo de emisión de los microorganismos (Q), a dos metros de distancia en los ejes x, y, z, considerando una fuente puntual continua de emisión a una altura He de 1.75 m (área respirable) se utilizó la siguiente ecuación (Gallego *et al.*, 2012):

$$N_{(x,y,z)} = Q2\pi u \sigma_y \sigma_z \left[\exp\left[-\frac{y^2}{2\sigma_y^2}\right] \right] \left[\exp\left[-\frac{(z-He)^2}{2\sigma_z^2}\right] + \exp\left[-\frac{(z+He)^2}{2\sigma_z^2}\right] \right]$$

Donde:

N = Concentración del contaminante en un punto dado (UFC/m³)

x, y, z = Coordenadas en metros, siendo x la dirección del viento. El origen de las coordenadas.

Q = Flujo de emisión (UFC/s)

σ_x , σ_y , σ_z = Desviaciones típicas de la distribución de microorganismos según los tres ejes (longitudinal (y), transversal (z) y vertical (x)) (m)

u = Velocidad del viento (m/s)

4. RESULTADOS

Temporada 2012-2013, se determinaron algunos géneros de hongos y bacterias cultivables (Tabla 1), además de obtener datos experimentales de la concentración promedio de hongos y bacterias en UFC/m³ (N) en cada zona muestreada, lo que permitió calcular el flujo promedio de emisión de los microorganismos (Q), en cada punto de la zona urbana de la Ciudad de Puebla (Figura 1).

Tabla 1. Géneros de bacterias y hongos cultivables aislados de muestras de aire en la Ciudad de Puebla, periodo 2012-2013.			
BACTERIAS		HONGOS	
<i>Actinosynnema</i> *	<i>Nocardiosis</i> *	<i>Alternaria sp</i>	<i>Geotrichum sp</i>
<i>Bacillus sp</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Gliocladium sp</i>
<i>Corynebacterium sp</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Monilia sp</i>
<i>Enterococcus sp</i>	<i>Saccharopolyspora</i> *	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Mucor sp</i>
<i>Lactobacillus sp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Phialophora verrucosa</i>
<i>Micrococcus sp</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Aureobasidium sp</i>	<i>Rhizopus sp</i>
<i>Micromonospora</i> *	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Cephalosporium sp</i>	<i>Rhodotorula sp</i>
<i>Mycobacterium sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Cladosporium sp</i>	<i>Trichoderma sp</i>
<i>Nocardia</i> *	<i>Streptomyces</i> *	<i>Fonsecae pedrosi</i>	<i>Trichosporon sp</i>
<i>Nocardioide</i> *	<i>*Actinomycetes</i>	<i>Fusarium sp</i>	<i>Ulocladium sp</i>

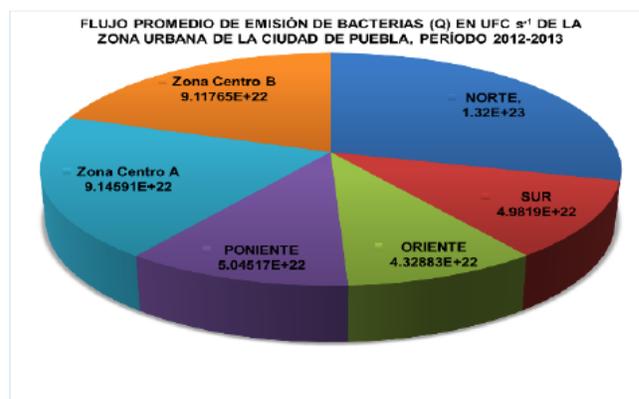
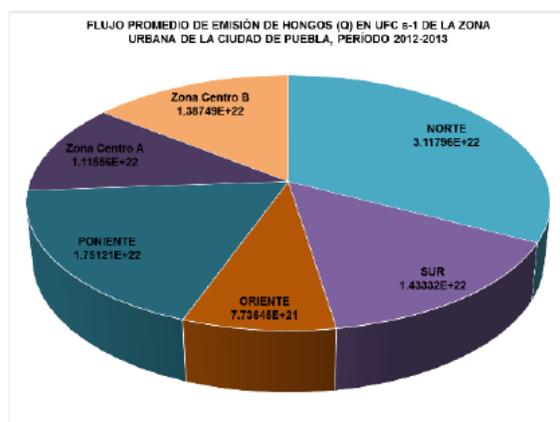
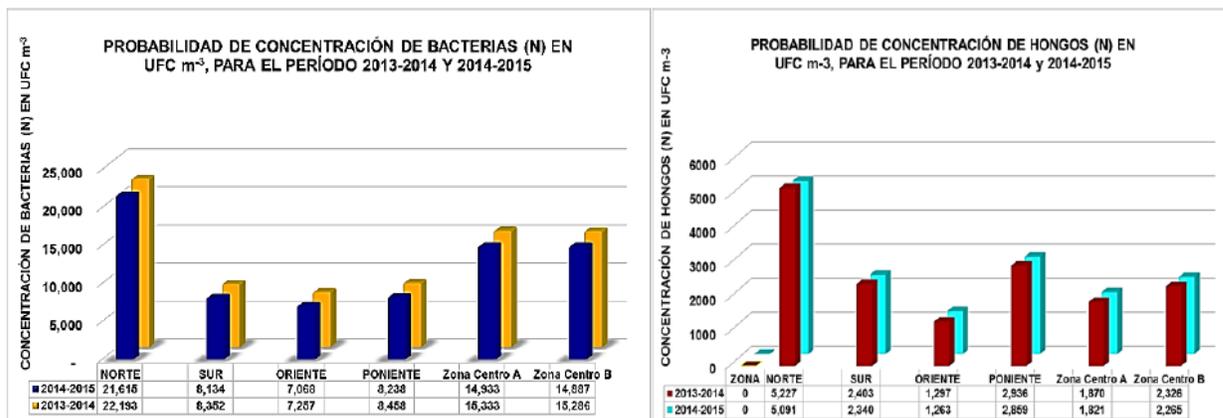


Figura 1. Flujo Promedio de dispersión en Unidades Formadoras de Colonias por segundo (UFC/s) (Q), de Hongos y Bacterias en las diferentes zonas muestreadas en la Ciudad de Puebla.

Para las temporadas 2013-2014 y 2014-2015, se calculó la probable concentración de hongos y bacterias en UFC/m³ (N) en cada zona del área urbana en la Ciudad de Puebla, a partir del valor del flujo de emisión de los microorganismos (Q) obtenido en 2012-2013 y las variaciones climatológicas para estos años, reportadas por la estación meteorológica: 766850 (MMPB), 2016.



Se realizaron diferentes tomas de muestra de dic/2012 a junio/2016 obteniendo como resultado algunos géneros de hongos y bacterias cultivables (Tabla 2), además de obtener datos experimentales de la concentración promedio de hongos y bacterias en UFC/m³ (N) en cada zona muestreada, lo que permitió estimar el un nuevo valor de la probabilidad del flujo de emisión de los microorganismos (Q) en función de las características climatológicas y ambientales en cada punto de la zona urbana de la Ciudad de Puebla (Figura 2)

Tabla 2. Géneros de bacterias y hongos cultivables aislados de muestras de aire en la Ciudad de Puebla, periodo dic/2015-junio/2016.		
BACTERIAS		HONGOS
<i>Actinomicetos</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Alternaria sp</i>
<i>Bacillus sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>
<i>Corynebacterium sp</i>		<i>Cephalosporium sp</i>
<i>Enterococcus sp</i>		<i>Mucor sp</i>
<i>Micrococcus sp</i>		<i>Paecilomyces sp</i>
<i>Mycobacterium sp</i>		<i>Rhizopus sp</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Sopulariopsis sp</i>
<i>Pseudomonas sp</i>		<i>Syncephalastrum sp</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		

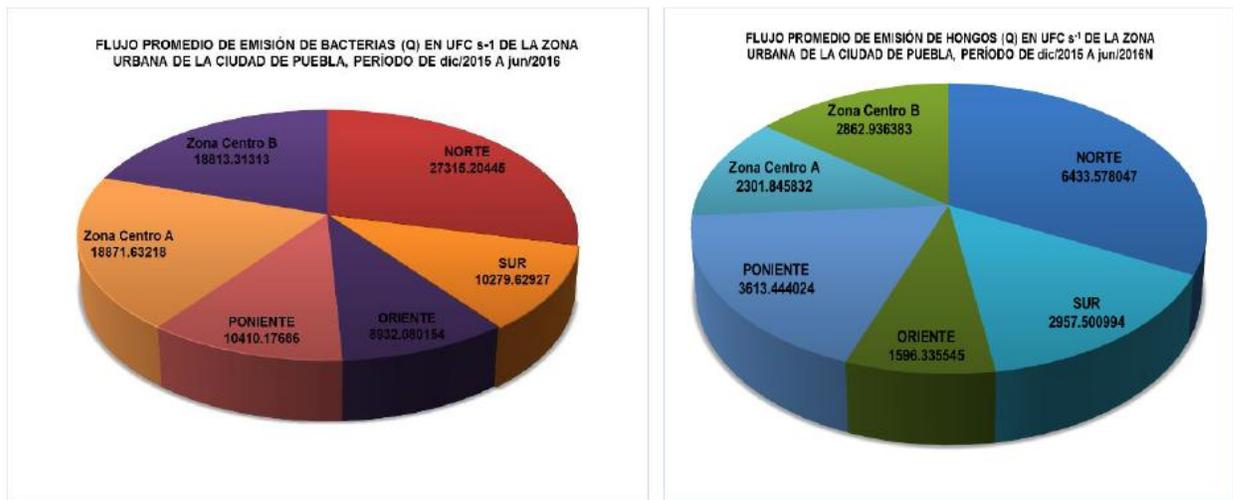


Figura 2. Flujo Promedio de dispersión en Unidades Formadoras de Colonias por segundo (UFC/s) (Q), de Hongos y Bacterias en las diferentes zonas muestreadas en la Ciudad de Puebla.

5. CONCLUSIONES

La supervivencia, reproducción y dispersión de los microorganismos en el aire, dependen en gran medida de la temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, luz, fuentes de alimento, etc. La información recopilada en este trabajo sobre la calidad microbiológica ambiental en diferentes temporadas del año, las características del entorno, las posibles alteraciones a la salud y la facilidad de monitoreo de la carga microbiológica en los diferentes puntos de mayor flujo vehicular y densidad poblacional en la Ciudad de Puebla, pueden contribuir para establecer guías que faciliten la evaluación de la exposición a dichos contaminantes y establecer medidas de prevención que mejoren la calidad de vida de la población. Los datos del muestreo realizado en el periodo 2012-2013 en la Ciudad de Puebla, han permitido predecir por medio de un modelo matemático la probable carga de contaminantes microbiológicos que se está generando en los sitios muestreados, evitando el gasto que implicaría la toma directa de las muestras del aire en cada sitio, el desplazamiento de personal especializado, material de laboratorio, etc. Sin embargo valdría la pena un monitoreo experimental cada cierto período de tiempo que permitiera conocer el tipo de microorganismos presentes y tener una base de datos para saber de manera oportuna y continua la carga microbiológica ambiental y el flujo de dispersión de los microorganismos en función de los diferentes parámetros ya mencionados, lo cual servirían de apoyo para valorar los tiempos de trabajo en la remodelación de la zona urbana, la distribución del tráfico vehicular, la mejor ubicación de los sitios de distribución de alimentos, etc.; que en vinculación con especialistas en cada área, se podrían disminuir en la medida de lo posible los riesgos para la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente y Agencia Especializada de la Organización Panamericana de la Salud (CEPIS/OPS). Guías para la calidad del aire. (OPS/OMS), 2011. pp 40.

2. Estación meteorológica: 766850 (MMPB), Latitud: 19.05 | Longitud: -98.2 | Altitud: 2179, (http://www.tutiempo.net/clima/Puebla_Pue/766850.htm), 2016, (consultado 9 de junio de 2016).
3. G. Evans, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
4. Agencia de protección al Ambiente y Desarrollo Sustentable. Estaciones de monitoreo en el Municipio de Puebla. Obtenido de Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, 2009.
5. AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS. "Threshold limit values and biological exposure indices Cincinnati", (TLVs). ACGIP. USA. 2005.
6. Banco Mundial. "Informe sobre el desarrollo mundial 2010". Desarrollo y Cambio Climático. Washington. Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento / Banco Mundial, 2010.
7. Holt, G. J., Sneath A., H. P., Staley, T. J., Brenner, J. D., Castenholz, W. R., Schleifer, K., Williams, T. S. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins.
8. P. A. Gallego, F. I González, G. B. Sánchez, H. P. Fernández, M. R. Garcinuño, Y. J. Bravo, A. J. Durand. "Contaminación atmosférica". 2012, Madrid: UNED.
9. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales del Gobierno Federal (SEMARNAT). *Atmósfera. Informe de la situación del medio ambiente en México. Compendio de estadísticas Ambientales. Indicadores clave y de desempeño ambiental*. En SINIARN (ed). México, 2012. pp. 191-253.
10. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
11. W. L. Omielansky. *Manual in Microbiology*. Moscow, Leningrad, Rusia, 1940, Academic of sciences.

OPACIDAD DE LAS INSTITUCIONES TRAS EL DERRAME DE TÓXICOS POR EL GRUPO MÉXICO

Ximena Barrientos Domínguez,^a María Patricia Domínguez Echeverría^b y Ulises Uriel Guzmán Dorantes.^c

^a Universidad Nacional Autónoma de México. *Campus C.U.*, Posgrado de la Facultad de Arquitectura. ^b Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada de Hueso # 1100 Col. Villa Quietud, C.P. 04960, México, D.F. ^c Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ingeniería, (PAE). *Campus C.U.*,

RESUMEN

Introducción: casi año y medio después del manejo que han dado los gobiernos estatales y federal a las empresas mineras Buenavista del Cobre, filial del Grupo México y Proyecto Magistral, que han afectado a las comunidades de Sonora y Durango, el *Movimiento el Campo es de Todos* (MCT) demandó al presidente Peña iniciar una investigación a fondo sobre los derrames de tóxicos producidos por estas mineras. El *MCT*, se integra por agrupaciones ambientalistas, campesinas, de derechos humanos y sociales.

Teoría: el Grupo México (GM) aportó mil millones de pesos para formar el Fideicomiso Río Sonora para compensar los daños generados por el derrame, y en caso de ser necesario, aportaría otros mil millones. Muchas promesas de las autoridades y el GM tras el derrame, se han incumplido: 1. Pago de compensaciones a todos los ganaderos y agricultores afectados. 2. Construcción de plantas tratadoras de agua en los municipios afectados. 3. Construcción de la Clínica de Especialidades para atender las secuelas de salud de todos los afectados en siete municipios: Arizpe, Ures, Baviácora, San Felipe, Aconchi, Bacanuchi y Huépac.

Metodología: para constatar la falta de un programa integral de remediación del río Sonora y, basados en la NOM 127-SSA-1994 relativa a salud ambiental y condiciones de agua para uso y consumo humano, nuestro equipo de investigación realizó mediciones colorimétricas de aluminio y cobre (este último usando el método de neocuproína, NOM-AA-66-1981) en el agua de 8 pozos a menos de 500 metros de los ríos contaminados.

Conclusiones: 1). El Programa de Remediación Ambiental aún no ha sido aprobado por Semarnat. 2). Falta transparencia en la información sobre la calidad del agua. 3). Se ha dado prioridad a la zona que circunda la minera, donde no hay población. 4) Los resultados de cobre y aluminio siguen superando los valores oficiales permitidos.

1. INTRODUCCIÓN

Casi un año y medio después del manejo que han dado los gobiernos estatales y federal, a las empresas mineras Buenavista del Cobre, filial del Grupo México que encabeza Germán Larrea en Cananea, y Proyecto Magistral, que han afectado a las comunidades de Sonora y Durango, es escandalosa la opacidad de las instituciones tras el derrame de 40 mil metros cúbicos de cobre acidulado y siete metales pesados de la mina Buenavista del Cobre (subsidiaria del Grupo México) a los ríos Sonora (190 Km) y Bacanuchi (64 Km) el 6 de agosto de 2014. Se evidencia sin lugar a

dudas, la fragilidad de cobertura institucional, jurídica y normativa, por parte del Estado, la cual debe acompañar a toda gestión, para atender las contingencias sociales y ambientales que afectan al país (Pérez, 2014).

2. TEORÍA

Tras el derrame de los 40 mil litros el 6 de agosto de 2014, la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), ordenó a la empresa Buenavista del Cobre aplicar un *Plan de Remediación Total*, el cual abarcaría 22 municipios. Los metales pesados tóxicos conocidos, incluyen al mercurio, el plomo, el cadmio y el arsénico; en raras ocasiones el selenio (no metal); a veces se incluyen otros elementos tóxicos más ligeros como el berilio o el aluminio.

Tras el derrame, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Cofepris), a través de la sección de Evidencia y Manejo de Riesgos, dio la orden de monitorear los pozos de agua ubicados a menos de 500 metros del caudal de los ríos contaminados, los cuales abastecen de agua a 15 localidades, con un total de 24 mil habitantes. Mientras tanto, suspendió el abastecimiento del líquido.

Asimismo, la Comisión Nacional de Agua realizó una visita al sitio del derrame y presentó un Dictamen Técnico: “el derrame se ocasionó por la falla en el amarre de un tubo de polietileno (tubificación) en una de las piletas de lixiviados y por la falta de una válvula en la piletta de demasías, imputable a la empresa” (La Redacción, 2014). De esta manera, hemos constatado, que el Estado no ha implementado una seria *normatividad* encaminada a prevenir y controlar el desequilibrio ecológico por las empresas altamente contaminantes para que se responsabilicen con el ambiente y cumplan la normatividad ambiental.

Quienes empezaron a notar las secuelas de los metales pesados en la población, fue un grupo interdisciplinario norteamericano, convocados en sus sitios de trabajo, por la sección 65 del Sindicato Minero de Cananea, Sonora, dado su compromiso con la lucha medioambiental en la franja norte de México y sur de los Estados Unidos, así como con la población de migrantes que atraviesa esa zona fronteriza.

Como parte de las medidas de remediación impuestas por el gobierno federal, se creó la Unidad de Vigilancia Epidemiológica y Ambiental (Uveas), para atender a los pobladores que presentaron los efectos de los metales pesados en su sistema; “sin embargo, la construcción de la clínica se ha aplazado en varias ocasiones, [...] ante lo cual, el delegado de la Secretaría de Gobernación, Wenceslao Montoya, comentó que “las obras llevan un 30 por ciento de avance y se estancaron por problemas económicos de la constructora” (Gómez, L., 2016).

De manera que, a casi dos años del derrame de tóxicos, ni el gobierno federal ni local han realizado estudios de sangre de todos los habitantes afectados por los metales pesados; no han sido atendidos todavía por especialistas toxicólogos (que analizaran los efectos de los metales pesados en el organismo de niños y adultos), estomatólogos (por los daños ocasionados por beber el agua contaminada); dermatólogos, ya que, de acuerdo al reporte presentado por los especialistas norteamericanos:

“76 por ciento de los integrantes de una muestra de mil habitantes padece problemas en la piel debido al derrame de tóxicos de Grupo México en la mina Buenavista del Cobre [...], según el diagnóstico de los 22 mil habitantes de la región del río Sonora vecindados en los municipios de Bacanuchi, Tahuichopa, Baviácora, Ures, Topahue y El Molino. El estudio también determinó que 78 por ciento de los pacientes de la muestra sufre afectaciones en los ojos, dolores de cabeza, malestares diversos y ansiedad” (Gómez, L., 2016).

Anteriormente (2015), organizaciones no gubernamentales habían realizado otro estudio a: “seis personas que presentaron manchas en la piel, habitantes de la región del río Sonora, y confirmaron

la presencia de metales pesados, como arsénico, en la sangre de menores. Los habitantes de esa comunidad se mostraron consternados por los resultados, pero señalaron que ya anticipaban esos resultados, debido a que constantemente las personas han presentado manchas en la piel, además de mareos. [...] El estudio que organizaciones no gubernamentales realizó a habitantes del Molino de Camou, al oriente del municipio de Hermosillo, confirma lo publicado por la Jornada hace dos meses, en el sentido de que los padres de los niños de Ures y Baviácora que estaban siendo llevados a tratamientos a Estados Unidos, aseguraban tener ya demostrado, con pruebas de laboratorio, la presencia de metales pesados en la sangre de menores, con sustancias como Arsénico, Fierro y Cobre” (Gutiérrez, 2015).

Para compensar los daños producidos por el derrame, Grupo México aportó mil millones de pesos para la conformación del Fideicomiso Río Sonora, y, según dijeron las autoridades: “en caso de ser necesario, aportaría otros mil millones de pesos más. A pesar de ello, hasta la fecha no se ha cumplido con muchas de las promesas hechas por autoridades y minera tras el derrame, como el pago de las compensaciones a todos los agricultores y ganaderos afectados, la construcción de plantas tratadoras de agua en los ocho municipios afectados o la construcción de la clínica de especialidades, entre otras” (Gutiérrez, 2015).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para constatar la falta de un programa integral de remediación del río Sonora y, basados en la NOM 127-SSA-1994 relativa a salud ambiental y condiciones de agua para uso y consumo humano, nuestro equipo de investigación realizó *mediciones colorimétricas de aluminio y cobre* en el agua de 8 pozos contaminados. Para ello, la NOM-AA-66-1981, establece el método colorimétrico de la neocuproína para la determinación de cobre en agua, el cual se cuantifica espectrofotométricamente. También el aluminio se cuantificó colorimétricamente.

Determinación de cobre:

En soluciones neutras o ligeramente ácidas los iones cuprosos reaccionan con la *neocuproína* (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) para dar un complejo de cobre *neocuproína*, de color amarillo, el cual se extrae con cloroformo y se cuantifica espectrofotométricamente a una longitud de onda de 457 nm.

Determinación de aluminio:

Las soluciones de aluminio diluidas y amortiguadas a un pH 6, producen un complejo de color rosado a rojo que presenta una absorción máxima a 535 nm al agregarles el colorante cianina de eriocromo R. La intensidad del color desarrollado está influenciada por la concentración de aluminio, el tiempo de reacción, la temperatura, el pH y las concentraciones de otros iones en la muestra.

4. RESULTADOS

Al finalizar el año 2015, ninguno de los pozos analizados, ha regresado en todos sus parámetros a la NOM 127-SSA1-1994:

- 1). El cobre, superó los valores estándar de 2.0 mg/L de metales pesados en aguas.
- 2). El Aluminio mostró datos de 68 mg/L, muy superior al nivel máximo permitido de 0.2 mg/L.
- 3). Se observaron diferencias significativas en los pozos analizados.

5. CONCLUSIONES

El Programa de Remediación Ambiental aún no había sido aprobado por Semarnat, lo cual evidencia de opacidad entre las instituciones encargadas de contender con los desastres nacionales.

Falta transparencia en la información sobre la calidad del agua: el monitoreo de la calidad del agua reportado en el portal electrónico del Fideicomiso Río Sonora, no es realizado de manera constante: las mediciones presentadas se llevaron a cabo diariamente en agosto de 2014, mes del derrame de tóxicos a los ríos; en los siguientes meses, pasaron a ser reportes semanales, para terminar con reportes mensuales al finalizar 2014.

Esta falta de transparencia se ha puesto de manifiesto en las secuelas aparecidas en la piel de la población de niños y adultos de 22 municipios, tras la presencia de metales pesados que se han ido acumulando en su sistema.

La supuesta Remediación Ambiental ha dado prioridad a la zona que circunda la minera, donde no hay población.

Los resultados de cobre y aluminio siguen superando los valores oficiales permitidos. Ninguno de los pozos analizados, ha regresado en todos sus parámetros a la NOM 127-SSA1-1994, lo cual nos ha hecho pensar que el accidente ambiental todavía no ha sido remediado.

Dada la poderosa influencia de Grupo México en los gobiernos estatal y federal, es ominosa su protección por el gobierno federal, ya que éste le sigue dando su apoyo incondicional, dejando de lado los derechos de los trabajadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. DOF. (2000). Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a los cuales debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación. México: 22 Nov.2000.
2. Gómez L., (2016, 21 de abril). "Padecen enfermedades de la piel 76% de pobladores de Sonora afectados por derrame de Grupo México." México: La Jornada, p. 29.
3. Gutiérrez, R. (2015, 24 de julio). "Confirman metales pesados en sangre de seis menores en Sonora." México: La Jornada, Sección Política.
4. La Redacción. (2014, 26 de agosto). "Por derrame tóxico en Sonora, multarán con 40 mdp a Grupo México". México: Revista Proceso.
5. Pérez, U. (2014, 25 de agosto). "Piden indagación ambiental y de salud por derrame". México: La Jornada, p.21.
6. SEMARNAT. (2015). Fideicomiso Río Sonora. Monitoreo de la calidad del agua. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Recuperado el 20 de mayo de 2015 del sitio:
8. <http://www.fideicomisoriosonora.gob.mx/fideicomiso.html>

***Aspergillus nidulans*: AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE ÍNDICE DE TOLERANCIA A METALES**

Ana Gloria Villalba Villalba, Fernanda Bujanda Valenzuela, Grecia Azuara Gómez, Metzli Cabrera Gutiérrez, Martín E. Cruz Campas

Universidad Estatal de Sonora

RESUMEN

La contaminación por metales es uno de los principales problemas ambientales del mundo, representando un riesgo significativo para los ecosistemas. La introducción de tales contaminantes al ambiente induce cambios morfológicos y fisiológicos en las comunidades microbianas nativas, ejerciendo una selección en la microbiota, esos microorganismos resistentes se convierten en alternativas viables para bioremediar sitios contaminados. El objetivo del presente trabajo fue aislar, identificar y evaluar la capacidad de un hongo filamentoso para tolerar la presencia de metales tóxicos. Para lograr el aislamiento del hongo se realizó un muestreo de suelo en una mina ubicada en Sonora. Se mezcló 1 g de suelo en 100 ml de agua destilada y esterilizada, de ahí se tomaron alícuotas de 100 μ L, se inocularon en medio de cultivo PDA y se incubaron por 3 días a 28°C. Una vez aisladas las cepas se realizaron los ensayos de tolerancia a los diferentes metales de manera individual (Pb, Zn, Cr, Hg, Ag, Cu y Cd en concentraciones de 1 mM). Para el ensayo de tolerancia a los metales se utilizó un inóculo de 1×10^8 esporas. El efecto de los metales sobre el crecimiento del hongo se estimó por medición del radio de la extensión de la colonia (cm), comparando con el control (sin metal). La identificación del hongo se realizó por amplificación del gen 18S RNA, encontrando que fue *Aspergillus nidulans*, el cual mostró tolerancia a todos los metales evaluados. Estos resultados muestran que *Aspergillus nidulans* tiene potencial de uso en biorremediación de metales. Sin embargo aún se requieren más estudios que permitan determinar la capacidad de bioacumulación a diferentes concentraciones de metales.

1. INTRODUCCIÓN

Una amplia variedad de microorganismos, tales como bacterias, levaduras, algas, protozoos y hongos que se encuentran en sitios contaminados han desarrollado las capacidades para protegerse de la toxicidad de los metales pesados y lograr reproducirse sin problemas; esto gracias a que emplean diversos mecanismos como la adsorción, absorción, metilación, oxidación y reducción mediante los cuales procesan a los contaminantes (Venil et al. 2011).

El agente tóxico se transporta al interior de la célula y se acumula, una vez acumulados los metales entran al ciclo metabólico reduciéndose su grado de toxicidad. La acumulación de metales por microorganismos, incluyendo a los hongos se conoce desde hace décadas debido a su potencial aplicación en la protección del medio ambiente y recuperación de metales preciosos (Vimala y Das, 2009). Los hongos en el medio natural son ubicuos y desempeñan el papel más importante como descomponedores de materia orgánica, así como el ciclo de nutrientes. Algunos metales tales como K, Na, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Co y Ni son esenciales para el crecimiento de hongos, pero muchos tales como Rb, Cs, Al, Cd, Ag, Au, Hg y Pb no lo son. Sin embargo, estos metales interactúan con las células de los hongos para ser acumulados (Gadd 1993).

Estos microorganismos son conocidos por tolerar y desintoxicar los metales por varios mecanismos, por ejemplo el cambio de valencia, precipitación intra y extracelular, además de la captación activa (Gadd 1993). La alta relación volumen superficie y capacidad para transformar metales están entre las razones principales para ser considerados como alternativa potencial para la biorremediación de soluciones diluidas y residuos sólidos contaminados con metales pesados (Joo et al., 2011).

Recientes estudios muestran que las cepas de hongos aisladas de sitios contaminados tienen una excelente capacidad de eliminación de cantidades significativas de metales (Malik, 2004). El-Morsy (2004) estudió 32 especies fúngicas aisladas a partir de agua contaminada en Egipto por su resistencia a metales y encontró que la biomasa de *Cunninghamella echinulata* podría emplearse como un bioadsorbente de iones metálicos en aguas residuales. De la misma manera, Zafar et al. (2007) informaron que la biosorción por dos hongos filamentosos, *Aspergillus* sp. y *Rhizopus* sp., aislados de suelos agrícolas contaminados con metales Cd y Cr es prometedora.

En otros usos de *Aspergillus niger*, se empleó como pretratamiento en la remoción de mercurio inorgánico (Hg^{2+}) y metilmercurio ($CH^3 Hg^+$) de soluciones acuosas, resultando una potencial eliminación de dichos contaminantes, así como también con *A. versicolor*, obteniendo resultados similares. Otras especies de *Aspergillus*, tales como *A. fumigatus* y *A. flavus* han mostrado alta tolerancia por metales pesados como el Zn proveniente de aguas contaminadas por la industria del textil (Pandey et al., 2013), así como también al Pb, Zn, Cu, y Ni de los efluentes derivados de la industria del papel (Thippeswamy et al., 2012).

La principal ventaja en el uso de los hongos para la biorremediación de metales pesados es la gran capacidad de absorción a cambio de bajos costos de inversión (Melgar et al., 2007). Los métodos convencionales son ineficaces cuando los efluentes contiene bajas concentraciones de metales y también generan gran cantidad de lodos tóxicos que requieren otras medidas para disponer de manera segura de ellos. Por lo tanto los métodos biológicos tales como la bioacumulación para la eliminación de metales pesados proporcionan una alternativa atractiva a los métodos físico-químicos (Hussein et al., 2004).

2. PARTE EXPERIMENTAL

Muestras

Se tomaron muestras de suelo con actividad de minería, las cuales se colocaron en recipientes esterilizados y transportadas hasta el laboratorio para su posterior análisis.

Aislamiento de microorganismos

Se pesaron muestras de suelo (1g), el cual se resuspendió en 100 ml de agua esterilizada, la mezcla se agitó por 20 min a temperatura ambiente y después diluyó de 10 a 10,000 veces. Se tomaron alícuotas de 100 μ l de las diferentes diluciones y se sembraron en Agar Potato Dextrosa (PDA) por triplicado. Después de 3 días de incubación a 25 °C, se seleccionaron colonias al azar.

Selección de microorganismos resistentes a los metales pesados

El micelio del hongo aislado se inoculará asépticamente en PDA suplementado individualmente con 1 mM de metales pesados (Pb, Zn, Cu, Hg, Ag, Cu y Cd). Las muestras inoculadas se incubarán durante 7 días a 28 °C. El efecto de los metales sobre el crecimiento del hongo evaluado se estimará por medición del radio de la extensión de la colonia (mm), comparando con el control (medio sin metal). Para el ensayo de tolerancia a los metales se utilizó un inóculo de 1×10^8 esporas.

Identificación morfológica y genotípica

Después de 3 días de incubación a 25 °C, se seleccionaron de colonias al azar. La identificación de la especie de hongo se realizó en base a las características macroscópicas de la colonia (color, morfología, forma y apariencia) y características microscópicas (micelio, forma, diámetro y textura de la conidia). Además se llevó a cabo la identificación por amplificación del gen 18S rRNA.

3. RESULTADOS

Se logró aislar un hongo al cual se le realizaron las pruebas de tolerancia a los metales (Fig. 1), este parámetro se conoce como índice de tolerancia.

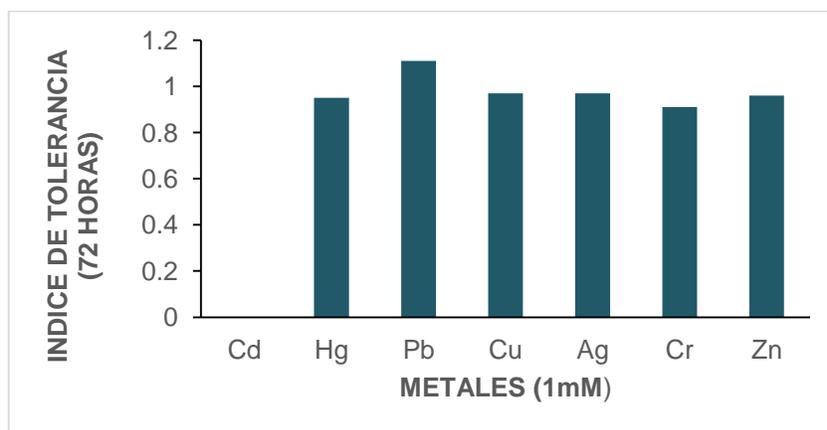


Fig. 1. Índice de tolerancia a metales de *Aspergillus nidulans*

La secuencia nucleotídica obtenida se analizó en el programa BLAST, encontrando que el hongo aislado se trata de *Aspergillus nidulans* (Fig. 2).

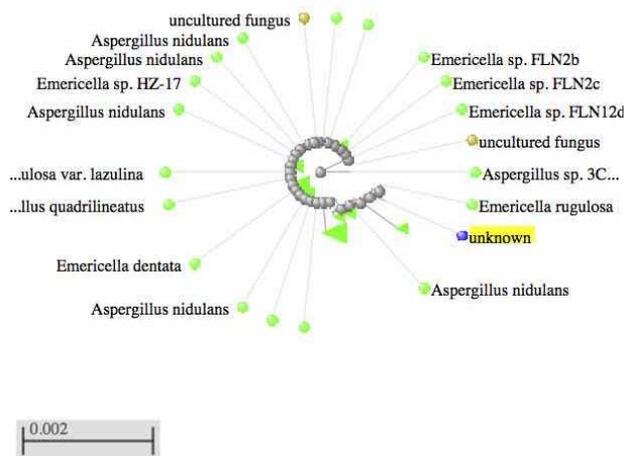


Fig. 2. Árbol taxonómico obtenido del análisis de la secuencia nucleotídica por medio de BLAST.

Un valor de índice de tolerancia igual a 1 implica que al hongo no le afecta la presencia del metal (concentración 1mM) en su crecimiento micelal. En ese sentido encontramos que dicho valor fue de 0.95, 1.11, 0.97, 0.97, 0.91 y 0.96, respectivamente para Hg, Pb, Cu, Ag, Cr y Zn, excepto para el Cd, ya que en presencia de este no se observó crecimiento del hongo, resultando ser un metal altamente tóxico para *A. nidulans*.

Por otro lado, se monitoreó el comportamiento del crecimiento del hongo a través del tiempo durante 5 días en presencia de los metales (Fig. 3), encontrando que la presencia de 1 mM Hg, Pb, Cu, Ag, Cr y Zn no tuvo efecto negativo en el desarrollo de *A. nidulans*.

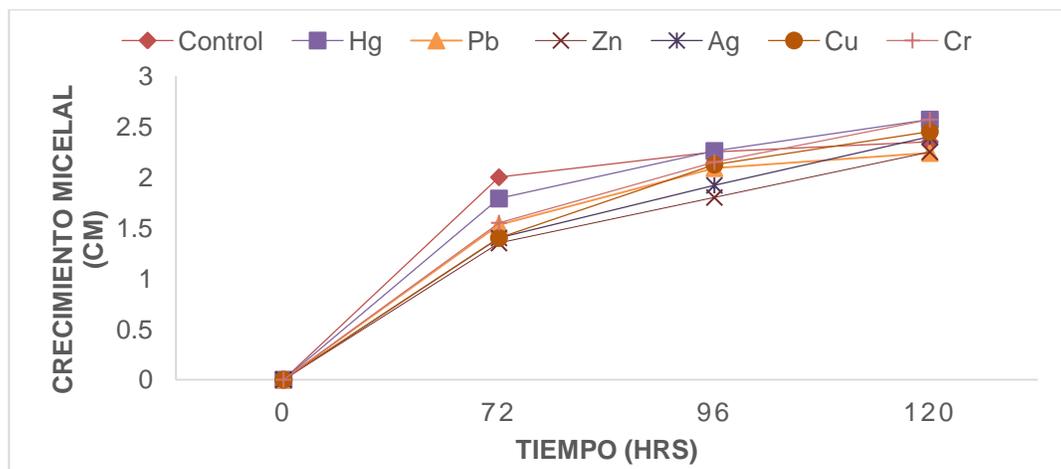


Fig. 3. Efecto en el tiempo por la presencia de los metales Hg, Pb, Zn, Ag, Cu y Cr (1mM) en el crecimiento de *A. nidulans*.



Fig. 4. *Aspergillus nidulans*, aislado de suelo con actividad minera.

4. CONCLUSIONES

El hongo aislado e identificado como *Aspergillus nidulans*, mostró ser tolerante a la presencia de mercurio, plomo, cobre, plata, cromo y zinc, mientras que en presencia de cadmio no le fue posible desarrollarse. Estos resultados muestran que *Aspergillus nidulans* tiene potencial de uso en biorremediación de una amplia variedad de metales. Sin embargo aún se requieren más estudios que permitan determinar la capacidad de bioacumulación a diferentes concentraciones de dichos contaminantes, además es necesario determinar las condiciones fisicoquímicas óptimas de crecimiento del hongo.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. K. Venil, V. Mohan, P. Lakshmanaperumalsamy, M.B. Yerima, "Optimization of chromium removal by the indigenous bacterium *Bacillus* spp. REPO2 using the response surface methodology", *ISRN Microbiology*. 2011.
2. R. Vimala, N. Das, "Biosorption of cadmium (II) and lead (II) from aqueous solution using mushrooms: A comparative study". *Journal of Hazardous Materials*. 2009.168: 376-382.
3. G.M. Gadd, "Interactions of fungi with toxic metals". *New Phytol*. 1993.124(1): 25–60.
4. J.H. Joo, K.A. Hussein, "Heavy metal tolerance of fungi isolated from contaminated soil". *Korean J. Soil Sci. Fertiliza*. 2012. 45(4): 565– 571.
5. A. Malik, "Metal bioremediation through growing cells". *Environment International*. 2004. 30 (2): 261–278.
6. E.M. El-Morsy "*Cunninghamella echinulata* a new biosorbent of metal ions from polluted water in Egypt". *Mycologia*. 2004. 96(6):1183- 1189.
7. S. Zafar, F. Aqil, I. Ahmad, "Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil". *Bioresour. Technol*. 2007. 98(13): 2557– 2561.
8. A.K. Pandey, A.K. Awasthi, A. Pandey, "Biosorption potential of indigenous fungal strains for municipal solid waste leachate management in Jabalpur city". *JECET*. 2013. 2(2):385–393.
9. B. Thippeswamy, C.K. Shivakumar, M. Krishnappa, "Bioaccumulation potential of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* for removal of heavy metals from paper mill effluent". *J. Environ. Biol*. 2012. 33:1063–1068.
10. M.J. Melgar, J. Alonso, M.A. Garcia, "Removal of toxic metals from aqueous solutions by fungal biomass of *Agaricusmacrosporus*". *Science of the Total Environment*, 2007. 385: 12- 19.
11. H., Hussein, S.F. Ibrahim, K. Kandeel, H. Moawad, "Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp." *Environmental Biotechnology*, 2004. 7: 1- 7.

LISTADO DE FAMILIAS DE HEMÍPTERA (HETEROPTERA) EN LA ZONA NORESTE DE LA SIERRA DE GUADALUPE, ECATEPEC, MÉXICO.

Julio Arturo Cortés-Jiménez¹, Felipe Alberto Ruiz Noguez¹, Ma. Del Pilar Villeda Callejas¹, G.E. Daleth Guedea-Fernández², Hector Barrera Escorcía² y Osvaldo Cervantes Zamudio²

¹ Lab. de Zoología FES Iztacala UNAM. ² Lab. de Microscopía Óptica y Fotografía Digital FES Iztacala UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Av. De Los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, CP. 54090 Tlalnepantla, Estado de México.

RESUMEN:

Se realizó un listado de las especies de hemípteros heterópteros encontradas en 5 muestreos en la zona noreste de la Sierra de Guadalupe, se obtuvo un total de 14 familias. La familia con mayor número de especies fue Pentatomidae con 9 especies, mientras que las familias Miridae, Nabidae, Pyrrhocoridae y Thyreocoridae solo estuvieron representadas con una especie. Se encontró un número aceptable de familias, sin embargo las actividades humanas pueden afectar la riqueza de las especies encontradas.

A list of families of Hemiptera Heteroptera was held in the northeast of the Sierra de Guadalupe. A total of 14 families were obtained. The family with the highest number of species was Pentatomidae with ten species, while families Cydnidae, Nabidae, Notonectidae, Pyrrhocoridae, Rhopalidae, Tingidae and Thyreocoridae presented a single species. It is considered that human activities may be affecting the families richness.

PALABRAS CLAVE: Hemipteros, heterópteros, pentatomidae, riqueza.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de la clase Insecta se encuentra el orden Hemiptera, que incluye a los insectos conocidos comúnmente como chinches. En el suborden Heteroptera se incluyen especies fitófagas, depredadoras y hematófagas. Se caracteriza por poseer una cabeza definida de tamaño variable con ojos compuestos bien desarrollados y generalmente dos ocelos, antenas con cuatro o cinco artejos, un par de alas denominadas hemiélitros, que corresponden al primer par y están formadas por una parte basal coriácea y una distal membranosa, mientras que el segundo par de alas es membranoso. El aparato bucal es de tipo succionador, las mandíbulas y maxilas son las que se alargan y transforman en estiletes adaptados para punzar. Los apéndices son generalmente de tipo ambulatorio pero en algunos organismos los apéndices anteriores o posteriores tienen ciertas modificaciones para el salto o la natación (Triplehorn y Johnson, 2005).

Se considera que los hemípteros son uno de los grupos de insectos que más adaptaciones han desarrollado, ya que es posible encontrarlos en una gran diversidad de ecosistemas tanto acuáticos como terrestres, por lo que presentan hábitos alimenticios muy variados. Todos los miembros del orden tienen un tipo de metamorfosis incompleta (paurometábolos), que consiste en un estado de huevo, varias series de estados ninfales o de crecimiento y un estado final de adulto listo para la reproducción (Slater y Baranowski, 1978).

2. ÁREA DE ESTUDIO

La Sierra de Guadalupe, se localiza inmersa en la Zona Metropolitana de la ciudad de México, en los límites entre el Distrito Federal y el Estado de México. Se ubica entre los 19°37' y 19°29' de latitud norte y a los 99°12' y 99° 02' de longitud oeste.

Según la clasificación climática de Köppen, modificada por García (1968), el clima es templado subhúmedo con lluvias en verano; la precipitación media anual alcanza 627 mm, la temperatura media anual es de 16.7°C. La fauna de la Sierra de Guadalupe, es reducida, debido a la transformación y pérdida de su hábitat por la afectación que ha sufrido la cubierta vegetal y al cambio de uso de suelo forestal por agrícola y urbano, así como a la frecuencia de incendios, sobrepastoreo y cacería furtiva (Cedillo *et al.*, 2007).

Algunas de las especies de anfibios en la zona son: *Hyla eximia* "rana verde", *Hyla arenicolor* "rana gris", *Tomodactylus grandis* "rana silvadora", *Spea hammondi* "sapo excavador" y la *Rana tlaloci* "rana". Se encuentran las siguientes especies de reptiles: *Barisia imbricata imbricata* "escorpión", *Phrynosoma orbiculare* "camaleón", *Sceloporus torcuatus* y *S. grammicus* "lagartija de collar y de barda" respectivamente, *Thamnophis scalaris* "culebra", *Salvadora bairdi* "culebra rayada", *Pituophis deppei deppei* "cincuate", *Crotalus triseriatus aquilus* "víbora fina" *Crotalus molossus nigrescens*, "cascabel de cola negra" y *Sistrurus ravus* "hocico de puerco" (Méndez *et al.*, 1992).

Los mamíferos se restringen a miembros chicos encontrándose las siguientes especies: *Didelphis virginiana* "tlacuache", *Sylvilagus floridanus* "conejo castellano", *Sciurus aureogaster* "ardilla", *Pappogeomys tylosrhinus* "tuza", *Liomys irratus alleni* "ratón", *Mephitis macroura* "zorrillo" y *Linx rufus* "gato montés" (Reyes y Halffter, 1976).

Actualmente, la vegetación de la Sierra de Guadalupe está caracterizada principalmente por una comunidad arbórea basada en plantaciones, con eucalipto *Eucalyptus* sp; casuarina *Casuarina equisetifolia*; cedro blanco *Cupressus lindleyi*; ciprés panteonero *Cupressus sempervirens* y diversas especies de pinos, entre las que se encuentran el *Pinus cembroides*, *P. montezumae*, *P. patula* y *P. radiata* (Bopp, 1955; Rzedowski y Rzedowski, 1979; Vela y Flores 2000).

El presente trabajo pretende realizar un primer listado con las familias de Hemípteros Heterópteros presentes en la zona noreste de la sierra de Guadalupe, ya que no existe un reporte de esta zona y estos organismos desempeñan diversas funciones dentro de los ecosistemas en los que habitan.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron 12 muestreos diurnos iniciando desde julio de 2014 hasta junio de 2015 en la zona Noreste de la Sierra de Guadalupe, Ecatepec, Edo de México. Las colectas se llevaron a cabo realizando un recorrido a lo largo de un transecto de aproximadamente 1km de longitud, se colectó a los organismos por métodos directos con ayuda de pinzas entomológicas y red de golpeo, para organismos que se encontraban posados sobre las ramas vegetación arbórea y/o arbustiva y que son de hábitos poco voladores se atraparón con la ayuda de red de rastreo o golpeo, mientras que los organismos acuáticos se colectaron con ayuda de red acuática o colador. Los organismos capturados se colocaron en frascos previamente preparados con alcohol al 70% para su óptima conservación, se trasladó a los organismos al laboratorio de microscopía de la FES-Iztacala en donde se realizó la determinación taxonómica utilizando microscopía estereoscópica y con ayuda de literatura especializada en determinación de hemípteros heterópteros (Slater y Baranowski, 1978).

3. RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 14 familias de Heterópteros en los 12 muestreos realizados (Alydidae, Coreidae, Cydnidae, Gerridae, Largidae, Lygaeidae, Miridae, Nabidae, Notonectidae, Pentatomidae, Pyrrhocoridae, Rhopalidae, Thyreocoridae y Tingidae), de los cuales, la familia Pentatomidae fue la que presentó un mayor número de especies diferentes con respecto a la demás familias encontradas, mientras que las familias Cydnidae, Nabidae, Notonectidae, Pyrrhocoridae, Rhopalidae Thyreocoridae y Tingidae solo presentaron una sola especie (Tabla 1).

Cuadro 1. Total de familias encontradas en los 12 muestreos.

Familia	Número de especies
Alydidae	2
Coreidae	6
Cydnidae	1
Gerridae	3
Largidae	3
Lygaeidae	7
Miridae	3
Nabidae	1
Notonectidae	1
Pentatomidae	10
Phyrrcoridae	2
Rhopalidae	1
Thyreocoridae	1
Tingidae	1

4. DISCUSIÓN

El conocimiento actual de las especies del suborden Heteroptera que habitan en nuestro país y más en específico en la Sierra de Guadalupe es muy escaso, aún faltan muchos esfuerzos para poder abordar su estudio. Para el caso del presente estudio las 14 familias encontradas representan el inicio del conocimiento de los hemipteros heterópteros de la zona noreste de la Sierra de Guadalupe. Del total de las 3,578 especies contempladas para el suborden Heteroptera por Borror (2005) para Norteamérica, se encontraron en el área de estudio un total de 14 familias, de las cuales la familia Pentatomidae presentó el mayor número de especies con respecto a las otras familias, esto puede deberse a que esta familia es muy típica y una de las más numerosas de heterópteros y es muy común encontrarlas en lugares donde hay variabilidad de vegetación.

Se encontraron organismos inmaduros de las familias Coreidae, Largidae, Lygaeidae y Pentatomidae, pero debido a la falta de literatura especializada de determinación de estadios inmaduros, se dejara la determinación de estos hasta el nivel de familia, se necesitaría conocer el ciclo de vida completo para conocer de qué especies se trata.

5. CONCLUSIONES

El presente trabajo es destacable ya que permitió obtener los primeros registros de las familias de heterópteros de la zona noreste de la Sierra de Guadalupe. Cabe mencionar que faltó hacer colectas nocturnas en las zonas de muestreo, aunque esto representa un riesgo, ya que este sitio tiene fama de ser muy inseguro, con base a los resultados obtenidos se puede observar que la zona de estudio tiene un número aceptable de familias, géneros y especies, a pesar de que es una zona perturbada debido al creciente número de asentamientos humanos que cada día están en aumento comprimiendo poco a poco la sierra, esto ocasiona que muchas especies se vean desplazadas debido a la reducción y a la fragmentación de su hábitat. Aun hacen falta muchos estudios enfocados hacia la hemipterofauna y la diversidad de los artrópodos en general, se desconoce mucho sobre sus hábitos y de su función dentro del ambiente en el que habitan, muchos de ellos podrían resultar benéficos debido a múltiples funciones que realizan en los ecosistemas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arnett J.R. 2000, *American Insects: A Handbook of the Insects of America North of Mexico*, Second Edition, CRC Press, USA.
2. Cedillo A.O, Rivas S.M, Rodríguez C.F, 2007, *El Área Natural Protegida Sujeta a Conservación Ecológica "Sierra de Guadalupe"*, Revista Sistemas Ambientales, Vol 1, Num 1, Departamento de Ingeniería en Sistemas Ambientales, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, México DF.
3. García, E., 2004. *Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen*, Quinta Edición, Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México.
4. Méndez, D. L. C. F., Camarillo, R. J. L., Villagrán, S. C. M., y Aguilar, C. R., 1992. *Observaciones sobre el status de los anfibios y reptiles de la Sierra de Guadalupe* (Distrito Federal – Estado de México). *Anales Instituto de Biología. UNAM*, Ser. Zool. 63(2): 249-256.
5. Reyes, C. P. y Halffter, G., 1976. *Fauna de la Cuenca del Valle de México. Memorias de las obras del Sistema de Drenaje Profundo del Distrito Federal*. Secretaría de Obras y Servicios del Departamento del Distrito Federal. Vol. 1. p: 135-180
6. Rzedowski, J. y G. C de Rzedowski, 1979. *Flora fanerogámica del Valle de México*. Ed. - LIMUSA, México, D. F.
7. Schuh T. R, Slater A. J., 1995, *True Bugs of the World (Hemiptera:Heteroptera) Classification and Natural History*, Cornell University, Ithaca, New York.
8. Slater, J. Baranowski, R. 1978. *How To Know The True Bugs*. WM, C Brown Company Publishers. Iowa.
9. Thriplehorn A.C. y F.N. Johnson. 2005. *Borrer and DeLong's Introduccion to the Study of Insects*. 7th Ed. THOMSON. México.

PRODUCCIÓN DE UN EDULCORANTE RICO EN COMPUESTOS FENÓLICOS EXTRAÍDOS DE LA HOJA DE LA STEVIA (*Stevia rebaudiana*).

Fernández-Soto Julieta¹, Hernández-López David¹, y Guzmán-Maldonado Salvador Horacio²

¹Departamento de Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Celaya. Av. Tecnológico s/n. Celaya, Gto. ²Laboratorio de Alimentos. Campo Experimental Bajío. INIFAP. Km 6.5 km carretera Celaya-San Miguel Allende, Celaya, Gto.

RESUMEN

Los productos comerciales edulcorantes obtenidos a partir de la hoja de stevia se venden cristalizados y han sido obtenidos a través de procesos de purificación. Sin embargo, la hoja es una buena fuente de compuestos fenólicos de alta capacidad antioxidante los cuales se desechan en el proceso de purificación. Un producto que presente una alta capacidad edulcorante con alto contenido de compuestos fenólicos puede ser de mucho interés ya que tendría una doble función, endulzar y presentar efectos antioxidantes relacionados con la buena salud, en particular para aquellos con problemas metabólicos.

1. INTRODUCCIÓN

La stevia (*Stevia rebaudiana*) es una planta perene originaria de Paraguay perteneciente a la familia *Asteraceae* (Goyal *et al.*, 2010) (Figura 1). Esta planta fue usada ancestralmente por sus aborígenes, como edulcorante y medicina (Shock, 1982). La principal característica de la hoja de la stevia es su elevado sabor endulzante que va de 250 a 300 veces superior al de la sacarosa (Ghanta *et al.*, 2007). El uso de la hoja de stevia está dirigido a la extracción y purificación de los esteviosidos con el fin de obtener un edulcorante natural no calórico, además de que la hoja de la planta posee otras propiedades ya que tiene compuestos antiinflamatorios (Chan *et al.*, 2000), antihiperlipemias (Chen *et al.*, 2006) antidiarreicos (Chantsudthipong Munprasat, 2009) y antitumorales (Chen *et al.*, 2006) además de antioxidantes esto debido a los compuestos fenólicos y flavonoides que se encuentran presentes en las hojas (Tadhani *et al.*, 2007; Shukla *et al.*, 2009; Muanda *et al.*, 2011).

El nombre esteviosido, el principio edulcorante de esta especie, se debe a los investigadores franceses Bridel y Lavielle quienes en 1931 cristalizaron el compuesto activo y determinaron que era 300 veces más dulce que el azúcar; asimismo, no se encontraron efectos tóxicos en animales (Bridel y Lavielle, 1931). Posteriormente se demostró que el esteviosido es el edulcorante natural no nitrogenado más dulce que se encuentra en la naturaleza y que está compuesto de carbono, hidrogeno y oxígeno. Su fórmula química es $C_{38}H_{60}O_{18}$ (Soto y Del Val, 2002) y su estructura se puede ver en la Figura 2.

En 1982 Tanaka aisló tres glicósidos dulces adicionales a los cuales denominó rebaudiosidos A, C y dulcósido. Más tarde comprobó la existencia de dos glicósidos mas que se encuentran a nivel de trazas y los denominó rebaudiosidos D y E. En el Cuadro 1 se presentan los glicósidos de stevia que están incluidos en el Códex Alimentario como Aditivos 0898 (Codex Alimentario, 1995). Como se puede ver, están incluidos el esteviosido, rebaudiosido A y los componentes secundarios rebaudiosido C y dulcósido A.



Figura 1. Origen de la stevia (*Stevia rebaudiana*)

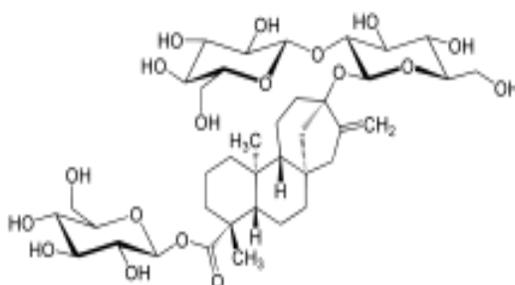


Figura 2. Fórmula desarrollada del esteviosido.

Tabla 1. Glicósidos presentes como aditivo alimentario 0989

Nombre	Fórmula empírica
Steviosido	$C_{38}H_{60}O_{18}$
Rabaudiósido A	$C_{44}H_{70}O_{22}$
Rabaudiósido C	$C_{44}H_{70}O_{22}$
Dulcósido A	$C_{38}H_{60}O_{17}$

El contenido y la proporción de estos compuestos activos en la stevia varían según la fase de desarrollo, variedad, estado de crecimiento, fotoperiodo y otros (Romo, 2006). Estudios complementarios determinaron que el rebaudiósido A tiene el poder edulcorante más bajo y que su sabor es más cercano al del azúcar. Los dulcósidos que existen en menor cantidad presentan un ligero sabor amargo (Goto y Clemente, 1998) y se localizan en las nervaduras de la planta. Interesantemente, estos compuestos poseen una capacidad vasodilatadora (Llanos, 2006).

2. TEORÍA

Se optimizó el proceso de extracción para generar un producto acuoso con alto poder edulcorante y rico en compuestos fenólicos. La hoja fresca o seca (5g), entera o troceada se sometió a una extracción acuosa (100mL) a temperatura ambiente por 24h y a 90 °C por 90 y 120 min. A los extractos se les determinó el contenido de esteviosido, rebaudiosido A y C por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). También se determinaron los fenoles solubles (Singleton *et al.* 1965), flavonoides (Dewanto *et al.* 2002), antocianinas (Abdel-Aal y Hud 1999) y taninos

condensados (Desphande y Cheryn 1985). Además, los extractos fueron analizados para determinar la capacidad antioxidante TEAC (Van den Berg *et al.*1999).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Después de recolectar la hoja se congeló a -70 C y se liofilizó. Esta muestra se utilizó como el control seco y se sometió a una extracción acuosa de acuerdo con el Cuadro 2. Otra parte de la hoja recolectada fresca se sometió a una extracción sólido-líquido acuosa en una relación 5:100 (p:v) bajo las condiciones presentadas en el Cuadro 2. Las muestras se congelaron a -80 C hasta su análisis.

Cuadro 2. Extracción de edulcorantes y compuestos fenólicos de hoja de stevia.

Tiempo	Temperatura
24 h	Ambiente
90 min	90°C
120 min	90°C

Cada tratamiento se hizo con hoja entera (Figura 3) y hoja troceada. (Figura 4). Las extracciones a 90°C se llevaron a cabo en un baño María con agitación constante. Cada extracción se realizó por triplicado.



Figura 3. Hoja entera para macerado *Figura 4. Hoja troceada para macerado.*

4. RESULTADOS.

El contenido de fenoles totales en los extractos de hoja fresca fueron significativamente menores comparados con los de hoja seca (Cuadro 3). Esto fue observado tanto en los extractos realizados a temperatura ambiente como a 90 C por 90 y 120 min. Los datos sugieren que el secado permite que el agua realice una extracción mucho más eficiente que cuando la hoja contenga 60% de humedad. Por otra parte, entre los tratamientos con hoja seca se puede observar que por alguna razón que no se puede explicar con los datos obtenidos en este trabajo, que la extracción fue más eficiente con hoja entera en comparación con la hoja troceada (Cuadro 3). Además, los datos sugieren que el tiempo no afecta la extracción pero si la temperatura. El mismo comportamiento se observó en el contenido de flavonoides (Cuadro 4)

Cuadro 3. Contenido de fenoles totales (mg EAG/100g) en las extracciones de hoja de stevia.

Tratamiento	Hoja fresca	Hoja seca
Temperatura ambiente 24h		
Entera	8.2 ± 1.8 c B	147.0 ± 18.4 c A
Troceada	26.7 ± 2.8 a B	109.3 ± 3.5 d A
90°C, 90 min.		
Entera	30.0 ± 2.4 a B	233.1 ± 11.3 a A
Troceada	26.4 ± 5.1 ab B	216.2 ± 6.8 b A
90°C, 120 min.		
Entera	23.7 ± 3.4 b B	243.9 ± 21.1 a A
Troceada	21.8 ± 2.3 b B	216.2 ± 8.4 b A

Promedios con letras minúsculas en la misma columna y mayúsculas en el mismo renglón similares, son estadísticamente iguales (Tukey, P < 0.05).

EAG = equivalentes de ácido gálico.

Cuadro 4. Contenido de flavonoides (mg EC/100g) en las extracciones de hoja de stevia.

Tratamiento	Hoja fresca	Hoja seca
Temperatura ambiente 24h		
Entera	13.7 ± 0.39 c B	62.1 ± 11.0 ab A
Troceada	29.4 ± 3.2 a B	41.5 ± 5.6 c A
90°C por 90 min.		
Entera	27.8 ± 10.0 a B	56.9 ± 7.7 b A
Troceada	26.9 ± 5.3 ab B	74.1 ± 10.3 a A
90°C por 90 min.		
Entera	32.2 ± 6.74 a B	67.4 ± 7.8 a A
Troceada	22.0 ± 3.44 b B	48.3 ± 5.8 c A

Promedios con letras minúsculas en la misma columna y mayúsculas en el mismo renglón similares, son estadísticamente iguales (Tukey, P < 0.05).

EC = equivalentes de catequina.

La capacidad antioxidante no presentó ninguna correlación con el contenido de fenoles y flavonoides. Ejemplo de lo anterior fue la mayor capacidad antioxidante de los extractos obtenidos a temperatura ambiente en hoja fresca y seca (Cuadro 5) donde el contenido de fenoles y flavonoides fue menor (Cuadro 3 y 4).

El contenido del esteviosido en hoja fresca fue casi cinco veces mayor cuando la hoja troceada se extrajo con temperatura por 90 min en comparación con la extracción a temperatura ambiente (Cuadro 6). Por el contrario, la mayor concentración de esteviosido obtenido fue con hoja seca troceada extraída con temperatura por 120 min.

Cuadro 5. Capacidad antioxidante (TEAC) ($\mu\text{mol ET/g}$) de extractos de hoja de stevia.

Tratamiento	Hoja fresca	Hoja seca
Temperatura ambiente 24h		
Entera	790 \pm 48 b B	1119 \pm 223 a A
Troceada	1646 \pm 131 a A	906 \pm 42 b B
90°C por 90 min.		
Entera	500 \pm 72 c A	509 \pm 37 c A
Troceada	357 \pm 46 d B	576 \pm 36 c A
90°C por 120 min.		
Entera	223 \pm 28 e B	405 \pm 58 d A
Troceada	301 \pm 43 d B	413 \pm 49 d A

Promedios con letras minúsculas en la misma columna y mayúsculas en el mismo renglón similares, son estadísticamente iguales (Tukey, $P < 0.05$).

ET = equivalentes de Trolox.

Cuadro 6. Contenido de esteviosido (mg/100 g) en extracciones acuosas de hoja fresca y seca de stevia.

Tratamiento	Hoja fresca	Hoja seca
Temperatura ambiente 24h		
Entera	22.1 \pm 2.9 d B	186.1 \pm 10.3 d A
Troceada	18.9 \pm 1.5 d B	162.1 \pm 9.3 e A
90°C por 90 min.		
Entera	97.2 \pm 4.2 b B	390.8 \pm 0.3 b A
Troceada	116.2 \pm 10.0 a B	316.4 \pm 22.3 c A
90°C por 120 min.		
Entera	60.8 \pm 4.4 c B	305.0 \pm 6.8 c A
Troceada	101.3 \pm 5.8 a B	437.8 \pm 7.5 a A

Promedios con letras similares minúsculas en la misma columna y mayúsculas en el mismo renglón, son estadísticamente iguales (Tukey, $P < 0.05$).

En el contenido de rebaudiosido A se puede observar que la mayor concentración se obtuvo con hoja seca extraída con temperatura por 90 o 120 min (Cuadro 7). En este caso, la variabilidad en el contenido del esteviosido fue alta con desviaciones estándar de 23.0 a 88.4 mg/g que hace que no haya diferencias estadísticas en los tratamientos con hoja seca extraídos con temperatura. Mientras que en el contenido de rebaudiosido C, el comportamiento de los tratamientos fue muy diferente. Por ejemplo, la hoja seca troceada extraída a temperatura ambiente y a 90 °C por 120 min presentaron la misma cantidad ($P < 0.05$) de este compuesto (Cuadro 8). Igualmente que con el resto de los experimentos, cuando se utilizó hoja seca el rendimiento de estos compuestos fue mayor en comparación con la hoja fresca.

Cuadro 7. Contenido de rebaudiosido A (mg/100 g) en extracciones acuosas de hoja de stevia.

	Hoja fresca	Hoja seca
Temperatura ambiente 24h		
Entera	173.1 ± 14.9 d B	1126.5 ± 24.7 c A
Troceada	147.4 ± 7.8 e B	1134.5 ± 23.0 c A
90°C, 90 min.		
Entera	328.2 ± 4.1 b B	1666.9 ± 88.4 a A
Troceada	357.9 ± 15.8 a B	1652.5 ± 74.8 a A
90°C por 120 min.		
Entera	235.8 ± 22.9 c B	1430.7 ± 43.4 b A
Troceada	308.9 ± 29.3 b B	1477.3 ± 78.8 b A

Promedios con letras similares minúsculas en la misma columna y mayúsculas en el mismo renglón, son estadísticamente iguales (Tukey, P < 0.05).

Cuadro 8. Contenido de rebaudiosido C (mg/100 g) en extracciones de hoja fresca y seca de stevia.

	Hoja fresca	Hoja seca
Temperatura ambiente 24h		
Entera	1294.9 ± 83.7 c B	6987.1 ± 31.7 c A
Troceada	858.7 ± 15.3 d B	8267.2 ± 273.1 a A
90°C por 90 min		
Entera	2435.4 ± 121.2 a B	7450.7 ± 323.9 b A
Troceada	2310.1 ± 108.8 a B	7830.7 ± 299.2 b A
90°C por 120 min		
Entera	2082.5 ± 50.8 b B	9597.5 ± 151.3 a A
Troceada	2046.7 ± 95.5 b B	6259.9 ± 126.5 d A

Promedios con letras similares minúsculas en la misma columna y mayúsculas en el mismo renglón, son estadísticamente iguales (Tukey, P < 0.05).

5. CONCLUSIONES

El contenido de compuestos fenólicos fue hasta 12 veces mayor en hoja seca en comparación con hoja fresca.

El contenido de esteviosidos fue entre dos y cuatro veces mayor en hoja seca que en hoja fresca.

En general, el mejor método de extracción fue usando hoja a 90° por 90 y 120 min.

La capacidad antioxidante no fue consistente con el contenido de compuestos fenólicos, muy probablemente por el contenido diferencial de fenoles simples. Sería interesante obtener el perfil de estos últimos compuestos que permitieran realizar mayores inferencias.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Abdel Aal, E.S.M. y Hucl, P. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.* 76:350–354.
2. Bridel, M. y Lavielle, R., 1931. Sur le principe sucre des feuilles de Kaa-he-e Compa. *Ac. Sc.*(192), Paris, Francia, pp.1123-1125.
3. Chatsudhipong, V., y Muanprasat, C. 2009. Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacology & Therapeutics*, 121,41–54
4. Chan, P., Linson, B., Chen, Y., Liu, J., Hsieh, M., y Cheng, J. 2000. A double blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50, 215–220.
5. Chen, J., Jeppesen, P., Abudula, R., Dyrskog, S., Colombo, M., y Hermansen, K. (2006). Stevioside does not cause increased basal insulin secretion or b-cell desensitization as does the sulphonylurea, glibenclamide: Studies in vitro. *Life Science*, 78, 1748–1753.
6. Deshpande, S.,S. y Cheryan, M. 1985. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. *J Food Sci.* 50: 905-916.
7. Dewanto, X. Wu, K. Adom, K. y Liu. R.H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3010–301
8. Ghanta, S., Banerjee, A., Poddar, A., y Chattopadhyay, S. 2007. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55,10962–10967.
9. Goto, A., y Clemente, E. 1998. Influência do Rebaudiosídeo a na solubilidade e Sabor do Esteviosídeo. Departamento de Química. Universidad de Estadual de Maringá, Pananá, Brasil, pp. 3-5.
10. Goyal, S., Samsher, K., y Goyal, R.K. 2010. *Stevia* (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(1), 1-10.
11. Llanos, G. 2006. Producción y Comercialización de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Portoviejo, Ecuador, pp. 1-73.
12. Muanda, F., Soulimani, R., Diop, B., Dicko, A.(2011). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Food Science and Technology*. 44,1865-1872.
13. Romo, J. 2006. Análisis de un proceso de adaptación de *Stevia* Bertoni (de origen paraguayo) en seis abonos orgánicos para fomentar su cultivo y mejorar rendimientos en la parroquia de Sevilla cartón Cascales Sucumbíos. ESPEA. Sucumbios, Ecuador, pp. 1-7;26;36-37.
14. Shock, C.C. 1982. Experimental Cultivation of Rebaudi's *Stevia* in California. *Agronomy Prog* No. 122. Univ, of Calofornia, Davis.
15. Shukla S., Mehta A.,y Bajpai V. 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food Chemistry Toxicology*. 47, 2338-2343.
16. Singleton, V.L, y Rossi, A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158.
17. Soto A. y Del Val S. 2002. Extracción de los principios edulcorantes de la *Stevia rebaudiana*, *Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos* Vol. 10-2002, Paraguay, pp 56-65
18. Tadhani, M., Patel, V., y Subhash, R. 2007. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 323–329.

USO DE TECNOLOGÍAS COMO EVIDENCIA DEL DETERIORO AMBIENTAL

Pedro Ángeles Juárez¹, Minerva Leonor González Ibarra¹ y Aída del Rosario Malpica Sánchez¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco.

RESUMEN

Al estudiar los procesos de cambio estructural, productivo y de paisaje en la región que abarca el corredor industrial Tula-Tepeji en el estado de Hidalgo, notamos que el actual modelo de acumulación para regiones pobres con escasos recursos naturales en su forma oculta utiliza, el aparato de Estado para la extracción de éstos, en contratos en desventaja, bajos salarios, con su consecuente deterioro ambiental. Así mismo, la ausencia de una política social incluyente genera desde las clases subalternas mecanismos de resistencia cuya expresión son los conflictos socio-ambientales. Los campesinos para documentar, alertar, informar y denunciar utilizan teléfonos celulares y el uso de redes sociales como el *Facebook*, *YouTube* y *Twitter* en imágenes y videos, los cuales son analizados por expertos científicos de la UNAM, UAM, Ibero-Puebla, mediante imágenes satelitales para determinar el tipo de contaminantes que se vierten en la atmosfera. En este estudio se adopta una metodología innovadora que hace uso de múltiples disciplinas que permitan comprender la complejidad ambiental y se realiza trabajo de campo etnográfico con participantes en movimientos ambientales. Los resultados identifican posibles daños a la salud y a los ecosistemas por parte de empresas contaminantes tales como Agroquímicos ATC, Ecoltec, Cemex, Lafarge, Cruz Azul y Holcim-Apasco. Se concluye que los territorios campesinos aunque escasos en recursos bióticos son imprescindibles en el resguardo genético, biológico, cultural y captación de agua para beneficio de todos.

1. INTRODUCCIÓN

La presente contribución responde al tema de la sustentabilidad, al interior del corredor industrial de la región Tula-Tepeji, se pone énfasis en su dimensión ambiental, revisa el impacto del modelo de acumulación utilizado desde hace ya varios años para desarrollar regiones caracterizadas por su pobreza. Sin embargo los resultados han sido desfavorables a las condiciones de vida, las promesas de bienestar, trabajo, educación y vida digna se evaporaron teniendo a cambio una grave contaminación que afecta la salud de los habitantes. Ante la falta de información por parte de autoridades gubernamentales sobre el impacto de eventos cotidianos de emisión de partículas contaminantes y eventos catastróficos, los actores regionales, buscan los medios para saber qué fue lo que pasó y cómo afectara en un futuro. La tecnología no se separa de los procesos sociales, los actores la emplean, la adaptan, la adecuan acorde a sus necesidades, de este modo un pequeño celular es utilizado como instrumento de denuncia, testimonio y memoria. Más que denunciar lo que se pretende es que las empresas y el gobierno establezcan mecanismos de generar industrias limpias y con ello se busca contribuir a generar modelos que transiten hacia la compatibilidad y el bienestar de la sociedad que reclama atención a sus necesidades.

2. TEORÍA

El sustento teórico de la presente investigación guarda una estrecha relación entre los factores ambientales en un espacio geográfico determinado por la producción industrial, el impacto de la

política económica entendida actualmente como economía verde como mecanismo de acumulación y la respuesta en defensa del territorio por quienes habitan dicha región utilizando las nuevas tecnologías de la información como mecanismo de lucha. El área de estudio son las poblaciones campesinas ubicadas dentro del corredor industrial Tula-Tepeji en el estado de Hidalgo. Se adoptan tres ejes articulados entre sí, por un lado, la prevalencia de un modelo de acumulación basado en el despojo, consistente en arrebatar los elementos constitutivos de la cultura campesina como tierras, aguas, recursos pétreos, biodiversidad, el territorio mismo; el segundo eje lo constituye la adopción del discurso y práctica de la economía verde como disfraz de acumulación por empresas altamente contaminantes en dicha región y el tercer eje lo constituye el valor simbólico al territorio por quienes ahí padecen los efectos de la contaminación ambiental. En la triada Desarrollo-medio ambiente-pobreza quienes salen perdiendo son los campesinos del lugar, pues el trabajo mal pagado, la extracción de recursos naturales, la degradación ambiental de que son objeto, no promueve el crecimiento económico ni el bienestar, sin embargo a pesar de todo resisten, se adaptan a las nuevas situaciones. Ante esto nos preguntamos y tratamos de responder: ¿Desde una posición de subalternidad el sector campesino, cómo construye puentes y alianzas para dar solución a sus problemática vivida? ¿Cómo están resistiendo?, ¿existe una confrontación abierta por la defensa de sus territorios y modos de vida tradicional?

OBJETIVO

Analizar las estrategias de resistencia que utilizan actualmente los estratos subalternos ante el deterioro ambiental en sus territorios, pues ante la violencia, intimidación, amenazas por parte de los dueños del capital y sus socios, éstos se ven obligados a utilizar las nuevas tecnologías como instrumentos que les permiten informar, denunciar, alertar, al tiempo que son utilizadas como instrumento de investigación por parte de grupos académicos de acompañamiento que permita dar alternativas a dicha problemática.

3. METODOLOGIA

Se adoptó una metodología innovadora que hace uso de múltiples disciplinas tanto de las ciencias sociales como ambientales (ecología industrial) y en particular la toxicología por los efectos asociados a la salud de las personas y de los ecosistemas. Se retoma un enfoque ecosistémico, bajo la perspectiva centrada en el actor principal del campo, se recopilan datos cualitativos, se hace trabajo etnográfico descriptivo con participantes en movimientos ambientales en la región de estudio. El análisis de datos cualitativos e interpretativos de imágenes por parte de expertos, así como el estudio de caso en la generación de conflictos socio-ambientales.

4. RESULTADOS

Con el propósito de entender los efectos de la globalización en las regiones rurales, entender el cambio de paisajes, la transformación social que ocurre en la proletarización de antiguos espacios campesinos, desde el año 2000 hemos acompañado procesos de movilidad campesina al interior del corredor Tula-Tepeji. Esta región es importante pues desde la perspectiva gubernamental ocupa un lugar primordial como detonador del crecimiento económico a nivel estatal, al tiempo que reduce las tasas de marginación y marginalidad. Sitio especializado en la manufactura de productos diversos, la maquila, las textiles, la generación de energía, la producción de cemento y otros productos pétreos. Dicho crecimiento económico, ha generado una profunda regional crisis cuya expresión se manifiesta como crisis energética (entropía sobre el territorio), crisis de salud de las personas y los ecosistemas, y su traducción en conflictos socio-ambientales.

Obvio es que los campesinos cuentan con menor poder político- económico, para hacer frente a estas crisis, de modo que recurren a estrategias no conformistas que niegan los discursos y las prácticas elaboradas desde arriba.

En la búsqueda de alianzas para la defensa del territorio, ante la nula información por parte del gobierno, sobre los efectos en la salud y los ecosistemas, los campesinos que han sido afectados por industrias contaminantes han recurrido a instituciones de enseñanza superior, que les ayuden a entender cuáles son las consecuencias de la devastación que dejan las empresas, dichas instituciones de carácter público tienen el deber ético de dar respuesta a problemas y necesidades concretas.

Ubicamos cuatro grupos de afectados ambientales a nivel regional en el corredor industrial Tula – Tepeji, los cuales se muestran en la tabla 1. Los cuales se están agrupando en un movimiento ambiental amplio, se reúnen en asamblea informativa cada seis meses e invitan a docentes de la UAM, la UNAM, Ibero-Puebla, UA-Querétaro y El Colegio Mexiquense.

Tabla 1. Empresas contaminantes y respuestas socio-ambientales en el corredor Industrial Tula-Tepeji

Nombre de la agrupación	Empresa contaminante	Forma de contaminación	Acciones
Santiago de Anaya (otomí)	Cementera de Carlos Slim	Devastación de cerros, acaparamiento de agua	Protesta y denuncias
Afectados por la contaminación en Atotonilco de Tula y Tlamaco	Cementeras Cemex, Holcim -Apasco, Lafarge, la Refinería de Tula.	Emisión de Dioxinas y furanos en hornos cementeros	Bloqueos, pintas, denuncias
Afectados ambientales de Apaxco (participan pobladores del Refugio, Vito, Pixcuay)	Ecoltec	Tolueno en drenaje, acopio de lodos tóxicos, llantas, toner, restos de pintura	Bloqueos, pintas, denuncias
“Caminando por la Justicia” afectados por ATC	Agroquímicos ATC	Explosión en 2013	Bloqueos, pintas

A nivel regional el primer movimiento ambientalista en contra de la contaminación lo tiene el grupo de Atotonilco de Tula y Tlamaco, el cual data desde 1973, ellos se anotaron un triunfo al cerrar las puertas de la cementera la Tolteca, hicieron que se colocaran filtros recolectores de polvo e impulsan campañas de reforestación a nivel local, sin embargo, fueron víctimas de acoso gubernamental, violencia, amenazas. Sus acciones eran fotografiadas y solo prevalecen en la memoria de los participantes que aún viven. Muchas de las emisiones que son emitidas al ambiente se pierden, no hay registros, en olores, colores en el aire, en agua. Polvo sobre mezquites y magueyes a veces dan testimonio ambiental de otra época sin embargo, el uso actual de las tecnologías para grabar, fotografías de tablets, iPhone, teléfonos móviles, puede revertir este problema. Como lo testimonia el siguiente caso:

El 7 de abril de 2013 a las cuatro de la mañana explotó la fábrica de agroquímicos ATC ubicada en el Parque Industrial Atitalaquia (forma parte del corredor industrial Tula-Tepeji). De acuerdo a las autoridades solamente se recurrió a desalojar a los habitantes ubicados a 10 km a la redonda de la fábrica. No ocurrió nada dijeron. No hubo muertos, solamente un bombero intoxicado. Esta explosión fue captada por teléfonos celulares en fotografías y videos, los cuales fueron subidos a las redes sociales como el Facebook, Instagram, Twiter (Fig. 1 y Fig. 2).



Figura 1. Explosión ATC AGROQUIMICOS ATITALAQUIA HIDALGO, Imagen del video <https://www.youtube.com/watch?v=iCoi05ASGFo> subido por Pedro Olvera Rodríguez 18 Abril 2013.



Figura 2. Explosión ATC AGROQUIMICOS. Imagen diario la Jornada. 8 de abril 2013, la imagen fue enviada vía celular entre vecinos de los pueblos cercanos al lugar del incendio.

Dialogo con académicos ¿Qué nos dicen las imágenes?

Para los toxicólogos de la UNAM que apoyan la Asamblea Nacional de Afectados Ambientales es importante analizar la nube toxica que se forma al momento de la explosión, los diversos colores que emanan dan indicios del material y la composición química de los productos que se están quemando: Blanco para material vegetal; gris para caucho y otros productos de hule, amarillo-naranja para productos químicos y negro para productos de petróleo, acrílicos. También es importante observar la estratificación de la nube de humo, la altura alcanzada en la estratosfera, las reacciones químicas que están ocurriendo.

El material que se quemó en ATC agroquímicos era utilizado para la elaboración de metamidofos el producto que se elabora es conocido como Tamarón, un plaguicida organofosforado que contiene alto contenido de Cloro. Al momento del incendio las moléculas reaccionaron generando un alto contenido de dióxidos de Nitrógeno. De acuerdo a informes satelitales de la NASA las concentraciones de éste compuesto químico para la región Tula fue de 6×10^{15} , mientras que en años posteriores a nivel regional por ser una zona industrial los valores oscilan entre 4×10^{15} el mismo informe reporta que la nube toxica se expandió en un radio de 68km en dirección sur-noreste y 50 km al poniente, abarcando el Valle de México, Tizayuca, Huichapan.

5. DISCUSION

Si bien las redes sociales se utilizan con fines de entretenimiento también pueden ser una herramienta para la detonación de movimientos sociales como se demostró con la Primavera Árabe. Puede ser un instrumento valioso para la creación de redes de apoyo en la búsqueda de soluciones a la problemática ambiental que estamos viviendo. No sólo se trata de la proletarización de regiones rurales con campesinos venidos a las fábricas sino de la subsunción real del medio ambiente y el territorio a la lógica de acumulación del capital. Los efectos medioambientales, sus consecuencias muchas veces pasan desapercibidos, colocando a la población campesina en una situación de riesgo, por la laxitud de las leyes y ordenamientos ambientales, en el proceso actual procesos más sucios, más depredadores del ambiente, más generadores de residuos peligrosos serán impulsados por las recientes reformas, sin embargo desde lo profundo del territorio surgen voces que niegan que el único modelo es el hegemónico aunque tenga el apellido de sustentable o verde. Pues, desde hace ya varios años, los campesinos primeros pobladores de estas tierras decían aprendieron a vivir con la naturaleza en forma compatible, casi armoniosa.

6. CONCLUSIONES

Ante el desastre socio-ambiental que se vive en la región Tula-Tepeji que ha provocado el modelo actual de acumulación se requiere la colaboración entre quienes viven en los territorios y los expertos de la academia, las externalidades (la entropía) de los procesos productivos en forma de contaminación afecta a todos y otras formas de vida no humanas. El despojo histórico de agua, tierra, bosques, naturaleza no puede quedar sin memoria. El acto de grabar, subir fotos a las redes sociales contribuyen al abono de la memoria colectiva y de gran utilidad para futuras investigaciones aunque los hechos hayan ocurrido mucho tiempo atrás, los efectos que generaron son a futuro.

BIBLIOGRAFÍA

1. J.C. Scott. Los dominados y el arte de la resistencia, (ERA, México, 2007) pp 97-135
2. M. Wieviorka. Una sociología para el siglo XXI, (Editorial UOC, Barcelona, 2011.) pp.91-111

ELABORACIÓN DE PERLAS DE QUITOSANO PARA LA REMOCIÓN DE COLORANTES TEXTILES EN AGUAS.

Ramírez Márquez Janet¹, Castro Lino Alejandra², Javier Martínez Juárez³, Bladimir Carranza Téllez², Lidia Meléndez Balbuena²

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Alumna de la Facultad de Ciencias Químicas. ² Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Departamento de Química Inorgánica. ³ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, departamento de Semiconductores

RESUMEN

El agua es uno de los recursos naturales que se ha contaminado a lo largo del tiempo, por las industrias las cuales generan cada vez más residuos que contaminan a este vital líquido. Una de las industrias que más contamina es la industria textil ya que los residuos que esta genera (los colorantes) son más difíciles de biodegradar por los métodos convencionales empelados en la actualidad, debido a que estos residuos son cada vez más solubles en el medio de dispersión y resistentes a la luz y cambios de temperatura. Es por esta razón que se buscan nuevas alternativas que sean baratas y eficaces en la remoción de colorantes, como el quitosano, el cual es un biopolímero que se extrae de los exoesqueletos de los crustáceos y que posee la facilidad de remover colorantes en agua debido a que es un biopolímero catiónico y que tiene la facilidad de enlazarse a sustancias que están cargadas negativamente tales como colorantes, proteínas y lípidos. Debido a la eficiencia que presenta el quitosano de remover metales pesados, colorante y microorganismos de medios acuosos, se puede considerar como un material natural renovable útil para el tratamiento de aguas contaminadas. A través de la combinación del método en caliente se obtiene el quitosano de manera eficiente reduciendo costos y uso de reactivos. Este material se emplea para la formación de perlas para la remoción de colorantes en aguas.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen muchos métodos físico y químicos encargados de remover colorantes de aguas que están contaminadas con ellos, sin embargo el empleo de estos métodos en ocasiones resulta más contraproducente ya que se emplean una gran cantidad reactivos químicos para tratar de eliminar la mayor cantidad de colorante, lo que puede resultar en un exceso de químicos que pueden reaccionar con algún otro compuesto que se haya formado en el agua y originar subproductos tóxicos y que no son biodegradables, además de que los colorantes son muy solubles en el agua por lo que su remoción no es tan fácil por métodos físicos, los cuales garantizan solo eliminar una cierta cantidad de ellos. Por otro lado existen otros métodos que son muy buenos en la remoción de colorantes de las aguas, pero el inconveniente con estos métodos es que son muy costosos y en algunas zonas su empleo no es viable, debido a la economía. Los métodos biológicos son otra alternativa para el tratamiento de las aguas contaminadas con colorantes; en este tipo de métodos se emplean microorganismos que reaccionan con los compuestos que conforman a los colorantes y así poder reducirlos a formas más sencillas y fáciles de degradar. Estos métodos pueden ser aeróbicos o anaeróbicos. El quitosano es un polímero catiónico, debido que los grupos aminos libres que se encuentran a lo largo de la cadena polimérica poseen pares libres de electrones que en presencia de protones ácidos pueden ser protonados adquiriendo una carga formal positiva, lo que provoca que el quitosano se comporte como un polication, dicha característica hace que este biopolímero catiónico pueda enlazarse a lípidos, proteínas, colorantes (sustancias cargadas negativamente); al igual que esta propiedad hace que pueda actuar como

floculante, adsorbente y adherente, puede atrapar metales pesados. Debido a que la molécula del quitosano posee grupos con pares de electrones libres como los grupos hidroxilo y amino, su facilidad de formar puentes de hidrógeno con moléculas que posean hidrógenos ácidos es mucho mayor, por lo que puede poseer una estructura rígida y una buena estabilidad térmica llegando a descomponerse a 170 °C. ^[1]. El quitosano tiene la propiedad de impedir que los agentes patógenos como los virus, bacterias y hongos puedan crecer; así como también pueden activar la resistencia sistemática adquirida de las plantas que son mecanismos de defensa contra ataques de agentes externos. El mecanismo de defensa de manera natural funciona de la siguiente manera: un agente patógeno infecta a la planta provocándole un daño el cual queda guardado en la memoria de la planta y promueve a que esta active sus mecanismos de defensa contra ataques subsecuentes del agente patógeno, tanto en el punto de infección como en zonas distantes a este; mientras que el mecanismo de defensa con ayuda de una molécula inductora funciona de la siguiente manera: la molécula inductora como el quitosano, actúan dentro del organismo activando los mecanismos de resistencia sistemática adquirida de la planta contra el patógeno, retardando o impidiendo su entrada a ella ^[2]. Se ha demostrado que el quitosano con menor grado de desacetilación y mayor carácter catiónico presentan mayor actividad inhibitoria en el crecimiento de hongos; mientras que para hacer que el quitosano sea un buen antibacteriano, el pH debe estar por debajo de 6, debido a que a este valor es soluble y puede actuar mejor sobre la superficie externa de la bacteria, la cual está cargada negativamente causando aglutinación ^[1]. Este biopolímero presenta un alto peso molecular y una estructura lineal no ramificada lo que le proporciona viscosidad en medios ligeramente ácidos, esta propiedad puede aumentar al incrementar su concentración en una solución pero disminuye cuando el grado de desacetilación y la temperatura aumentan en la solución ^[3]. El quitosano con un bajo peso molecular presenta baja viscosidad, llegando a ser soluble en soluciones acuosas neutras ^[4].

2. METODOLOGIA

Sobre un baño de agua fría se coloca un vaso de precipitados, al cual se le colocó 50 gr de desecho de jaiba (seca y triturada) y se le agregó de 5 en 5 mL de ácido clorhídrico concentrado hasta a completar 50 mL, la reacción se dejó por un tiempo de 10 minutos a una temperatura de 5 °C, transcurrido este tiempo se agregó agua destilada en proporción 1:3 agua /ácido, esta solución se filtró al vacío como se muestra en la figura 1.



Fig. 1 Filtrado de la cascara desmineralizada

Las aguas madres que se obtuvieron del filtrado se le agregó una solución de hidróxido de sodio o de potasio al 70%, hasta que dejó de formarse un precipitado blanco, la solución se dejó reposar por un periodo de 24 horas y se filtró posteriormente se hizo reaccionar el precipitado blanco con 20 mL de ácido clorhídrico al 30 % por un tiempo de 120 min, a una temperatura 60°C y con agitación constante como se muestra en la figura 2. Transcurrido este tiempo la solución se filtró y se dejó secar obteniendo quitina.

Por otra parte la cascara desmineralizada se colocó en un vaso de precipitados con 30 mL de peróxido de hidrogeno al 30 % dejándola reaccionar por un periodo de tiempo de 60 min a una temperatura de 40 °C y con agitación constante para que la muestra se decolore como se muestra en la figura 3, pasado este tiempo la solución se filtró.



Figura 2: Precipitación, filtrado y reacción de la quitina



Fig.3 Decoloración de la quitina con temperatura

El siguiente paso fue desproteinizar la muestra con una solución de hidróxido de potasio al 15% agregando 5 gr de Hidrosulfito de sodio, la reacción se dejó por un tiempo de 120 min, a una temperatura de 75 °C y agitación vigorosa como se muestra en la figura 5, en este paso se obtiene la quitina, la cual se puso a reaccionar agregando una solución de hidróxido de potasio al 2%, para llevar a cabo la purificación de esta por un tiempo de 120 min a una temperatura de 40 °C y agitación como se muestra en la figura 6, pasado este tiempo la solución se filtró y la quitina obtenida se dejó secar a temperatura ambiente por un periodo de 24 horas.



Fig. 5 Desproteinización



Fig. 6: Purificación

La Quitina obtenida tanto de las aguas madres como de las cascara se desacetilaron cuando se hizo reaccionar en una solución de hidróxido de potasio al 70% por un tiempo de 120 min, a una temperatura de 120 °C y agitación, luego se realiza una segunda desacetilación con NaOH al 70% por un periodo de tiempo de 120 min, a una temperatura de 120 °C y agitación vigorosa como se muestra en la figura 7, obteniendo finalmente Quitosano.



Fig. 7: Desacetilización de la quitina con hidróxido de potasio y sodio al 70% y obtención de quitosano

Formación de perlas.

El quitosano obtenido del método en caliente se disolvió en ácido acético al tres por ciento para la formar perlas las cuales fueron empleadas en la remoción de colorantes en aguas de esta manera poder comprobar la efectividad del quitosano obtenido.

La técnica que se siguió para la formación de perla fue la de entrecruzamiento de quitosano con glutaraldehído: Se disuelve el quitosano en ácido acético diluido con agitación vigorosa hasta obtener una solución viscosa y transparente, la cual se adiciona gota a gota sobre una solución de KOH al 2 N, formándose al instante las perlas y siendo agitadas por un orbital. Posteriormente las perlas se filtran y se lavan con agua, y se depositan en una solución de glutaraldehído al 2.5% con agitación como se puede observar en la figura 8a Por otro lado se realiza nuevamente la formación de perlas de quitosano sin glutaraldehído, siguiendo los pasos anteriores, obtenido las perlas como se muestran en la figura 8b.



Figura 8a formación de perlas de quitosano con glutaraldehído y 8b sin glutaraldehído

Las soluciones obtenidas se probaron con 0.2 g de quitosano en perlas, aglutinadas con glutaraldehído y sin glutaraldehído durante un tiempo de ocho día, posteriormente se les midió la absorbancia mediante espectroscopía UV-VIS en las aguas resultantes para medir la concentración de colorante retenido perlas de quitosano, como se muestra en la figura 9.



Fig. 9 Tratamiento con perlas de quitosano de aguas contaminadas con colorantes puesta durante 8 días

En la figura 10 y 11 se puede observar la función del quitosano como retenedor de colorante solo que este es retenido con mayor eficiencia cuando este se encuentra con glutaraldehído



Fig. 10 Perlas de quitosano reticuladas **con** glutaraldehído

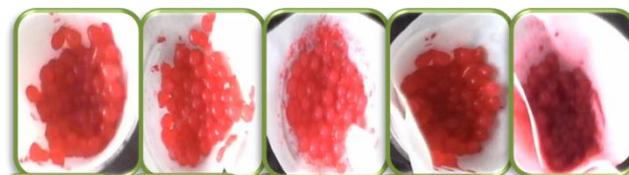


Fig 11 perlas de quitosano **sin** glutaraldehído

Tabla 12: Calculo de la concentración de colorante presente en las aguas tratadas con quitosano.

	Perlas de Quitosano	Perlas de Quitosano Entrecruzado con glutaraldehído
Muestra 1: 0.01g colorante/100 ml agua.	$0.044848 = 0,0124x + 0.038$ $x = (0.0124 - 0.038)/0.044848$ $x = \mathbf{0.55064 ppm}$	$0.022068 = 0,0124x + 0.038$ $x = (0.0124 - 0.038)/0.022068$ $x = \mathbf{1.2848 ppm}$
Muestra 2: 0.05g colorante/100 ml agua.	$0.0643 = 0,0016x + 0.0224$ $x = (0.0224 - 0.0643)/0.0016$ $x = \mathbf{26.1875 ppm}$	$0.11571 = 0,0016x + 0.0224$ $x = (0.0224 - 0.11571)/0.0016$ $x = \mathbf{58.31875 ppm}$
Muestra 3: 0.1g colorante/100 ml agua.	$0.063105 = 0.0029x + 0.0172$ $x = (0.0172 - 0.063105)/0.0029$ $x = \mathbf{15.82931 ppm}$	$0.14433 = 0.0029x + 0.0172$ $x = (0.0172 - 0.14433)/0.0029$ $x = \mathbf{43.8379 ppm}$
Muestra 4: 0.5g colorante/100 ml agua.	$0.81972 = 0.0005x + 2.0039$ $x = (2.0039 - 0.81972)/0.0005$ $x = \mathbf{2368.36 ppm}$	$0.3073 = 0.0005x + 2.0039$ $x = (2.0039 - 0.3073)/0.0005$ $x = \mathbf{3393.2 ppm}$
Muestra 5: 1g colorante/100 ml agua.	$1.7256 = 0.0001x + 2.7544$ $x = (2.7544 - 1.7256)/0.0001$ $x = \mathbf{10288 ppm}$	$0.26852 = 0.0001x + 2.7544$ $x = (2.7544 - 0.26852)/0.0001$ $x = \mathbf{24858.8 ppm}$

3. CONCLUSIONES

Se logró obtener quitosano por medio de la combinación de dos métodos en frío y caliente. Sin embargo se pudo comprobar que el método más eficiente fue por el método en caliente debido a que el quitosano que se obtuvo siguiendo el método en frío no paso la prueba de la solubilidad siendo esta una de las pruebas más importante en a caracterización del quitosano

La prueba de solubilidad en ácido acético al 3% y 6% fue eficiente para el quitosano obtenido por el método en caliente debido a que en la literatura muestra que este es el rango en el que se disuelve el quitosano, mientras que por el método en frío no hay buena solubilidad.

Una prueba final fue la aplicación en forma de perla que se le dio al quitosano obtenido por el método en caliente en la formación de las perlas reticuladas con gluteraldehído ya que el quitosano obtenido por el método en frío no paso las prueba de solubilidad no permitió la formación de las perlas.

Se demostró la eficiencia de retención de colorante en aguas del quitosano obtenido por el método en caliente por medio de la medición de UV-Vis ya que por sí solo demostró ser un buen retenedor de colorante

BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez, P, A. T; Rivero, G, D; Bosquez, M, E; Barrera; N, L.L y Bautista; B, S. (2009, septiembre). *Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos Fitopatógenos*. Revista Chapingo serie horticultura, 15(3), 307-317.
2. Gómez, E.D; Reis, E.M (2011, mayo). Inductores abióticos de resistencia Fitopatógenos. Revista Química Viva [en línea], No. 1. Disponible en: quimicaviva@qb.fcen.uba.ar [2015, 30, mayo].
3. Camacho, V (2007) Obtención de quitosano por desacetilación de quitina vía enzimática. Tesis para obtener el título de ingeniero. D.F., Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, Instituto politécnico nacional
4. Gonzales, C; Valbuena, A; Celis, B; Perentena, L y Colina, M. (2015, enero). Degradación oxidativa de quitosano con peróxido de hidrogeno. Revista Iberoamericana de Polímeros, 16(1), 43-68.

ASOCIACIÓN DE LA LONGITUD TELOMÉRICA Y EL NÚMERO DE COPIAS DE ADN MITOCONDRIAL EN NIÑOS MEXICANOS PROVENIENTES DE SALAMANCA, GUANAJUATO.

Marion Velázquez Villafaña¹, Jorge A. Alegría Torres¹, Juan M. López Gutiérrez², Diana Rocha Amador¹, Rogelio Costilla Salazar², Marcela Chagoyán Martínez³, Lizeth García Torres⁴

¹Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Farmacia. ²Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Ciencias Ambientales, ³Instituto Politécnico Nacional, Unidad Interdisciplinaria de Ingeniería, Campus Guanajuato, ⁴Universidad del Centro de México, Laboratorio de Investigación Molecular en Nutrición.

RESUMEN

La longitud telomérica y el número de copias de ADN mitocondrial (ADNmit) pueden sufrir alteraciones por exposición a contaminantes ambientales en los seres vivos. En México existe una problemática de impacto ambiental que ha incrementado en los últimos años ocasionada por diversos factores sobre el medio ambiente. El municipio de Salamanca, Guanajuato presenta altos niveles de tóxicos debido al asentamiento industrial, por lo que en este proyecto se determinó la asociación de ambos biomarcadores en 98 niños mexicanos entre los 6 a 12 años que asisten a cuatro escuelas ubicadas en la zona industrial. Se aisló el ADN de 98 niños a partir de sangre periférica, se determinó la longitud telomérica relativa y el número de copias de ADNmit por PCR cuantitativa usando el gen de beta-globina como referencia. Se obtuvieron las medias de la longitud telomérica relativa y el número de copias de ADNmit obteniendo una correlación de 0.72 ($p < 0.0001$). Al analizar estos parámetros por sexo, edad e índice de masa corporal no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos pueden sugerir una co-regulación de ambos biomarcadores y un posible efecto del impacto ambiental sobre los mismos. Sin embargo, es necesario analizar otros factores ambientales, nutricionales, sobre estilo de vida y genéticos que pueda influir en ambos biomarcadores.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el aumento de casos por exposición a agentes tóxicos en México ha provocado la preocupación de científicos y de la población, implicando la evaluación de los daños que provocan en los distintos estados del país y en la población vulnerable a exposiciones debido a actividades antropogénicas, a contaminantes naturales, al consumo de productos contaminados, al estilo de vida y al ambiente laboral. El estado de Guanajuato no ha sido la excepción, En la región de El Bajío, se ha desarrollado la agricultura, ganadería e importantes empresas nacionales y extranjeras de distintos giros para la economía del país (automotriz, industria química, electrodomésticos, cuidado personal, agroindustria, etc.) han construido sus fábricas en esta zona y constituye un importante corredor industrial que va desde Apaseo el Grande hasta León, Celaya, Salamanca e Irapuato los cuales, por sus actividades, han sido impactados ambientalmente.

En este contexto, uno de los municipios que ha sido afectado ambientalmente de forma constante es Salamanca y su actividad económica dominante es la industrial y agrícola. Salamanca posee un historial ambiental deteriorado en las distintas fuentes primordiales: agua, suelo y aire, las cuales

representan un riesgo en la salud de los habitantes principalmente en la población infantil y en los trabajadores que laboran en las zonas industriales.

2. TEORÍA

Los telómeros son secuencias repetitivas de ADN situados en los extremos de los cromosomas lineales los cuales se encargan de proteger a los genes del organismo de ser erosionados a través de los ciclos sucesivos de replicación del ADN (Campbell, 2007). Los telómeros son muy sensibles a la presencia de radicales libres y existe una relación causa-efecto entre daño telomérico y estrés oxidativo, observándose notables acortamientos teloméricos en los cromosomas de las células del organismo. Por ello, el acortamiento telomérico es un biomarcador molecular de efecto temprano que puede ser medido en poblaciones expuestas a distintos compuestos tóxicos (Tyrka, et al., 2015).

Por otra parte, la mitocondria es un organelo celular de generación de energía que convierte la ingesta de alimentos en adenosín trifosfato usando la cadena de transporte de electrones produciendo especies reactivas de oxígeno que pueden conducir a un daño al ADN mitocondrial y un deterioro de la cadena respiratoria.

Debido a que Salamanca es un municipio con actividad petroquímica y energética, las emisiones de contaminantes podrían estar impactando a los habitantes del municipio a niveles subclínicos siendo la población infantil uno de los sectores más vulnerables. Uno de estos contaminantes es el benceno, cuya exposición prolongada provoca anemia, alteraciones en médula ósea y huesos y leucemia, entre otros (ATSDR, 2007). Un metabolito del benceno en orina es el ácido *trans, trans*-mucónico el cual es un biomarcador de exposición a benceno y que puede ser medido en población expuesta. Un marcador molecular actualmente correlacionado con la exposición a benceno es el número de copias de ADN mitocondrial (Carugno, et al., 2012).

Por lo anterior, se propuso determinar el número de copias de ADNmit y la longitud telomérica de forma relativa, en sangre periférica de niños que asisten a escuelas cercanas o dentro de las zonas con actividad industrial, así como la correlación entre ambos biomarcadores.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Se incluyeron 98 niños (43 niños y 55 niñas) de entre 6 y 12 años que asistían a cuatro escuelas primarias cercanas a la zona industrial de Salamanca, Gto. en donde se determinó el ácido *t,t*-mucónico en orina como biomarcador de exposición a benceno mediante cromatografía de líquidos de alta eficacia. Se aisló ADN a partir de sangre periférica de todos los niños y se determinó la longitud telomérica y el número de copias de ADN mitocondrial, ambos de forma relativa mediante PCR cuantitativa usando el gen de beta-globina como referencia (Cawthon, 2009). Se realizaron análisis de correlación entre el biomarcador de exposición y los biomarcadores de efecto, así como entre éstos últimos.

4. RESULTADOS

La concentración promedio que se obtuvo del ácido *trans, trans*-mucónico, fue de 177.41 µg/g de creatinina (DE±127.65), estando por debajo del valor de referencia (NOM-047-SSA1-2011 (ACGIH, 2016) en los niños de la zona industrial. No se encontraron diferencias significativas en el número de copias de ADN mitocondrial y la longitud telomérica entre los subgrupos clasificados por edad (6-9 vs. 10-12 años), por género, ni por el índice de masa corporal (normal vs. sobrepeso-obesidad) (Tabla 1). Se encontró un coeficiente de correlación de Pearson de 0.72 (P>0.001) para log-normal de la longitud telomérica y log-normal para el número de copias de ADN mitocondrial.

Tabla 1. Comparación de medias de longitud telomérica y número de copias de ADN mitocondrial por edad, género e índice de masa corporal.

Variable	Longitud telomérica (media± SD)	Número de copias de ADN mitocondrial (media±SD)
Todos (n=98)	1.03±0.74	1.57±1.53
Edad		
6-9 años (n=32)	1.02±0.78	1.5±1.45
10-12 años (n=55)	1.04±0.72	1.62±1.57
	0.84*	0.17*
Género		
Hombre (n=43)	0.99±0.69	1.57±1.75
Mujer (n=55)	1.05±0.76	1.54±1.32
	0.85*	0.84*
Índice de masa corporal		
Peso normal (n=85)	1.1±0.74	1.56±1.53
Sobrepeso-obesidad (n=13)	1.13±0.7	1.61±1.41
	0.43*	0.52*

*Valor de P, Mann-Whitney U Test

5. CONCLUSIONES

Una correlación entre la longitud telomérica y el número de copias de ADN mitocondrial considerable podría influir a que la población de estudio esté en riesgo y a la prevención de un futuro con alto impacto ambiental. A pesar de que este estudio refleja un panorama específico hacia un contaminante, es importante estudiar una co-exposición con algún otro tóxico involucrado en la región de estudio, analizar otros tóxicos individuales y considerar que se tienen distintos factores ambientales, nutricionales y genéticos que pueden alterar los procesos biológicos de cada individuo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Campbell NA, Reece JB, et al. *Biología*. 7ma edición. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2007. pp. 306 y 307.
2. Audrey R. Tyrka, Linda L. Carpenter, Hung-Teh Kao, Barbara Porton, Noah S. Philip, Samuel J. Ridout, Kathryn K. Ridout, Lawrence H. Price. Association of telomere length and mitochondrial DNA copy number in a community sample of healthy adults. *Exp Gerontol*. 2015 Jun;66:17-20.
3. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). ToxFAQs Benzene (Benzene). División de Toxicología y Medicina Ambiental; 2007 [13/09/15]. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts3.html
4. Carugno M, Pesatori AC, Dioni L, Hoxha M, Bollati V, Albetti B, Byun HM, Bonzini M, Fustinoni S, Cocco P, Satta G, Zucca M, Merlo DF, Cipolla M, Bertazzi PA, Baccarelli A. *Environ Health Perspect*. 2012. Increased mitochondrial DNA copy number in occupations associated with low-dose benzene exposure. 120, 210-215.
5. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res*. 2009;373:e21.
6. Defining the Science of Occupational and Environmental Health ACGIH. Guide to Occupational Exposure Values; 2016. Disponible en: <http://www.acgih.org/forms/store/ProductFormPublic/2016-guide-to-occupational-exposure-values>.

COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DERIVADOS DE TETRAZOLES CON POTENCIAL APLICACIÓN EN REMEDIACIÓN DE METALES PESADOS

Cárdenas-Galindo Luis¹, Beltrán-Acosta Monserrat¹, Rentería-Gómez Ángel² Dra. Gámez-Montaña Rocío*²

¹Universidad Tecnológica de Salamanca. ²Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló una metodología novedosa y se aplicó a la síntesis de compuestos heterocíclicos nitrogenados de tipo tetrakis-tetrazoles 1,5-disustituidos; la estrategia sintética se basa en el uso de la reacción de multicomponentes (RMC) Ugi-azida1(a-b) mediante un proceso "one pot". Los productos Ugi-azida generados in situ actúan como componente amino en el proceso de post-condensación vía una reacción Ugi-azida repetitiva.

Los heterociclos tetrazol tienen la capacidad de formar complejos de coordinación con metales pesados, en este contexto, se propone la síntesis de tetrakis-tetrazol-etanodiaminas, de gran interés en química ambiental ya que pueden tener una potencial aplicación en remediación de metales pesados presente en muestras de aguas contaminadas.

Inicialmente se llevó a cabo la síntesis de una familia de N1,N1,N2,N2-tetrakis((1H-tetrazol-5-il)metil)diaminas en una etapa de reacción, a partir de la etilendiamina, paraformaldehído, un isonitrilo y la trimetilsililazida para obtener moléculas con cuatro anillos de tetrazol, con posible aplicación como agentes quelantes para evaluar su habilidad de atrapar iones metálicos.

1. INTRODUCCIÓN

La reacción de multicomponentes (RMC) de Ugi constituye en la actualidad una herramienta muy poderosa en la síntesis orgánica,² ya que permite obtener compuestos heterocíclicos y poliheterocíclicos nitrogenados con diferente naturaleza estructural. La combinación de la RMC-I con otros procesos químicos permite incrementar el potencial sintético de esta reacción y sintetizar productos naturales y otros compuestos de cierta complejidad de interés en diversas áreas de la química (Figura 1).^{3(a-d)}

A diferencia de las síntesis multietapas, que se llevan a cabo de manera divergente en varias etapas de reacción con una baja eficiencia y baja diversidad orientada a una molécula específica; las RMC son procesos convergentes, en las cuales tres o más materiales de partida reaccionan para formar un aducto, que contiene todos o la mayoría de los átomos de los reactivos de partida.⁴ Una de las grandes ventajas de las RMC es la posibilidad de generar diversidad estructural cambiando la naturaleza de uno o más materiales de partida, así mismo permite generar librerías o familias de compuestos estructuralmente diferentes.³

Contrario a las metodologías tradicionales multipasos usadas para generar moléculas de cierta complejidad molecular, las RMC permiten preparar dichas moléculas en un solo paso de reacción.^{5(a-b)}

El término “metal pesado”, a pesar de ser ampliamente utilizado entre los profesionales y científicos, no tiene una base científica rigurosa o una definición química. Aunque muchos de los elementos que se enlistan en el término “metal pesado” tienen una gravedad específica mayor que cinco, existen diversas excepciones a esta regla.

Estrictamente, y desde el punto de vista químico, los metales pesados están constituidos por elementos de transición y post-transición incluyendo algunos metaloides como el arsénico y selenio. Estos elementos tienen una gravedad específica significativamente superior a la del sodio, calcio, y otros metales ligeros. Por otro lado, estos elementos se presentan en diferente estado de oxidación en agua, aire y suelo y presentan diversos grados de reactividad, carga iónica y solubilidad en agua.

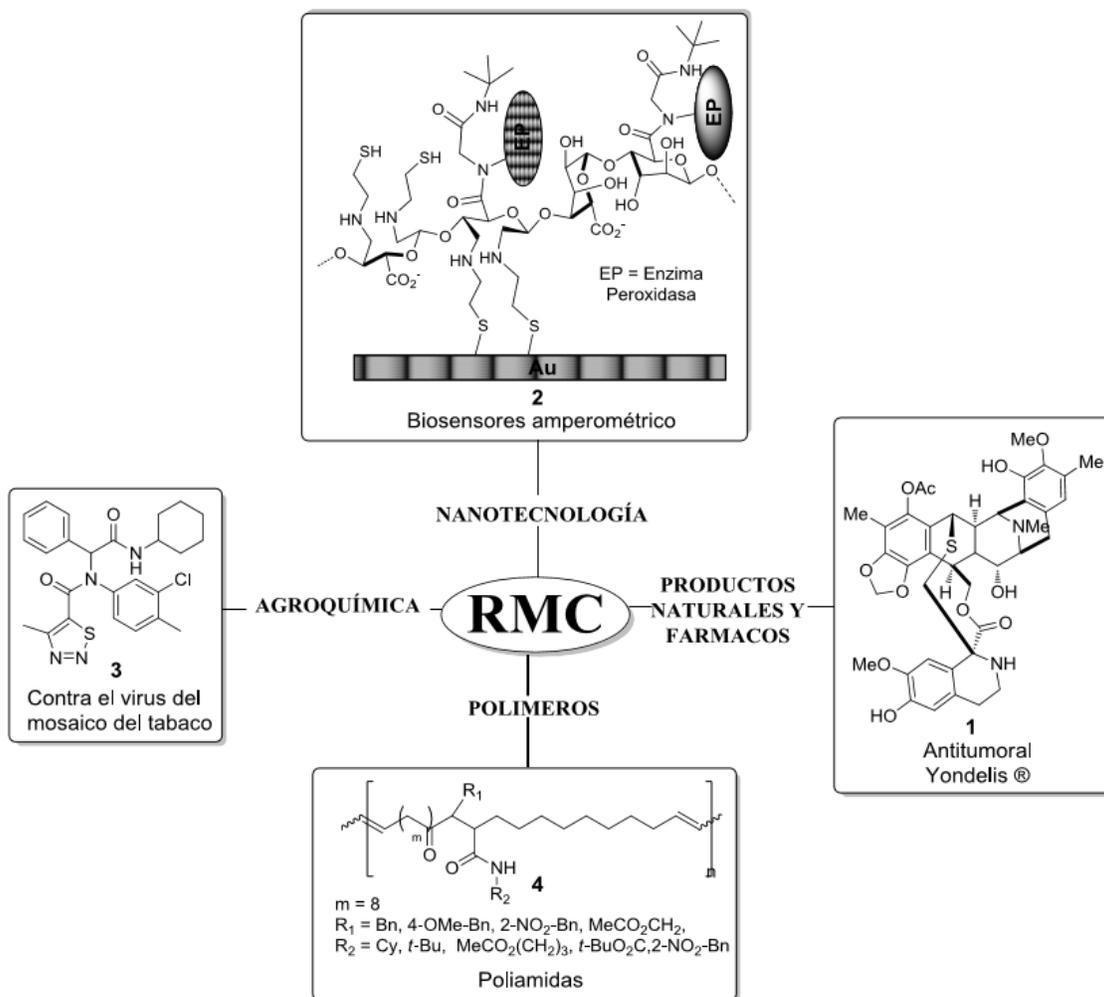


Figura 1. Aplicaciones del proceso RMC.

Una forma opcional de nombrar a este grupo es como “elementos tóxicos”, los cuales, de acuerdo a la lista de contaminantes prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados

Unidos (USEPA), incluyen a los siguientes elementos: arsénico, cromo, cobalto, níquel, cobre, zinc, plata, cadmio, mercurio, titanio, selenio y plomo.^{6, 7}

Las principales amenazas para la salud humana atribuida a metales pesados están asociadas con la exposición al plomo, cadmio, mercurio y arsénico. Estos metales han sido ampliamente estudiados y sus efectos sobre la salud humana son revisados periódicamente por los organismos internacionales como la OMS.

Datos recientes indican que los efectos adversos para la salud de la exposición a metales pesados puede ocurrir a niveles de exposición más bajos de lo previsto, sobre todo en forma de daño renal, efectos óseos, degeneración del sistema nervioso central, daños en vías respiratorias, cáncer, entre otros. Muchas personas en el mundo ya superan estos niveles de exposición; por lo tanto, se deben tomar medidas para reducir la exposición a metales como el cadmio en la población en general a fin de minimizar el riesgo de efectos adversos para la salud. La población general está expuesta al plomo presente en el aire y los alimentos en proporciones aproximadamente iguales.⁸

Una de las formas más utilizadas de remediación de metales pesados en diferentes entornos, se realiza a través de la utilización de compuestos orgánicos que actúan como ligantes y que son capaces de “atrapar” los diferentes iones metálicos modificando, inhibiendo o incluso eliminando la toxicidad de los metales. Un tipo de ligantes en desarrollo en los últimos años son los del tipo tetrazoles, los cuales cuentan con una potencial actividad “quelante” para diversos iones metálicos.

Algunas aplicaciones de los compuestos que contienen anillos de tetrazol han sido reportadas por el grupo de investigación de Touti y colaboradores en 2009 y 2010,^{9(a-b)} quien se ha enfocado a la síntesis de compuestos que actúan como quelatos tipo EDTA, los cuales denominaron N,N,N',N'-tetrakis(tetrazolilmetil)-1,2-etanodiamina 12 (EDTT), usados en la química de coordinación como ligantes. Este grupo de investigación utiliza diferentes metodologías multietapas para unir varios núcleos de tetrazol 1,5-disustituidos y obtener productos con 2, 3 y 4 anillos de este heterociclo (10, 11 y 12 respectivamente) (Figura 3); la metodología consistió en hacer reaccionar azida de sodio con nitrilos. Otros ligantes que contienen el núcleo de tetrazol han sido reportados para la formación de complejos de coordinación con metales como lantánido, denominados H₃pytctn 13 y H₂terpytz 14 (Figura 2) y metales como estroncio y bario.¹⁰

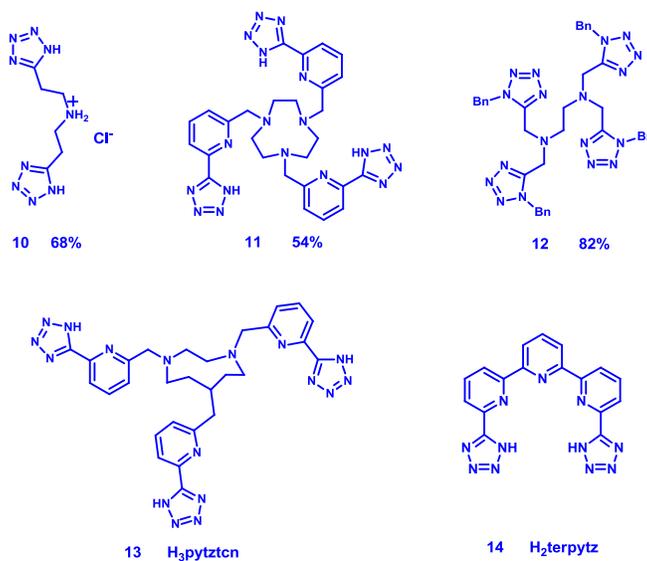


Figura 2. Compuestos los que contienen más de un anillo de tetrazol.

3. PARTE EXPERIMENTAL

La metodología propuesta se basa en una RMC Ugi-azida repetitiva¹¹ utilizando materiales de partida accesibles, tales como la etilendiamina 15, el formaldehído 16 el isonitrilo 17 y la TMSN₃ 18 como fuente de azida para la preparación de bis-tetrazoles 1,5-disustituídos 19, mediante un proceso de post-condensación in situ en el cual, el bis-tetrazol actúan como una diamina secundaria en un segundo proceso de RMC Ugi-azida para generar heterociclos nitrogenados del tipo N1,N1,N2,N2-tetrakis((1H-tetrazol-5-il)metil)etano-1,2-diamina 20 conocidos como tetrakis-tetrazoles, que contienen en su estructura cuatro anillos de tetrazol.

Síntesis de tetrakis-tetrazoles

En base a los reportes descritos en la literatura se llevó a cabo la síntesis de los compuestos que contienen anillos de tetrazol 20(a-b): En un matraz redondo equipado con una barra de agitación magnética se disolvió etilendiamina 15 (1.0 equiv.), paraformaldehído 16 (4.0 equiv.), isonitrilo 17 (4.0 equiv.), azidotrimetilsilano 18 (4.0 equiv.) e hidróxido de sodio (0.05 mol %) en MeOH (1.0M). La mezcla resultante se agitó durante 1h a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte de N₂. Después de 1h en agitación vigorosa, el disolvente fue evaporado bajo condiciones de presión reducida; el avance de la reacción se monitoreó mediante cromatografía en capa fina. Posteriormente el crudo de reacción se precipitó, obteniendo los productos 20(a-b).

4. RESULTADOS

En este trabajo se describe la síntesis rápida de tetrakis-tetrazoles 1,5-disustituídos 20 (a-b) con buenos rendimientos (75-83%) mediante una RMC Ugi-azida repetitiva libre de catálisis. Las condiciones de reacción fueron optimizadas empleando materiales de partida comercialmente accesibles, tales como la etilendiamina 15, el paraformaldehído 16, isonitrilos 17 y la TMSN₃ 18 en MeOH en condiciones de reacción suaves (temperatura ambiente) (Figura 3). Estos rendimientos no dependen de la naturaleza estructural y electrónica del componente isonitrilo de partida. Como se puede observar, en el proceso de Multicomponentes se utilizaron aril y alquil-isonitrilos lo que permitió modificar la naturaleza estructural y electrónica del sustituyente en átomo de nitrógeno del anillo de tetrazol. Por lo tanto, la principal contribución de nuestro trabajo es la simplicidad operativa de esta metodología de Multicomponentes para acceder a bibliotecas de nuevos tetrakis-tetrazoles 1,5-disustituídos en condiciones suaves. En comparación con otros reportes en los que se requieren altas temperaturas, catalizadores, medios ácidos fuertes o metodologías que involucran varias etapas de reacción.^{9,10,12,13,14} Los tetrakis-tetrazoles 1,5-disustituídos 20(a-b) obtenidos en este trabajo podrían ser usados como precursores de agentes quelantes con potencial aplicación en remediación de metales pesados.

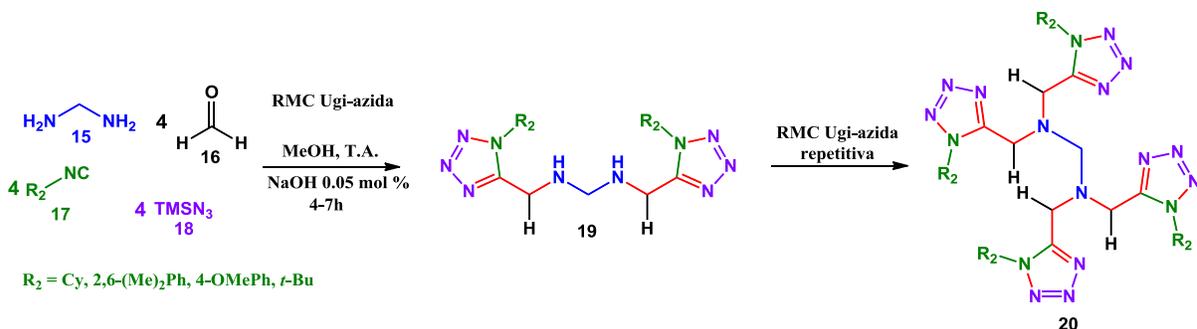


Figura 3. Esquema general de síntesis de N1,N1,N2,N2-tetrakis((1H-tetrazol-5-il)metil)etano-1,2-diaminas.

En la figura 4 se observan los productos obtenidos mediante la metodología propuesta, la cual involucra una RMC Ugi-azida repetitiva con rendimientos buenos, en una etapa de reacción; estos productos fueron caracterizados mediante técnicas de Resonancia Magnética Nuclear ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

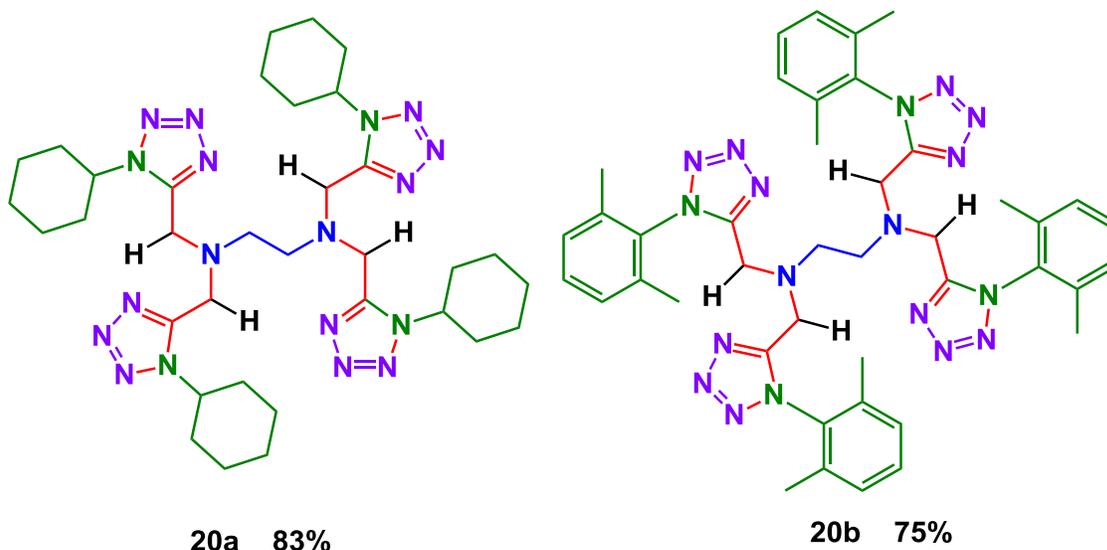


Figura 4. Síntesis de $N1,N1,N2,N2$ -tetrakis((1H-tetrazol-5-il)metil)etano-1,2-diaminas 20(a-b).

Los tetrakis-tetrazoles 1,5-disustituidos presentan diferente patrón de sustitución en el anillo de tetrazol (componente isonitrilo). Lo que permitirá evaluar el efecto del sustituyente en el proceso de coordinación con iones metálicos.

Perspectiva

Se llevará a cabo la síntesis de compuestos de coordinación utilizando diferentes sales de metales de transición que se elegirán dependiendo de la naturaleza estructural y electrónica de los productos sintetizados. La técnica para la formación de los compuestos de coordinación consiste esencialmente en la mezcla de reacción entre la disolución de la sal del catión metálico con la disolución del ligante, en diferentes proporciones (metal:ligante), ya que dependiendo de las características coordinantes del ligante, dichas proporciones pueden variar a 2:1 (metal: ligante), o incluso 3:1 para casos especiales, dependiendo de la naturaleza del ion metálico y de las propiedades del ligante.

5. CONCLUSIONES

Los tetrakis-tetrazoles 1,5-disustituidos fueron preparados en una etapa de reacción en buenos rendimientos (75-84%) mediante una metodología basada en la reacción de multicomponentes Ugi-azida bajo condiciones de reacción suaves y libre de catálisis.

Los productos obtenidos se utilizarán como precursores para formar complejos de coordinación con el propósito de que permitan aplicar en remediación de metales pesados en muestras de aguas contaminadas.

La RMC Ugi-azida repetitiva es un método versátil y eficiente en la síntesis de politetrazoles, ya que esta metodología permite la síntesis de familias de compuestos con aplicación en química de coordinación los cuales contienen varios anillos de tetrazol en su estructura,

BIBLIOGRAFÍA

1. (a) Cárdenas-Galindo, L. E.; Islas-Jácome, A.; Álvarez-Rodríguez, N. V.; El Kaim, L.; Gámez-Montaño, R. *Synthesis*, 2014, 46, 49-56. (b) Cárdenas-Galindo, L. E.; Islas-Jácome, A.; Álvarez-Rodríguez, N. V.; El Kaim, L.; Gámez-Montaño, R. Cortés-García, C. J. *J. Mex. Chem. Soc.* 2013, 57, 283-289.
2. Kishore, K.; Ghashghaei, O.; Estarellas, C.; Mestre, M. M.; Monturiol, M.; Kielland, M.; Kelly, J.; Muñoz-Torrero, D.; Pérez, B.; Luque F. J.; Gámez-Montaño, R.; Lavilla, R. *Angewante Chemie Int Ed.* 2016. DOI: 10.1002/anie.201604109, 10.1002/ange.201604109 IN PRESS.
3. (a) Camacho, C.; Martí, J. C.; García, D.; Villalonga, R. *Electrochemistry Comm.* 2007, 9, 1655-1660. (b) Zuo, X.; Mi, N.; Fan, Z.; Qingxiang, Z.; Zhang, H.; Wang, H.; Yang, Z. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58, 2755-2762. (c) Kreye, O.; Oguz, T.; Sehlinger, A.; Rackwitz, J.; Meier, M. A. *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 5767-5776. (d) Touré, B.; Hall, D.; *Chem. Rev.* 2009, 109, 4439-3386.
4. Dömling, A.; Ugi, I. *Angew. Chem. Intl. Ed.* 2000, 39, 3168-3210.
5. Burke, M. D.; Schreiber, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 46-58. (b) Galloway, W.; Llobet, A. I.; Spring, D. R. *Nat. Commun.* 2010, 1, 80-81.
6. Gunnar, F.; Nordberg, B. A.; Fowler, M. N.; Lars, T. F.: *Handbook on the Toxicology of Metals* (Bjerregaard, P.; Andersen, O.) Elsevier Inc. 2007, p. 251-280.
7. Czaja, A. U.; Trukhan, N.; Müller, U. *Chem. Soc. Rev.* 2009, 38, 1284-1293.
8. Tranchemontagne, D. J.; Mendoza-Cortes, J. L.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. *Chem. Soc. Rev.* 2009, 38, 1257-1283.
9. (a) Touti, F.; Maurin, P.; Hasserodt, J. *Eur. J. Org. Chem.* 2009, 1495-1498. (b) Touti, F.; Avenier, F.; Lefebvre, Q.; Maurin, P.; Hasserodt, J. *Eur. J. Org. Chem.* 2010, 1928-1933. 26.
10. Giraud, M.; Andreiadis, E. S.; Fisyuk, A. S.; Demadrille, R.; Pècaut, J. *Inorg. Chem.* 2008, 47, 3952-3954.
11. Cárdenas-Galindo, L., Islas-Jácome, A., Colmenero-Martínez, K., Martínez-Richa, A., Gámez-Montaño, R. *Molecules*, 2015, 20, 1519-1526
12. Marcos, C. F.; Marcaccini, S.; Menchi, G.; Pepino, R.; Torroba, T. *Tetrahedron Lett.* 2008, 49, 149-152. 14.
13. Schaffer, E. S.; Höfner, G.; Wanner, K. T. *Bioorg. Med. Chem.* 2011, 19, 6492-6504.
14. Gunawan, S.; Petit, J.; Hulme, C. *Comb. Sci.* 2012, 14, 160-163;

PROTEÓMICA DE *Porphyromonas gingivalis* PARA LA CAPTACIÓN DE HIERRO A PARTIR DE METALOPROTEÍNAS, ANÁLISIS *IN SILICO*.

Marco Antonio González López^{1*}, Marcia Gutiérrez Cardenas², Michael Shea³, José de Jesús Olivares Trejo⁴, Ana María Fernández Presas⁵.

¹CONACyT-Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. ²Departamento Atención a la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. ³Departamento de educación y comunicación. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. ⁴Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México. ⁵Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional Autónoma de México. *Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud. C.P. 04960, Del. Coyoacán. México DF.

RESUMEN

Las bacterias patógenas que invaden al ser humano han desarrollado mecanismos para adquirir hierro a partir de metaloproteínas como la lactoferrina (Lf), ferritina (Ft), transferrina (Tf) y hemoglobina (Hb), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) es una bacteria Gram negativa, encapsulada, anaerobia estricta, coloniza el surco gingival, la presencia de esta bacteria está relacionada con sangrado por destrucción crónica del periodonto y gingivitis. *P. gingivalis* requiere de hierro para su metabolismo y es incapaz de sintetizar anillos de protoporfirina, los cuales podría obtener a partir de fuentes como la Hb, abundante durante el sangrado. Nos propusimos identificar mediante un análisis *in silico* proteínas de *P. gingivalis* que tengan afinidad por la Hb. Se realizó una búsqueda de secuencias proteicas en el servidor NCBI, BLASTP contra el proteoma de *P. gingivalis*. Se obtuvieron las secuencias y se alinearon en el programa ClustalW, se realizó un modelaje de las secuencias encontradas con el servidor CPHModels y con el programa PyMol V 0.99 se realizó un modelaje tridimensional con la información obtenida. Tras este análisis encontramos que *P. gingivalis* posee proteínas de membrana capaces de unir hemoproteínas como la Hb y de esta manera satisfacer sus necesidades de hierro y protoporfirina.

1. INTRODUCCIÓN.

El hierro es un elemento esencial para el ser humano, forma parte de la estructura de proteínas y es necesario para el buen funcionamiento de enzimas donde es parte del centro catalítico¹. Sin embargo el hierro tiene la capacidad de generar radicales libres por lo que es necesario almacenarlo en metaloproteínas como lactoferrina (Lf), ferritina (Ft), transferrina (Tf) y hemoglobina (Hb); por lo tanto las bacterias patógenas han desarrollado mecanismos para adquirir hierro a partir de estas metaloproteínas. Un ejemplo son las proteínas de membrana capaces de unir Hb, estas proteínas presentan características que le confieren esta capacidad de unión, en concreto se trata de motivos de aminoácidos que son conocidos como FRAP y NPNL². *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) es una bacteria gram negativa, inmóvil, anaerobia estricta, posee factores de virulencia que le permiten colonizar el surco gingival a través de enzimas proteolíticas, fimbrias y vesículas; la presencia de esta bacteria está relacionada con la destrucción crónica del periodonto, gingivitis, pulpitis y abscesos periodontales y al igual que otras bacterias patógenas requiere de hierro para su metabolismo, además, *P. gingivalis* es incapaz de sintetizar anillos de protoporfirina IX los cuales también podría obtener a partir de la Hb³. La presencia de *P. gingivalis* a nivel de cavidad oral provoca sangrado, lo cual aprovecha la bacteria para satisfacer sus necesidades de hierro y

protoporfirina IX, sin embargo se desconoce qué proteínas de membrana posee *P. gingivalis* para hacerse de estos elementos, por lo que nuestro objetivo es localizar en el proteoma de *Porphyromonas gingivalis* proteínas con la capacidad de unir hemoglobina.

2. PARTE EXPERIMENTAL.

Para el análisis *in silico* se utilizó la proteína ChuA (Q7DB97) de *E. coli* ECEH O157:H7 que tiene la capacidad de unir Hb a través de los motivos FRAP y NPFL (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), la secuencia de aminoácidos de la proteína ChuA fue lanzada contra el proteoma de *P. gingivalis* utilizando el servidor: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>, las proteínas encontradas fueron analizadas en busca de los motivos FRAP y NPFL en el servidor ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>), posteriormente se analizó un fragmento de las proteínas que contenían los motivos FRAP y NPFL mediante el programa JalView 2.8. Finalmente se realizó un modelaje de las secuencias encontradas con el servidor <http://www.cbs.dtu.dk/services/CPHmodels> obteniéndose un archivo PDB el cual fue modelado tridimensionalmente con el programa PyMol 0.99.

3. RESULTADOS.

La proteína ChuA de *E. coli* fue utilizada como molde para lanzarse contra el proteoma de *P. gingivalis*, la información recibida de este servidor nos mostró un total de 4 proteínas, las cuales son homologas y tienen similitud entre un 16 y 80% con la proteína molde (Figura 1).

Sequences producing significant alignments:							
Select: All None Selected:0							
Alignments Download GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	TonB-dependent receptor [Porphyromonas gingivalis]	69.3	103	30%	2e-13	32%	WP_005874678.1
<input type="checkbox"/>	TonB-dependent receptor [Porphyromonas gingivalis]	59.7	59.7	80%	2e-10	23%	WP_005873547.1
<input type="checkbox"/>	TonB-dependent receptor [Porphyromonas gingivalis]	58.9	58.9	66%	5e-10	23%	WP_005874911.1
<input type="checkbox"/>	TonB-dependent receptor [Porphyromonas gingivalis]	48.9	48.9	16%	5e-07	30%	WP_005873589.1

Figura 1. *P. gingivalis* posee 4 proteínas de membrana con secuencia homologa a la proteína ChuA de *E. coli*.

Con el número de acceso obtenido se buscó más información de la proteína en el servidor <http://www.uniprot.org/> (Tabla 1).

Se obtuvo la secuencia de los aminoácidos en formato FASTA para poder realizar la comparación de las secuencias en el servidor ClustalW, tras realizar el alineamiento se puede observar que las proteínas analizadas tiene poca similitud entre si y que son pocos los aminoácidos conservados a lo largo de la secuencia (Figura 2, asteriscos).

Con el alineamiento obtenido se seleccionó la zona donde se encontraron los motivos FRAP y NPFL con la finalidad de resaltarlos y demostrar que dichos motivos se encontraron en todas las secuencias (Figura 3).

Por último se realizó el modelo en el espacio de las proteínas, se puede observar que a pesar de lo poco conservadas que son entre sí, las secuencias son muy parecidas estructuralmente hablando,

las proteínas modeladas tienen forma de proteína en barril, que es propia de proteínas de membrana y los motivos FRAP y NPFL se encuentran en la parte apical de la proteína y de manera expuesta (Figura 4).

Tabla 1. Se resumen las principales características de la proteína ChuA de *E. coli* que sirvió de molde, así como de las proteínas obtenidas en el análisis *in silico*, pertenecientes a *P. gingivalis*.

Proteína	Gen	Aminoácidos	PM kDa
Q7DB97	<i>chuA</i>	660	72.42
F5HHM2	<i>PG_0707</i>	848	94.45
F5HFX8	<i>PG_2008</i>	833	92.74
F5HE36	<i>PG_0668</i>	757	84.51
Q7MUG9	<i>HmuR</i>	646	73.11

CLUSTAL multiple sequence alignment by MUSCLE (3.8)

```

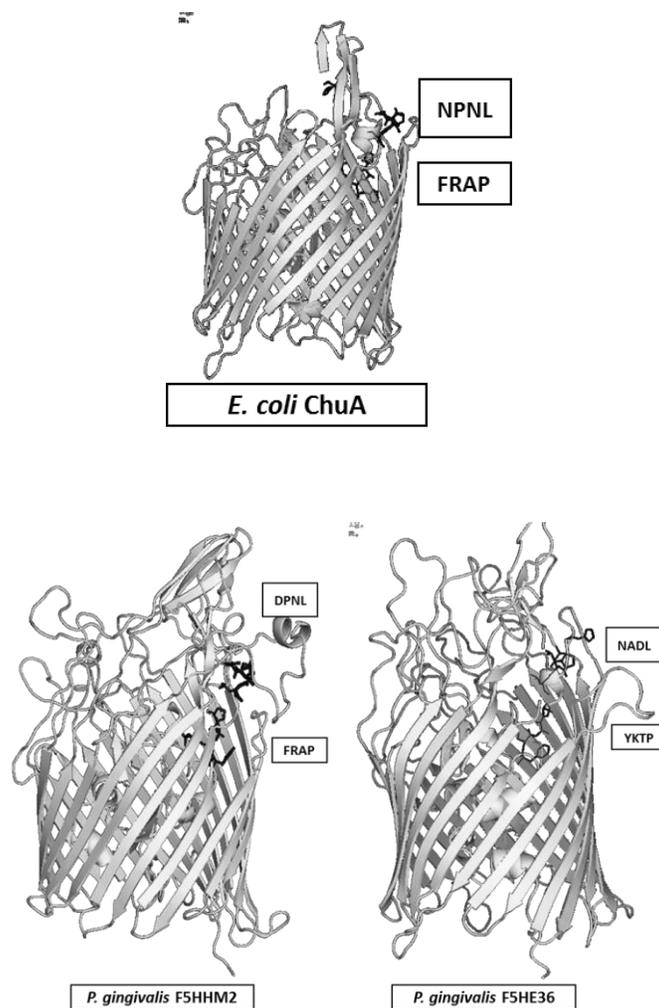
E-coli-ChuA          -MSRPQFTSLR--LSSLALAVSA-----
P-gingivalis-F5HFX8 MKQLNIISFIIAFL-FLGTSASA-----QQSGGVTGTVDKSSKEIAYVQVFKGTTL
P-gingivalis-F5HHM2 MIGKKIFFILLALIAFSGLNAATDTEFKYPTDANIIGHVKDKSTGEHLVGTIIAIKGTTF
P-gingivalis-HmuR    MKSVVTKQALIGLL-FFSISIYS-----
P-gingivalis-F5HE36 MRTKTIFFAIISFIALLSSLSA-----QSKAVLTGVSDAETGEPLAGARIEVKHTNI
      : : : . :
E-coli-ChuA          -----TLPT-----FAFATETM
P-gingivalis-F5HFX8 GTSTDANGNYSIKGIPSGNQTIVARLMGYSTCEEKVHIEKGGSRHVDLYLTEEILSLDGV
P-gingivalis-F5HHM2 GTSDATGHYVLRNLRPGEITLIMRGMGYKQERVVRVEKDKTIEVNFEEAEDAINDLEV
P-gingivalis-HmuR    -----HAANPPAQPPTDITVSG-----NIALEDI
P-gingivalis-F5HE36 VAGADAGGHFEIKNLPAGQHTIICSLGGYGQKEEVAIEAGQTKTISFALRLRTNLEEV
      . : :
E-coli-ChuA          TVTATGNARSSFEAPMIVSVIDTSAPENQTATSATDLLRHV---PGITLDGTGRNG-QD
P-gingivalis-F5HFX8 VVSANRNETFRRQAPSLVTVL---SPELFLKTNSTNLSQGLKFPQGLRVEDNCQNGFNQ
P-gingivalis-F5HHM2 VISANRETLRRLAPTLVNVL---NEKVFSQVNASNLAQGLSFQPGVRENWCQNGFNQ
P-gingivalis-HmuR    VVTGSRTARLKDVPVPTKVKAKDIKAIAPSSFIDVLQYIL--PGIEFTKHGSR---DQ
P-gingivalis-F5HE36 VVTGTGTRYRLVDAPVATEVLTAKDIASFSAPTSEALLQGLS--PSDFGPNLMG---SF
      : : : . * . * : . : : * . . .
E-coli-ChuA          VNMRYGVDHRGVLVLDGVRQGTDTGHLNG-TFLDPALIKRVEIVRGPSALLYGSGALGGV
P-gingivalis-F5HFX8 VRINGLEGAYSQILIDSHPIFSLLAGVYGLEQMPANMIERVEVIRGGGSALFGSNAVGGV
P-gingivalis-F5HHM2 VRINGLDGRYAQILIDSRPIMSALAGVYGLEQIPANMIERVEVIRGGGSALYGSNAIAGV
P-gingivalis-HmuR    LNAQGFDESSILFLVDGELISTGSTSGIDFERINPDDIERIEVLRGASSALYGSNAIGGV
P-gingivalis-F5HE36 MQLNGLSSKYILILIDGKRVYGDVGGQADLSRISPDQIERIELVKGASSSLYGSDAIAGV
      : . * . . * : . : . * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *
E-coli-ChuA          ISYDTV-D-AKDLLQEGQSS---GFRVFGTGGTGDHSLGLGASAFGRTE-NLD--GIVANS
P-gingivalis-F5HFX8 INVITKEPLRNSAEISHSTMTFDHAKGWG-SFQNTTQFNQSMLEDRKAGVIVFGQHNY-
P-gingivalis-F5HHM2 VNIITKEPSHNSFTFNESL---SFTGFS-KLDNNTNFNASIVSDDNRAGAVIVFGQARY-
P-gingivalis-HmuR    INIITRT-AKDPFRVSASA---RYDSRD-GQKYDVAAGVKRGIFTSQSGVQYRADKSY-
P-gingivalis-F5HE36 INVITKK-NTNRLSAYTSH---RISKVN-DRQTHITSLDINIGKFSNTHYFFVHTDGN-
      : . * : : * . . . : : :

```

Figura 2. Fragmento del alineamiento de las proteínas encontradas, se aprecia que a pesar de que las proteínas son homologas tienen poca similitud y que los aminoácidos conservados son pocos (asteriscos).

E-coli-ChuA	GMTINPTNWLMLFGSYAQA	FRAP	TMGEMYNDSK	H	FSIGRFYTNYWV	NPNL	RPETNETQE
P-gingivalis-F5HHM2	TLRFNVNPDINLRATYAKG	FRAP	---	QVFDEDL	H	VGVVGGEAQKVEN	DPNL KPEISHAFS
P-gingivalis-F5HFX8	NVRYNPNKNSFRLSYSEG	FRAP	---	QVFDEDL	H	VELAGGTPISRVI	SPNL KEERSRSIS
P-gingivalis-F5HE36	SILAKYGP-LNFRATYANG	YKTP	TLKELFARNELTTMG	S	---	NLYLGN	NADL KPQMSDYA
P-gingivalis-HmuR	SAMYKCSH-VTNRLSYAEG	YRAP	SLQEMY---	FFFN	H	GAF---	NPDL KPEKSRLS
	:	:	:*:::.*	:	:	:	..*:. .

Figura 3. Fragmento del alineamiento de las secuencias de las proteínas de unión a Hb. Se resaltan los motivos FRAP y NPNL.



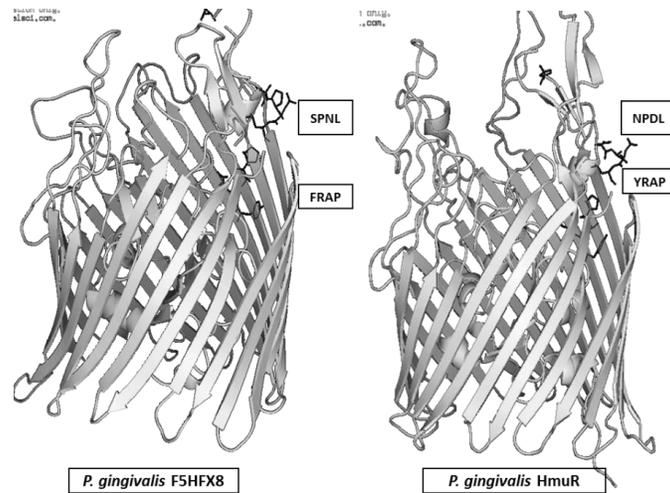


Figura 4. Modelo tridimensional de las proteínas de unión a Hb de *E. coli* y *P. gingivalis*. Se aprecia la forma en barril beta de las proteínas y se resalta en color oscuro los residuos de aminoácidos necesarios para la unión a Hb, en los cuadros se señala el nombre de la bacteria y el nombre de la proteína modelada, así como los aminoácidos que se cree participan en la unión a Hb.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

A través de esta investigación *in silico* encontramos que la bacteria *P. gingivalis* cuenta con por lo menos con 4 proteínas que conservan los motivos FRAP y NPDL que son necesarios para poder unir Hb, este dato nos lleva a preguntar porque esta bacteria tendría tantas proteínas con esta capacidad, esto resulta relevante si pensamos que la proteína de la bacteria *E. coli* que se usó como molde es única en esta bacteria, una posible respuesta se basa en el hecho de que *P. gingivalis* requiere de hierro y lo podría obtener a partir de la Hb, otra posible respuesta es que esta bacteria en específico carece de la vía necesaria para sintetizar la protoporfirina IX de novo por lo que la obtiene de su medio ambiente y una posible fuente es la Hb, lo cual nos lleva a pensar que las carencias que padece esta bacteria la han llevado a adaptarse a su entorno y aprovecharlo al máximo esto es, produciendo diferentes proteínas para la obtención de hierro y protoporfirina IX a partir de la Hb que, a su vez, proviene del sangrado que ocurre a nivel de encías del hospedero por la acción proteolítica de *P. gingivalis*, por lo que pensamos que el sangrado es una consecuencia directa de la presencia de esta bacteria y no un evento al azar e independiente.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Andrews SC, Robinson AK, Rodríguez-Quñones F. Bacterial iron homeostasis. FEMS Microbiol Rev. 2003;27:215-37.
2. González-López MA, Olivares-Trejo JJ. The gene frpB2 of *Helicobacter pylori* encodes an hemoglobin-binding protein involved in iron acquisition. Biometals. 2009;22:889-94.
3. Olczak T, Simpson W, Liu X, Genco CA. Iron and heme utilization in *Porphyromonas gingivalis*. FEMS Microbiol Rev. 2005;29:119-44.

EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE BIOMATERIALES DE PLA-PCL-HA APLICABLES A LA REGENERACIÓN DE TEJIDOS ÓSEOS

Rosalba Flores Macías, Marco Aurelio Pardo Galván, Georgina Carbajal de la Torre y Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

RESUMEN

El hueso es un tejido dinámico en constante formación y reabsorción que existe toda la vida, pero sólo hasta la tercera década el balance es positivo; a partir de los 50 años existe predominio de la reabsorción y la masa ósea empieza a disminuir. La osteoporosis representa la enfermedad metabólica ósea más frecuente y constituye un problema de salud pública en el mundo. Los tratamientos actuales, uso de prótesis y aplicación de injertos, presentan dificultades que limitan su uso. La bioingeniería de tejidos busca el desarrollo de materiales sintéticos bioactivos que permitan la regeneración ósea guiada, lo cual implica que el material deberá tener una función temporal, ser reabsorbible y sustituirse progresivamente por tejido neoformado. Para lograr un estudio completo se requiere de la caracterización fisicoquímica y de la evaluación biológica de los distintos biomateriales. El objetivo fue sintetizar andamios tridimensionales de ácido poliláctico-policaprolactona-hidroxiapatita y validar el estímulo que éstos ejercen sobre la adhesión, proliferación y diferenciación celular, así como en la mineralización ósea de preosteoblastos de ratón (MC3T3E1). Se encontró que la hidroxiapatita estimula la adhesión celular, impactando en el resto de las propiedades celulares: proliferación, diferenciación y mineralización.

1. INTRODUCCIÓN

El hueso, el componente central del sistema musculo-esquelético, es un tejido conectivo duro calcificado, que tiene como funciones proteger órganos vitales, proveer soporte para la movilidad del cuerpo, almacenar calcio y otros iones, al igual que células madres mesenquimales y hematopoyéticas. Es un tejido dinámico en constante formación y reabsorción, que permite el mantenimiento del volumen óseo, la reparación del daño tisular y la homeostasis del metabolismo fosfocálcico. Este fenómeno equilibrado denominado proceso de remodelado permite la renovación de un 5-10% del hueso total al año. Dicho remodelado existe toda la vida, pero sólo hasta la tercera década el balance es positivo. Es en este momento cuando existe la máxima masa ósea, que se mantiene con pequeñas variaciones hasta los 50 años. A partir de aquí, existe un predominio de la reabsorción y la masa ósea empieza a disminuir¹. También participan en este proceso factores mecánicos o traumáticos, procesos infecciosos, alteraciones hormonales, genéticas, vasculares, nutricionales y neoplasias que pueden llegar a establecer una pérdida ósea que supera la capacidad de respuesta regenerativa del sistema².

La osteoporosis es una enfermedad sistémica, metabólica y multifactorial, caracterizada por masa ósea baja y deterioro microarquitectónico del hueso, con un consecuente aumento de la fragilidad ósea y susceptibilidad a las fracturas. Representa la enfermedad metabólica ósea más frecuente y constituye un problema de salud pública en el mundo. Su importancia clínica radica en las fracturas y consecuencias médicas, sociales y económicas asociadas³. En Estados Unidos, Europa y Japón, la osteoporosis afecta a más de 75 millones de personas y está directamente relacionada con 8.9

millones de fracturas al año a nivel mundial, de las cuales 4.5 millones ocurren en América Latina y Europa. Una de cada tres mujeres y uno de cada 5 hombres mayores de 50 años experimentarán fractura debido a la osteoporosis⁴.

Tradicionalmente los defectos óseos se han tratado implantando tejidos autólogos, alogénicos o xenogénicos o implantando materiales sustitutos en otros casos. La primera terapia empleada y que se mantiene hasta hoy, consiste en la implantación de prótesis hechas de materiales que sean capaces de restablecer el funcionamiento mecánico de los huesos, como el titanio y cementos óseos. Sin embargo presentan efectos secundarios que limitan su efectividad, como la falta de osteointegración, es decir, la mínima interacción entre los materiales implantados y el tejido circundante; además las fuerzas de roce causadas durante el movimiento desgasta el tejido óseo próximo al implante provocando daños estructurales; el mismo material cede a la fatiga inducida por el uso continuo hasta colapsar y fracturarse; otra complicación común son las infecciones postoperatorias. En cualquiera de los casos serán necesarias intervenciones quirúrgicas posteriores.

Debido a estas limitaciones surgió el uso de injertos autólogos, alólogos y xenólogos. Los autoinjertos consisten en fragmentos de tejido óseo, generalmente médula ósea, obtenidos de una zona sana del paciente e implantados en el área afectada. Tienen la ventaja de no generar respuestas inmunes y se integran bien con el tejido circundante. Sin embargo no cubren defectos de gran tamaño y exponen la región donadora a alta morbilidad. Los aloinjertos son obtenidos de otro sujeto de la misma especie, generalmente cadáveres; si son compatibles tienen alta posibilidad de integrarse al huésped, no obstante, persiste el peligro de transmisión de enfermedades. Los xenoinjertos, fragmentos obtenidos de sujetos de una especie diferente, poseen un alto potencial de generar reacciones inmunes severas y de transmitir enfermedades⁵.

Aunque se ha realizado un gran progreso en el campo de la medicina regenerativa, las terapias actuales siguen teniendo varias limitaciones; además no se ha desarrollado un sustituto óseo adecuado. Por lo tanto, los daños graves relacionados al hueso no se tratan adecuadamente. Es en este contexto, que la Ingeniería de Tejidos ha venido ganando notoriedad.

La medicina regenerativa es un campo interdisciplinario cuyo objetivo final es el reemplazo, la reparación o la restauración de un tejido u órgano dañado. Este campo de investigación, llamado también ingeniería de tejidos, surge de la necesidad de reconstruir tejidos u órganos dañados por enfermedad, trauma o anomalías congénitas, tanto en niños como en adultos⁶.

En general, un proceso de ingeniería de tejidos comienza con la fabricación de un andamio el cual es una matriz tridimensional porosa que tiene como función principal la de soportar la adhesión, proliferación y migración celular, así como su diferenciación y maduración en un fenotipo osteoblástico. Al momento de diseñar un andamio tridimensional se debe considerar que éste cumpla con ciertos criterios ideales, es decir, debe ser biocompatible o tener la capacidad de integrarse al organismo hospedero sin generar efectos citotóxicos, genotóxicos o respuesta inmune; debe tener la habilidad para degradarse mediante hidrólisis a tasas que sean cercanas a las tasas de formación de hueso nuevo y sus productos de degradación no deben ser tóxicos. La resistencia y compatibilidad mecánica son importantes para resistir cargas mecánicas según sea la posición del tejido óseo que reemplaza. Deben ser osteoinductivos y osteoconductivos así como biofuncionales, con alta porosidad y con un tamaño de poro adecuado para facilitar la implantación, difusión celular a través de toda la nanoestructura y favorecer la vascularización, difusión de nutrientes y evacuación de desechos del metabolismo celular. Finalmente deben ser de fácil y reproducible procesado, modificable y esterilizable para obtener distintas configuraciones en atención al tipo y tamaño del defecto óseo así como de bajo costo.

Los biomateriales utilizados en andamios aplicados a la ingeniería de tejidos están hechos principalmente de polímeros naturales o sintéticos, cerámicas y sus compositos.

El objetivo de estos biomateriales es imitar la composición y estructura del hueso natural, mediante la premisa, siguiendo el paradigma de la ingeniería tisular, de que los materiales sean reabsorbibles y reemplazados durante y con la nueva regeneración biológica tisular del propio cuerpo⁷.

Existen varias técnicas para la fabricación de andamios entre las cuales se encuentra la técnica de solvente colada con filtración de partículas. Ésta nos permite la obtención de estructuras altamente porosas; además su principal ventaja es que no necesita equipo especializado. La técnica consiste en disolver el polímero y mezclarlo con un agente porógeno, entonces, la solución es vaciada en un molde 3-D. Los porógenos pueden ser esferas de gelatina o parafina, cristales de sacarosa o sal inorgánica como el cloruro de sodio. Después de que el solvente se evapora, el agente porógeno es diluido con agua para formar los poros del andamio⁸.

2. TEORÍA

En un intento de incrementar tanto las propiedades mecánicas como biológicas de los andamios, para imitar el hueso natural, se han estudiado composites de polímero y cerámica, denominados materiales biocomposites debido a que éstos tienen la fuerza necesaria que coincide con las propiedades del hueso, que incluyen bajo módulo elástico y una alta resistencia⁷. En este contexto, los biomateriales inorgánicos, tales como cerámicas y vidrios, así como los sistemas orgánicos, como polímeros biodegradables, intentan imitar la composición ósea real al combinar la resistencia de la fase polimérica con la fuerza compresiva de la fase inorgánica, generando así materiales con buena resistencia mecánica, con perfiles de degradación mejorados, osteoconductivos, osteoinductivos y conformables⁹.

Los poliésteres alifáticos lineales son usados frecuentemente como polímeros para la fabricación de andamios debido a que son biodegradables y biocompatibles. Entre éstos, los más utilizados son el ácido poliláctico y la policaprolactona, cuya síntesis y propiedades han sido ampliamente estudiadas.

La hidroxiapatita posee una gran bioactividad y osteoconductividad debido a su composición química similar a la fase mineral del hueso natural. Se ha comprobado que la nanohidroxiapatita es superior a la microhidroxiapatita convencional en la promoción de la adhesión de osteoblastos, diferenciación y proliferación, osteointegración y deposición de minerales de calcio en su superficie permitiendo la formación de hueso nuevo en un periodo de tiempo corto. Por lo tanto, un híbrido de nanohidroxiapatita y polímeros permitirá preparar un andamio con adecuada fuerza mecánica y excelente osteoconductividad, debido a que la hidroxiapatita puede mejorar las propiedades mecánicas de los polímeros, su hidrofiliidad y su baja adhesión celular; así mismo puede neutralizar los productos ácidos de su degradación.

En 2010, Rui Fang y colaboradores fabricaron nanofibras de PCL/PLA con y sin nano-HA en concentraciones crecientes mediante la técnica de electrohilado. Observaron que los andamios con HA tienen una excelente osteoconductividad debido a que presentaron una buena adhesión, proliferación y mineralización de preosteoblastos¹⁰.

Gui-fang Wu y colaboradores fabricaron andamios de PLLA/PCL a concentraciones 70/30 con nano-HA utilizando sucrosa como agente porógeno. Se observó que la nano-HA efectivamente mejoró la actividad biológica de los andamios compuestos¹¹.

En otro estudio con estos componentes en los que se evaluó la degradación hidrolítica a largo plazo se obtuvieron andamios con porosidades mayores al 85%, donde los productos de la hidrólisis no modificaron el pH; además el compuesto con mayor concentración de PCL y con nano-HA mostró mejores propiedades mecánicas así como menor degradación¹².

Finalmente, en 2016, andamios de PCL/PLA con y sin HA fueron creados mediante electrohilado para evaluar su bioactividad, resultando ser excelente en aquellos andamios con contenido de HA ya que promovieron la proliferación y diferenciación osteogénica de las células MC3T3-E1 (preosteoblastos)¹³.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Se sintetizaron andamios de PLA/PCL con y sin nano-HA mediante la técnica de disolución y colada utilizando como agente porógeno cloruro de sodio; el cual fue fusionado previamente sometándolo a 95% de humedad para garantizar la interconexión de poros; para el modelo acelular se utilizó fluido corporal simulado y para el modelo celular la línea celular MC3T3-E1 que corresponden a preosteoblastos de ratón, los cuales se mantuvieron en condiciones de proliferación y diferenciación.

Una vez sintetizados los andamios se calculó su porosidad mediante gravimetría con la fórmula¹- densidad del andamio/densidad del material. Para observar la interconexión, el tamaño y distribución de poros se deshidrataron las muestras con soluciones crecientes de etanol y se recubrieron con cobre para ser observadas mediante microscopía electrónica de barrido en el Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la UMSNH. La degradación por hidrólisis y su efecto sobre el pH se determinó sumergiendo cada composito en solución salina amortiguada por fosfatos (PBS) durante 9 semanas. Se tomaron muestras de cada composito cada 7 días para el cálculo del grado de degradación mediante la diferencia en el peso seco, los cambios en el pH se midieron directamente en el PBS.

Para valorar la bioactividad de los compositos, éstos se sumergieron en SBF y se tomó una muestra de cada material los días 1, 7, 14 y 21 para determinar la ganancia en peso seco y para evaluar la formación de HA por microscopía electrónica de barrido (MEB) así como para el análisis de espectroscopia de energía dispersiva (EDS) en la superficies de muestras.

Para evaluar viabilidad, adhesión y proliferación celular se colocó sobre cada material una suspensión celular de concentración conocida (suficiente para cubrir cada material) y se incubó durante 5 h para permitir la adhesión celular. Como control se utilizó una placa de cultivo con una superficie suficiente para tener una confluencia inicial entre el 30 y 50%. A las 5 h se determinó por microscopía el porcentaje de células adheridas en el cultivo control; cada biomaterial se colocó en una placa nueva y se le agregó medio de cultivo nuevo. A cada muestra con biomaterial y a los cultivos control, así como a la suspensión celular restante de cada composito, se les añadió Azul de alamar; se incubaron durante 5 h para posteriormente medir la reducción del azul de alamar y determinar el porcentaje de células adheridas a cada biomaterial, así como la concentración y viabilidad celular relativa en el tiempo cero. Cada vez que se realizó el ensayo, el material se colocó en una placa nueva con medio fresco. El ensayo se realizará a las 24, 48, 72 y 120 horas y cada condición se realizará por triplicado.

Para evaluar diferencias en la adhesión, morfología y proliferación celular por MEB y EDS (IIM-UMSNH) se colocó cada material en una placa de cultivo y sobre cada uno se colocó una suspensión celular de concentración conocida. A las 5 h de incubación, el material se pasó a una placa de cultivo nueva con medio fresco; se regresó a la incubadora y se inició a contabilizar el tiempo. Se cambió el medio de cultivo cada tres días. Se tomaron muestras los días 1, 3, 5 y 7 se lavó el material con PBS, se fijaron con una solución de formaldehído-glutaraldehído, y se deshidrataron con concentraciones crecientes de etanol.

Se montaron cultivos con los biomateriales sembrados para tomar muestras los días 10, 14, 21 y 28 para evaluar el grado de mineralización realizando una tinción *in situ* con rojo de alizarina S, que permite contabilizar los depósitos de calcio por microscopía óptica y cuantificar el grado de mineralización por espectrofotometría (415 nm). Finalmente, se tomaron muestras (solo del

biomaterial) los días 14, 21 y 28 para completar el análisis por MEB y EDS en cuanto a la morfología celular y el crecimiento de HA.

Se utilizó la t de Student y ANOVA para el análisis comparativo y estadístico intra e intergrupo de los resultados obtenidos.

4. RESULTADOS

Mediante la técnica disolución y colada se pudieron obtener andamios a base de PLA/PCL con y sin hidroxapatita con porosidades entre 60-70%.

Mediante microscopia electrónica de barrido se corroboró que los andamios cuentan con poros definidos, interconectados y bien distribuidos por todo el andamio; las dimensiones de éstos se encuentran entre los 80 y 350 μm .

Se puede observar que todos los andamios pierden peso constantemente con el tiempo de incubación tras ser sumergidos en PBS durante 9 semanas. Las muestras que contiene nanohidroxapatita se disuelven más rápidamente que aquellas que no la contienen. Además en el pH no hubo variaciones significativas.

Las imágenes del microscopio electrónico de barrido de los andamios posterior a ser sumergidos en SBF muestran la formación de HA de manera gradual, siendo más marcada la cristalinidad en aquellos con nanohidroxapatita que su contraparte. Esta formación de HA se corroboró mediante EDS, la cual mostró los picos característicos de éste compuesto.

Los resultados del ensayo con azul de alamar muestran que la proliferación de las células MC3T3-E1 en los andamios es más bajo que aquellas sembradas en la superficie de platos de poliestireno, sin embargo hay mayor proliferación en los andamios que cuentan con nanohidroxapatita. Con estos datos y los resultados del ensayo de azul de alamar, se puede concluir que los andamios con y sin hidroxapatita no son citotóxicos, ya que la viabilidad celular es mayor al 70% en cualquiera de los casos, llegando al 90% en el grupo control.

Las imágenes de la tinción con Rojo de alizarina muestran que las células cultivadas en los andamios con nanohidroxapatita presentan la mayor intensidad que aquellas cultivadas en los andamios sin nanohidroxapatita, lo cual se comprobó mediante la cuantificación de la deposición de calcio espectrofotométricamente.

5. CONCLUSIONES

Mediante la técnica disolución y colada se obtuvieron andamios porosos capaces de promover la adhesión, proliferación y diferenciación celular así como la mineralización, siendo más marcada en aquellos andamios que contienen nanohidroxapatita; con estos datos se concluye que andamios a base de PLA/PCL/nano-HA son biocompatibles, osteoconductivos e osteoinductivos capaces de ser utilizados en la ingeniería de tejidos óseos.

BIBLIOGRAFÍA

1. F.-T. H.-G. Isabel, "Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado", *Med. Oral, Patol. Oral y Cir. bucal*, Vol. 11, 2, 2006, pp. 151-157.
2. J. F. S. Dubraska, "Principios básicos en Regeneración Ósea Guiada", *Acta Bioclínica*, vol. 2, 3, 2012, pp. 94-121.

3. Diagnóstico y tratamiento de osteoporosis en el adulto. www.cenetec.salud.gob.mx
4. A. B. José F., "Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción", RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios, vol. 1, 2, 2009, pp. 98-109.
5. E. Jimi, "The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects" International journal of dentistry, vol. 2012, 2012, pp. 1-7.
6. B Thavornnyutikarn, "Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques", Progress in Biomaterials, vol. 3, 2-4, 2014, pp. 61-102.
7. T. Richard T., "A new generation of sodium chloride porogen for tissue engineering", Biotechnology and applied biochemistry, vol. 58, 5, 2011, pp. 335-344.
8. B. Susmita, "Recent advances in bone tissue engineering scaffolds". Trends in biotechnology, vol. 30, 10, 2012, pp. 546-554.
9. Fang R, "Electrospun PCL/PLA/HA based nanofibers as scaffold for osteoblast-like cells", J. Nanosci. Nanotechnol, Vol. 10, 11, 2010, pp. 7747-7751.
10. G. Wu, "Fabrication and characterization of hydroxyapatite/poly (L-lactic acid)-polycaprolactone nanofibrous composite scaffolds", Advanced Materials Research, Vols 791-793, 2013, pp. 137-140.
11. R. R. Joaquin, "Effects of hydroxyapatite filler on long-term hydrolytic degradation of PLLA/PCL porous scaffolds", Polymer Degradation and Stability, vol. 119, 2015, pp. 121-131.
12. H. Qi, "Bioactivity assessment of PLLA/PCL/HAP electrospun nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering", Life sciences, vol. 148, 2016, pp. 139-144.

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL CATECOL, RESORCINOL Y ORCINOL.

Elia Net Matus Castro¹, Alma Lizbeth Aparicio García¹, Mónica Marcela Galicia Jiménez², Juan Saulo González González¹ y Margarita Bernabé Pineda¹

¹ Universidad de la Cañada, ²Universidad del Mar.

RESUMEN

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. De los cuales se encuentran el catecol, resorcinol y orcinol. La actividad antibacteriana de estos tres compuestos está determinada por la estructura que poseen, y el número de grupos hidroxilo (OH) parecen estar relacionados directamente en la toxicidad frente a microorganismos, de forma que un aumento en la hidroxilación está ligado a una mayor toxicidad. DI PRISCO (1989) manifiesta que los compuestos fenólicos muestran una cantidad ligera de actividad bactericida¹. En este estudio se utilizó la bacteria *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Para llevar a cabo la concentración mínima inhibitoria, se empleó como control positivo el antibiótico Ciprofloxacino. En los tubos que contenían el compuesto catecol y resorcinol se observó un crecimiento menor de bacterias. De modo que se comprobó de manera preliminar que estos compuestos podrían tener un efecto bacteriostático en las concentraciones probadas en la bacteria *Staphylococcus aureus* (Gram positiva). Sin embargo es necesario realizar más pruebas a concentraciones más elevadas de catecol y resorcinol para corroborar el efecto bacteriostático que pueden tener estos compuestos. Los compuestos catecol y resorcinol representan una buena alternativa en la eliminación de bacterias del grupo Gram positivas.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Los compuestos fenólicos se encuentran presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales por lo que se consideran importantes antioxidantes en la dieta junto con las vitaminas¹. Los compuestos fenólicos juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV y los depredadores¹. Los fenoles simples son compuestos que tienen dos o tres grupos hidroxilo en el anillo aromático (Figura 1). Entre las propiedades atribuidas a este tipo de compuestos se pueden mencionar aquellas como antioxidantes, antibacterianos, antiparasitarios y citotóxicos¹ entre otros.

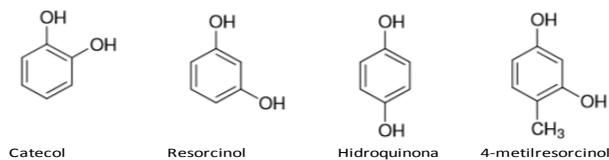


Figura 1. Estructura química de polifenoles.

El catecol, resorcinol y orcinol son estructuras fenólicas que se emplean para diversos estudios, entre algunos se puede mencionar que como base para la formación de compuestos más complejos por ejemplo en la síntesis de cocristales², por ello es importante tener bien identificadas las propiedades químicas, físicas y biológicas de estos compuestos. El objetivo de este trabajo es realizar un estudio preliminar de la actividad biológica de estos compuestos sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphilococcus aureus*

2. PARTE EXPERIMENTAL

Se pesó 49.9 g de Sal de Manitol Rojo Fenol, éste agar fue utilizado para comprobar el crecimiento de las bacterias *Staphilococcus aureus*, se disuelven en 450 mL de agua destilada. El medio de sal de manitol rojo fenol se divide en dos y se esteriliza. El medio de cultivo esterilizado se vierte en 20 cajas petri, las cuales se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de su uso. Para llevar a cabo la concentración mínima inhibitoria, se empleó como control positivo el antibiótico Ciprofloxacino. Las bacterias a utilizarse fueron *Escherichia coli* (Gram- negativa) y *Staphilococcus aureus* (Gram-positiva). Se preparó el medio de cultivo con el agar Müller Hinton. A 45 tubos de ensayo se le agregaron 9 mL de este medio de cultivo (Müller Hinton) cada uno.

Se pesó 0.0025 g, 0.0005 g y 0.0001 g de Ciprofloxacina, que fueron disueltos en 3 tubos de ensayo con 9 mL del medio de cultivo Müller Hinton, los cuales se emplearon como controles positivos.

Se prepara una solución stock de catecol, resorcinol y orcinol empleando 100 µg de cada compuesto por cada 100 mL de agua destilada. De la solución stock se realizan la diluciones de cada uno de los compuestos cuyas concentraciones fueron 0.25 µg, 0.50 µg y 1 µg en 100 mL de agua destilada. Para las soluciones cuya concentración fueron de 0.25 µg/100 mL se extrajo 0.25 mL y se vertió en los tubos de ensayo que contenían el medio de cultivo Müller Hinton debidamente etiquetados con esa concentración.

Para las soluciones cuya concentración fue de 0.50 µg y 1 µg, se extrajo 0.50 mL y 1 mL respectivamente, después se vertió en los tubos de ensayo con el medio de cultivo debidamente etiquetados con esa concentración. Inmediatamente de tener los tubos de ensayo con medio de cultivo y los respectivos mL de las soluciones de los compuestos a probar, se adiciono 1 mL de las bacterias *Escherichia coli* y *Staphilococcus aureus* para cada tubo se incuban por 24 h.

Concluidas las 24 h, se observó los tubos con las diferentes bacterias y se compararon con los controles positivos. Para corroborar resultados obtenidos en los tubos de ensayo en las soluciones donde se encontraba la bacteria *Staphilococcus aureus*, se planeó sembrar esas soluciones (que contenían el medio de cultivo Müller Hinton, los compuestos resorcinol, orcinol y catecol en sus diferentes concentraciones y la bacteria *Staphilococcus aureus*) para verificar si los resultados eran realmente favorables, tal como se mostraban en los tubos de ensayo, se elige el agar Sal de Manitol Rojo de Fenol que es exclusivamente para verificar crecimiento de bacterias del tipo *Staphilococcus aureus* y así asegurar que se trate de esa bacteria y no de alguna otra por contaminación de muestra.

Se etiquetan las cajas petri con las respectivas concentraciones de los compuestos, cada caja petri se le adicionó 100 µL de la solución tomada de cada uno de los tubos de ensayo solo para aquellas concentraciones donde se encontraba la bacteria *Staphilococcus aureus*, esto fue para corroborar el efecto bacteriostático que se observó en los tubos de ensayo con dichos compuestos. Se esparció esa solución por todo el agar con ayuda del asa de vidrio que antes fue esterilizada por medio de alcohol. Al finalizar la actividad de sembrado de *Staphilococcus aureus* en el medio

3. RESULTADOS

En la tabla No.1 se presentan los resultados obtenidos al realizar las pruebas respectivas.

Tabla 1. Crecimiento de las bacterias según la concentración.

Nivel de crecimiento de bacterias

Staphilococcus aureus

Concentración								
CATECOL			ORCINOL			RESORCINOL		
0.25 µg/100mL	0.5 µg/100mL	1.0 µg/100mL	0.25 µg/100mL	0.5 µg/100mL	1.0 µg/100mL	0.25 µg/100mL	0.5 µg/100mL	1.0 µg/100mL
1	1	1	3	3	3	2	1	1

Nivel de crecimiento de bacterias

Escherichia coli

Concentración								
CATECOL			ORCINOL			RESORCINOL		
0.25 µg/100mL	0.5 µg/100mL	1.0 µg/100mL	0.25 µg/100mL	0.5 µg/100mL	1.0 µg/100mL	0.25 µg/100mL	0.5 µg/100mL	1.0 µg/100mL
3	3	3	3	3	3	3	3	3

*Significado de valores de crecimiento: 0= Ninguno, 1= Poco, 2= Regular, 3= Mucho.

Como se muestra en la tabla 1, en los tubos donde se inoculó la bacteria *Escherichia coli* se observó mayor crecimiento en todas las concentraciones utilizadas con los tres compuestos. Por lo que se descartó que tengan algún efecto bacteriostático; para el caso de los tubos donde se inoculó el *Staphilococcus aureus* con el compuesto orcinol se observó un mayor crecimiento de bacterias, esto se debe probablemente a que dicho compuesto tiene en su estructura un metil y esto lo hace más débil a diferencia de los compuestos Catecol y Resorcinol. En los tubos que contenían el compuesto catecol se observó una cantidad menor de bacterias al igual que con el compuesto resorcinol, lo que proyectó un buen resultado. Para corroborar el crecimiento de las bacterias en los compuestos Catecol y Resorcinol se utilizó un medio sólido que fue el agar sal manitol en el cual se logró observar que tienen una propiedad bacteriostática. Comparando los tubos que contenían el compuesto resorcinol con los controles positivos y los tubos que contenían el catecol se observó una cantidad menor de bacterias. Di prisco (1989) manifiesta que compuestos fenólicos muestran una cantidad ligera de actividad bactericida. Resorcina o resorcinol: Es un derivado del fenol, bactericida y fungicida pero en menor grado³. Los polifenoles que tienen grupos pirogalol mostraron una fuerte actividad antibacteriana, y aquellos con anillos de catecol y resorcinol mostraron una actividad inferior⁴. Los compuestos poli fenólicos afectan la inhibición de los enzimas microbianos, la privación de sustratos, y los iones metálicos requeridos para el crecimiento microbiano o de acción directa sobre las membranas bacterianas. Así, se ha sugerido que estos polifenoles perturban las bicapas lipídicas e interrumpen la función de barrera. Además, la actividad antibacteriana contra las bacterias más altas aparece en Gram positivas en comparación con las bacterias Gram-negativas. La baja susceptibilidad de este último grupo de microorganismos se puede explicar en cierta medida por la presencia de lipopolisacáridos cargado negativamente, aunque la difusión apretada de la membrana externa también podría contribuir a

una mayor resistencia⁵. En bacterias Gram positivas (como *Staphilococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* y *Lactobacillus*) la pared se encuentra inmediatamente accesible y constituye un blanco ideal⁶, esto indicaría la diferencia de acción entre el catecol y resorcinol sobre el efecto bacteriostático en el género *Staphilococcus aureus* (Gram positivas)

4. CONCLUSIÓN

Los compuestos catecol y resorcinol representan una buena alternativa en la eliminación de bacterias del grupo Gram positivas. Estos compuestos mostraron tener un efecto bacteriostático en las concentraciones moderadas probadas en la bacteria *Staphilococcus aureus* (Gram positiva). Sin embargo es necesario realizar más pruebas a concentraciones de catecol y resorcinol más elevadas para corroborar el efecto bacteriostático que pueden tener.

Cuando la actividad antibacteriana de estos compuestos no puede ser evaluada por la cantidad de grupos hidroxilo con los que cuenta su estructura, es necesario tener en cuenta otros factores tales como el pH de la solución y las propiedades de las bacterias.

REFERENCIAS

1. Peñarrieta J. Mauricio, Tejada Leslie, Mollinedo Patricia, Villa José L., Bravo José A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química 31(2) 68-81
2. Saucedo-Balderas, M. M., Delgado-Alfaro, R. A., Martínez-Martínez, F. J., Ortigón-Reyna, D., Bernabé-Pineda, M., Zúñiga-Lemus, O., & González-González, J. S. (2015). Synthesis, molecular structure of diethyl phenylenebis(methylene)dicarbamates and FT-IR spectroscopy molecular recognition study with benzenediols. Journal of the Brazilian Chemical Society. 26, 396-402
3. Dr. Juan Di Prisco. Farmacología Dermatológica (1989) Dermatología Venezolana, 27 (3-4) 82-86
4. Toshitsugu Taguri, Takashi Tanaka, Isao Kouno. Antibacterial Spectrum of Plant Polyphenols and Extracts Depending upon Hydroxyphenyl Structure (2006). Biol. Pharm. Bull. 29 (11) 2226-2235
5. Gross G. G., Hemingway R. W., Yoshida T. Plant Polyphenols 2: Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology. Kluwer Academic, New York. 1999
6. Sánchez de Rivas Carmen. ¿Antibióticos, ayer, hoy y mañana...? (2006). Revista Química Viva 2(5) 63-77

FORMULACIÓN DE PRODUCTOS DE ASEO PERSONAL CON COMPONENTES DE EXTRACTOS DE PLANTAS.

Guadalupe López Olivares¹, Elizabeth Vargas Anaya², Lidia Meléndez Balbuena¹, Ismael Soto López¹, Martha V. Sosa Rivadeneyra¹ y Karina Mejía Larrainzar²

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, departamento de Química Inorgánica. ²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, departamento de Química Inorgánica.

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la extracción de componentes de plantas utilizando un sistema Soxhlet para la extracción de aceites con hexano y un sistema de reflujo con columna Vigreux para extracción de componentes con agua, se trabajó con la especie vegetal *Ruta graveolens* y con la semilla de *Persea americana*. Ambas especies vegetales contienen propiedades insecticidas en particular para eliminar piojos y liendres. Se elaboró con los extractos obtenidos un shampoo para cabello mismo que fue sometido a pruebas de irritabilidad dérmica en conejos y posteriormente se probó su eficacia en humanos encontrándose resultados favorables aunque no eliminaron en su totalidad a las liendres. Es necesario realizar el ajuste del tiempo de reposo en la aplicación y la frecuencia requerida para lograr la eliminación total.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de los productos naturales se encuentran los productos de aseo personal, mismos que debido a sus características pueden proporcionar diversos beneficios a los consumidores, las propiedades de las especies vegetales utilizadas en este trabajo *Ruta graveolen* y la semilla de *Persea americana* son de actividad insecticida particularmente contra los piojos y las liendres que son insectos pequeños que viven de succionar sangre a través del cuero cabelludo en las personas, estos insectos pueden diseminarse por el contacto cercano con otras personas lo cual es un problema cada vez mayor en las escuelas de varios niveles educativos, desde preescolar hasta bachiller, estos insectos se diseminan principalmente en épocas calurosas y es difícil erradicar el problema ya que pueden vivir hasta treinta días y sus huevecillos o liendres hasta por más de dos semanas. Provocan picazón intensa por lo que los niños principalmente pueden provocarse sangrado que puede infectarse posteriormente.

2. TEORÍA

La especie vegetal *Ruta graveolen*, comúnmente llamada ruda es una especie de la familia Rutaceae, nativa del sur de Europa. Se suele cultivar como planta ornamental de jardín, en especial por sus hojas azuladas y por su tolerancia a suelos secos y al calor, esta especie posee propiedades insecticidas. La semilla de *Persea americana* es una especie arbórea originaria de México y Centroamérica, perteneciente a la familia de las lauráceas, su semilla posee propiedades insecticidas. La combinación de ambas especies tradicionalmente se utiliza para la eliminación de piojos y liendres en las comunidades rurales de la sierra nororiental del Estado de Puebla, es por eso que en este trabajo se realiza la extracción de sus componentes y la elaboración de un

shampoo para cabello, así como la aplicación de este shampoo en personas voluntarias para demostrar su eficacia.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para la extracción de los componentes de la especie vegetal *Ruta graveolens* se utilizaron 50 gramos y se realizó la extracción en un sistema de reflujo con columna Vigreux utilizando 300 ml de agua como disolvente, se mantuvo a reflujo durante cuatro horas, el extracto de la semilla de *Persea americana* se realizó en un sistema Soxhlet utilizando 150 ml de hexano como disolvente, se utilizaron 50 gramos de la

semillas en trozos, la extracción se realizó durante cuatro horas.

Con los extractos obtenidos se elaboraron tres formulaciones de shampoo a diferentes concentraciones con los siguientes componentes:



Figura 1. Semillas trozadas de *Persea americana* sometidas a Sistema Soxhlet con hexano como disolvente.



Figura 2. Semillas trozadas de *Persea americana* y partes aéreas de *Ruta graveolens* sometidas a reflujo.

Formulación 1		Formulación 2		Formulación 3	
Texapón	10.0 %	Texapón	10.0 %	Texapón	10.0 %
Comperland	2.5 %	Comperland	2.5 %	Comperland	2.5 %
Dehyton	2.5 %	Dehyton	2.5 %	Dehyton	2.5 %
Metil parabeno	0.05 %	Metil parabeno	0.05 %	Metil parabeno	0.05 %
Cloruro de sodio	0.2 %	Cloruro de sodio	0.2 %	Cloruro de sodio	0.2 %
Acido cítrico	0.04%	Acido cítrico	0.04%	Acido cítrico	0.04%
Extracto		Extracto		Extracto	
<i>Ruta graveolens</i>	5.0 %	<i>Ruta graveolens</i>	5.0 %	<i>Ruta graveolens</i>	3.0 %
Extracto semilla		Extracto semilla		Extracto semilla	
<i>Persea americana</i>	5.0%	<i>Persea americana</i>	3.0%	<i>Persea americana</i>	5.0%
Agua	74.71 %	Agua	74.71 %	Agua	74.71 %

Se siguió el mismo procedimiento en las tres formulaciones que consistió en mezclar todos los ingredientes en el orden del listado anterior.

A las tres formulaciones se les realizaron pruebas de irritabilidad dérmica en conejos de acuerdo a la metodología de la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos MGA 0515 la cual consiste en aplicar 0.1ml de la muestra en los costados rasurados del conejo un costado con incisión y el otro únicamente rasurado, evaluando posteriormente a las 24 y 72 horas de exposición, la presencia de eritema y edema en la zona rasurada.

Las tres formulaciones fueron probadas en personas voluntarias, evaluándose los resultados obtenidos de forma visual después de utilizar el shampoo por dos semanas de manera alternada un día si y un día no.

4. RESULTADOS

Se obtuvieron los extractos por los métodos de Soxhlet y de Vigreux respectivamente, con la combinación de ambos extractos se pudo realizar el producto shampoo para cabello con tres diferentes concentraciones de los extractos, las propiedades físicas del shampoo no se vieron afectadas por la incorporación de los extractos, las pruebas de irritabilidad dérmica en conejos arrojaron resultados satisfactorios dentro de los límites de tolerancia de la especificación de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos clasificándose como no irritante. Respecto a la aplicación en personas voluntarias se observaron resultados satisfactorios en relación a la eliminación de piojos, no así en el caso de la eliminación de huevecillos, esto puede deberse a que presentan mayor resistencia y a que en ocasiones se incrustan tanto en el cuero cabelludo que no se logra introducir el shampoo hasta ellos.

5. CONCLUSIONES

Se elaboró un shampoo para cabello con propiedades insecticidas contra los piojos y liendres. Se determinó su grado de irritabilidad encontrándose no irritante. Se probó en personas voluntarias eliminando los piojos. Con las concentraciones de los extractos en la formulación del shampoo no se logró eliminar los huevecillos de los piojos.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. A. M. Angel "Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México" Universidad Nacional Autónoma de México, segunda edición 2001, pp. 13.
2. B. S. A. Julia "Tecnología farmacéutica" Editorial Club Universitario, España 2012 pp. 39-44

DIVERSIDAD MICOLÓGICA CON POTENCIAL CULINARIO, DE LA SIERRA DE SANTA ROSA, GUANAJUATO.

Aparicio Zepeda Maritza Nayeli¹, María Azucena Márquez Lucio², Francisco Alejo Iturvide¹

¹Licenciatura en Biología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. ²Ingeniería Bioquímica del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato.

RESUMEN

Las setas comestibles silvestres son un recurso natural con un alto valor nutricional y económico. México ocupa el décimo primer lugar en cuanto a diversidad biológica-cultural, su diversidad cultural y biológica se ve entremezclada en relaciones etnobiológicas que han sido poco estudiadas y valoradas. Para llevar a cabo este estudio, se realizó un marcaje de 20 puntos de muestreo elegidos aleatoriamente dentro del área de estudio y se realizaron colectas semanales en temporada de lluvias, se tomó material fotográfico de los ejemplares colectados y se llevaron a laboratorio para ser identificados utilizando claves dicotómicas, además se realizaron encuestas en “Puerto de Santa Rosa, Gto.”, comunidad aledaña al área de estudio, para identificar el aprovechamiento de setas silvestres por parte de la población. Se identificaron 24 especies de macromicetos comestibles pertenecientes a la división *Basidiomycota*, las especies más representativas por su frecuencia en la zona fueron, *Lactariusindigo*, *Lactariusdeliciosus*, *Lepista nuda*, *Clitocybebiggibba*, *Cantharelluscibarius* y *Collybiaperonata*. El resultado de las encuestas para determinar el aprovechamiento de setas comestibles silvestres por parte de la población local, arrojó que las especies más conocidas y consumidas por los pobladores son *Ramaria flava*, *Lycoperdonperlatum* y *Amanita caearea*. Lo que nos indica que, aunque si hay aprovechamiento de estos organismos por parte de la población, éste es mínimo, debido a la falta de información y conocimiento que tienen los pobladores acerca de las especies de macromicetos comestibles que se encuentran en la zona y que pueden ser aprovechadas sustentablemente.

1. INTRODUCCIÓN

Un componente importante de la diversidad biológica de los ecosistemas forestales son los macromicetos, que desempeñan una importante función ecológica por la forma de obtener sus nutrimentos. Las setas comestibles silvestres son un recurso natural con un alto valor nutricional y económico. Aunque los macromicetos constituyen uno de los grupos taxonómicos en extremo diversos (Guzmán, 1998). El conocimiento que se tiene sobre su riqueza y diversidad a nivel local, es muy escaso. El aprovechamiento de los hongos silvestres comestibles, genera una derrama económica (Boa, 2005). No obstante, el uso desconocido y no planificado de algunas de las especies de estos organismos en algunas localidades puede implicar su sobreexplotación (Díaz-Barriga, 1996).

Es necesario realizar listados de las especies de macromicetos comestibles presentes en el estado de Guanajuato; una de las zonas más representativas para realizar este estudio es el área de la Sierra de Santa Rosa, Gto., ya que las especies de macromicetos que se han estudiado se distribuyen principalmente en bosque de encinos (*Quercusspp.*), tipo de vegetación presente en esta zona, además de su clima húmedo, que permiten la presencia y diversidad de especies de macromicetos, principalmente en temporada de lluvias.

Hasta el momento se han identificado aproximadamente 260 géneros de macromicetos en el territorio guanajuatense, la mayoría procedentes de la Sierra de Santa Rosa y de la Reserva de la Biosfera Sierra Gorda (Márquez-Lucio et al., 2006). Los géneros mejor representados en las recolectas documentadas son *Boletus*, *Lactarius*, *Russula*, *Ramaria* y *Agaricus*. Estos taxa agrupan a un número de especies comestibles de amplia distribución en los bosques de coníferas y de encinos, cuyo aprovechamiento para autoconsumo y comercialización es una práctica común entre los productores forestales del centro, sur y en algunas localidades del norte de México. Es por ello que el objetivo de este estudio es conocer la diversidad de estos organismos en la Sierra de Santa Rosa, Gto., además de conocer el aprovechamiento actual que se le da a las especies silvestres de importancia comestible por parte de la población y así contribuir a un aprovechamiento moderado de este recurso natural y evitar poner en riesgo la presencia de estos organismos en la zona.

2. TEORÍA

El 70% de la biodiversidad se encuentra en 17 países y México ocupa el cuarto puesto con 12% de la biota. Esta riqueza biológica es explicable por su topografía y heterogeneidad fisiográfica, climática y ecológica; Los hongos están considerados, actualmente, como el segundo grupo de organismos más diverso en la Tierra, después de los insectos, pues se calcula que hay alrededor de 1.5 millones de especies de hongos, mientras que para los insectos se da una estimación de 8 millones de especies (Hawksworth 2002).

En el estado de Guanajuato se han explorado esporádicamente estos organismos, de tal manera que se conocen más de 100 especies, entre las que se encuentran destructoras de la madera, micorrízicas, comestibles, parásitas de hongos, insectos y plantas, como es el caso de las royas del género *Puccinia* y *Uromyces*. También se conoce una especie perteneciente a los mixomicetes, que no son en sentido estricto hongos pero que tradicionalmente han sido estudiados por los micólogos.

La Sierra de Santa Rosa, Gto., está representado principalmente por bosque templado de *Quercus*, esta vegetación permite la variedad de especies arbóreas vitales para las relaciones simbióticas micorrízicas con diferentes especies de hongos, mismos que desempeñan varios roles dentro del ecosistema (Raina, Chamola y Mukerji, 2004). Los hongos son un componente esencial para la supervivencia de otros organismos, cruciales en los procesos ecológicos globales, fuente de nuevos compuestos bioactivos, agentes de control biológico y muchas de estas especies de macro hongos son comestibles.

La identificación morfológica de estos organismos, se lleva a cabo por observación y comparación de algunas de las estructuras que lo conforman, tales como son:

Sombrero: Es la parte superior del carpóforo y suele ser la más carnosa de la seta. A menudo tiene forma de paraguas más o menos abierto, aunque puede presentar numerosas variaciones en su forma.

Cutícula: Es la membrana exterior que a modo de piel recubre al sombrero y, a veces, el pie. Presenta una amplia gama de colores y variadas texturas.

Himenio: Se encuentra en la parte inferior del sombrero, donde se localizan las esporas. Puede estar formado por láminas como en *Agaricus* o *Amanita*, poros como en *Boletus* o *Suillus*, pliegues como en *Cantharellus* o agujijones como en *Hydnum* o *Sarcodon*.

Pie: Es la parte de la seta que sostiene el sombrero y bajo el cual se encuentra el micelio. Su color, tamaño, forma y estructura son importantes para su identificación.

Anillo: Algunas setas, cuando son jóvenes, disponen para proteger el himenio de una membrana que une el pie con el sombrero. Cuando el sombrero se extiende al crecer la seta, esta membrana se rompe, quedando parte de ella en el pie, al que rodea, y dando lugar al anillo. La existencia o ausencia de anillo es importante al identificar los hongos.

Cortina: Está constituida por finas fibrillas en forma de tela de araña que unen el borde del sombrero con el pie.

Volva: Su origen está en el velo universal, que es una membrana que envuelve el carpóforo cuando es joven, y se rompe cuando la seta crece. Parte de ésta queda adherida al pie en el desarrollo de algunas setas, como en el género *Amanita*.

Como se mencionó anteriormente, las setas son un recurso natural aprovechado y valorado en gran parte por sus propiedades nutrimentales, entre las cuales destacan su contenido de:

Proteínas. El porcentaje de proteína en peso seco puede variar entre 10 y 30% aunque puede llegar a ser hasta del 40%.

Carbohidratos. Tienen un contenido elevado de carbohidratos de entre el 10 al 50%. Dentro de los carbohidratos que contienen dichos hongos, se encuentran hexosas, sacarosa, etc.

Lípidos. Contiene del 3 al 5% de lípidos en peso seco. Los fosfolípidos del 60 al 70 %.

Vitaminas. Los hongos suelen ser una fuente de tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina, biotina y ácido ascórbico (vitamina C).

Minerales. Los hongos absorben todos los minerales que contiene el substrato donde son cultivados, por lo general contienen buena cantidad de fósforo y potasio, y calcio en menor cantidad.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio: La Sierra de Santa Rosa se localiza al norte de la ciudad de Guanajuato entre los 20° 45' y 21° 25' de latitud norte y entre los 100° 53' y 101°25' de longitud oeste. Está considerada dentro de la subprovincia de Sierras y Llanuras del Norte de Guanajuato, en la región fisiográfica de la Mesa Central, que presenta montañas fuertemente disectadas, barrancas y cañadas, con altitudes que oscilan entre 1,800 y 2,700 m. Su geología está conformada por rocas sedimentarias de materiales detríticos y rocas ígneas; Los suelos que ocupan una mayor extensión son los Castañozem (> 60%), seguidos de Litosoles (25%) y Rendzina (8%). Su clima es el de mayor humedad de los templados subhúmedos, con alrededor de 800 mm de precipitación promedio anual. En cuanto a la vegetación, se señala principalmente la presencia del bosque de *Quercus*, mientras que para la vertiente oriental de la sierra se presenta el matorral crasicaule, además de las comunidades vegetales de mezquital y bosque de *Pinus-Quercus*, cuya distribución se encuentra determinada por las diferentes condiciones ambientales.

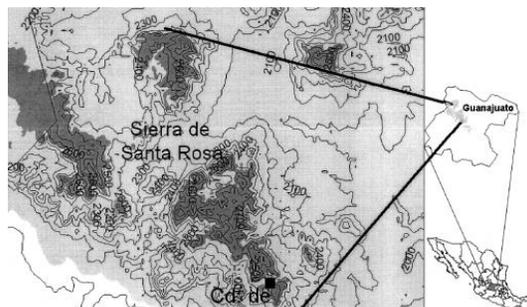


Fig. 1: Sierra de Santa Rosa enGto.

Colecta: Para llevar a cabo la colecta de los ejemplares, se realizó un marcaje de 20 puntos de muestreo seleccionados al azar dentro del área de estudio, a los que se realizaron muestreos semanales durante la temporada de lluvias. La colecta consistió, en la toma de material fotográfico, y los ejemplares colectados se colocaron en papel encerado y se depositaron en una caja de

cartón para evitar que se dañaran. A cada ejemplar colectado se le asignó una clave de identificación, y se realizaron anotaciones relevantes que posteriormente pudieran ser de utilidad para su identificación. Se realizó una ficha micológica de cada ejemplar donde se anotaron: fecha de colecta, nombre del colector, clave del ejemplar, lugar de colecta, características morfológicas del ejemplar (forma, tamaño y color del estípite y del píleo, tipo de laminillas, tipo de borde, presencia u ausencia de anillo y volva, la imagen del ejemplar y una pequeña descripción extra).

Identificación: los ejemplares colectados fueron llevados a laboratorio para su identificación, se utilizaron manuales, claves dicotómicas y algunas guías de hongos (Guzmán (1977); Cetto (1979); Cetto (1980a); Gerhardt et al. (2000); Iñiguez et al. (2006); Velázquez et al. (2006), entre otros.). El grado de comestibilidad de las especies de macromicetos encontradas en la zona, se determinó en base a la literatura y la frecuencia, por medio de la observación de la cantidad de ejemplares durante los muestreos.

Encuestas: Se realizó una encuesta en Puerto de Santa Rosa, comunidad aledaña al área de estudio, para determinar el grado de aprovechamiento de las especies silvestres por parte de la población, y el conocimiento que tienen acerca de estos organismos.

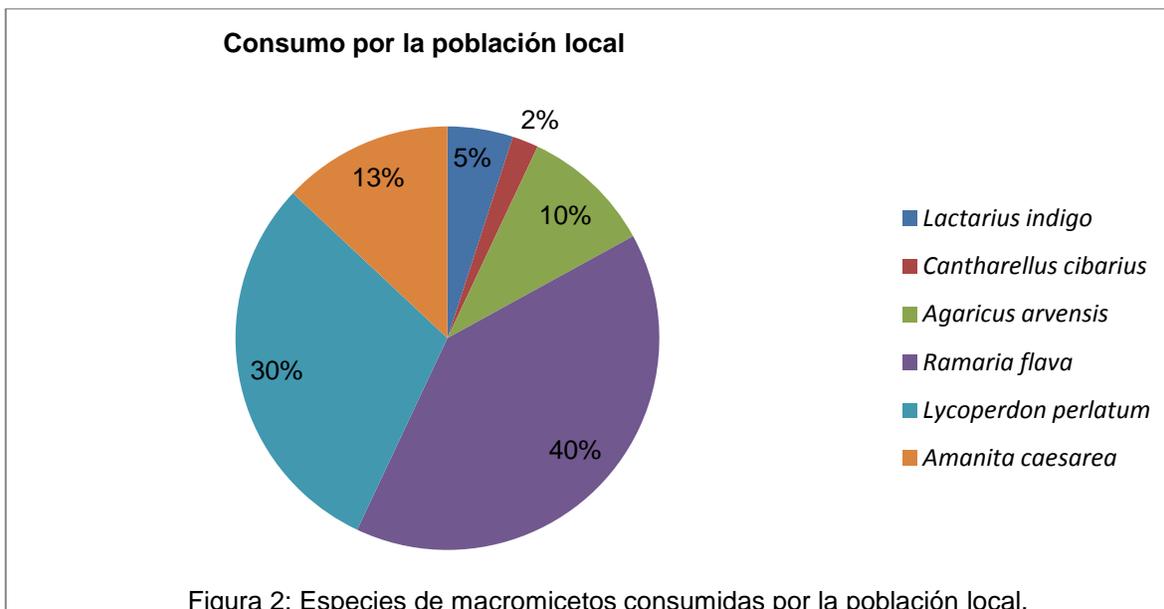
4. RESULTADOS

Se obtuvo un total de 24 especies de macromicetos identificadas como comestibles (Tabla 1), de las cuales las más frecuentes en la zona fueron *Lactarius indigo*, *Lactarius deliciosus*, *Lepista nuda*, *Clitocybe gibba*, *Cantharellus cibarius* y *Collybia peronata*.

Tabla 1: Especies de macromicetos comestibles identificadas para la Sierra de Santa Rosa, Gto.

ESPECIE	COMESTIBILIDAD	FRECUENCIA
<i>Lactarius indigo</i>	***	***
<i>Lactarius deliciosus</i>	***	***
<i>Lactarius rugatus</i>	**	*
<i>Lactarius spp.</i>	***	***
<i>Lactarius lignyotus</i>	***	*
<i>Russula rampelina</i>	**	**
<i>Boletus appendiculatus</i>	***	**
<i>Lepista nuda</i>	**	***
<i>Agaricus arvensis</i>	***	**
<i>Ramaria flava</i>	***	**
<i>Clitocybe gibba</i>	*	***
<i>Collybia peronata</i>	*	***
<i>Boletus frostii</i>	**	**
<i>Sparassis crispa</i>	**	*
<i>Amanita caesarea</i>	***	**
<i>Lycoperdon perlatum</i>	***	**
<i>Amanita fulva</i>	**	**
<i>Amanita vaginata</i>	**	**
<i>Marasmius oreades</i>	*	***
<i>Tremella aurantia</i>	**	*
<i>Hydnum repandum</i>	***	*
<i>Hygrophorus russula</i>	*	*
<i>Pleurotus ostreatus</i>	***	*
<i>Cantharellus cibarius</i>	***	***

En cuanto al aprovechamiento de las setas silvestres por parte de la población local, las encuestas arrojaron que las especies más consumidas por la población local fueron *Ramaria flava*, *Lycoperdon perlatum* y *Amanita caesarea* (Figura 2). Y estas especies son obtenidas por colecta directa de los pobladores, generalmente personas adultas, y pocas veces los obtienen por medio de vendedores.



5. CONCLUSIONES

La sierra de Santa Rosa, Gto., cuenta con una gran diversidad de macromicetos, misma que no se conoce totalmente por falta de estudios sobre la biodiversidad del estado. El aprovechamiento de este recurso natural por parte de la población en realidad es mínimo, pues de las 28 especies registradas como comestibles en el presente estudio, solo son consumidas y conocidas alrededor de 3 especies. Especies representativas por su importancia culinaria tales como *Agaricus arvensis* o *Lactarius indigo*, no fueron mencionadas por los pobladores durante las encuestas, lo que nos muestra la falta de conocimiento y divulgación sobre estos organismos. Es importante implementar estudios de diversidad biológica en el estado, además de contribuir al conocimiento de los recursos renovables y fomentar su explotación adecuada por medio de la divulgación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boa, E. 2005. Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población. Roma, Non-Wood Forest Products. No. 17, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (fao).
2. Cetto, B., Guía de los hongos de Europa. España: Omega, Tomo I, 1979.

3. Cetto, B., Guía de los hongos de Europa. España: Omega, Tomo II, 1980a.
4. Gerhardt, E.; Vila, J.; Llimona, X., Manual de Identificación de Hongos de España y de Europa. España: Omega, 2000.
5. Guzmán, G., Identificación de los hongos comestibles, alucinantes y destructores de madera. México: Limusa, 1977.
6. Guzmán, G. 1998. "Análisis cualitativo y cuantitativo sobre la diversidad de hongos en México", en G. Halffter (ed.), La diversidad biológica de Iberoamérica II. Xalapa, México, Instituto de Ecología, A.C., pp. 111-179.
7. Iñiguez, J.R.; Núñez, D.; Valenzuela, R., Los Aphyllophorales del mineral de nuestra señora Cosala, Sinaloa. Ensenada: Congreso Nacional de Micología, 2006.
8. Márquez-Lucio, M.A., F. Alejo-Iturvide, G. Vázquez-Marrufo et al. 2006. Inventario de carpóforos en una zona sin actividad forestal en la Sierra de Santa Rosa, Guanajuato, en Memorias XXVI Congreso Nacional de Bioquímica.
9. Schmit JP, Mueller GM. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. Biodivers Conserv.2007
10. Velázquez, N.A.C.; Gómez, A.T.R.; Valenzuela, R.; Galicia, J.M., Algunas especies de hongos Poliporoides del estado de San Luis Potosí, México. Ensenada: Congreso Nacional de Micología, 2006.

LOS ODONATOS Y SU PAPEL FUNCIONAL EN LA SIERRA DE GUADALUPE, ECATEPEC, ESTADO DE MÉXICO

Martínez López Jaret Irais², Villeda Callejas María del Pilar¹, Domínguez Rocha Gustavo¹, Barrera Escorcía Héctor², Cervantes Zamudio Osvaldo², Guedea Fernández G.E. Daleth².

¹Laboratorio de Zoología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. ²Laboratorio de Microscopía. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Avenida de los Barrios Número 1, Colonia Los Reyes Iztacala Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090.

RESUMEN

Se realizó un muestreo quincenal durante los meses de agosto a noviembre del 2015 en la zona noreste de la Sierra de Guadalupe. La diversidad encontrada fue baja, se registraron dos especies de la subfamilia Libellulinae y dos representantes de la familia Coenagrionidae; la baja presencia de las libélulas está directamente relacionada con la perturbación en el ambiente y la contaminación de sitios de ovoposición. Estos organismos cumplen funciones ecológicas como controladores biológicos durante todas sus etapas del ciclo de vida; en el estadio de náyade algunas son indicadoras de la calidad del agua; finalmente socialmente son apreciadas por los coleccionistas por su gran colorido y tienen gran aceptación social.

Palabras clave: Odonata, perturbación ecológica

Abstract: Fortnightly sampling was conducted during the months of August to November 2015 in the northeast of the Sierra de Guadalupe. The diversity found was low, were recorded two species of the subfamily Libellulinae and two representatives of the family Coenagrionidae; the low presence of dragonflies is directly related to the disturbance in the environment and pollution oviposition sites. These organisms perform ecological functions as biological controls during all stages of the life cycle; in the stage of larva some are indicators of water quality; finally they are socially appreciated by collectors for their colorful and have great social acceptance.

Key words: Odonata, ecological disruption

1. INTRODUCCIÓN

El orden Odonata se caracteriza por ser un grupo de insectos paleópteros con desarrollo hemimetábolo, presentan una distribución ecológica principalmente en regiones cálidas; se estima que el 75% de las especies están establecidas en regiones tropicales. Los adultos tienen ojos compuestos grandes generalmente de coloración llamativa, el tórax soporta cuatro alas membranosas de densa venación, el abdomen es delgado y con una coloración propia de la especie; son encontrados cerca de los cuerpos de agua dulce como ríos, lagunas y lagos que son ocupados como sitios de apareamiento y de ovoposición (Ramírez, 2010; Abbot, 2009).

Los estudios ecológicos y evolutivos en los odonatos durante los últimos años han sido extensos y ha tenido un gran avance. Las náyades y los adultos son carnívoros, alimentándose de varios grupos de invertebrados de hábitos acuáticos tanto como terrestres, pero también pueden alimentarse de pequeñas larvas de peces; debido a los hábitos alimenticios presentados por este

grupo se les ha ubicado dentro del grupo funcional de depredadores generalistas, con base en estos datos han sido utilizados como agentes de control biológico contra especies dañinas para el ser humano como los mosquitos. Los odonatos son un grupo con una alta importancia ecológica debido a que son esenciales para la evaluación de los ecosistemas de agua dulce; puesto que algunas especies son utilizadas como indicadores de la calidad del agua y del nicho ecológico y se utilizan para monitorear el cambio ambiental (Corbet, 1999; González-Soriano y Novelo-Gutiérrez, 2014).

La Sierra de Guadalupe es una formación orográfica que cuenta con una extensión considerable de recursos naturales y áreas cubiertas al norte de la Ciudad de México; una importancia ecológica considerable es que forma una barrera natural contra la contaminación y degradación al ambiente, de ahí que también sea considerada como un "pulmón verde" (Cedillo *et al.*, 2007).

Los trabajos de Escoto-Moreno y Novelo-Gutiérrez (2014), realizando un listado de las especies de odonatos encontrados en el estado de Hidalgo, haciendo énfasis en la creación de mapas con SIG para encontrar sitios potenciales de nuevos registros de especies; Gómez (2008) estudio el comportamiento de los ensamblajes de náyades en la Sierra de Coalcomán, Michoacán relacionándolos con los factores ambientales del medio y su utilidad como agentes de conservación y Medina (2014) realizó un listado de los odonatos presentes en la Sierra de Guadalupe y el análisis de la fenología de los organismos presentes durante un año de colecta. El presente trabajo tiene como objetivo denotar la importancia de los odonatos dentro de la Sierra de la Guadalupe así como su contribución al ecosistema.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La Sierra de Guadalupe, se localiza al norte de la Ciudad de México, en los límites entre el Distrito Federal y el Estado de México. Geográficamente se ubica entre los 19°37' y 19°29' de latitud norte y a los 99°12' y 99° 02' de longitud oeste.



Fig. 1. Puntos de muestreo. Sierra de Guadalupe, Ecatepec. Barranca las venitas, Laguna los nueve ahogados y Parque ecológico Ehecatl.

Se realizaron muestreos quincenales durante los meses de agosto a noviembre de 2015, en tres puntos de muestreo: Parque ecológico “Ehécatl”, Barranca “Las venitas” y la “Laguna de los Nueve Ahogados” (Fig. 1) dentro de la zona noreste de la Sierra de Guadalupe, municipio de Ecatepec de Morelos. La colecta de los organismos se realizó mediante redes entomológicas aéreas cercano a los cuerpos de agua, posteriormente se fijaron mediante inyección en el abdomen con acetona pura, posteriormente se colocaron en bolsas de papel glassine para realizar una inmersión por 24 horas en el mismo solvente, lo que permitió la conservación en seco en las mismas bolsas debidamente etiquetadas. Los organismos fueron trasladados al Laboratorio de Microscopia de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, para su determinación se utilizaron las claves especializadas de Nedham *et al.*, (1954); Usinger, (1956) con ayuda de un microscopio estereoscópico.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los organismos recolectados correspondieron a cuatro especies que se incluyen en tres géneros, dos familias y dos subórdenes (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen taxonómico de los organismos del orden Odonata colectados.

Orden	Suborden	Familia	Género	Especie
Odonata	Anisoptera	Libellulidae	<i>Libellula</i>	<i>L. saturata</i> Uhler, 1857
			<i>Sympetrum</i>	<i>S. illotum</i> (Hagen, 1861)
	Zygoptera	Coenagrionidae	<i>Enallagma</i>	<i>E. civile</i> Hagen, 1871
				<i>E. novohispaniae</i> Calvert, 1907

La baja riqueza de organismos encontrados durante los muestreos se debe principalmente a que la mancha urbana del municipio se ha acrecentado y comenzó a invadir partes de la Sierra de Guadalupe, que conlleva a la introducción de especies propiciando cambios en el hábitat natural, afectando tanto a la flora como a la fauna silvestre; el cambio en el uso de suelo, de forestal a agrícola ha mermado las poblaciones nativas. Estos resultados concuerdan con las nuevas publicaciones sobre odonatos que se están enfocando en el efecto del impacto ambiental en las poblaciones, la revisión sobre este tema realizada por Villalobos-Jiménez *et al.* (2016), arroja que los odonatos son buenos modelos para medir los niveles de perturbación en el ecosistema causados por el crecimiento de la mancha humana, debido a que son muy sensibles al estrés ambiental como los contaminantes y cambios de temperatura, los adultos exhiben un comportamiento alto de dispersión en los paisajes, finalmente son bien conocidos desde su biología, ecología y aspectos evolutivos. Esta perturbación es negativa en la diversidad del orden en las grandes urbes y porque se logra afectar en varias etapas del ciclo de vida. Otra de las razones por la que es baja la riqueza de especies se debe a que el estudio realizado por Medina (2014), durante sus colectas en campo la cantidad de organismos fue demasiado elevada para el sistema que cuenta con una constante perturbación por parte de la sociedad; es bien sabido que en una colecta se trata de obtener la menor cantidad de organismos permitiendo la renovación y que las especies puedan alcanzar su capacidad de carga dentro del ecosistema, en este caso las poblaciones de odonatos aún no se han podido recuperar atribuyéndose principalmente a que la presencia humana dentro de esta localidad es muy grande.

Las especies más frecuentes y abundantes durante las colectas fueron *L. saturata* y *S. illotum*, estas comparten el nicho ecológico y los sitios de ovoposición, es de dominio común que las náyades se utilizan como indicadores de la calidad del agua de acuerdo con Ramírez (2010), en un anexo describe las características ecológicas de los náyades de distintos géneros, entre ellos encontramos al género *Libellula* con un nicho en pantanos, charcas, quebradas con poco estiaje o flujo y que pueden sobrevivir la contaminación leve en su hábitat.

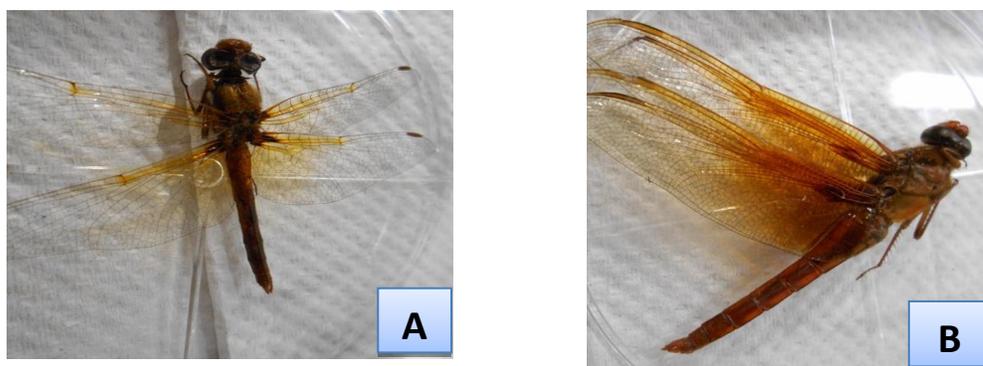


Fig. 2. Fotografías de especies de la familia Libellulidae, más abundantes en la Sierra de Guadalupe. **A:** *Sympetrum illotum* y **B:** *Libellula saturata*.

4. CONCLUSIONES

La zona noreste de la Sierra de Guadalupe, principalmente en el municipio de Ecatepec; es un ambiente altamente perturbado por las acciones humanas, esto conlleva a que las poblaciones nativas de flora y fauna comiencen a desplazarse del sitio y futuramente las puede llevar a la extinción local.

Los odonatos son organismos con una alta importancia ecológica, puesto que son grandes depredadores generalistas que benefician en el control de organismos plagas desfavorables para los humanos, son indicadores de buenas condiciones ambientales. Finalmente es importante mantener sus poblaciones en el ambiente por el valor ecológico y cultural que tienen en nuestro país.

LITERATURA CITADA:

1. Abbot, J.C. 2009. Odonata (Dragonflies and Damselflies). En: Likens, E. G. (ed). Encyclopedia of Inland Waters. Academic Press. USA. 394-403 p.
2. Cedillo, A. O.L., Rivas, S. M.A. y Rodríguez, C. F.N. 2007. El Área Natural Protegida Sujeta a Conservación Ecológica "Sierra de Guadalupe". *Revista de Sistemas Ambientales*. 1 (1): 1-14 p.
3. Corbet, P. S. 1999. Dragonflies, Behavior and Ecology of Odonata. Comstock Publishers Associates: New York. 829 p.

4. Escoto-Moreno, J. A. y Novelo-Gutiérrez, R. 2014. Los odonatos (Insecta: Odonata) del Estado de Hidalgo, México: situación actual y perspectivas. *Revista Mexicana de la Biodiversidad*. 85:1043-1053.
5. Gomez, A. J.A. 2008. Ecología de los ensamblajes de larvas de odonatos (Insecta) y su uso potencial como indicadores de la calidad ecológica en la Sierra de Coalcomán, Michoacán, México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: Mineral de la Reforma, Hidalgo, 306 p.
6. González-Soriano, E. y Novelo-Gutiérrez, R. 2014. Biodiversidad de Odonata en México. *Revista Mexicana de la Biodiversidad*. Supl. 85: S243-S251.
7. Neddham, J. y M. Jr. Westfall. A manual of the dragonflies of North America (Anisoptera) including the Greater Antilles and the provinces of the Mexican border. Univ. Calif. Press, Berkeley. 615 p.
8. Usinger, R. 1956. Aquatic Insects of California: with keys to North American genera and California species. University of California Press. U.S.A. 508 p.
9. Ramírez, A. 2010. Odonata. *Rev. Biol. Trop.* 58: 97-136 p.

SOFTWARE INTERACTIVO DEL LOS SISTEMAS TIPO MICHAELIS-MENTEN

Marleni Reyes Monreal¹, Jessica Quintero Pérez², María Eugenia Pérez Bonilla³, Sheng-li Chilián Herrera⁴ y Arturo Reyes Lazalde³

¹Escuela de Artes Plásticas y Dirección General de Inovación Educativa, BUAP. ²Universidad de Alcalá, España. ³Escuela de Biología, BUAP. ⁴Escuela de Artes Plásticas, BUAP

RESUMEN

En general, los procesos fisiológicos de los seres vivos son muy complejos. Comprender cada una de las variables que intervienen y su interacción resulta difícil. Esto ha obligado a dividir los procesos en partes y en consecuencia a reducirlos. Mecanismos como la acción enzima-sustrato, la unión entre una hormona y el receptor en la membrana de la célula blanco, la unión del neurotransmisor y su receptor, la apertura y cierre de un canal e incluso la acción de algunas bombas en la membrana, para sacar o meter iones en contra de la concentración. Estos casos pueden ser analizados, relativamente fácil, cuando se les considera como un proceso de primer orden. A este respecto, el mecanismo de primer orden propuesto por Michaelis-Menten para una reacción enzimática resulta de mucha utilidad. El complejo evoluciona con una constante cinética de primer orden (k_2), hacia la formación de productos y enzima libre. Se ha encontrado que la velocidad de una reacción depende de la naturaleza de los reactivos, la concentración, la temperatura y los catalizadores. Si bien Michaelis-Menten especifica su propuesta a reacciones químicas que siguen la "Ley de velocidad". La misma ley se aplica en todos los ejemplos señalados. En este trabajo se presenta el diseño y desarrollo de un simulador ejecutable para ambiente Windows®, que destaca los procesos de primer orden. El software es de utilidad didáctica para introducir a los alumnos en el tema y que comprendan la posibilidad de estudiar los mecanismos bioquímicos complejos por reducción.

1. INTRODUCCIÓN

Los simuladores computacionales son una herramienta de apoyo didáctico para facilitar la enseñanza-aprendizaje de innumerables temas; particularmente de aquellos que requieren habilidades de pensamiento complejo y abstracto. Son muy útiles cuando lo que se quiere estudiar no se observa a simple vista. Construir la realidad a partir de modelos matemáticos posibilita realizar experimentos en la computadora modificando estructuras y variables que en la realidad resultan difíciles o imposibles de realizar. Agregar una reacción química, enlentecerla, acelerarla. Modificar una estructura, mutarla computacionalmente. Un mundo de posibilidades. Muchos de los descubrimientos en este siglo vendrán de la investigación *in silicon*. En un país con pocos recursos financieros, como el nuestro, es el momento y la oportunidad de preparar una masa crítica multidisciplinaria. Físicos, matemáticos, médicos, biólogos, ingenieros, diseñadores, computólogos, artistas, todos uno.

En este caso se aborda el tema de la cinética enzimática de primer orden. El modelo de cinética enzimática más utilizado es el de Michaelis-Menten. Su uso en el análisis cinético de las reacciones enzimáticas permite comprender el funcionamiento catalítico de las enzimas biológicas y su repercusión en los procesos fisiológicos. Las matemáticas que describen el modelo dieron un vuelco de timón y desde entonces las reacciones químicas se comprendieron mejor. Menten una

investigadora canadiense. Su trabajo fue reconocido internacionalmente. Fue contratada como profesor asistente en 1916. Sin embargo, fue contratada como profesor titular hasta que tuvo más de 70 años, ¡que injusticia! Tiempos de maltrato y desconocimiento a la mujer, de los hombres que no permiten el éxito de la mujer. De aquellos que creen que en su área de trabajo solamente los hombres entienden y son capaces. ¡Nunca más! Sea este trabajo un pequeño homenaje.

En los estudios de cinética enzimática se mide la actividad enzimática en términos de la cantidad de producto formado por unidad de tiempo, a distintas concentraciones de sustrato. Si la actividad es graficada en términos de la concentración inicial del sustrato versus el producto generado en un lapso de tiempo (velocidad de reacción), la curva generada es una hipérbola rectangular. La ecuación que describe todos los puntos de la función está dada por la velocidad [1].

La contribución básica de Michaelis y Menten

El trabajo de Leonor Michaelis (1875-1949) y Maud Menten (1879-1960) fue de gran importancia, ya que en 1913 publicaron su modelo, donde demostraron que la reacción de catálisis de una enzima es proporcional a la concentración de enzima-sustrato, complejo predicho por la ecuación Michaelis-Menten. Sus nombres han pasado a la historia de la Bioquímica, hasta el punto que se puede decir que la Enzimología comienza realmente con ellos [2].

Actividad enzimática

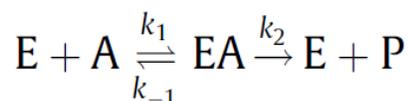
Las enzimas son proteínas, cuya función es catalizar la transformación química de sustratos a productos específicos, mediante la estabilización de complejos transitorios. Las enzimas son proteínas con capacidad de catalizar reacciones biológicas al igual que los catalizadores inorgánicos, aumentan la velocidad para alcanzar el equilibrio de la reacción [3].

La actividad de una enzima se evalúa en función de la velocidad de la reacción. El estudio de la velocidad de las reacciones químicas se denominada cinética, y el estudio de la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas se denomina cinética enzimática. Los factores fisicoquímicos que modifican la actividad de la enzima son: concentración del sustrato, concentración de la enzima, pH, temperatura, fuerza iónica, inhibidores. La descripción cinética de las enzimas facilita la comprensión del funcionamiento enzimático [4, 5].

Modelo de Michaelis-Menten

Michaelis y Menten realizaron mediciones de la velocidad inicial en función de la variable de concentración de sacarosa y formaron sus datos en base de la suposición de que la unión de sacarosa estaba en equilibrio con la enzima y postulan que la velocidad de la reacción era proporcional a la concentración del complejo enzima-sustrato. Al mostrar que la dependencia de la concentración de sacarosa siguió la relación hiperbólica predicha, que proporcionó la evidencia para apoyar la hipótesis de que la catálisis enzimática se debió a formación de un complejo enzima-sustrato, de acuerdo con la ahora famosa ecuación de Michaelis-Menten, y se dilucidó la magnitud de la afinidad de la enzima por su sustrato [6].

Con el modelo propuesto se explican la mayoría de las reacciones catalizadas por enzimas. Donde una enzima E se combina con S para formar un complejo enzima-sustrato (ES), el cual tiene dos posibles destinos. Puede disociarse hasta E y S con una constante de velocidad k_1 , o bien puede continuar hasta formar un producto P con una constante de velocidad k_2 :



En la que E es la enzima, A es el sustrato, P es el producto, EA es un complejo enzima-sustrato, k_1 ; k_{-1} y k_2 son las constantes de velocidad, con el supuesto de que la reacción está en un estado estacionario, en el que la tasa de producción de EA es equilibrada por la velocidad de su conversión [7].

2. MATERIAL Y MÉTODO

Diseño General del programa: Se realizó el algoritmo general para el funcionamiento del programa, se estableció el número de pantallas de presentación, de interfaz, los menús y los submenús de cada una. Inicialmente se incluyeron los textos, imágenes, rótulos, botones fijos y de interactividad con el usuario y enlace entre las interfaces.

Programación del software: El programa se realizó con el lenguaje Visual Basic®, versión 5.0 para ambiente Windows®, desde XP a Windows 8, con una resolución de pantalla de 1,366 x 768 pixeles.

Desarrollo del modelo: Se utilizó la ecuación propuesta por Michaelis-Menten en 1913, que describe el consumo del sustrato por una enzima:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0 \quad (1)$$

$$[ES] = \frac{k_1 [E][S]}{k_{-1} + k_2} \quad (2)$$

$$k_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (3)$$

K_m refleja la afinidad de la enzima por el sustrato. K_m es numéricamente igual a la concentración de sustrato. La velocidad de reacción es la mitad de la V_{max} ($K_m = V_{max}/2$). Este parámetro, K_m no varía con la concentración de enzima.

3. RESULTADOS

Se desarrolló la primera versión de un programa interactivo para la simulación de la cinética enzimática. El simulador se ejecuta directamente desde Windows. Al ingresar, se visualiza primero la pantalla de presentación del programa (figura 1A), posteriormente al iniciar se muestra la interfaz del menú principal que consta de dos módulos: uno informativo con subtemas y el otro incluye la simulación como se muestra en la Figura 1B.

El submenú contiene la descripción básica de siete subtemas: regulación de la actividad enzimática, cinética enzimática, reacciones de primer orden, reacciones enzima-sustrato, modelo cinético de Michaelis-Menten, ecuación de Michaelis-Menten, determinación de la velocidad máxima (V_{max}) de una reacción enzimática y de la constante de Michaelis-Menten (figura 2).

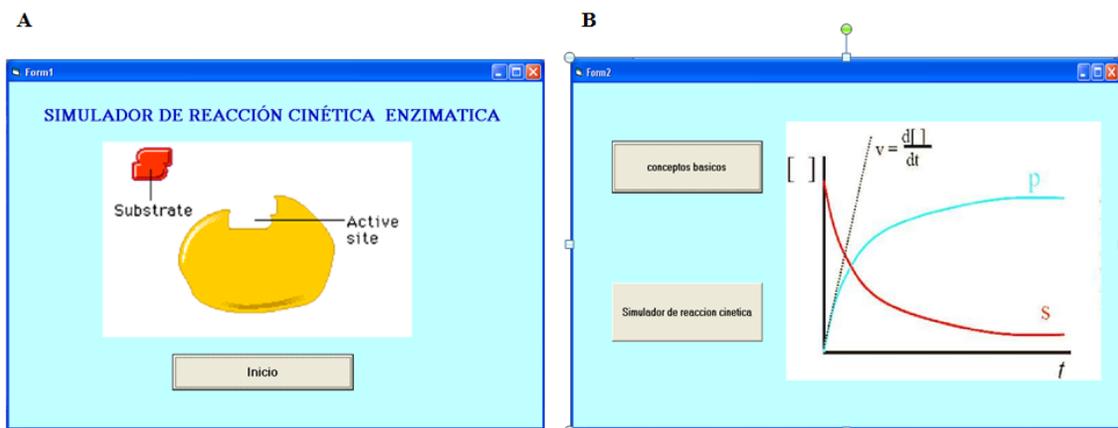


Fig. 1. Interfaz de usuario. (A) Pantalla de inicio del programa. (B) Pantalla de menú del programa.

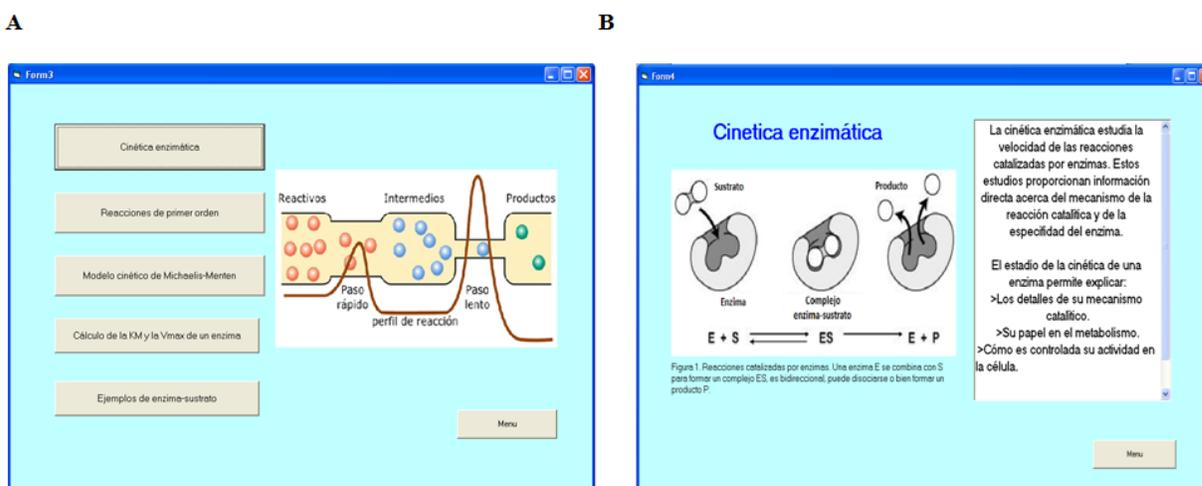


Fig. 2. Interfaces del submenú e informativa del programa. (A) pantalla de un submenú, con los temas informativos. (B) ejemplo de la descripción del tema. El usuario puede regresar al menú principal en cualquier momento.

Ejemplos de simulación de la cinética enzimática

El segundo módulo incluye el simulador computacional de la cinética de las reacciones químicas, que reproduce los efectos de los factores que afectan la velocidad de la reacción: la concentración, la temperatura y los catalizadores (Figura 3).

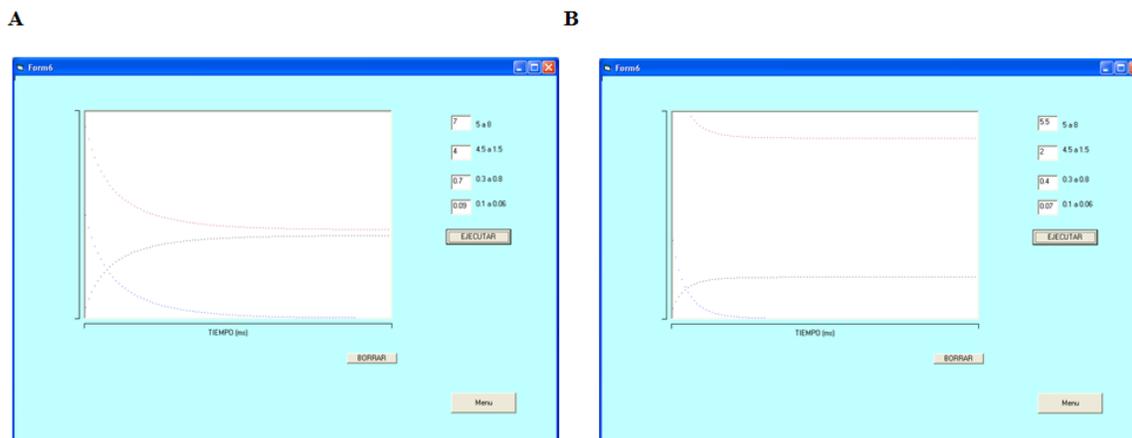


Fig. 3. Simulaciones de reacción enzimática. (A) Interfaz de usuario. Se muestra un recuadro donde se grafica el sustrato (línea superior), la enzima (segunda línea decreciente) y el producto (línea creciente). Del lado derecho se encuentran cuatro casillas para ingresar concentraciones en las dos primeras y velocidades de reacción “hacia adelante” y “hacia atrás”. (B) Ejemplo de simulación modificando cada una de las variables.

Los datos que se muestran por medio del simulador, demuestran que cuando: Una K_m es pequeña refleja una alta afinidad de la enzima por su sustrato, porque a una baja concentración del mismo, la enzima ha desarrollado la mitad de la velocidad máxima. Un valor de K_m mayor, refleja una baja afinidad de la enzima por su sustrato, porque a una concentración elevada del mismo, la enzima desarrolla la mitad de la velocidad máxima.

Relación de la velocidad con la concentración de enzima: la velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de la enzima a cualquier concentración de sustrato. Por ejemplo, si la concentración de enzima es disminuida a la mitad, la velocidad inicial de la reacción (v_0) es reducida también a la mitad de la original.

Orden de la reacción: cuando $[S]$ es más pequeña que el K_m , la velocidad de la reacción es aproximadamente igual a la concentración de sustrato.

4. CONCLUSIONES

El software fue diseñado para alumnos de nivel de licenciatura interesados en entender los mecanismos de cinética enzimática de primer orden. Con el programa se pueden simular las siguientes curvas del modelo M-M:

La relación de la concentración de sustrato en función del tiempo.

La relación de la concentración de enzima libre en función del tiempo.

La relación de la concentración del complejo enzima-sustrato en función del tiempo.

La relación de la concentración de producto en función del tiempo.

La velocidad de activación para una reacción simple catalizada enzimáticamente: el efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad de la reacción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cinética de enzimas. <http://www.uprm.edu/biology/profs/velez/cinetica.htm>. Recuperado el 28 de Marzo de 2016.
2. L. F. Vera, "Enzimas: ¿qué son y para qué sirven?", *Rev R Acad Cienc Exact Fís Nat (Esp)*, vol. 101, 2, 2007, pp. 400-416.
3. C. A. Cedillo y J. L. Hernández, "Determinación de la actividad enzimática de peroxidasas (catalasa)", 2010. <http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2010/12%20Verano%20Ciencia%20Region%20Centro/UAQ%20Cedillo%20Jimenez.pdf>.
4. Recuperado el 9 de Marzo del 2016.
5. J. M. Berg, J. L. Tymoczko y L. Stryer, "Bioquímica", 6ta edición, editorial Reverté, España, 2008, pp. 216-237.
6. D. M. Yerga, "La miel, fuente de energía y química, 2004. <https://quimicosonador.wordpress.com/2014/01/> Recuperado el 9 de Marzo del 2016.
7. K. A. Johnson y R. S. Goody. The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis-Menten Paper. *Biochemistry*, vol. 50, 39, 2011, pp. 8264–8269.
8. A. Cornish-Bowden, "The origins of enzyme kinetics", 2013. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.febslet.2013.06.009/abstract>. Revisado el 12 de marzo de 2016.
9. J. M. López y F. García, "Los cuatro mosqueteros de la cinética enzimática", *Eubacteria*, vol. 34, 2015, pp. 39-43.

PELÍCULAS A PARTIR DE ALMIDÓN Y DEL COPOLIMERO INJERTO ALMIDÓN-g-PCL

Peralta González Coyolicaltzin, Ramírez Hernández Aurelio, Conde Acevedo C. Jorge, Moreno Navarro Gpe. Leticia.

Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec.

RESUMEN:

Se llevó a cabo la elaboración de películas de almidón y del copolímero injerto almidón-g-PCL sintetizado a diferentes temperaturas por medio del método casting. Se realizó su caracterización por la técnica instrumental de espectroscopia de Infrarrojo (FTIR). El análisis del espectro de FTIR mostro las señales principales de vibración del almidón y de este en el copolímero. Estas señales se incrementan conforme aumenta la temperatura de síntesis del copolímero injerto. Esto significa que a temperaturas mayores el ordenamiento de las cadenas aumenta. Además, se determinó el porcentaje de humedad. La humedad es variable en todas las formulaciones de las películas y su degradación aumenta conforme pasando el tiempo.

1. INTRODUCCIÓN:

En el mundo se ha incrementado la preocupación por la generación indiscriminada de desechos o basura no tan fácilmente degradable por la naturaleza, por ejemplo, la generada por los plásticos. Los plásticos son macromoléculas o polímeros obtenidos principalmente a partir del petróleo, por ejemplo, el polietileno (PE), el cual uno de sus principales usos es en la fabricación de bolsas plásticas utilizadas en los centros comerciales [1]. En los últimos 70 años, estos materiales han mejorado considerablemente la calidad de vida de los seres humanos y se han convertido en materiales muy importantes para el crecimiento y desarrollo de los países. Sin embargo, también se ha incrementado la contaminación ambiental generada por la disposición final de estos polímeros o plásticos al terminar su vida útil. Aunque pueden ser reciclados, la realidad indica que muy poco se recicla.

A nivel mundial, el 10% de la basura sólida es plástico, y es común verlo depositado inapropiadamente (**Figura 1**), por ejemplo, en las calles de las ciudades, en zonas naturales, en ríos y en los mares, en este último sitio contiene alrededor del 0.2 al 0.3% de la basura plástica. [2-3].



Figura 1. Sitios inapropiados para depositar la basura.

La mayoría de estos materiales son estables en el medio ambiente y son difícil de degradar en condiciones ambientales, por lo tanto, su acumulación altera la calidad de vida del resto de los seres vivos y pone en peligro la vida de algunas de estas especies, por ejemplo, los animales marinos podrían comer plástico o quedar enredado en él y morir.

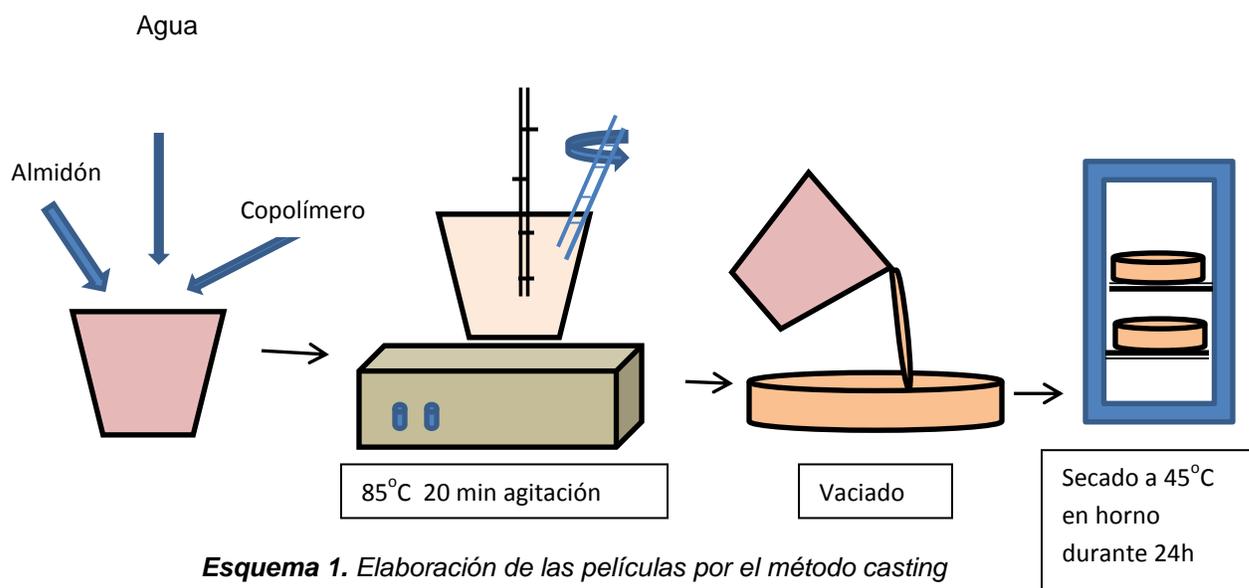
Por tal razón, hoy en día, hay gran interés en la utilización de materiales biodegradables como una alternativa ante el uso irracional de los plásticos convencionales como el PE, dentro de las materias primas para elaborar plásticos biodegradables se encuentra el almidón. El almidón es un polisacárido de origen vegetal almacenado en forma de gránulos de estructura compleja que se encuentra principalmente en cereales (maíz, arroz, trigo, etc.), tubérculos (papa, camote, yuca, etc.), en leguminosas (frijoles, chicharos, haba, etc.), y en frutas (mango, plátano, etc.) pero también se encuentran en los tallos, en las hojas e incluso en el polen.

2. PARTE EXPERIMENTAL

A partir de almidón y del copolímero injerto Almidón-g-PCL sintetizado a diferentes temperaturas. Se Elaboraron las películas de almidón/almidón-g-PCL.

2.1 Preparación de las películas de almidón y del copolímero injerto .

En el **Esquema 1** se ilustra de manera general el procedimiento general que se utilizó para la formación de las películas de almidón de plátano macho y del copolímero usando el método casting.



Esquema 1. Elaboración de las películas por el método casting

2.2 Determinación de la humedad

Para la determinación de la humedad de las películas se utilizó una termobalanza marca Shimidzu modelo Moc-120H. Las películas se sometieron a calentamiento en la termobalanza usando un software integrado a la misma, el cual consiste en medir la pérdida de peso de cada película cada 30 segundos a 110°C .

3. RESULTADOS

3.1 Elaboración de las películas de almidón y del copolímero

Se llevó a cabo la elaboración de las películas por medio del método casting. Las cuales se obtuvieron con éxito y en la **Figura 2** se presentan algunas de las fotografías tomadas de estas. La primera corresponde a la película de almidón de plátano macho (1), (2) y (3) corresponden a las películas de almidón/Almidón-g-PCL/ y del copolímero Almidón-g-PCL, respectivamente.

(1)

(2)

(3)

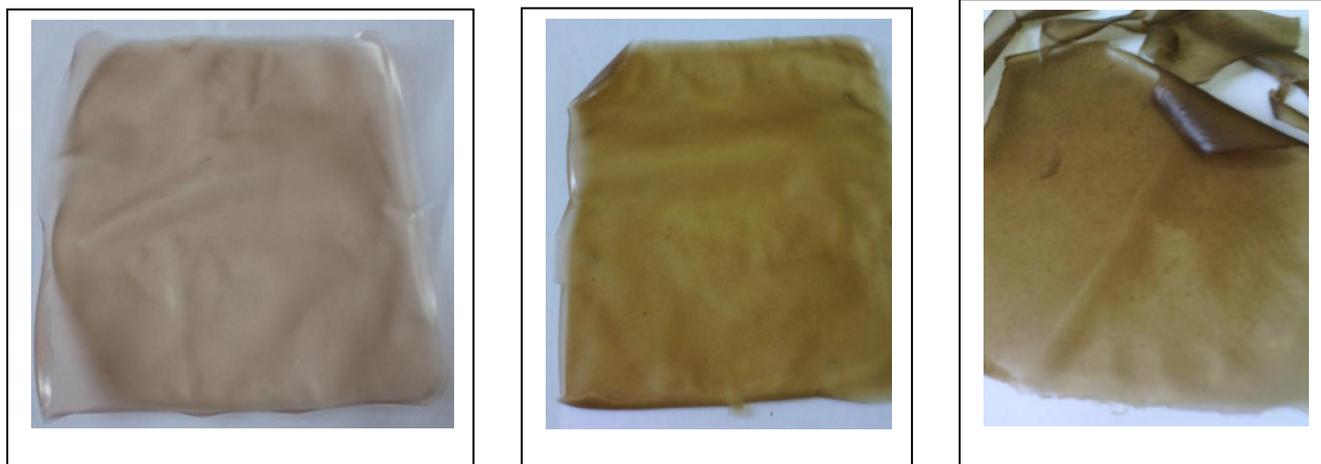


Figura 2. Películas de almidón (1), del almidón/almidón-g-PCL (2) y del copolímero almidón-g-PCL.

Comparando las tres fotografías se puede observar que las tres presentan tonalidades diferentes. La tendencia de transparencia sigue el siguiente orden Pel. 1 > Pel. 2 > Pel. 7. Esta tendencia se debe probablemente a las diferencias de la cristalinidad y amorficidad que tiene cada película.

3.2 Determinación de la humedad de las películas. Se llevó a cabo la determinación del contenido de agua en las películas de almidón y del copolímero injerto. En la **Figura 3** se presenta el comportamiento de las películas de almidón-g-PCL frente a la humedad.

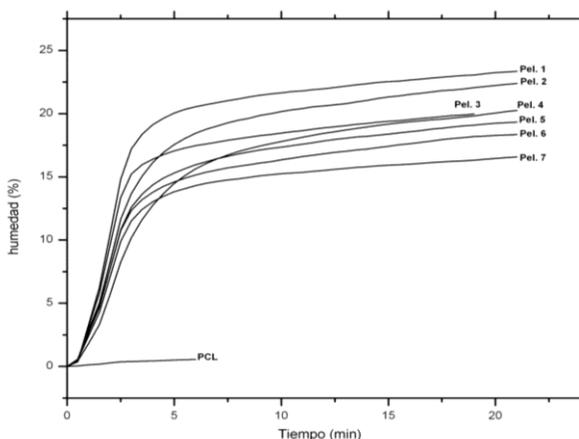


Figura 3. Porcentaje de humedad de las películas de almidón-g-PCL.

Una de las desventajas que presentan las películas elaboradas a partir de solo almidón es su afinidad al agua y esto se observa en la **Figura 3**, siendo esta la de mayor contenido de humedad comparadas con las demás. La tendencia en las gráficas indica que la humedad aumenta cuando disminuye la temperatura de síntesis del copolímero Almidón-g-PCL. Esto es debido a que hay un aumento en la interacción de los grupos hidróxilos del almidón con los del copolímero y esto disminuye su interacción con los hidróxilos del agua. Esto significa que la cristalinidad de las películas debe tener la misma tendencia, es decir, aumentar con la disminución de la temperatura de síntesis del copolímero porque habrá menos interacciones de los grupos hidróxilos entre el almidón y la PCL. Por otra parte, las películas de solo PCL, tal como se esperaba, tienen escasa humedad debido a sus características químicas y físicas, es hidrofóbica.

3.3 Los espectros de FTIR de las películas se presentan en la **Figura 4**. Las dos señales principales de vibración del almidón se observan en todas las películas. La primera señal corresponde a la vibración de alargamiento de los grupos hidroxilos (-OH) del almidón, la cual aparece a 3291cm^{-1} . La segunda señal del almidón aparece a 994cm^{-1} , la cual corresponde a la vibración de flexión del grupo C-O-C presente en su estructura. La señal a 928cm^{-1} corresponde a la señal de vibración del enlace $\alpha(1-6)$. La forma y la intensidad de estas señales son características del espectro de FTIR del almidón.²

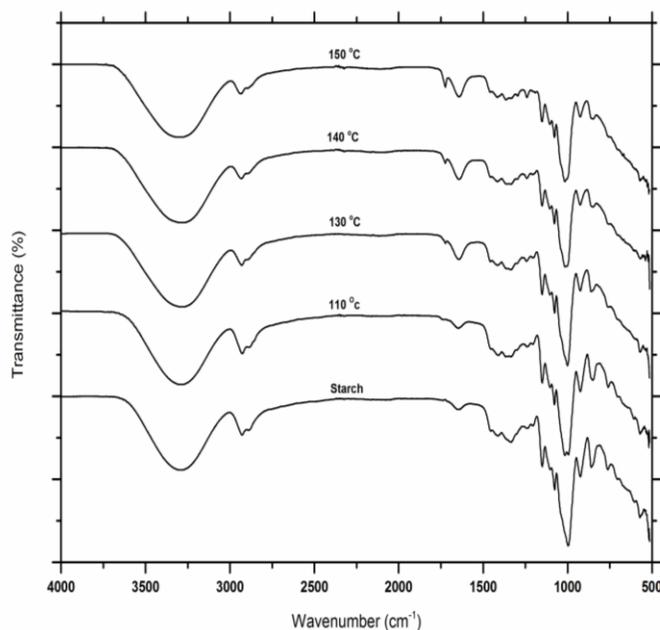


Figura 4. Espectros de FTIR de las primeras 5 películas.

Por otra parte, La señal de vibración del grupo carbonilo (C=O) a 1721cm^{-1} de la PCL se observa que aumentando en intensidad cuando aumenta la temperatura de síntesis del copolímero como se ve en la figura 4. Esto está indicando un aumento en la concentración de las señales de vibración del grupo carbonilo de la PCL.

3.4 Biodegradación de las Películas. La degradación de las películas en la tierra frente al tiempo se llevó de acuerdo a la norma ASTM D-1708, **Figura 5**.

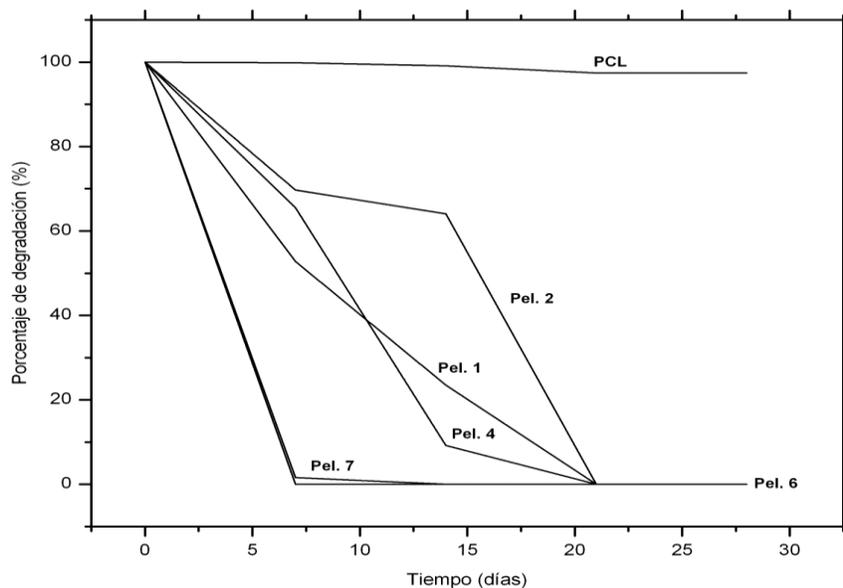


Figura 5. Biodegradación de las Películas.

Homopelículas de almidón y del copolímero almidón-g-PCL, Pel. 1 y Pel. 7, respectivamente, se degradan completamente a los 22 días aproximadamente. La Pel. 7 y la Pel. 6, son las películas que más rápidamente se degradan, a los 12 días aproximadamente. Este resultado comprueba la hipótesis planteada en el proyecto de investigación, la combinación de almidón y PCL generan un polímero altamente biodegradable. Sin embargo, la Película utilizando copolímero sintetizado a 110°C (Pel. 2) presenta una degradación intermedia entre el almidón y la PCL.

4. CONCLUSIONES

Se llevó a cabo con éxito la elaboración de películas de almidón y del copolímero almidón-g-PCI por medio del método casting. La caracterización por FTIR indica que las cadenas de PCL se reorganizan en forma lineal conforme aumenta la temperatura de síntesis del copolímero. La biodegradación de las películas se lleve a acabo a los 30 días. Este resultado permite concluir que las películas son altamente biodegradables en este tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Escobar D, Sala A, Silvera C, Harispe R, Márquez R. Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo: estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador. *Rev Lab Tecn. Uru.* 2009; 4, 33-36
2. Subramanian P. M. (2000). *Plastics recycling and waste management in the US.* Resources. Conservation and Recycling. 28, 253–263.
3. Ozge C., Ayse E. P. (2013). Thermal and kinetic behaviors of biomass and plastic wastes in co-pyrolysis. *Energy Conversion and Management.* 75, 263–270.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE ARCILLAS ANIÓNICAS EN CEPAS DE *Staphylococcus* sp Y *Pseudomonas aeruginosa* AISLADAS DEL AIRE EN LA CIUDAD DE PUEBLA

Gisel Nájera-Meléndez¹, Gilberto Luna-de los Santos¹, Oscar Flores-López¹, Iván Valencia-Ramírez¹, Víctor Cuahutle-Ordóñez¹, Geolar Fetter¹, Marta Lobo Sánchez¹

¹ Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

En el aire de interiores como edificios, áreas de hospitales, etc., la presencia de microorganismos como las bacterias tiene una trascendencia inmediata, pues se distribuyen en espacios relativamente confinados y su eliminación depende de eficientes sistemas de ventilación y filtración. Por lo tanto, sería de gran interés disponer de un material sólido con propiedades bactericidas que pudieran conformar filtros u otros dispositivos para descontaminar el aire. Uno de estos materiales podrían ser las arcillas aniónicas. En este trabajo se evaluaron las propiedades antibacterianas de arcillas aniónicas compuestas de cinc y aluminio y extracto de eucalipto, variando el pH de síntesis y las relaciones molares de estos metales. Las arcillas son sólidos porosos con estructura laminar que presentan alta área superficial, facilitando el contacto con los microorganismos. Estos sólidos fueron evaluados en presencia de cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas del aire en la Ciudad de Puebla. La actividad antibacteriana de la arcilla se comparó con vancomicina (VA) para *Staphylococcus* sp e imipenem (IMP) para *Pseudomonas aeruginosa*. Los ensayos se realizaron por triplicado, por el método de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en placa. Se observó que la relación molar Zn/Al, el pH y el extracto de eucalipto en la síntesis de hidrotalcita determinó la actividad bactericida, ya que a bajas concentraciones del material fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental en la Ciudad de Puebla, es un problema que se ha incrementado en los últimos años, debido principalmente al incremento poblacional, el flujo vehicular y al correspondiente aumento de su radio urbano. El desarrollo de la actividad productiva e industrial ha impactado fuertemente en los cambios físicos y biológicos del medio ambiente urbano; en consecuencia, la contaminación atmosférica en la Ciudad de Puebla se presenta como uno de los problemas ambientales más relevantes por sus efectos negativos en la calidad de vida de las personas, afectando la salud y el bienestar general de la población expuesta. Las investigaciones relacionadas con la calidad de aire y su impacto en la salud de la población y el cambio climático han sido orientadas principalmente a la caracterización partículas abióticas, dando lugar a establecer políticas de prevención y control a través de acciones que garanticen el cumplimiento de las Normas Oficiales Mexicanas, de manera coordinada entre gobierno y sociedad, de esta forma, el Gobierno del Estado de Puebla, a través de la Secretaría de Sustentabilidad Ambiental y Ordenamiento Territorial, en coordinación con la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales del Gobierno Federal SEMARNAT, elaboraron el Programa de Gestión de la Calidad del Aire para el periodo 2012 – 2020 (proAire), el cual establece las líneas de acción que garantizan el mejoramiento de la calidad del aire que respiramos. Sin embargo, el aire además de partículas

abióticas, contiene en suspensión diferentes tipos de microorganismos que se han adaptado a estas condiciones ambientales, lo que ha favorecido su dispersión y supervivencia en la atmósfera, por lo que la proliferación de enfermedades causada por este tipo de microorganismos patógenos oportunistas dispersos por el aire y el fenómeno de multirresistencia a diferentes antibióticos, antisépticos y desinfectantes constituye una amenaza sanitaria para los seres vivos.

2. TEORÍA

Las bacterias en el aire son componentes biológicos importantes de los aerosoles y guardan una estrecha relación con la salud humana ya que pueden ocasionar efectos adversos a través de infecciones e intoxicaciones y en concentraciones más altas pueden dar lugar a diversas enfermedades (Liang et al., 2013). Entre las bacterias aisladas con mayor frecuencia en el aire se encuentran *Pseudomonas* sp y *Staphylococcus* sp (Liang et al., 2013; Aydogdu et al., 2010; Fahlgren et al., 2010). Algunos estudios han demostrado que estas bacterias tiene la habilidad genética para transferir y adquirir factores de resistencia a diferentes sustancias, pueden ser dispersadas por el aire siendo fuente de infecciones epidémicas y por ende, una seria amenaza para la Salud Publica Mundial (Liu et al., 2012; Picao et al., 2009). En los años recientes, el uso inapropiado de los antibióticos y los antisépticos ha incrementado la resistencia a estos fármacos entre las bacterias, lo cual ha sido causa de enfermedades intratables e incrementos de mortalidad en las clínicas a través del mundo, principalmente entre pacientes con su sistema inmunitario comprometido (Malavaud, 2014; Mahzounieh et al., 2014; Falk-Brynhildsen et al., 2014; Duran et al., 2014; Dey et al., 2012). La emergencia y propagación de bacterias resistentes a los antisépticos y a los antimicrobianos es un problema creciente en los países desarrollados y subdesarrollados, amenazando con convertirse en una crisis global. Uno de los enfoques importantes para resolver este problema es la necesidad del descubrimiento de nuevas sustancias de origen natural para el control microbiano (Dharmalingam et al., 2012). La atmósfera no tiene una microbiota autóctona pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos incluyendo bacterias, virus y hongos, procedentes de otros ambientes y que pueden ser las causas potenciales de enfermedades respiratorias (neumonía, tosferina, tuberculosis, legionelosis, resfriado, gripe), sistémicas (meningitis sarampión, varicela, micosis) y alérgicas tanto en ambientes cerrados como abiertos, por lo que el desarrollo de investigaciones que contribuyan al conocimiento de la microbiota aerotransportada en ambos sitios, es fundamental para el conocimiento de la calidad ambiental del entorno (Fang et al., 2007; Tringe et al., 2008; Tang, 2009).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para realizar los ensayos de actividad antibacteriana del extracto de eucalipto y las arcillas se tomaron en cuenta las especificaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), actualmente Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los ensayos se realizaron por triplicado con cada una de las cepas bacterianas. Antes de llevar a cabo cada uno de los ensayos, se evaluó la actividad antibacteriana de los disolventes utilizados para la suspensión del extracto de eucalipto y la síntesis de las arcillas por el Método de difusión en pozo (CLSI, 1015) frente a las cepas a utilizar en el ensayo, observándose ausencia de actividad antibacteriana con cada uno de los disolventes utilizados.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE EUCALIPTO

Antes de estructurar las arcillas aniónicas con el extracto de eucalipto, se evaluó la actividad antibacteriana de este extracto por el Método de Difusión en Pozo en medio Mueller Hinton Difco TM. En cada placa con cuatro pozos, se sembró en forma masiva una solución bacteriana (*Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus* sp) a una concentración de 1.5×10^6 UFC/mL (tubo 0,5 en la escala de turbidez de Macfarland), posteriormente se adiciono a cada pozo los extractos de eucalipto. Se empleó como control negativo Solución Salina Isotónica (SSI) y como control

positivo discos impregnados con imipenen (10 µg) para *Pseudomonas aeruginosa* y vancomicina (30 µg) para *Staphylococcus* sp. Se incubó a 37 °C de 18-24 horas (CLSI, 1015).

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS ARCILLAS

La actividad antibacteriana de las arcillas se evaluó por el Método de Dilución en Agar: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (NCCLS, 2003), en donde se incorporaron las arcillas aniónicas a diferentes concentraciones en el medio con agar Mueller-Hinton Difco TM; las concentraciones de las arcillas probadas fueron 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% y 1% en cada placa, donde se sembró 2 µl de solución bacteriana (*Pseudomonas* sp y *Staphylococcus* sp) a una concentración de 1.5x10⁶ UFC/mL (tubo 0,5 en la escala de turbidez de Macfarland). Se empleó como control positivo Solución Salina Isotónica (SSI) y como control negativo placas con agar Mueller-Hinton Difco TM sin arcilla (Cosa *et al.*, 2006; CLSI, 2015). Después de 18-24 horas de incubación a 37 °C, se examinó

visualmente el crecimiento en las placas. El punto final (CMI) se considera la menor concentración de compuesto (en este caso de arcilla) frente a la cual el microorganismo ensayado no presenta desarrollo visible (NCCLS, 2003). Las cepas que presentaron un leve crecimiento en el medio se reportaron como crecimiento intermedio (I).

CEPAS BACTERIANAS

Cepas bacterianas utilizadas en el ensayo fueron proporcionadas por el Depto. de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas BUAP: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina, donada por el Hospital Ángeles de Puebla (cepa 80299) y *Escherichia coli*

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS ARCILLAS

Hidrotalcitas/extracto de eucalipto

Antes de realizar el ensayo de CMI para la arcilla con extracto de eucalipto, se corroboró lo reportado por varios autores donde mencionan la actividad antibacteriana del extracto de *Eucalyptus globulus* en presencia de bacterias tanto Gram-positivas como Gram-negativas (Bachir y Benali, 2012; Damjanović-Vratnica *et al.*, 2011; Kumar y Laxmidhar, 2011; Song *et al.*, 2009). Obteniendo como resultado halos de inhibición de aproximadamente 10 mm tanto en *Staphylococcus* sp como *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 1). Una vez confirmados los resultados se procedió a la síntesis de la arcilla aniónica con el extracto de eucalipto a diferentes concentraciones y pH.

Los resultados de la CMI para las hidrotalcitas/extracto de eucalipto para las cepas de estafilococo, no mostraron variaciones muy marcadas, lo que indica que con concentraciones aproximadas del 1.4% (p/v) del extracto se inhibe por completo el desarrollo de estos microorganismos. Para el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, sólo se obtuvieron efectos intermedios (I), es decir se observa crecimiento de algunas colonias a partir de 1.4% de la concentración de la hidrotalcita/extracto de eucalipto (Figura 2); por lo que se realizó un nuevo ensayo aumentando la concentración de la hidrotalcita /extracto de eucalipto 1.6, 1.8 y 2.0% (p/v) en cada placa. El efecto de inhibición total, sensible (S), en el crecimiento de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* evaluadas se observó, a partir de la concentración 1.6% (p/v) de la arcilla. Estos resultados coinciden con lo reportado por Damjanović-Vratnica *y col.*, en 2011, donde menciona que concentraciones bajas del extracto tienen un menor efecto bactericida del extracto de Eucalipto frente a estas. Chao *y col.*, en 2000 proponen que esto podría deberse a la habilidad que tienen las cepas de *Pseudomonas* sp para metabolizar un amplio rango de compuestos orgánicos, lo que explicaría su amplio nivel de

resistencia (Chao et al., 2000). Aunque la actividad antimicrobiana de muchos aceites esenciales obtenidos de plantas han sido estudiados (Ríos y Recio, 2005). Los mecanismos de acción no han sido reportados con detalle. Se cree que los compuestos con actividad antimicrobiana son los terpenos y fenoles presentes en la naturaleza, siendo probablemente su mecanismo de acción muy similares a los demás compuestos fenólicos (Shunying et al., 2005). Debido a que los extractos de eucalipto contienen mezclas complejas de diferentes compuestos y se sabe muy poco sobre los efectos antibacterianos entre los constituyentes individuales; por lo que algunos investigadores sugieren que la actividad antibacteriana puede estar relacionada con efectos aditivos, sinérgicos o antagonísticos entre las diferentes sustancias (Delaquis et al., 2002). Es importante mencionar que los dos solventes que se usaron para la obtención del extracto de eucalipto, no presentaron diferencia alguna entre los extractos en las pruebas realizadas.



Figura 1. Placas que muestran la actividad antibacteriana del extracto de *Eucalyptus globulus* en cepas de *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas aeruginosa*. Control negativo Solución Salina Isotónica (SSI) y control positivo discos con vancomicina (30 µg) e imipenem (10 µg). Se incubó a 37 °C de 18-24 horas.



Figura 2. Placas con hidrotalcita/extracto de eucalipto, que muestran los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) en cepas de *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas aeruginosa*. Control negativo: placa sin hidrotalcita/extracto eucalipto y control positivo: solución salina isotónica (SSI). Se incubó a 37 °C de 18-24 horas.

Hidrotalcitas/Zn/Al

Los resultados obtenidos en el ensayo de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de estas arcillas, sólo algunas cepas de estafilococo mostraron inhibición visible entre 0.6% y 1% (p/v) en presencia de las arcillas A. HT-Zn-Al 4:1 pH=7.5 y B. HT-Zn-Al 3:1 pH=7.4, que básicamente se mantienen con las mismas características de concentración y pH. Algunos autores han demostrado que mientras el pH es un factor importante en la especiación de iones metálicos, la actividad antibacteriana no es atribuida exclusivamente al pH. Los estudios realizados indican que la actividad antibacteriana en las arcillas aniónicas se relaciona con la concentración y la especiación de iones metálicos intercambiables (Otto et al., 2014; Otto y Haydel, 2013). En los resultados se observan las CMI sensibles (S) e intermedios (I) en las cepas de estafilococo, donde las CMI intermedias se presentaron en concentraciones de 0.4% y 0.6% (p/v), donde el efecto de inhibición fue mayor que para *Pseudomonas aeruginosa*, con CMI intermedia en B. HT-Zn-Al 3:1 pH=7.4 y D. HT-Zn-Al 3:1 pH=10. Las CMI con efecto intermedio (I) podría implicar que, las arcillas llevan a cabo un efecto bacteriostático sobre el desarrollo de las bacterias, ya que las cepas pudieron ser recuperadas en medios sin arcilla (Figura 2). En el caso de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* la mayoría CMI fueron negativas, esto debido probablemente a la diversidad de sistemas genéticos de resistencia a metales pesados que portan estas bacterias, que les permiten sobrevivir en ambientes con elevadas concentraciones de estos elementos (Nies, 2003; McEldowney, 2000; Hassan et al., 1999).

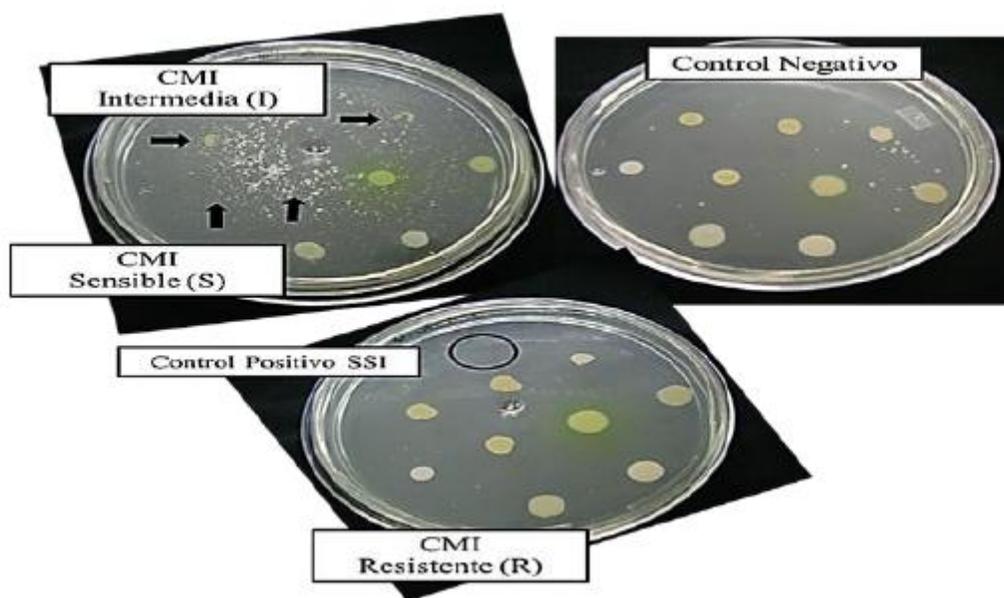


Figura 3. Placas con arcillas aniónicas zinc/aluminio (zn/al), que muestran los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) sensible (S), intermedio (I) y resistente (R).

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo, dan una idea de las posibilidades que brindan las arcillas para poder ser utilizadas como matrices hospederas de moléculas con actividad antimicrobiana. Ya que los procesos de liberación controlada de extractos o metales pesados en concentraciones específicas con actividad microbicida o microbiostática incrementan la posibilidad de ser utilizadas

en diferentes áreas donde es de vital importancia el control del crecimiento y desarrollo de los microorganismos. Estos compuestos se mantienen estables incluso después de 6 meses de almacenamiento, lo que indica el eficiente método de síntesis, no son tóxicos por lo que podrían emplearse para la eliminación de bacterias por medio de diferentes aplicaciones, como filtros de aire para hospitales o lugares concurridos, al igual que para jabones quirúrgicos, usos industriales o domésticos, etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akin M, Aktumsek A, Nostro A. 2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *Afr J Biotechnol.*2(9):531–535.
2. Arias C. A., Murray B. E. 2009. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century – A clinical super-challenge. *New Engl J Med* 360:(439–443).
3. Aydogdu H, Asan A, Tatman Otkun M. 2010. Indoor and outdoor airborne bacteria in child day-care centers in Edirne City (Turkey), seasonal distribution and influence of meteorological factors. *Environ Monit Assess.* 164(1-4):53-66.
4. Bachir, R. G., Benali, M. 2012. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2(9):739-742.
5. Baratta M.T., Dorman H.J., Deans S.G., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Ruperto G. (1998): Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(4): 235–244.
6. Boal A, Rosenzweig A. 2009. Structural biology of copper trafficking. *Chem Rev* 2009; 109:4760-4779.
7. Chao S.C., Young D.G., Oberg C.J. (2000): Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12:(5):639–649.
8. Chen, Y.-T., Lauderdale, T.-L., Liao, T.-L., Shiau, Y.-R., Shu, H.-Y., Wu, K.-M., Yan, J.-J., Su, I.-J., Tsai, S.-F. (2007). Sequencing and Comparative Genomic Analysis of pK29, a 269-Kilobase Conjugative Plasmid Encoding CMY-8 and CTX-M-3 β -Lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(8), 3004–3007.
9. Clifton, I. J., Peckham, D. G. 2010. Defining routes of airborne transmission of *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Expert Rev Respir Med.* 4(4):519-529.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-fifth Informational Supplement. Document M100-S25. NCCLS, Wayne, PA.
11. Cosa P., Vlietinck A. J., Berghe D. V., Maesa L. 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology.* 106(3): 290–302.
12. Damjanović-Vratnica, B., Đakov, T., Šuković, D., Damjanović, J. 2011. Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech J Food Sci.* 29(3):277–284.
13. Delaquis P.J., Stanich K., Girard B., Mazza G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74:101–109.
14. Diekema D. J., BootsMiller B. J., Vaughn T. E., Woolson R. F., Yankey J. W., Ernst E. J., Flach S. D., Ward M. M., Franciscus C. L., Pfaller M. A., Doebbeling B. N. 2004. Antimicrobial resistance trends and outbreak frequency in United States hospitals. *Clin Inf Dis* 38(1):78–85.

15. Fahlgren C, Hagström A, Nilsson D, Zweifel UL. 2010. Annual variations in the diversity, viability, and origin of airborne bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 76(9):3015-3025.
16. Fang, Z., Ouyang, Z., Zheng, H., Wang, X., Hu, L. 2007. Culturable airborne in outdoor environments in Beijing, China. *Microb Ecol.* 54(3):487-496.
17. Gordon A.S., Howell L. D., Harwood V. 1994. Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations. *Can J Microbiol.* 40(5):408-11.
18. Grass G, Rensing C, Solioz M. 2011. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(5):1541–1547.
19. Hasman H., Aarestrup F. M. 2002. *tcpB*, a gene conferring transferable copper resistance in *Enterococcus faecium*: occurrence, transferability, and linkage to macrolide and glycopeptide resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(5): 1410-1416.
20. Hassan, M. T., D. van der Lelie, D. Springael, U. Romling, N. Ahmed, and M. Mergeay. 1999. Identification of a gene cluster, *czr*, involved in cadmium and zinc resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene* 238(2):417-425.
21. Hatton, C. M. 2015. Exploring marine sponges as a source of novel chemical entities for drug development. PhD Thesis, Cardiff University.
22. Höpfe, P., Martinac, I. 1998. Indoor climate and air quality. Review of current and future topics in the field of ISB study group 10. *Int J Biometeorol.* 42(1):1-7.
23. Huttner A, Harbarth S, Carlet J, Cosgrove S, Goossens H, Holmes A, Jarlier V, Voss A, Pittet D. 2013. Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2(1):31.
24. Infectious Diseases Society of America (IDSA), Spellberg B, Blaser M, Guidos RJ, Boucher HW, Bradley JS, Eisenstein BI, Gerding D, Lynfield R, Reller LB, Rex J, Schwartz D, Septimus E, Tenover FC, Gilbert DN. 2011. Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. *Clin Infect Dis.* 52 Suppl 5:S397-428.
25. Kumar, H. D., Laxmidhar, S. 2011. A review on phytochemical and pharmacological of *Eucalyptus globulus*: a multipurpose tree. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy.* 2(5):1527-1530.
26. Liang R, Xiao P, She R, Han S, Chang L, Zheng L. 2013. Culturable airborne bacteria in outdoor poultry-slaughtering facility. *Microbes Environ.* 28(2):251-256.
27. Liu, D., Chai, T., Xia, X., Gao Y, Cai Y, Li X, Miao Z, Sun L, Hao H, Roesler U., Wang J. 2012. Formación y transmisión del *Staphylococcus aureus* (incluyendo MRSA) aerosoles llevar a los antibióticos resistentes genes en un ambiente de la avicultura. *Sci total Environ.* 426:139-45.
28. McEldowney S. 2000. The Impact of surface attachment on cadmium accumulation by *Pseudomonas fluorescens* H2. *FEMS Microbiol Ecol.* 33(2):121-128.
29. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2003. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 13th informational supplement. M100- S13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, PA.
30. Nies D. H. 2003. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes *FEMS Microbiol Rev.* 27(2-3):313-39.
31. Otto C. C., Haydel S. E. 2013. Exchangeable ions are responsible for the in vitro antibacterial properties of natural clay mixtures. *PLoS One.* 8(5):e64068.
32. Otto, C. C., Koehl, J. L., Solanky, D., & Haydel, S. E. (2014). Metal Ions, Not Metal-Catalyzed Oxidative Stress, Cause Clay Leachate Antibacterial Activity. *PLoS One*, 9(12):e115172.
33. Pereira V., Dias C., Vasconcelos M. C., Rosa E., Saavedra M. J. 2014. Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*). *Industrial Crops and Products.* 52:1-7.
34. Picao RC, Poirel L, Gales AC, Nordmann P. 2009. Diversity of betalactamases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates causing bloodstream infections in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(9):3908–3913.

35. Rios J.L., Recio M.C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100:80–84.
36. 36. Rosen B. 2002. Transport and detoxification systems for transition metals, heavy metals and metalloids in eukaryotic and prokaryotic microbes. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. A133(3): 689-693.
37. 37. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91(4): 621–632.
38. 38. Santo, C. E., Quaranta, D., & Grass, G. (2012). Antimicrobial metallic copper surfaces kill *Staphylococcus haemolyticus* via membrane damage. *MicrobiologyOpen*, 1(1), 46–52.
39. 39. Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y., Guolin Z. (2005): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 151–158.
40. 40. Song, A., Wang, Y., Liu, Y. 2009. Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill from China. *Asian Journal of Traditional Medicines*. 4(4):134-140.
41. 41. Tang, J. W. 2009. The effect of environmental parameters on the survival of airborne infectious agents. *J R Soc Interface*. 6(6):S737-S746.
42. 42. Tringe, S. G., Zhang, T., Liu, X., Yu, Y., Lee, W. H., Yap, J., Yao, F., Suan, S. T., Ing, S. K., Haynes, M., Rohwer, F., Wei, C, L., Tan, P., Bristow, J., Rubin, E. M., Ruan, Y. 2008. The Airborne Metagenome in an Indoor Urban Environment. *Plos One*. 3(4):1-10.

PARTICIPACIÓN SOCIAL, ELEMENTO CLAVE PARA LA RESTAURACIÓN ECOLÓGICA EN SITIOS SUMAMENTE DEGRADADOS EN ATOTONILCO DE TULA.

Pedro Ángeles Juárez¹, Minerva González Ibarra¹ y Aída del Rosario Malpica Sánchez¹

¹ Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco.

RESUMEN

En Atotonilco de Tula en el Estado de Hidalgo, la formación geológica guarda estrecha relación con el paisaje y el uso de los recursos naturales, históricamente ha sido sitio de producción de cal para el centro de México desde tiempos mexicas. En el México antiguo los cerros eran depósitos de agua, lugares donde nacía la vida, cosmovisión que ha desaparecido del mapa. Actualmente la piedra caliza es utilizada por empresas productoras de cemento y cal, tanto de capital extranjero como nacional, lo cual ha devastado el conjunto de cerros y lomeríos que le caracterizaban. También hubo malas prácticas campesinas como sobre pastoreo, abandono de cuidado de cuerpos de agua, abuso de leña como combustible, deforestación, saqueo de tierra negra para macetas lo cual a la larga ocasionó erosión, asolvamiento de presas y jagüeyes, pérdida de especies nativas como el madroño, la palma sotol, el maguey, el huizache y el mezquite. Para conocer y establecer mecanismos de recuperación de sitios sumamente degradados, se realizaron transectos de conocimiento tradicional en el uso y manejo en conjunto con campesinos. Se identificaron sitios erosionados, mediante métodos etnográficos, se recupera la narrativa de los cuerpos de agua entristecidos, como el Manantial “El Palomito”, “Presa las Trancas”, Barranca Ñhamde. Se conjuntan conocimientos académicos con saberes tradicionales en un diálogo que permita recuperar tanto especies nativas como especies remediadoras de suelo y captación de humedad como principio eje en la re-habilitación de sitios degradados, aunque aún no contamos con conclusiones pues está en marcha este proceso unimos personas con personas para planear estrategias de rehabilitación y capacitación.

1. INTRODUCCIÓN

En la presente contribución se hace una recapitulación al proceso de articulación comunitaria en torno a trabajos de restauración ecológica en una comunidad campesina que ha sufrido la degradación de sus recursos más valiosos: la tierra y el agua. El propósito general es generar una estrategia colaborativa entre diversos sectores tanto de la academia como del sector rural en un esfuerzo que enlace instituciones, comunidad e investigadores. Se busca el manejo *in situ* de especies que están a punto de desaparecer en el mapa comunitario. La principal herramienta de investigación lo constituye el transecto o recorrido con miembros de la comunidad, personas que han vivido, trabajado y caminado estos lugares, ellos proporcionan información valiosa sobre las transformaciones sufridas en el paisaje, los recursos naturales presentes y ausentes en el territorio y la problemática ambiental evidente al tiempo que se plantean posibles soluciones para restaurar estos espacios de vida.

2. FUNDAMENTOS TEORICOS – METODOLOGICOS

Antiguamente la región central del altiplano que ocupa actualmente el municipio de Atotonilco de Tula, ubicada al norte del Valle de México se le denominó La Teotlapan o tierra de los dioses, era

una superficie amplia que contaba con suficientes recursos hídricos, bosques y tierras para ser considerada el granero de los mexicas, mucho antes ya había sido utilizada por los antiguos habitantes de la antigua Tollan como proveedora de cal, pieles de conejo, frijol, maíz y productos del maguey y la lechuguilla. (Ramírez Calva, 2010). Alfonso Reyes refiere al Anáhuac como la región más transparente del aire. Sin embargo, esta imagen contrasta con la realidad actual. Siendo una de las regiones mayormente contaminadas del mundo.

La participación social que interesa aquí resaltar es la que brinda a la población local la oportunidad de influir en las decisiones en el manejo de sus recursos. Los que encierra el territorio. Con este propósito se rescatan aspectos históricos de ocupación del territorio, se investiga la condición histórica que permita entender los cambios sufridos a través del tiempo. Se interpretan los cambios estructurales del paisaje. Con objeto de rescatar especies vegetales se establecen metas y objetivos para la restauración, donde se invita a participar a los diferentes estratos poblacionales.

OBJETIVO:

Establecer mecanismos de participación social para la restauración de sitios sumamente degradados, que permitan el rescate, conservación, preservación de la biodiversidad en zonas de muy escasa resiliencia ecológica.

3. RESULTADOS

Realización de transectos para identificar especies en riesgo.

Realización de transectos para identificar sitios sumamente degradados (erosionados y con formación de cárcavas)

Se realiza un acuerdo de colaboración entre instituciones de enseñanza superior como la FES-Iztacala para la recuperación del madroño y la Universidad Tecnológica Tula-Tepeji para restauración de suelos mediante el uso de bioremediadores de vermicomposteo con lodos industriales.

Se recupera la narrativa local sobre las especies animales, vegetales y hongos que ya no son vistos por los campesinos del lugar.

Preguntando a las abuelitas sobre las plantas y animales silvestres (biodiversidad) que antes había y ahora ya no hay, nos responden: El coyote, El gato montés, Conejo, Ratones, Tuzas, Las moras, Quesitos, Refresquitos, Jícama silvestre, Gagrenos, Guayaba, Depes, Jaltomate. Alicante, lincer, lagartija cola larga, corre caminos, dominico, calandria, pájaro carpintero, filomenos, palomas. Alincante, lincer, lagartija cola larga, corre caminos, dominico, pájaro carpintero, palomas.

Realizamos un recorrido caminando y preguntando sobre los usos y manejo del cerro de la Presa Las Trancas y El Palomito con el objetivo de conocer la utilización, problemas, estrategias a implementar para su conservación. Este es un Instrumento consiste en: Reunir personas que conozcan el lugar, las plantas, los animales, el suelo, el agua, clima, los cultivos. Trazar ruta, utilizar mapa base, Ubicar puntos de muestreo, Identificar características y problemas asociados, Realizar matriz de problemas (soluciones)-Análisis de la experiencia. Las condiciones de degradación ambiental se muestran en la siguientes imágenes (figura 1 y figura 2)

En un segundo recorrido ubicamos dos especies factibles de recuperar el arbusto madroño y la palma (figura 2) Así como poblaciones de huizache y tepozán como nodriza del arbusto. La FES-Iztacala brinda asistencia técnica. Actualmente se desarrolla un proyecto de utilización de lodos tóxicos desactivados provenientes de la Refinería de Tula con el propósito de utilizarlos como bioremediadores para suelos sumamente degradados.



Figura 1. Se observan los cerros devastados por las cementeras, relictos de matorral y suelos desnudos.



Figura 2. Especies representativas de la zona de estudio Madroño y Palma



Figura 3. Formación de cárcavas en el manantial el Palomito, se requieren obras de conservación de suelo y agua, reforestación y recuperación de especies nativas.

4. DISCUSION

Conejos es una comunidad que pertenece al municipio de Atotonilco de Tula, su población ha crecido en los últimos 15 años, para el año 2000 se contabilizaban 3 mil habitantes, pero con el dinamismo económico regional ha sido una de las comunidades en aceptar vecinos. Sus tierras de temporal son de muy baja productividad menores a media tonelada de maíz y cebada. Al estar rodeada de empresas cementeras la comunidad se transformó agrícola a obrera y al paso de los años de obrera a conductores de tráiler, dejando de lado las actividades campesinas, el cuidado de la tierra, la protección a los recursos hídricos.

En los años ochenta cuando se aceleraron los procesos productivos y México caía en una profunda crisis económica, las industrias cementeras reforzaron sus esfuerzos de productividad detonando en sus canteras a cielo abierto fuertes explosiones cuyas piedras caían sobre los techos de las casas cercanas. Al campesinado de Conejos le caía una lluvia de piedras. El modelo actual de crecimiento basado en cero apoyos al campesino, proletarización de la mano de obra rural, una política social que recoge los destrozos de la política económica ha dejado esta comunidad en una verdadera zona de desastre.

Se requiere la participación activa de agentes de gobierno, académicos, organizaciones de la sociedad civil, campesinos locales junto con sus familias, para poder hacer juntos proyectos de restauración ecológica y del conjunto social.

5. CONCLUSIONES

No hay conclusiones definitivas, ya que son procesos que están en marcha, actualmente detenidos por el proceso electoral que busca votos a costa de lo que sea. Los diversos partidos políticos actúan como frenos a la solución de problemas y necesidades sentidas por las comunidades.

Se requiere la participación activa de agentes de gobierno, académicos, organizaciones de la sociedad civil, campesinos locales junto con sus familias, para poder hacer juntos proyectos de restauración ecológica y del conjunto social.

BIBLIOGRAFÍA

1. S. I. Apfelbaum and A. Haney, The restoring ecological health to your land workbook, Society for ecological restoration, (Island Press, New York, NY, 2012), pp. 1-70.
2. V.C. Ramírez, Caciques y cacicazgos indígenas en la región Tollan, siglos XIV-XVII (El Colegio de Michoacán., México, 2110), pp. 31-60

EL MUNDO DE LOS MINERALES

Ana Yadira Ramírez Gaona¹, José Alejandro Hernández López¹ y Manuel Herrera Badillo¹

¹Preparatoria “Licenciado Benito Juárez García”. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

Por sus amplias aplicaciones dentro de la vida práctica, los minerales han sido objeto de estudio e interés desde tiempos milenarios. Gracias al desarrollo de los métodos de extracción y caracterización, hoy es posible conocer de manera cabal las propiedades (físicas y químicas) de un mineral y, por ende, darles un uso práctico de acuerdo a las necesidades sociales.

1. INTRODUCCIÓN

Un mineral es una especie química de origen natural el cual cuenta con una composición y estructura cristalina bien definida. Para ser considerado un mineral este debe tener tres características esenciales: formar una unidad material sólida y cristalina, ser de origen natural y pertenecer a la parte sólida de la Tierra, aunque provenga del espacio exterior. En la actualidad se conocen alrededor de 3800 especies de minerales, éstos han sido extraídos de la corteza terrestre para aprovechar sus propiedades o alguno de sus componentes químicos y son clasificados en metálicos, no metálicos y energéticos. Estos materiales no sólo son imprescindibles para las sociedades modernas e industrializarlas, sino que su uso ha acompañado el desarrollo tecnológico de la humanidad desde los albores de la civilización. México es uno de los países más importantes a escala mundial en cuanto a riqueza mineral, tanto por su cantidad y calidad de especies minerales a lo largo de su territorio. En este trabajo se presenta una colección de minerales extraídos en suelo mexicano los cuales han sido clasificados según sus propiedades físicas y químicas, se describen brevemente sus estructuras cristalinas al igual que el método de caracterización conocido como difracción de rayos X.

2. TEORÍA

Una estructura cristalina es la disposición periódica y ordenada en el espacio tridimensional de los constituyentes de la materia (iones, átomos, moléculas o conjuntos de ellos). Proporciona información sobre las posiciones de los átomos que conforman la estructura, los tipos de enlace, las simetrías presentes y a partir de éstas se pueden justificar las propiedades químicas y físicas de los sólidos cristalinos. Uno de los conceptos fundamentales en la descripción de un sólido cristalino es el de red de Bravais, el cual especifica cómo las unidades básicas que lo componen se repiten periódicamente a lo largo del cristal.

Por otro parte, la difracción es un fenómeno característico de las ondas, que consiste en la dispersión de éstas cuando interactúan con un objeto ordenado. Debido a que los rayos X tienen longitudes de onda similares a las distancias interatómicas en los materiales cristalinos, se utiliza la difracción de rayos X como método para explorar la naturaleza de la estructura molecular de cualquier compuesto, como por ejemplo, un mineral, un fármaco, un virus, etc.

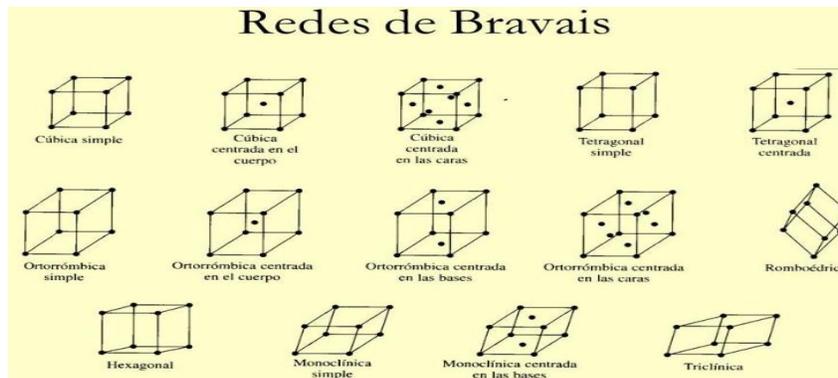


Figura 1. Las catorce redes de Bravais asociadas a los sólidos cristalinos existentes en la naturaleza. Mediante teoría de grupos se ha demostrado que existen catorce modelos distintos de redes tridimensionales.

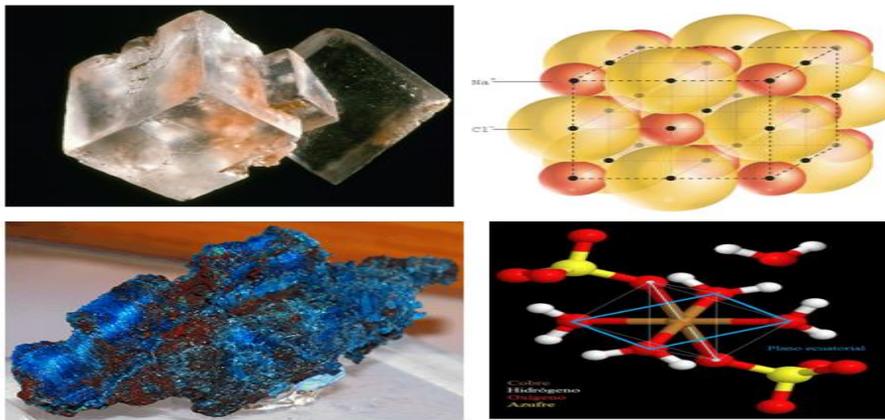


Figura 2. En la parte superior se presenta una muestra de Hálita [NaCl] y su estructura cristalina [Cúbica Centrada en las Caras]. En la parte inferior se presenta una muestra de Calcantita [Cu(SO4)·5H2O] y su estructura cristalina [Triclínico].

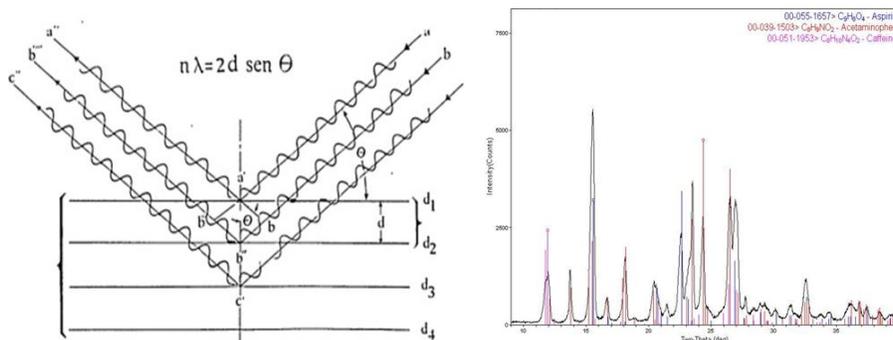


Figura 3. La técnica de difracción de rayos X se basa en la relación establecida por Bragg entre el ángulo de incidencia de la radiación (θ), su longitud de onda (λ) y la distancia entre planos cristalinos del material (d). A la derecha se muestra un perfil de difracción de rayos X. A partir de una base de datos se puede conocer los elementos químicos que componen la muestra, al igual que los planos cristalográficos.

Un mineral es una especie química de origen natural, con una estructura cristalina determinada y una composición química definida, aunque no fija, pero que varía dentro de límites definidos. Se presenta bajo formas geométricas más o menos rectangulares, en estado sólido (a excepción del mercurio). Para ser considerado mineral, un material requiere tres cualidades:

Formar una unidad de material sólida y cristalina, ser de origen natural y pertenecer a la parte sólida de la Tierra, aunque provenga del espacio exterior.

Hoy en día se conocen alrededor de 3800 especies minerales válidas según la definición anterior. Tal cantidad requiere una clasificación, la actual se refiere a su composición química y al anión o el grupo aniónico dominante en los mismos, por lo que se clasifican en clases.

La mayor importancia de los minerales se encuentra en los usos que éstos puedan tener, de ahí que su estudio permite no sólo conocerlos (física y químicamente) sino lograr su aplicación a partir de principios bien establecidos. Se pueden clasificar en tres grupos según sus aplicaciones

- **Minerales industriales**

Tienen el mayor número de aplicaciones: yeso, cemento, cal, ladrillos, es decir para la construcción y obra pública, la industria siderúrgica, neumáticos, farmacéutica, jabones, papel, plástico, abonos y fertilizantes, etc.

- **Minerales metálicos**

Joyería: oro, plata, cobre, etc. También generan productos tales como el acero, la electrónica y la moneda.

- **Minerales vitales**

Constituyen nuestro cuerpo y son necesarios para nuestra vida diaria: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloro, azufre, magnesio, manganeso, hierro, yodo, flúor, zinc, cobalto y selenio.

Todos estos minerales como se mencionó en la introducción se encuentran en la parte sólida de la Tierra de tal manera que no es común encontrarlos de manera aislada sino en concentraciones estadísticamente anómalas (depósitos o yacimientos) presentes en la corteza terrestre o litósfera. La importancia de los yacimientos repercute en el poder económico de cada nación y por ende su explotación es una de las actividades más redituables a nivel industrial.



Figura 4. Por lo general hay zonas geográficas en donde existe mayor concentración de ciertos minerales respecto a otras, lo cual hace de un país determinado el principal productor de materia prima en términos de dicho yacimiento.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Como parte de nuestra metodología se colectaron una serie de minerales extraídos en distintas zonas de suelo mexicano, como son Querétaro, Hidalgo, Puebla, Guerrero. A partir de esto, se clasificaron según sus constituyentes químicos (carbonatos, elementos, fosfatos, óxidos, silicatos, sulfuros y sulfatos), su estructura cristalina, dureza, la zona de geográfica de mayor concentración y sus aplicaciones,

El color forma parte de sus características determinantes, en algunos de ellos como determinan variedades diferentes; por ejemplo el cuarzo, el cristal de roca, la amatista, el cuarzo ahumado etc.

Se les realizó pruebas de solubilidad ante agua y ácidos, algunos elementos se disuelven en ácidos, en ácido clorhídrico diluido en agua y a temperatura ambiente, la calcita se disuelve con efervescencia, lo que permite diferenciarla de otros minerales de aspecto parecido, como por ejemplo la dolomita.

4. RESULTADOS

Este trabajo se realizó interdisciplinariamente entre las materias de Física y Química, como una estrategia didáctica entre ambas disciplinas cuya finalidad es integrar los conocimientos y potencializar los aprendizajes como la cristalografía y nomenclatura de compuestos inorgánicos, manejo de ácidos y bases, finalmente se logró integrar una colección de 30 minerales la mayoría del estado de Querétaro otros más de Hidalgo, Guerrero y Puebla. De todos los minerales colectados, destaca la gran variedad de cuarzos que atraen la atención de los estudiantes por sus formas y colores, otra pieza importante en la colección es el elemento plata ya que la pieza mide de 4 cm de largo por 2 cm de ancho misma que causa admiración entre los mismos ya que el país número uno en producción de plata es México, seguido de los Estados Unidos, Canadá, China, Perú y Chile, pero son pocos los que tienen la oportunidad de ver su estructura cristalina en forma mineral. En la tabla 1 se aprecian algunas de las propiedades físicas, químicas y usos de la colección que los estudiantes han trabajado como parte del proyecto “Club de Ciencias”.

Tabla 1 Características Físicas y Químicas de la colección de minerales.

Mineral	Dureza	Sistema cristalino	Descripción	Color	Formula	Usos
Carbonatos						
Calcita	3	Romboedro (80 formas) escalenoedro	Mineral luminiscente Piedra Fina	Blanco Amarillo	CaCO ₃	Óptica, fabricación de cemento, construcción, metalurgia, material decorativo, objetos de arte.
Elementos						
Plata	2.5-3	Dendritas, escamas, filiforme, masas compactas	Elemento	Blanco plata, se vuelve mate y negra con el tiempo	Ag 100% con pequeñas cantidades de Hg, Au, Bi, Sb, Cu.	Monedas, joyería, farmacia, química, fotografía, industria eléctrica.
Fosfatos						
Apatito	5	Hexagonal	Mineral luminiscente Piedra Fina	Blanco, amarilla	Ca ₅ (PO ₄) ₃	Lubricantes artificiales, industria química, a veces piedra fina
Óxidos						

Ágata (variedad de calcedonia)	6-7	Trigonal	Mineral luminiscente Piedra Fina	Gris - azul	SiO ₂	Cojinetes de rodamientos, fieles de balanzas, utensilios químicos, piedras finas frecuentemente decoradas de forma artificial.
Amatista (variedad Cuarzo)	6-7	Trigonal	Mineral luminiscente Piedra Fina	Violeta claro u oscuro	SiO ₂	Joyería y objetos de arte
Cuarzo transparente	7	Prismáticos, bipiramidales pseudocubicos.	Mineral luminiscente Piedra Fina	Nítido transparente	SiO ₂	Cerámicas, industria del vidrio, construcción, metalurgia, electrotecnia, óptica.
Cuarzo Rosa (variedad de cuarzo)	7	Prismáticos, bipiramidales pseudocubicos.	Mineral luminiscente Piedra Fina	Su color es rosa claro o rosa vivo	SiO ₂	Piedra Fina y ornamental
Ojo de tigre (variedad cuarzo)	7-8	Trigonopatá	Mineral luminiscente Piedra Fina	Pardo amarillo	SiO ₂	Piedra fina y decorativa
Hematitites	6.5	Agregados en rosetas	Piedra Fina	Gris negro	Fe ₂ O ₃	Colorante, a veces tallado como piedra preciosa
Silicatos						
Turmalina	7-7.5	Romboédrico	Mineral luminiscente Piedra Fina	Negro	(Si ₆ O ₂₇ B ₃)(OH) ₄ Al ₆ Y ₃ N _a	Electrotecnia, más variedades coloreadas son trabajadas como piedras semipreciosas.
Balvenita	5.5	Cristales agregdos en rosetas, fibrosos, radiles y tubulares	Agregados	Nacarado	Ca ₄ Al ₂ Be ₂ [(OH) ₂ Si ₉ O ₂₆]	Apreciado por los coleccionistas.
Sulfuros						
Pirita	6-6.5	Cubico	Piedra Fina	Amarillo, amarillo latón, reflejos multicolores	FeS ₂	Fabricación de ácido sulfúrico a veces fuente de cobre, cobalto, oro, selenio y otros elementos asociados a menas píricas en forma de inclusiones.
Sulfatos						
Linarita	2.5	Monoclínico, prismas estriados tubulares	Coleccionable	Azul oscuro	PbCu[(OH) ₂ SO ₄]	Es un mineral muy escaso y por ello carece de interés comercial, pero es apreciado por los coleccionistas.

5. CONCLUSIONES

Este trabajo interdisciplinario permitió profundizar en el mundo de los minerales, resaltar la importancia de su estudio y comprensión a partir de la Física y la Química al igual que conocer las aplicaciones y su repercusión dentro de la sociedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Charles K., Introduction to Solid State Physics, 8th Edition, Wiley (2004).
2. Canet, C., Camprubí, A., Yacimientos minerales: Los tesoros de la Tierra., Fondo de Cultura Económica (2006)
3. Ortiz I., Atlas Ilustrado de los minerales, Susaeta Ediciones, España. (2013)

NANOPARTÍCULAS DE ORO RECUBIERTAS CON ÁCIDO FÓLICO Y SU INTERACCIÓN CON CÉLULAS CANCEROSAS

Alejandra Rangel Mendoza^a, Juan Luis Pichardo Molina^b, Lérica L. Flores Villavicencio^a, Pablo Cardoso Ávila^b, Myrna Sabanero López^a

^aDepartamento de Biología, DCNE campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. ^bCentro de Investigaciones en Óptica, León, Gto.

RESUMEN

En México, el cáncer cérvico-uterino es la neoplasia que ocupa el segundo lugar en frecuencia y en mortalidad en mujeres de 25 a 49 años¹. La nanotecnología es considerada como una de las tecnologías clave del siglo XXI. Además del uso de los nanomateriales en productos de consumo, numerosas aplicaciones son reportadas en el campo biomédico. Las nanopartículas de oro acopladas con ácido fólico (NPsAu-AF), han sido ampliamente usadas como marcadores celulares, principalmente en imagenología por fluorescencia. Sin embargo, pocos estudios se han llevado a cabo sobre su posible uso en terapia fototérmica. Este estudio, tiene como objetivo determinar la interacción de NPsAu-AF con células de cáncer cérvico uterino (HeLa). Los resultados indican una actividad metabólica del 100% y la integridad del citoesqueleto y el núcleo, ya que se observó la característica morfología celular de los microfilamentos de actina (faloidina-FITC) y la distribución de la cromatina en el núcleo (DAPI). Por otra parte, el patrón de proteínas no mostró una alteración y la detección de la Hsp 70, indicó que las células no presentaron estrés celular. Los resultados, indican que la exposición de las células HeLa a las NPsAu-AF no induce un efecto citotóxico. En la actualidad, se realiza la localización por microscopía electrónica de transmisión la interacción células cancerosas-NPsAu-AF.

1. INTRODUCCIÓN

En México, el cáncer cervicouterino es la neoplasia que ocupa el segundo lugar en frecuencia y en mortalidad en mujeres de 25 a 49 años. El tratamiento con radioterapia y braquiterapia, brindan un importante beneficio en etapas tempranas del cáncer cervicouterino; sin embargo, en etapa III, la tasa de supervivencia con este tratamiento a cinco años se reduce del 15 o 48% (1, 2).

Se estima que el cáncer cervicouterino causa alrededor de 500.000 muertes al año en el mundo. La incidencia, a su vez, muestra una tendencia al aumento en los años recientes entre mujeres menores de 50 años en USA y Europa, reflejado por un aumento en la detección por el uso de nuevas técnicas diagnósticas, tales como test de HPV y cervicografía. El tratamiento depende primariamente de la extensión de la lesión, y también de factores como la edad, el deseo de conservar la fertilidad y presencia de otras condiciones médicas (3).

La nanotecnología es considerada como una de las tecnologías clave del siglo XXI. Además del uso de los nanomateriales en productos de consumo, numerosas aplicaciones son reportadas en el campo biomédico. Los nanomateriales para la formación de imágenes y administración de fármacos a menudo se recubren con biomoléculas como ADN, proteínas y anticuerpos monoclonales. (4)

Las modalidades convencionales del tratamiento del cáncer tienen varias limitaciones, incluyendo la falta de eficacia, toxicidad adversa grave, así como la resistencia a los medicamentos. En la actualidad, el descubrimiento de moléculas blanco sobreexpresadas en las células cancerígenas, las cuales participan en las vías moleculares cruciales para el crecimiento tumoral, el mantenimiento y la metástasis. Estas moléculas blanco, son utilizadas para el diseño de un tratamiento específico, por ejemplo: el receptor de folato que es sobreexpresado en la superficie de células de tumores como ovario, riñón, pulmón, cerebro, endometrial, colorectal, de páncreas, gástrico, próstata, testicular, vejiga, cabeza y cuello (5). En este sentido, la conjugación de ácido fólico con nanopartículas (NPAu-AF) es un enfoque novedoso para el tratamiento específico de los tejidos que sobreexpresan el receptor a folato (6). Por lo que en este estudio, el objetivo fue determinar la interacción de nanopartículas de oro recubiertas con ácido fólico y su interacción con células de cáncer cérvico uterino.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Cultivos celulares

Como células huésped, se utilizara las líneas celulares HeLa (ATCC® CCL2™). Las células se crecieron en medio DMEM (Dubelcco's Modified Eagle's Medium, Gibco), suplementado con 10% suero fetal bovino (Gibco), con atmósfera de 5% CO₂ a 37°C y durante 48 h.

Nanopartículas de oro acopladas a ácido fólico. Las nanopartículas de oro recubiertas con ácido fólico fueron sintetizadas por el Dr. Juan Luis Pichardo Molina (Centro de Investigaciones en Óptica A.C.). Se utilizaron dos tipos de NPsAu-AF; 1) NPsAu-Cys-BSA-AF: nanopartículas de oro-cisteamina-albumina sérica bovina-ácido fólico, 2) NPsAu-4ATP-BSA-AF: nanopartículas de oro-4-aminotifenol-albumina sérica bovina-ácido fólico

Interacción de las NPsAu-AF con las células huésped

Las células huésped serán expuestas a diferentes concentraciones de las NPsAu-AF por 24h a 37°C/5% CO₂; para la determinación de la curva dosis-respuesta y el análisis de citotoxicidad. Para ello se realizaran los siguientes ensayos:

Determinación de la actividad metabólica

Se realizó por el método de XTT (2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2-h-tetrazolium-5-carboxanilide), basándose en la reducción de la sal a cristales de formazan solubles en agua, proceso llevado a cabo por las mitocondrias de las células viables. La solución de XTT se preparó con 0.25mg/mL en Menadiona al 0.1mM. Se añadió a las muestras celulares tratadas con las NPAu-AF y se incubó por 90min a 37°C en oscuridad y se midió la absorbencia a 490nm.

Análisis del patrón electroforético y determinación de la Hsp70

Se realizó un homogenado total de las células con/sin exposición a las NPsAu-AF y se realizó una electroforesis en condiciones desnaturalizantes (10%), la visualización de las proteínas se obtuvo después de la tinción con azul de Coomassie. Por otra parte, se realizó una inmunotransferencia y se inmunodetectó la proteína Hsp70, utilizando un anticuerpo contra la Hsp70 (Santa Cruz) y un anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa (sigma), después se reveló por quimioluminiscencia (kit de quimioluminiscencia BIORAD). Las imágenes fueron obtenidas usando un equipo de adquisición de imagen (ChemiDoc MP System- BIORAD) utilizando el software Image Lab™ software (BIORAD).

3. RESULTADOS

La exposición de las células HeLa a las diferentes concentraciones de las NPsAu-AF, no afectó la actividad metabólica independientemente de la concentración (Fig. 1).

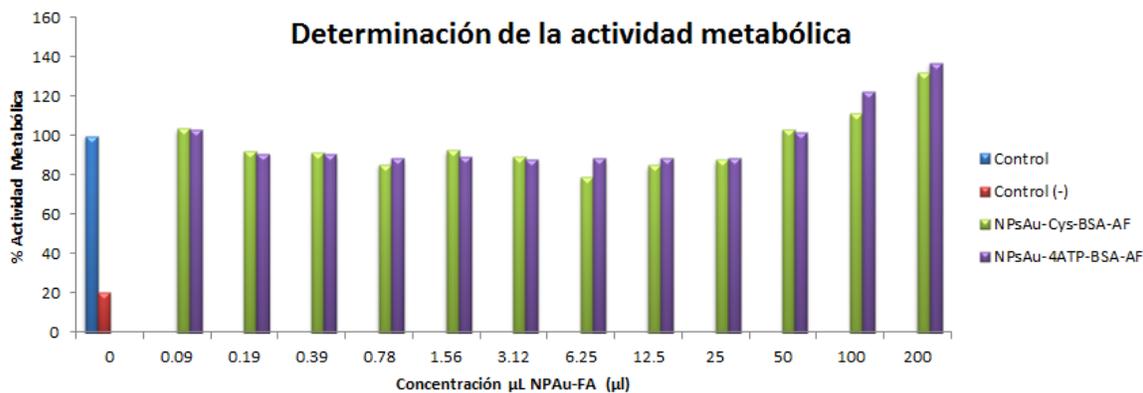


Figura 1. Determinación de la actividad metabólica de las células HeLa expuestas a las NPsAu-AF. Control: Células HeLa no expuestas a NPAu-AF. Control negativo: células HeLa que fueron expuestas a H_2O_2 3% (estrés oxidativo) por 30min.

Al analizar dos organelos importantes en la función celular, se observó que no hubo alteración en la estructura del citoesqueleto y núcleo. Las células HeLa expuestas a las NPsAu-AF no muestran alteraciones en los microfilamentos de actina (fig. 2b y c) comparado con el control (Fig.2a). En el núcleo la sonda fluorescente (DAPI) muestra que no existe una fragmentación nuclear (Fig. 2b' y c').

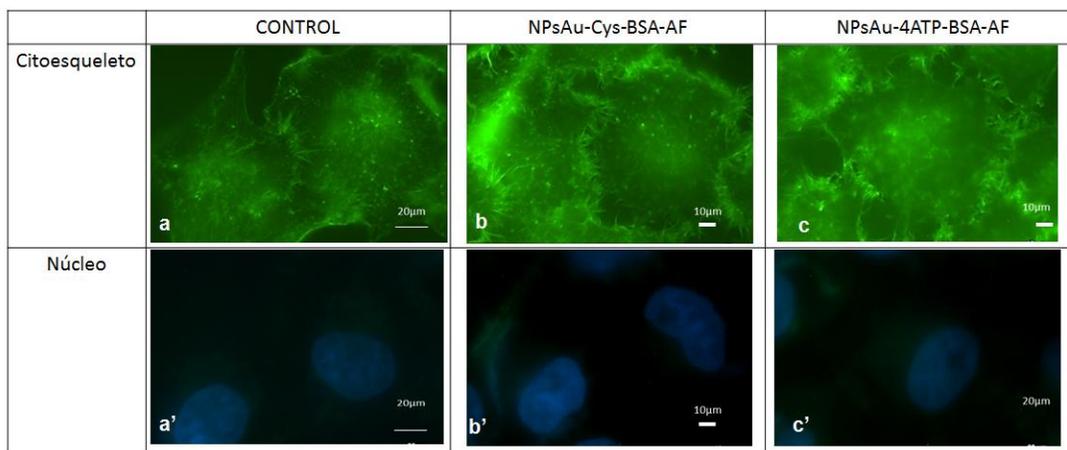


Figura 2 Citoesqueleto y núcleo de células HeLa expuestas a NPAu-AF. Control: Células HeLa no expuestas a NPAu-AF.

El análisis del perfil de proteínas indica que no existe una alteración en el patrón de proteínas (Fig.3)

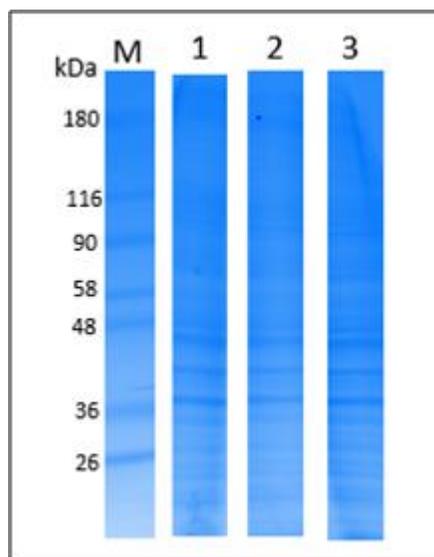


Figura 3. Perfil del patrón de proteínas de células HeLa expuestas a NPsAu-AF. M. Marcadores de peso molecular, 1. Control. Células no expuestas a NPsAu-AF, 2. NPsAu-Cys-BSA-AF, 3. NPsAu-4ATP-BSA-AF.

La detección de la Hsp70 (fig.4), proteína involucrada en procesos de estrés celular, reveló que no existe un estrés en las células expuestas a las NPsAu-AF (fig. 4 carril 2 y 3), comparado con las células HeLa que fueron expuestas a H₂O₂ 3% (estrés oxidativo) por 30min (fig.4 carril 4).

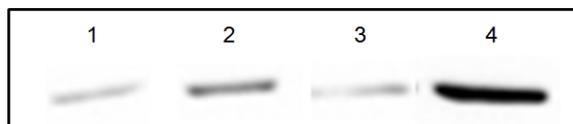


Figura 4. Inmunodetección de la Hsp 70 de células HeLa expuestas a NPsAu-AF. Marcadores de peso molecular, 1. Control. Células no expuestas a NPsAu-AF, 2. NPsAu-Cys-BSA-AF, 3. NPsAu-4ATP-BSA-AF, 4. H₂O₂ al 3%

3. CONCLUSIONES

Los resultados bioquímicos y morfológicos indican que la exposición de las células HeLa a las nanopartículas de oro acopladas a ácido fólico no inducen un efecto citotóxico.

AGRADECIMIENTO: Universidad de Guanajuato, proyecto CIO-UG004/2015

BIBLIOGRAFÍA

1. G. de la Garza Jaime, Ramírez, G. Solorza, Juárez, Aguilar, Mota. (2000) Cáncer Cérvico-Uterino. *Gac Méd* 136 (3): 65
2. Franco EL, Franco ED, Ferenczy A. (2001) Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ* 164 (7): 1017-1018
3. SERMAN Felipe. (2002) Cáncer cervicouterino: epidemiología, historia natural y rol del virus papiloma humano. Perspectivas en prevención y tratamiento. *Rev. Chilena de Obst. Ginec.* 67 (4): 318
4. Sumit Arora, Jyutika M. Rajwade, Kishore M. Paknikar. (2012) Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 258: 151-152.
5. G. Assaraf Yehuda, P. Leamon Christopher, A. Reddy Joseph. (2014) The folate receptor as a rational therapeutic target for personalized cancer treatment. *Drug Resistance Updates.* 17: 89-90.
6. Nipaporn Ngernyuang, Wunchana Seubwai, Sakda Daduang, Patcharee Boonsiri, Temduang Limpaboon, Jureerut Daduang. (2016) Targeted delivery of 5-fluorouracil to cholangiocarcinoma cells using folic acid as a targeting agent. *Materials Science and Engineering C* 60: 411-415

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS EN SUELOS AGRÍCOLAS

Biviana Sánchez Aguilar¹; María Alcalá de Jesús¹; J. C. González Cortés¹

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología. Av. Francisco J. Mújica S/n. Col. Felicitas del Río, Morelia, Mich.

RESUMEN

El crecimiento poblacional y el desarrollo socioeconómico son factores que influyen en el hombre para hacer uso del suelo con fines agrícolas, sin embargo, es común que se utilice el recurso sin tener en cuenta su estado actual. En municipios localizados en los alrededores de Morelia, Mich. existen suelos que varían en sus propiedades y por consiguiente en su calidad, pero se carece de estudios que permitan contar con una descripción actual. Una forma de conocer la calidad del suelo, es a través de sus propiedades físicas y químicas que sirvan como referencia para darle un mejor uso y manejo. El objetivo fue determinar propiedades físicas y químicas en suelos agrícolas de municipios aledaños a Morelia. Se determinó textura y densidad aparente (Dap), pH y materia orgánica (MO) de acuerdo con la Norma Oficial de Suelos. La textura varió de 30% a 85% de arcilla y se refleja en la densidad aparente alta a muy alta (1.30 a 1.80 g cm⁻³), estos contenidos de arcilla hacen difícil el manejo de los suelos, es muy duro en seco y, pegajoso y poco permeable en mojado, sin embargo, la MO rica a muy rica (3% a 5%) y el pH de acidez moderada (4 a 6) a neutro (6.3 a 7.4) favorecen a la mayoría de cultivos; la MO provee nutrientes al suelo, permite la aireación y retención de humedad, y regula el pH. Las propiedades físicas son poco favorables en el manejo de estos suelos, pero se compensan con las propiedades químicas.

1. INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema abierto en el espacio y tiempo que evoluciona transformándose hasta alcanzar el equilibrio con las condiciones ambientales. El desarrollo socioeconómico, el crecimiento de la población y las actividades agrícolas, son factores que llevan al hombre a utilizar el suelo sin tener en cuenta su calidad y comportamiento, lo que influye en la degradación y pérdida de su fertilidad. La práctica intensiva de cultivos, sin respetar el ciclo de los nutrientes ni la regeneración del humus, ha hecho habitual la aplicación de enmiendas de la estructura del suelo. Casi 71% del territorio está afectado por erosión, debido al manejo irracional del suelo (León, 2007).

Las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, influyen en su productividad, además permiten un conocimiento amplio en las prácticas de labranza, fertilización, riego, rigidez y fuerza de sostenimiento, facilidad para la penetración de las raíces, aireación, capacidad de drenaje y de almacenamiento de agua, la plasticidad, y la retención de nutrientes. También determinan en gran medida, la capacidad de muchos de los usos a los que el hombre los sujeta.

Se requiere que las personas involucradas de manera directa con el uso de la tierra, conozcan las propiedades físicas y químicas del suelo para entender en qué medida y cómo influyen en el crecimiento de las plantas, y cómo la actividad humana las puede modificar.

En los municipios aledaños a Morelia, Mich. se practica la agricultura sin tener en cuenta las condiciones del suelo, es por ello que se propone determinar las propiedades físicas y químicas de estos suelos y saber si son aptos para la agricultura. Los objetivos fueron determinar la textura y densidad aparente así como el pH y la materia orgánica de los suelos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

El área de estudio se localiza en los alrededores de Morelia, Mich. entre las coordenadas geográficas 19°30' y 19°50' de latitud norte y 101°100' y 101°30' de longitud oeste en la región centro norte del estado de Michoacán.

Se tomaron muestras mezcladas de suelo entre los 30 y 40 cm de profundidad. El suelo se secó a temperatura ambiente y a la sombra, y posteriormente se pasó por un tamiz de 2 mm de diámetro. Se determinaron los siguientes análisis de suelos de acuerdo con la NOM (2003).

Propiedades físicas: textura por el método de Bouyoucus y densidad aparente, con el método de la parafina.

Propiedades químicas: pH en agua relación 1:2.5 y materia orgánica (MO) por el método de combustión húmeda de Walkley y Black.

3. RESULTADOS

La textura varió de 30% a 85% de arcilla, por lo que dominó la clase arcillosa en la mayoría de los sitios, resultados que se reflejan en la densidad aparente de alta a muy alta (1.30 a 1.80 g cm⁻³) (Figura 1). La textura tiene importancia sobre la compactación del suelo porque disminuye el volumen de los poros y aumenta la densidad (Donoso, 1992), además el alto porcentaje de arcilla en los suelos de estudio, hacen difícil el manejo de los suelos, ya que se vuelven pesados para su manejo, siendo muy duros en seco y, pegajosos y poco permeables en mojado, sin embargo, con un manejo adecuado, estos suelos pueden ser aprovechables para el uso agrícola.

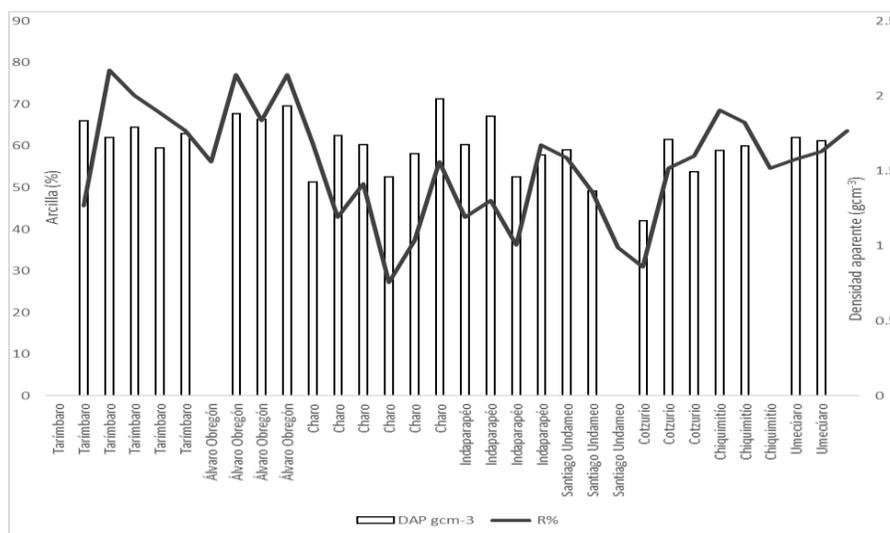


Figura 1. Relación entre la densidad aparente (Dap) y la textura arcillosa (R) de los suelos.

La MO varía de rica a muy rica (3% a 5%) y el pH de acidez moderada (4 a 6) a neutro (6.3 a 7.4) (Figura 2), éstos son parámetros favorables para la mayoría de los cultivos; el pH favorece la adsorción de nutrientes combinados con los contenidos de arcillas; la MO provee de nutrientes al suelo, permite la aireación, la retención de humedad, regula el pH y previene la erosión del suelo, además es un importante indicador de la calidad del suelo. Las propiedades físicas son poco favorables en el manejo de estos suelos, pero se compensan con las propiedades químicas, las cuales ayudan a los cultivos para un buen desarrollo.

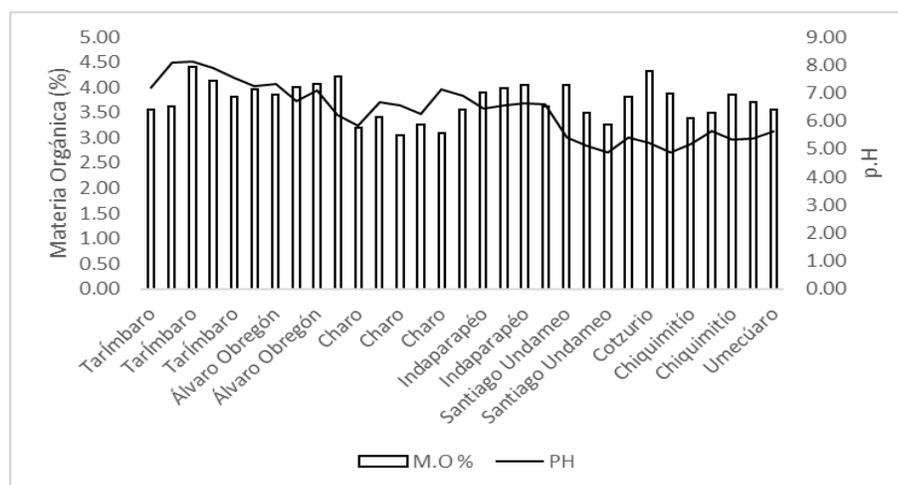


Figura 2. Relación entre la materia orgánica (MO) y el pH de los suelos.

4. CONCLUSIONES

La textura dominante es arcillosa en la mayoría de los sitios, correlacionándose con la densidad aparente alta a muy alta, provocando suelos compactados, pocos permeables y pesados para su uso. La materia orgánica varía de alta a muy alta y tiene un efecto benéfico para los cultivos. Las propiedades físicas son poco favorables en el manejo de estos suelos, pero se compensan con las propiedades químicas que unidas hacen que el desarrollo de los cultivos sea el adecuado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Donoso Z., C. 1992. **Ecología forestal**. Editorial Universitaria, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
2. León A., R. 2007. **Metodología para la clasificación de la Capacidad de Usos del suelo** In: J. José Ibañez. Un universo invisible bajo nuestros pies. Disponible en <http://www.madrimas.org/blogs/universo/2007/02/12/59102>. Consultado el 10 de junio de 2014.
3. NOM (Norma Oficial Mexicana). 2003. Diario Oficial de la Federación del 23 de abril. NOM-023-SEMARNAT-2001. 73 p.
4. Olivares G., M. I. 1993. **Capacidad del uso del suelo de la porción suroeste de la Microcuenca del Río Grande de Morelia, Mich.** Tesis de Licenciatura. Laboratorio de Edafología. Escuela de Biología. UMSNH. Morelia, Mich.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS DE *Carica papaya* Y DE *Vanilla planifolia*.

Pérez-Hernández H. A., Huerta-López M. B., Ramírez-Domínguez L. B., Ramos-Madrigal C., Villarreal-Hernández V., Orozco J., Hernández Martínez D., Omaña-Molina M.

Laboratorio de Farmacognosia, UBIPRO; Laboratorio 3 Amibas anfibioicas, Carrera de Medicina. Facultad de Estudios Superiores, Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

En el presente proyecto se evaluó el efecto antimicrobiano de los extractos metanólico de *V. planifolia* y clorofórmico de semilla de *C. papaya* contra *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus niger*, *Vibrio cholerae*, *Serratia marcescens*, *Fusarium sporitrichum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes* y *Acanthamoeba castellanii*; Se realizó una caracterización fitoquímica preliminar para determinar los metabolitos secundarios presentes en *V. planifolia* y en la semilla de *C. papaya*.

Los extractos únicamente presentaron efecto inhibitorio sobre *F. moniliforme*, el extracto clorofórmico de *C. papaya* inhibe el 20% de su crecimiento a concentraciones de 1.0, 1.5 y 2 µg/mL; El extracto de *V. planifolia* mostró un efecto sobre los trofozoítos de *A. castellanii* en las concentraciones de 30, 60 y 150 mg/mL, sugiriendo un efecto amebostático. Se concluye que el extracto metanólico de *V. planifolia* y el extracto clorofórmico de *C. papaya* tienen actividad antimicrobiana sobre *F. moniliforme* y *A. castellanii*.

1. INTRODUCCIÓN

Aun en la actualidad, las infecciones causadas por microorganismos como las bacterias, hongos, parásitos y virus son la principal causa de muerte del ser humano, incrementándose en entornos con escasos recursos. Algunos organismos patógenos pueden generar resistencia a fármacos; antibióticos, fungicidas, antivirales y antipalúdicos, de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación, y lo convierte en un problema de salud importante alrededor del mundo, (OMS, 2015).

El estudio de la medicina tradicional puede ser una alternativa para el tratamiento de estas enfermedades, puesto que se ha documentado resistencia de los microorganismos mencionados a los fármacos comúnmente utilizados (Ondarza *et al.*, 2006). México posee una gran biodiversidad de especies vegetales que constituyen un importante elemento para la etnobotánica (Getti *et al.*, 2009).

Carica papaya y *Vanilla planifolia* se han utilizado en la medicina tradicional como antiparasitario, laxante y antiinflamatorio debido a sus propiedades antioxidantes, analgésicas, antidepresivas y sedantes. Tanto *C. papaya* como *V. planifolia* son altamente comercializados en México. El látex y los extractos acuosos y de éter de petróleo de la raíz de *C. papaya* han probado científicamente su efectividad contra varias especies del género *Candida* (Urióstegui-Flores, 2015).

Se ha determinado la actividad antibacteriana de compuestos presentes en *V. planifolia* como vainillina, ácido vainílico y etil vainillina contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, y algunas especies del género *Cronobacter*. De igual manera, el efecto antifúngico de estos compuestos se determinó contra *Aspergillus niger* (Uddin, et. al., 2015) (Polat, et. al., 2011). Por ello, el presente trabajo tuvo como finalidad principal evaluar la actividad antimicrobiana de extractos naturales de *C. papaya* y *V. planifolia* sobre *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus niger*, *Vibrio cholerae*, *Serratia marcescens*, *Fusarium sporitrichum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes* y trofozoítos de *A. castellanii* en busca de una alternativa terapéutica efectiva.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Se obtuvieron 3.33kg de semilla de *C. papaya* de la variedad Maradol, la cantidad de peso seco obtenido fue 446.3 g, los cuales se maceraron en 1.5 litros de cloroformo, dejándose en reposo durante 48 h a temperatura ambiente y en condiciones de sombra. Posteriormente se llevó a cabo la filtración del macerado utilizando papel de filtro Whatman No. 1.

La eliminación de los solventes se realizó en el rotavapor. El extracto se almacenó a temperatura ambiente dejando evaporar el solvente restante.

El extracto de *V. planifolia* se obtuvo de manera comercial, el cual fue procesado acorde a la NORMA Oficial Mexicana NOM-182-SCFI-2011, Vainilla de Papantla, extractos y derivados-Especificaciones, información comercial y métodos de ensayo (prueba), y posteriormente se liofilizó.

Los análisis fitoquímicos para la identificación de compuestos para ambos extractos se realizaron por el método de colorimetría de acuerdo a lo establecido por Domínguez (1988).

Los cultivos de *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *A. niger*, *V. cholerae*, *S. marcescens*, *F. sporitrichum*, *F. moniliforme*, *T. metagrophytes*, *M. luteus* y *E. aerogenes* fueron proporcionados por el laboratorio de farmacognosia, ubicado en la UBIPRO de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

La cepa de *A. castellanii*, fue aislada de un paciente con queratitis amibiana. *A. castellanii* se conservó a una temperatura de 30 °C en botellas de cultivo de 75 cm² en el medio axénico líquido bacteriocasitona y suero fetal bovino con antibiótico en proporciones 9:1.

Se realizaron diluciones de los extractos desde 30 y hasta 210 µg/ml; para el de *C. papaya*, se utilizó como disolvente Tween 20 al 1%, y para el extracto de *V. Planifolia* agua destilada.

La evaluación cualitativa de la actividad antibacteriana de ambos extractos sobre *E. aerogenes*, *M. luteus*, *S. marcescens* y *V. cholerae* se determinó mediante el método de difusión en agar o Kirby-Baüer (Cole, 1994; Vanden Berghe y Vlietinck, 1991; Beer y Sherwood, 1945) por triplicado.

El análisis cualitativo de la actividad antifúngica se evaluó a través de la inhibición del crecimiento radial de *F. sporitrichum*, *T. metagrophytes*, *A. niger* y *F. moniliforme* por difusión en agar PDA. (Wang y Bun, 2002). La prueba se realizó por triplicado.

Los extractos solo mostraron actividad anti fúngica contra *F. moniliforme*, por lo que posteriormente, se establecieron los valores de inhibición cuantitativamente. La prueba se realizó en placas de 24 pozos, colocando en cada pozo 1.5 mL de agar papa dextrosa con las siguientes concentraciones del extracto a evaluar: 2.0, 1.5, 1.0, 0.75, 0.5, 0.25 0.125 y 0.0625 mg/mL. Posteriormente se colocó una mínima parte de micelio en el centro de cada pozo. Se emplearon grupos testigo para comparar la velocidad de crecimiento. Las placas fueron incubadas a 28 °C por 72 h. La prueba se realizó por triplicado.

El efecto inhibitor de los extractos sobre trofozoítos de *A. castellanii* fueron evaluados, realizando las interacciones en condiciones de esterilidad en microplacas de 96 pozos marca Jet-Biofil. Se agregaron 100 µl de medio con 2.5×10^3 trofozoítos a cada pozo, posteriormente se agregó 100µl de extracto de *C. papaya* o de *V. planifolia* respectivamente, por cada concentración (30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 µg/ml). Todas las interacciones se realizaron por cuadruplicado. Como control negativo se colocaron trofozoítos con bactocasitona, y como control positivo se usó Netilmicina al 0.3% en presentación oftálmica.

Las interacciones se realizaron durante 12, 24 y 48 h, al finalizar los tiempos de interacción se llevó a cabo la cuantificación del número de trofozoítos viables en cada pozo, a través de la técnica de Cristal Violeta.

Pruebas de viabilidad de interacción de los extractos con *A. castellanii*

Se realizaron ensayos como los descritos con anterioridad. Al finalizar los tiempos de interacción (12, 24 y 48 h), se reestablecieron las condiciones óptimas de crecimiento, decantando el medio con el extracto ya sea de *C. papaya* o *V. planifolia* y añadiendo 100 µl de medio limpio. Las muestras se dejaron en incubación a 30° C por 24 h. Posteriormente se determinó el número de amibas viables y se hicieron observaciones en el microscopio invertido Zeiss modelo Axiovert 25.

3. RESULTADOS

Pruebas fitoquímicas de los extractos de *C. papaya* y *V. planifolia*

Los resultados obtenidos de las pruebas fitoquímicas realizadas a ambos extractos se representan en la figura 1. Encontrando presencia de fenoles y taninos en el extracto metanólico de *V. planifolia* y presencia de alcaloides, esteroides, taninos y glucósidos en el extracto clorofórmico de *C. papaya*.

Prueba		<i>C.papaya</i>	<i>V. planifolia</i>
Alcaloides	Dragendorff	SP	SP
	Mayer	X	SP
Fenoles		SP	X
Esteroides	Lieberman	X	SP
Triterpenos		SP	SP
Saponinas		SP	SP
Taninos		X	X
Glicosidos	Molish	X	SP

Fig 1. Metabolitos secundarios presentes en ambos extractos. (SP) sin presencia, (X)

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de *V. planifolia* fueron únicamente fenoles y taninos, sin embargo, en estudios anteriores se reporta la presencia de glucósidos, esteroides y flavonoides (Uddin *et al.*, 2015) además de los antes mencionados, esto puede deberse a la sensibilidad de las pruebas cualitativas empleadas.

Como se observa en la figura 1, en el extracto clorofórmico de *C. papaya* se encontró presencia de alcaloides, esteroides, taninos y glicósidos, Cuéllar y colaboradores en el 2012 reportan la presencia de Fenil propanoides, ácido cafeico, esteroides: β -sitosterol; alcaloides: carpaína, dihidrocarpaína I y II, pseudocarpaína, cotinina, miosmina, nicotina, también contiene pequeñas cantidades de glicósidos cianogénicos, observando una correlación con los datos obtenidos por las pruebas del presente estudio.

El extracto metanólico de *V. planifolia* fue probado por Naz y colaboradores en 2005, examinando su actividad sobre bacterias gram positivas y gram negativas, encontrando inhibición únicamente en las primeras, las cuales, como lo refiere Russel en 2002, no tienen la protección adicional que les confiere la membrana externa a las bacterias gram negativas al reducir su permeabilidad al medio, sin embargo, a pesar de la actividad antibacteriana de los extractos de *C. papaya* (Rodríguez *et al.*, 2014) y *V. planifolia* (Uddin *et al.*, 2015) reportada en experimentos anteriores, no se observó inhibición del crecimiento de ninguna de las bacterias estudiadas en el presente trabajo, por lo que no se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria.

Los extractos no mostraron ningún efecto sobre las levaduras (*C. glabrata* y *C. tropicalis*) ni sobre tres de los hongos miceliados (*F. sporitrichum*, *T. metagrophytes* y *A. niger*).

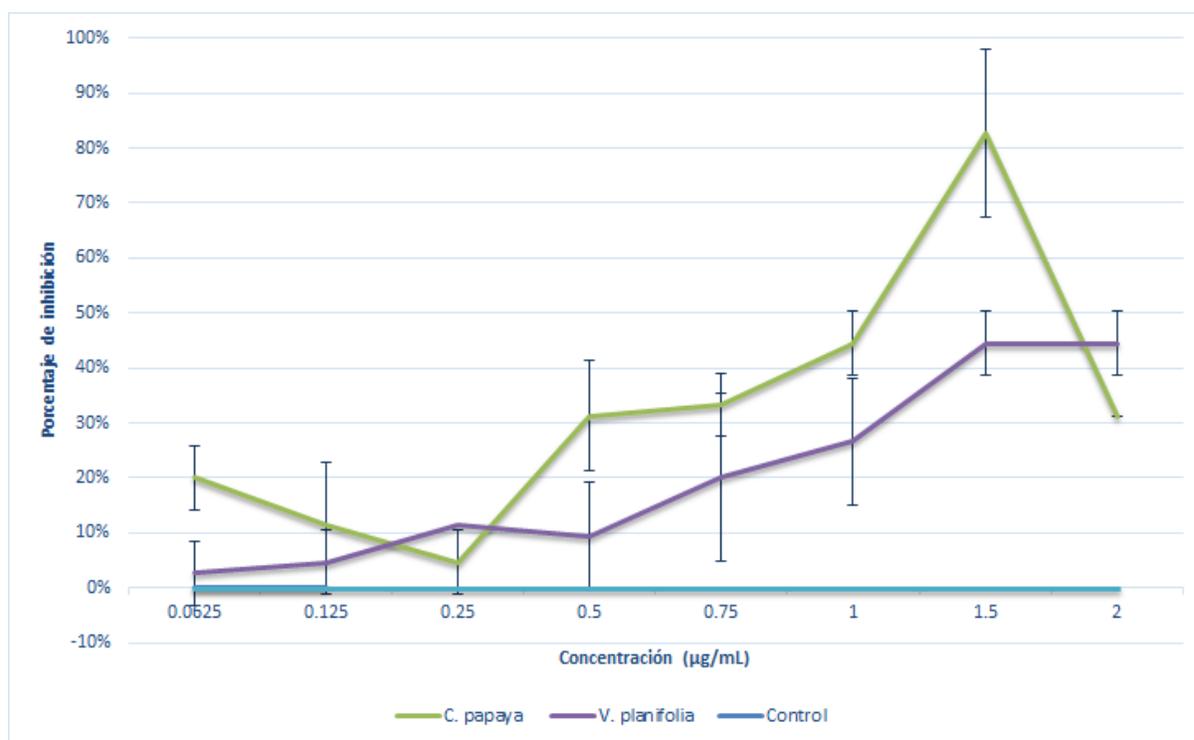


Fig. 2. Porcentaje de inhibición de *F. moniliforme* en cada una de las concentraciones de *C. papaya* y *V. planifolia* donde el extracto de *C. papaya* tiene el mayor efecto inhibitorio. Los controles se llevaron a cabo utilizando cultivos en medio bactocasitona, enriquecidos con suero fetal bovino al 2%.

Ambos extractos inhibieron el crecimiento de *F. moniliforme*, siendo más evidente la inhibición a las concentraciones de 1.5 mg/mL en ambos casos, con un porcentaje de inhibición de 44.45%, en el caso del extracto de *V. planifolia*, y 82.67% con el extracto de *C. papaya*. Únicamente se realizó la prueba para conocer Concentración Fungicida Media del extracto clorofórmico de *C. papaya* sobre *F. moniliforme*, la cual fue de 1 µg mL⁻¹, mientras que para el extracto de *V. planifolia* no se determinó debido a que en la prueba cualitativa la inhibición radial fue escasa.

La Concentración Fungicida Media del extracto clorofórmico de *C. papaya* sobre *F. moniliforme* fue de 1 µg mL⁻¹, siendo mayor a lo reportado por Chávez-Quintal *et al.*, en 2011, en donde se obtuvo una MIC de 0.625 mg mL⁻¹ con el extracto metanólico de las hojas de *C. papaya* y una inhibición insuficiente con el extracto metanólico de las semillas, probablemente debido a la diferencia en los metabolitos secundarios extraídos con los distintos solventes utilizados en cada estudio.

Los compuestos fenólicos han mostrado un efecto antifúngico (Vasantha K. *et al*, 2012) por lo que podría atribuirse a los fenoles del extracto de *V. planifolia* como la vainillina este efecto contra *F. moniliforme*.

En la figura 3 se presenta el efecto anti amibiano de los extractos de *C. papaya* y *V. planifolia* sobre los trofozoítos de *A. castellanii* a diferentes concentraciones expresado en porcentaje de trofozoítos viables tomando como 100% a control con medio bactocasitona. En la gráfica se muestra que el extracto de *V. planifolia* tuvo mayor efecto inhibitorio que el extracto de *C. papaya*.

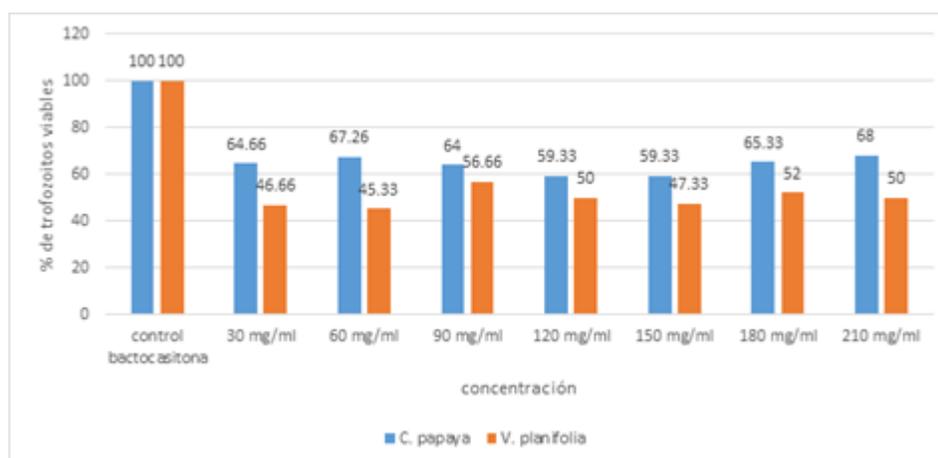


Fig. 3. Porcentaje de trofozoítos viables tras la interacción con los extractos, donde *V. planifolia* tiene la mayor inhibición.

El efecto inhibitorio de *V. planifolia* puede atribuirse a la presencia de una gran diversidad de compuestos, entre ellos ácido vainílico (Kauzinger *et al.*, 1997). Rodríguez- Zaragoza en 1999, demostró la actividad amebostática sobre diferentes especies de *Acanthamoeba* entre ellas *A. castellanii*, atribuyendo esta disminución en el número de la población al ácido vainílico. Por otra parte el extracto clorofórmico de *C. papaya* mostró inhibición en menor proporción, la cual puede deberse a la presencia de ácidos grasos insaturados (Pérez *et al.*, 2011) o alcaloides como la carpaína, ambos compuestos presentes en la semilla de este fruto (Cuéllar *et al.*, 2012).

El efecto de los extractos sobre los trofozoítos de *A. castellanii* fueron evidentes ya que no se observaron formas tróficas, solo formas redondeadas y pre-quistes (figura 4). Además se observó una clara disminución de los microorganismos en todos los tiempos de exposición con los extractos.

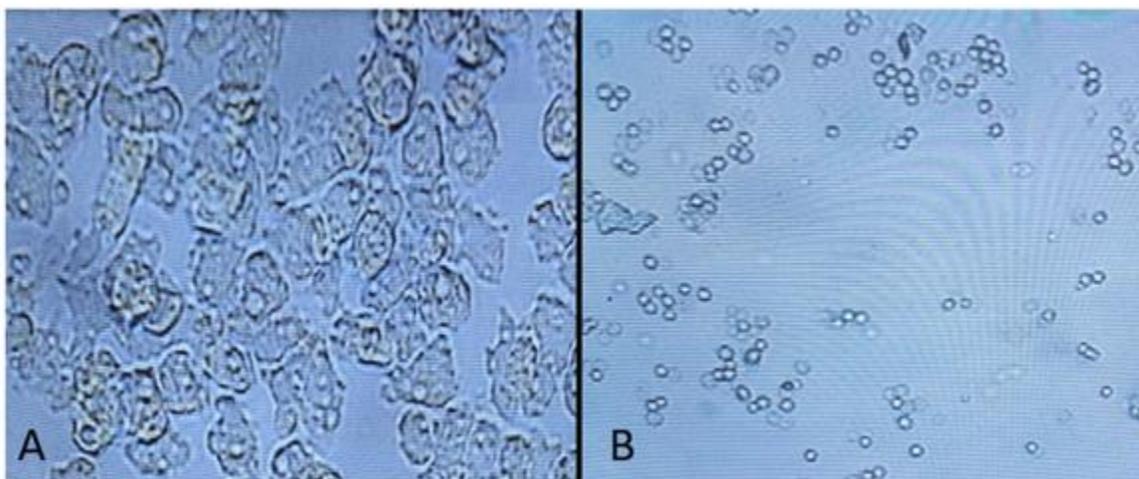


Fig. 4. Microscopía de luz. A) Trofozoítos de *A. castellanii* en medio *bactocasitona* (cultivo control de 24 h). B) Cultivo de *A. castellanii* después de haber sido interaccionado con extractos de *C. papaya* por 12 h, y se les reestableció el medio *bactocasitona*. Se determinó la viabilidad con la pruebas de exclusión con azul de tripano al 4%. Se observan formas redondeadas no viables.

A pesar de que se reestablecieron las condiciones ideales de crecimiento de cultivos que habían sido interaccionados con los extractos en los diferente tiempos evaluados, solo se observaron formas prequísticas no viables, lo cual se sugiere un posible efecto amebostático.

4. CONCLUSIONES

- Se identificó la presencia de taninos, esteroides, glucósidos y alcaloides en el extracto clorofórmico de *C. papaya*.
- Se identificó la presencia de taninos y fenoles en el extracto metanólico de *V. planifolia*.
- No se presentó actividad antimicrobiana de los extractos de *C. papaya* y *V. planifolia* sobre *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *A. niger*, *F. sporotrichum*, *T. mentagrophytes*, *V. cholerae*, *S. marcescens*, *M. luteus* y *E. aerogenes*.
- Se presentó actividad antifúngica de los extractos de *C. papaya* y *V. planifolia* sobre *F. moniliforme*.
- La Concentración Fungicida Media del extracto clorofórmico de *C. papaya* sobre *F. moniliforme* fue de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$.
- Se observó mayor efecto antiamebiano en el extracto de *V. planifolia*.
- Se determinó un posible efecto amebostático en los extractos de *C. papaya* y *V. planifolia*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chávez-Quintal P., González-Flores T., Rodríguez-Buenfil I., Gallegos-Tintore S. 2011. Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian J Microbiol.* 51(1):54–60.
2. Calvo J. y Martínez- Martínez L. 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 27 (1): pp.44-52.
3. Cuellar A., Scull R., Martínez A., Fernández A. y Monzote L. 2012. Evaluación preliminar de la composición química de las hojas de *Carica papaya* L y del efecto antiprotozoario de un extracto enriquecido en alcaloides a partir de la misma. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 4(2): pp.364-376.
4. Domínguez, J. A. 1988. Métodos de investigación fitoquímica. Limusa. pp.281.
5. Getti G, Durgadoss P, Domínguez CD, Martín QZ, Peraza SS, Peña RLM, Humber D. Leishmanicidal activity of Yucatecan medicinal plants on *Leishmania* species responsible for cutaneous leishmaniasis. *J Parasitol* 2009; 95: pp .456–460.
6. Kaunzinger, A., Juckcla, D. y Mosandl, A. 1997. Progress in the Authenticity Assessment of Vanilla. 1. Initiation of Authenticity Profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45: pp. 1752-1757.
7. Naz S., Ahmad S., Ajaz R. S., Asad S. S., Siddiqi R. 2006. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. *Microbiol Res.* 181:pp. 43-48.
8. Ondarza R., Iturbe A., Hernández E. 2006. In Vitro Antiproliferative Effects of Neuroleptics, Antimycotics and Antibiotics on the Human Pathogens *Acanthamoeba polyphaga* y *Naegleria fowleri*. *Arc.of Med. Res.* 37: pp. 723-729.
9. Pérez-Gutiérrez, S., Zavala-Sánchez, M. A., González-Chávez, M. M., Cárdenas-Ortega, N. C. y Ramos-López, M. A. (2011). Bioactivity of *Carica papaya* (Caricaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Mol.* (16) 7502-7509. ISSN pp. 1420-3049.
10. Polat Y. G., Pagotto F., Bach S., Delaquis P. 2011. Effect of Vanillin, Ethyl Vanillin, and Vanillic Acid on the Growth and Heat Resistance of *Cronobacter* Species. *J of Food Prot.* 74 (12): pp. 2062-2069.
11. Rodríguez Cárdenas, M. M., & Mori Ortiz, N. 2014. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólico e hidroalcohólico de hojas de *Carica papaya* (Papayo), frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, por el método de macrodilución. (Tesis de licenciatura) Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Iquitos, Perú.
12. Rodríguez- Zaragoza S., Ordaz C., Ávila G., Muñoz J. L., Arciniegas A. y Romo de Vivár A. 1999. In vitro evaluation of the amebicidal activity of *Buddleia cordata* (Loganiaceae, H.B.K.) on several strains of *Acanthamoeba*. 3. *J of Ethnopharmacol.* 66: pp. 327-334.
13. Russell AD. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistance bacteria. *J Appl Microbiol.* 2002; 92 (Suppl): pp. 121-135.
14. Shukla P. K., Kumar M., Keshava G.B.S. 2008. Mycotic keratitis: an overview of diagnosis and therapy. *Mycoses.* 51: pp. 183-199.
15. Uddin J.I, A. Nusrat, S. Parvin, M.Z.K. Roni and U. Mayda (2015). Antibacterial and Antifungal Activities of *Vanilla Planifolia* Grown in Sher-E-Bangla Agricultural University. *Bangladesh Res. Pub. J.* 11 (1): pp. 34-39.
16. Urióstegui-Flores A. 2015. Medicinal herbs used in the care for diseases of the digestive system in the city of Taxco, Guerrero, Mexico. *Rev. Salud pública.* 17 (1): pp.85-96.
17. Vasantha K, Priyavardhini S, Soris TP, Mohan VR. 2012. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn. *Biosc Discovery,* 3(1): pp. 06-16.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Berberis trifoliata*

Raymundo Alejandro Pérez Hernández¹, Catalina Leos Rivas¹, Silvia Guadalupe Treviño Moreno¹, Eduardo Sánchez García¹, Ledy Elizabeth García Becerra¹, María Luisa Ramos Ibarra², Catalina Rivas Morales¹

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. ² Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara

RESUMEN

Se evaluó mediante técnicas *in vitro* la actividad antiurolítica sobre la inhibición del proceso de nucleación de cristales de oxalato de calcio, actividad antimicrobiana por la técnica de difusión en placa, capacidad de captura de radicales libres por el método DPPH, toxicidad mediante el ensayo de *Artemia salina* y tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de *Berberis trifoliata*. El extracto en estudio presentó actividad antiurolítica inhibiendo el proceso de nucleación en un 93 ± 0.01 % a 1000 $\mu\text{g/mL}$; no mostró actividad antimicrobiana frente a aislados clínicos involucrados en procesos infecciosos de vías urinarias; mostró capacidad de captura de radicales libres con una CE_{50} de 2.84 $\mu\text{g/mL}$; se obtuvo una DL_{50} de 925 $\mu\text{g/mL}$ para la toxicidad sobre *A. salina*; se identificó la presencia de: carbohidratos, cumarinas, dobles enlaces, flavonoides, grupos carboxilo, sesquiterpenlactonas, alcaloides y taninos. Con base en los resultados obtenidos concluimos que *B. trifoliata* puede ser una alternativa o coadyuvante en el tratamiento de la urolitiasis.

1. INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de sustancias contenidas en la sangre, son nocivas para el funcionamiento normal del organismo, éstas son eliminadas por los riñones a través de las vías urinarias en la orina, algunas de ellas se encuentran en altas concentraciones, que en determinadas circunstancias pueden precipitar y dar lugar a la formación de cálculos, lo que se conoce como litiasis urinaria o urolitiasis.¹ La urolitiasis es una enfermedad multifactorial en cuya etiología se han implicado aspectos epidemiológicos, raciales, geográficos y hereditarios.² Es el tercer padecimiento más común del tracto urinario. Se manifiesta habitualmente en forma de crisis reiteradas de cólico renal y genera un elevado número de consultas médicas y de ingresos hospitalarios, de gran repercusión económica y social. El riesgo medio de formación de cálculos a lo largo de la vida oscila entre 10-23% al año, 50 % en 5-10 años y 75% en 20 años. Con el riesgo de desarrollar complicaciones importantes y frecuentes, como infección urinaria y sepsis, obstrucción urinaria y anuria, fracaso renal agudo o insuficiencia renal crónica.^{3,4} El manejo quirúrgico de la urolitiasis incluye diversos procedimientos, entre ellos la litotricia extracorpórea por ondas de choque, los cuales causan diversos efectos secundarios, tales como: daño renal, disminución de la función renal, aumento en el índice de recurrencia en la formación de cálculos, aunado al riesgo de desarrollar una infección. A pesar de los grandes avances en el área de la medicina, no se dispone actualmente de algún fármaco eficaz para el tratamiento de los cálculos renales.⁵ Una de las principales causas es debido a los diversos factores involucrados en la patogénesis de ésta, por lo cual se requieren agentes que poseen actividades diversas tales como antiEspasmódica, antioxidante y antiinflamatoria por mencionar algunas.²

Diversos estudios sugieren que efectos de las reacciones que generan radicales libres juegan un papel muy importante como una de las causas en la formación de cálculos renales. Bajo ciertas condiciones patológicas la formación de radicales libres se incrementa, disminuyendo las defensas antioxidantes de las células, lo que eventualmente da lugar a daño celular oxidativo.⁶ La formación de cálculos renales, en su mayoría constituidos por oxalato de calcio, puede ser causada por el daño celular presente en la membrana, ya que de esta manera se facilita la fijación de los cristales que al irse acumulando dan lugar a la formación del urolito.⁷ La litiasis renal es un factor que favorece la incidencia de infecciones urinarias, ya que obstruye el flujo de la orina y con ello favorecen las condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano.⁸ Dentro de las bacterias que con mayor frecuencia se asocian con infecciones urinarias se encuentran *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*. Algunas de ellas han desarrollado diversos mecanismos de resistencia en contra de los agentes antimicrobianos, lo que dificulta el tratamiento de las infecciones del tracto urinario.⁹ Las plantas medicinales son una alternativa terapéutica al no causar o ser menores los efectos secundarios adversos comparado con algunos fármacos sintéticos, además de ser más accesibles para un gran número de personas. Éstas contienen múltiples constituyentes químicos que pueden ofrecer un tratamiento efectivo y seguro tanto para la urolitiasis e infecciones del tracto urinario, aunado a que son una fuente importante de metabolitos con actividad antioxidante.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Se utilizó la parte aérea de *Berberis trifoliata*, la cual fue colectada en la localidad de Casa Blanca, ubicada en el municipio de Santa Catarina, Nuevo León. (25°39'08.23" Lat. N, 100°42'40.14" Long. O. 1169 msnm).

Obtención del extracto

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente y posteriormente triturado utilizando un molino para grano manual (Victoria). La extracción del material vegetal se llevó a cabo mediante maceración a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) con agitación constante utilizando 71.5 g de planta y 300 mL de metanol como disolvente. El extracto fue filtrado y concentrado mediante presión reducida en un rotavapor (Yamato Scientific CO. LTD. RE 200). Una vez eliminado el disolvente en su totalidad, se procedió a obtener el rendimiento del extracto.

Actividad antiurolítica *in vitro*

La capacidad inhibitoria del extracto sobre la nucleación de cristales de oxalato de calcio se determinó mediante un método espectrofotométrico.^{10, 11} Para lo cual se prepararon dos soluciones una con cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma-Aldrich), a una concentración de 5 mM y otra de oxalato de sodio ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) (Sigma-Aldrich), a una concentración de 7.5 mM, posteriormente fueron ajustadas a un pH de 6.5. Ambas soluciones fueron filtradas tres veces, utilizando un filtro de membrana con tamaño de poro de 0.22 μm (Millipore). La inhibición de la nucleación se llevó a cabo mezclando 1450 μL de la solución de cloruro de calcio con 100 μL de las diferentes concentraciones (100-1000 $\mu\text{g/mL}$) del extracto de *B. trifoliata*, paralelo a esto se empleó citrato de potasio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7$) (Sigma-Aldrich) (1000-4000 $\mu\text{g/mL}$), el cual fue utilizado como control positivo. Una vez preparadas, las mezclas fueron mantenidas a 37 °C y en agitación constante durante 10 min a 800 rpm utilizando barras magnéticas de 2 x 7 mm (Bel-Art).

Posteriormente se añadieron 1450 μL de oxalato de sodio como agente precipitante, manteniendo las condiciones antes descritas. Por último se midió la densidad óptica (DO) a 620 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific Genesys 20). El porcentaje de inhibición de la nucleación fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = 1 - \frac{\text{DO muestra}}{\text{DO control}} \times 100$$

Capacidad de captura de radicales libres

La capacidad de captura de radicales libres se determinó utilizando el método del DPPH (2, 2-Difenil-1-picrilhidrazilo).¹² Para este ensayo, se colocaron 1900 μL (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de una solución metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich Chemistry), en tubos de ensayo de 12 x 75 mm, los cuales contenían 100 μL del extracto a diferentes concentraciones (5-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) o 100 μL de una solución (5-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de vitamina E (Sigma-Aldrich Chemistry), utilizada como control positivo. Después se procedió a incubar las muestras a temperatura ambiente durante 20 min en oscuridad. Transcurrido el tiempo de incubación los cambios en la densidad óptica fueron medidos a 517 nm en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific Genesys 20). La disminución en la densidad óptica de la mezcla de la reacción, indicó la capacidad de captura de radicales libres. Finalmente los resultados se expresaron como la concentración efectiva media (CE_{50}) en la cual una muestra causa un decremento del 50 % de la concentración inicial de DPPH.

Actividad antimicrobiana

Se utilizaron aislados clínicos de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis*, bacterias Gram negativas responsables de infecciones en tracto urinario. Las cepas bacterianas se obtuvieron de la colección del Laboratorio de Química Analítica y Química de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Las cepas bacterianas fueron activadas en tubos de ensayo de 12 x 75 mm que contenían 3 mL de caldo de cultivo C. Rivas (patente No. 9810892), el medio fue preparado pesando 8.5 g por cada 100 mL de agua destilada y el pH fue ajustado a 7.0 ± 0.2 el medio se esterilizó bajo condiciones estándar (15 lb/15 min) para posteriormente ser sometidos a prueba de esterilidad en una incubadora (Felisa) a 37°C por 18 a 24 h. Para evaluar la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de *B. trifoliata*, se utilizó el método de difusión del pozo en agar (C. Rivas);¹³ para lo cual se tomaron 100 μL de los cultivos previamente activados (1×10^6 UFC/mL en la escala de McFarland), los cuales fueron sembrados por extensión con la ayuda de un asa Digralsky. Posteriormente se realizaron pozos en el agar, de aproximadamente 5 mm de diámetro, utilizando un tubo de ensayo invertido, el agar fue retirado con la ayuda de una espátula estéril y posteriormente los pozos fueron llenados con 50 μL de diferentes concentraciones (20, 40 y 60 mg/mL) del extracto. Como control positivo se utilizaron 50 μL de gentamicina a una concentración de 0.04 mg/mL y como blanco 50 μL de metanol. Las placas fueron incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h, después de este tiempo se procedió a medir los halos de inhibición, los datos fueron expresados en milímetros, considerando el diámetro total del halo sin restar el diámetro del pozo.

Análisis fitoquímico cualitativo

Para determinar la presencia de compuestos y grupos funcionales en el extracto *B. trifoliata*, se realizó un análisis fitoquímico cualitativo utilizando las siguientes pruebas químicas: 2, 4-dinitrofenilhidrazina (grupo carbonilo), antrona (carbohidratos), Baljet (sesquiterpenlactonas), bicarbonato de sodio (grupo carboxilo), cloruro férrico (taninos), Dragendorff (alcaloides), Liebermann-Burchard (esteroles y triterpenos), permanganato de potasio (dobles enlaces), Shinoda (flavonoides), hidróxido de sodio (cumarinas), Bornträger (quinonas) y bicarbonato de sodio (saponinas).¹⁴

Ensayo de letalidad sobre *Artemia salina*

Se preparó agua de mar artificial utilizando 20 g de sal de mar y 6 mg de levadura de cerveza, disueltos en 500 mL de agua destilada a pH 7.8. Previo a la realización del ensayo, el agua de mar artificial fue acondicionada suministrando aire mediante una bomba para acuario por 24 h. Para la eclosión de los nauplios de *A. salina*, se adecuó un recipiente de vidrio rectangular con medidas de 17 cm x 14 cm x 7cm, el cual consta de un área oscura en donde se incuban los quistes y dos áreas iluminadas que permiten mediante fototropismo obtener solo nauplios eclosionados. Transcurrido un periodo de incubación de 48 h bajo condiciones de temperatura ambiente (23-25 °C) aireación y luz constante, se procedió a llevar a cabo el ensayo utilizando microplacas estériles de 96 pozos (Costar, Corning, NY, USA),¹⁵ en los cuales se depositaron en un volumen final de 200 µL por pozo 10 nauplios y diferentes concentraciones (100-10000 µg/mL) del extracto de *B. trifoliata*. Se utilizó dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) al 5 % y agua de mar como control positivo y negativo respectivamente. La microplaca fue incubada por 24 h bajo las condiciones antes mencionadas. Posteriormente, utilizando un estereoscopio, se realizó el conteo de nauplios muertos en cada pozo de la microplaca. El ensayo fue realizado por triplicado. Por último se realizó un análisis Probit utilizando el paquete estadístico SPSS 17 para determinar la DL₅₀.

3. RESULTADOS

En el proceso de extracción por agitación constante de *Berberis trifoliata* se obtuvo un rendimiento de 5.40 % (p/p). En el ensayo de nucleación el extracto presentó un porcentaje de inhibición de cristales de oxalato de calcio dosis-dependiente de 93 ± 0.01 % al utilizar una concentración de 1000 µg/mL; una capacidad de captura de radicales libres a una concentración efectiva media (CE₅₀) de 12.84 µg/mL; el extracto no presentó actividad antimicrobiana relevante frente a aislados clínicos responsables de infecciones del tracto urinario; La toxicidad sobre *A. salina* presentó una dosis letal media (DL₅₀) de 925 µg/mL por lo tanto es ligeramente tóxica; En el tamizaje fitoquímico se determinó la presencia de compuestos y grupos funcionales tales como: cumarinas, flavonoides, sesquiterpenlactonas, alcaloides y taninos.

4. CONCLUSIONES

El extracto metanólico de *B. trifoliata* inhibe el proceso de nucleación *in vitro* de cristales de oxalato de calcio hasta en un 93% a 1000 µg/mL, posee capacidad de captura de radicales libres con una CE₅₀ 12.84 µg/mL; no presentó actividad sobre los microorganismos evaluados; muestra una toxicidad ligera sobre *A. salina* con una DL₅₀ de 925 µg/mL. Con base a estos resultados, se considera que el extracto de *B. trifoliata* podría ser una alternativa como coadyuvante en el tratamiento y/o prevención de la urolitiasis. Sin embargo es necesario realizar estudios *in vivo* para corroborar los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hernando L, González C. Nefrología clínica: Litiasis renal. 3ª ed. Madrid. Ed. Panamericana; 2009. p. 567-579.
2. Khan A, Khan SR, Gilani AH. 2012. Studies on the in vitro and in vivo antiurolithic activity of *Holarrhena antidysenterica*. Urol Res. 2012 Dec; 40(6):671-81.
3. Khan A, Bashir S, Khan SR, Gilani AH. 2011. Antiurolithic activity of *Origanum vulgare* is mediated through multiple pathways. BMC Complement Altern Med. 17; 11:96.
4. Martínez Pérez Martínez R. 2012. Revisión del tratamiento farmacológico de la urolitiasis. FAP. 10(1):18-24.

5. Patel, Bhavik; Patel, Paresh; Patel, Rakesh. 2011 Effect of different extracts from *Celosia argentea* on calcium and phosphate inhibition *in vitro*. International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences; Vol. 3 Issue 4, p337.
6. Ramasamy selvam. 2002. Calcium oxalate stone disease: role of lipid peroxidation and antioxidants. Urol Res. 30(1):35-47.
7. Grases F, García-Ferragut L, Costa-Bauzá A. 1998. Development of calcium oxalate crystals on urothelium: effect of free radicals. Nephron. 78(3):296-301.
8. Gutiérrez-Lugo MT, Barrientos-Benítez T, Luna B, Ramírez-Gama RM, Bye R, Linares E, Mata R. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of some crude drug extracts from Mexican medicinal plants. Phytomedicine. Mar;2(4):341-7.
9. Anjana S, Rani V, Padmini R. Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants Used by Tribals Against UTI Causing Pathogens. World Appl Sci J. 2009; 7(3):332-339.
10. Saha S, Verma J. Inhibition of calcium oxalate crystallization *in vitro* by an extract of *Bergenia ciliata*. Arab J Urol. 2013; 11:187–192.
11. Venkatachalam S, Singanallur RR, Bavaniamma V. *In vitro* evaluation of *Rotula aquatica* Lour. for antiurolithiatic Activity. JPR. 2013; 6(3):378-382.
12. García-Becerra LE, Verde-Star MJ, Castro-Ríos R, Chávez-Montes A, Oranday-Cárdenas A, Nuñez-González MA, Rivas-Morales C. Actividad biológica de un extracto de orujo de uva mexicana. Rev Mex Cienc Farm. 2010; 41(4):28-36.
13. Vega-Menchaca MC, Verde-Star MJ, Oranday-Cárdenas A, Morales-Rubio ME, Núñez-González MA, Rivera-Guillén MA, Serrano-Gallardo LB, Rivas-Morales C. Actividad antibacteriana y citotóxica de *Leucophyllum frutescens* (Berl) I.M. Johnst del Norte de México contra *Staphylococcus aureus* de aislados clínicos. Rev Mex Cienc Farm. 2013; 44(2):24-30.
14. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. 1ª Ed. Colombia. CYTED. 2000, p.198.
15. Syahmi ARM, Vijayarathna S, Sasidharan S, Latha LY, Kwan YP, Lau YL, Shin LN, Chen Y. Acute Oral Toxicity and Brine Shrimp Lethality of *Elaeis guineensis* Jacq., (Oil Palm Leaf) Methanol Extract. Molecules 2010, 15:8111-8121.

SINTESIS DE AEROGEL POR DIFERENTES TECNICAS DE INTERCAMBIO ALCOHOL-GAS

¹Nereida Solano Ramírez ²Ismael Soto López, ²Abraham Jiménez Hernández, ¹María de la Cruz Meneses Sánchez, ¹Lidia Melendez Balbuena, ¹Guadalupe López Olivares

¹Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ²Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

El aerogel es un coloide compuesto por dos fases. Pero mientras que en la mayoría de los coloides se tiene una fase líquida y otra sólida, en el aerogel se han intercambiado el líquido por un gas, lo cual ha provocado que este material sea tan especial como único. Presenta una porosidad muy alta, y en consecuencia una densidad muy baja y una elevada superficie específica. Estas características determinan que se comporten como magníficos aislantes térmicos, eléctricos y acústicos, lo que les hace aptos como soportes para catalizadores y como materiales de aislamiento. En contra de lo que su estructura porosa permitiría esperar, tienen una buena resistencia mecánica. Varias materias primas se han utilizado para producir aerogeles, pero los de sílice son el tipo más comúnmente disponible.

La formación de aerogeles comprende dos pasos: la formación de un gel húmedo y el intercambio por un gas para formar un aerogel. En este trabajo se utilizaron varias técnicas para el intercambio alcohol-gas entre ellas fueron condiciones supercríticas con temperaturas extremas, diferentes tipos de gases, radiación ultravioleta hasta el uso de microorganismos.

1. INTRODUCCIÓN

Un gel es un material sólido gelatinoso cuyas propiedades pueden variar desde un aspecto suave y blando hasta un aspecto duro y rígido. También se define como un sistema coloidal. Se comporta como un sólido debido a su red tridimensional, que contiene el líquido en el interior y es lo que determina la estructura del gel. Dicho de otra forma, es una dispersión de moléculas de un líquido dentro de un sólido en la que el sólido es la fase continua y el líquido la fase dispersa.

Los geles de sílice (silicagel) son una forma porosa, granular y vítrea del óxido de silicio, preparada sintéticamente a partir de silicato de sodio o alcóxidos de silicio. Son más fuertes y consistentes que el resto de los geles. Su estructura consiste en tetraedros de SiO_4 unidos mediante puentes siloxano (Si-O-Si) en su interior constituyendo un material con características amorfas, además de resistente y poroso. En condiciones normales, su superficie está cubierta por grupos hidroxilo (grupos silanol: Si-OH) que ejercen una labor importante en los procesos de adsorción, mientras que el interior del sólido presenta conexiones de tipo siloxano. La reactividad de estos grupos silanol con compuestos tanto orgánicos como inorgánicos es lo que hace que la sílice sea uno de los adsorbentes más utilizados. También, hay que destacar que a partir de estos tipos de geles se sintetizan los aerogeles, que son el tipo de material más ligero que se conoce.

El aerogel es un material inteligente con varias características y propiedades poco comunes lo que lo hace atractivo para muchas áreas en aplicaciones técnicas. Es una sustancia coloidal similar a

cualquier otro gel, de muy baja densidad y altamente porosa. Su composición es tan simple como sorprendente ya que el 99.8 %, es mil veces menos denso que el vidrio y al tacto tiene la consistencia de espuma, su aspecto es opalescente, por eso se le conoce como humo sólido, tiene una consistencia considerable y lo más sorprendente es que es capaz de soportar mil veces su propio peso.

La característica más destacada de este material llamado aerogel es su resistencia a la transferencia de calor lo que lo hace muy prometedor, ya que podrá destinarse a aplicaciones muy diversas, por ejemplo: como aislante térmico, ya que su transparencia le permite actuar como aislante entre doble vidrio de ventanas, en la que sus propiedades son utilizadas para evitar la pérdida de calor o frío. También se ha usado para desalinizar el agua de mar, detectar partículas subatómicas, como colectores de micrometeoritos y como supercapacitores, entre muchos otros usos, tomando en cuenta propiedades como la ligereza, fuerza y resistencia del material.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis de aerogeles comprende dos pasos, la formación de un gel húmedo y el intercambio por un gas para formar un aerogel. En este trabajo se utilizaron diferentes rutas de secado para el intercambio alcohol-gas.

FORMACIÓN DEL GEL

Para la obtención del gel se prepare una solución coloidal, con tetraetilortosilicato, etanol, agua y ácido clorhídrico concentrado en un vaso de precipitados, homogeneizar la solución por agitación con una barra magnética y con ayuda de una parrilla, durante 90 minutos. Transcurrido el tiempo de agitación adicionar, amoniaco concentrado, etanol y agua al vaso de precipitados que está en agitación y dejarlo por 120 minutos más. Pasado el tiempo se detiene la agitación y la solución resultante se vierte en jeringas sin aguja, las cuales se tapan bien para evitar alguna contaminación de la solución con el ambiente, se deja reposar para la formación de alcogeles.

DIFERENTES TIPOS DE SECADO DEL GEL

Obtenidos los alcogeles se procede al intercambio líquido-gas en la estructura del gel para la obtención de los aerogeles.

SECADO CON AUTOCLAVE

Se utiliza el gel ya formado y se introduce en una autoclave para un tratamiento térmico por 30 minutos, 15 minutos a temperatura constante y 15 minutos de enfriamiento para que se aclimate y poder manipularlo.

Otra forma que se utilizó fue que antes de introducir el alcogel a la autoclave se sumergió a nitrógeno líquido hasta que se congelo y posterior a ello se introdujo ya en la autoclave para el tratamiento térmico por el mismo tiempo que el anterior.

SECADO POR IRRADIACIÓN LUZ UV

Se utiliza un trozo de gel el cuál es sometido a radiación Ultravioleta para que con ello el alcohol se evapore, y provoque el intercambio del alcohol por aire, esto se hace por un periodo de 3 horas.

SECADO POR IRRADIACIÓN IR

Para este secado al respectivo alcogel se incidió radiación infrarroja directamente al gel, por un periodo de 2 horas diarias por una semana, ya que el láser utilizado fue de baja intensidad lo que provoco que se prolongará el secado.

SECADO POR INOCULACIÓN DE BACTERIA

En este tipo de secado se inoculo *pseudomona sp* a una porción de alcogel para que con ello hubiera crecimiento bacteriano en el trozo de gel ya que la bacteria metaboliza el alcohol generando CO₂, con lo que se realiza el intercambio gaseoso. Este secado se realizó por un periodo de un mes y medio.

SECADO EN ESTUFA

Para este secado se introdujo el gel en un vaso de precipitados que se cerró para después ser introducido en una estufa a 50°C, por un periodo de 24 horas, esto se repitió varias veces por una semana.

3. RESULTADOS

En las siguientes figuras se observan los resultados obtenidos por los diferentes métodos utilizados para el secado o intercambio gaseoso de los alcogeles.

Figura 1.- Es el producto final obtenido por secado por estufa

Figura 2.- Se observa el secado por la autoclave sin sumergimiento a nitrógeno líquido.

Figura 3.- Producto obtenido por secado en la autoclave con sumergimiento a nitrógeno líquido.

Figura 4.- Material obtenido por inoculación de bacteria.

Figura 5.- Material que se tuvo por irradiación UV.

Figura 6.- observación a través de un microscopio.



Figura 1



Figura 2



Figura 3



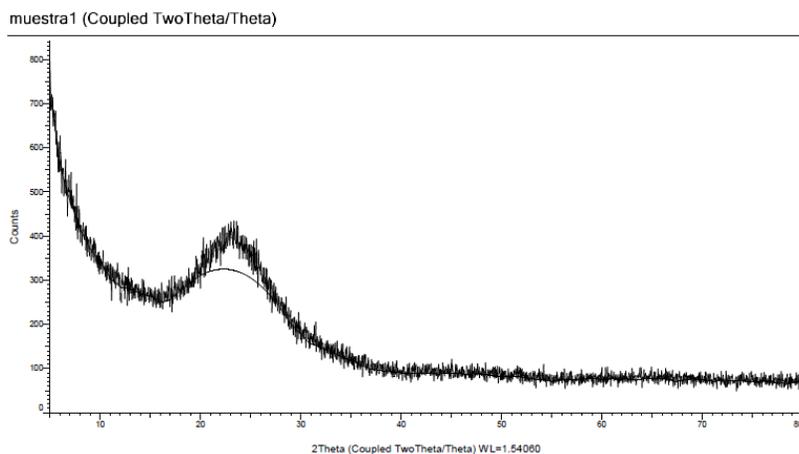
Figura 4



Figura 5



Figura 6



Grafica por DRX

4. CONCLUSIONES

Por medio de los diferentes tipos de secados se pudo apreciar que los resultados obtenidos son muy similares, ya que se obtiene un material translucido, ligero, rígido, el cual tiene apariencia vidriosa pero no es un vidrio ya que cuando se rompe se forma un talco y al parecer presenta una estructura amorfa, según lo que podemos apreciar por Difracción de RX.

BIBLIOGRAFÍA

1. A.G. Caldwell. Ind. and Eng. Chem. "Thermal Conductivity of Silica Aerogel.", 26, pp 658 (1934).
2. Gleiter, H. Nanostructured materials: state of the art and perspectives. Nanostructured Mater. 1995, Ed 6, pp 3–14.
3. Hunt, Arlon J., and Michael R. Ayers. "Light scattering studies of UV-catalyzed gel and aerogel structure." Journal of Non-Crystalline Solids 225 (1998): pp 325-329
4. Kistler S. Physical Chem "Coherent Expanded Aerogels." Vol 36, Year 52 (1932).
5. Martín Sánchez L. Preparación, Caracterización y aplicación de aerogeles de carbono nanocompuestos con metales como catalizadores y electrocatalizadores de reacciones orgánicas, Universitat Autònoma de Barcelona. Departamento de Química, España, pp120-235(1996)
6. N. Minju, P. Abhilash, Balagopal N. Nair, A. Peer Mohamed, S. Ananthakumar, Amine impregnated porous silica gel sorbents synthesized from water–glass precursors for CO2 capturing.
7. R. Castañeda J. Estudio de las propiedades de transporte en materiales porosos mediante espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR). Universidad Nacional de Colombia. (pp. 5,6.) (2012).
8. Rao, C. N. R.; Sood, a K.; Subrahmanyam, K. S.; Govindaraj, a. Graphene: the new Two-dimensional nanomaterial. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 2009, No.48, pp7752–77
9. Rodríguez R. Síntesis y caracterización de óxidos mixtos de sílice- circonia sintetizados por el método sol-gel. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa, México. (pp 24-27). (2003).
10. Sherlock S., E.G. Appel. "Aerogel Catalysts: Thoria, Preparation of the Catalyst and Conversion of Organic Acids to Ketones." Ind. and Eng. Chem., 26, pp 388 (1934).

TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE LA ESPECIE *Clerodendrum bungei* POR EL MÉTODO QUÍMICO

Guadalupe López Olivares¹, Elizabeth Vargas Anaya¹, Lidia Meléndez Balbuena¹, Ismael Soto López¹, Alejandra Castro Lino¹ y Karina Mejía Larrainzar²

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, departamento de Química Inorgánica. ²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, departamento de Química Inorgánica. Estudiante de QFB matrícula 201243426.

RESUMEN

El saber popular de las comunidades rurales del país nos ha permitido conocer las diferentes atribuciones terapéuticas que se le otorgan a una planta y a partir de ello obtener productos fitoterapéuticos, que representan una alternativa en el tratamiento de diversas afecciones por su bajo costo y gran disponibilidad. En el proceso de creación de dichos productos se encuentra una serie de estudios previos entre los cuales se encuentra el tamizaje fitoquímico; que permite tener un conocimiento preliminar de los componentes químicos de la planta con el fin de orientar en estudios posteriores a la localización de principios activos. En este trabajo se realizó el tamizaje fitoquímico de las hojas de *clerodendrum bungei*, a la que se le atribuyen propiedades medicinales en cuanto a su efecto fungicida antidermatofítico, se analizó por el método químico, la extracción de los componentes de la especie en estudio se realizó por maceración en etanol por 24 horas y posteriormente en un sistema de reflujo durante una hora, se realizaron los ensayos para la determinación cualitativa de flavonoides y leucoantocianidinas, así mismo para compuestos fenólicos y taninos, como resultados de las pruebas por el método aplicado se detectaron taninos, triterpenoides y compuestos fenólicos, no se encontró la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, nafto y antroquinonas.

1. INTRODUCCIÓN

En México las plantas medicinales constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano, donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más alejadas de las cabeceras municipales y de los centros urbanos.

Por lo tanto, es vigente recuperar y revalorar el saber tradicional popular con respecto al uso de las plantas y aprovecharlas como recurso alternativo. Las etnias actuales han conservado el saber de la Medicina Tradicional por medio de la tradición oral; es un legado de conocimientos antiguos que subsiste como una alternativa de salud para los individuos de distintas zonas del país, pues es de bajo costo y fácil acceso, en contraposición a la difícil obtención de la medicina alopática institucional y privada.

2. TEORÍA

Generalmente, aunque hay excepciones, los componentes mayoritarios son hidrocarburos terpénicos y los minoritarios son los responsables del aroma característica del aceite esencial y quedan englobados en distintas familias químicas (Ortuño, 2006):

Hidrocarburos terpénicos: terpenos y terpenoides.
Aldehídos: aldehído benzoico, aldehído cinámico, butanal, propanal.
Ácidos: acético, palmítico.
Alcoholes: linalol, geraniol, mentol.
Fenoles: anetol, eugenol.
Ésteres: acetato de linalilo, acetato de geraniol.
Cetonas: tuyona.
Otros: éteres, derivados nitrogenados, sulfuros, tioéteres, tioésteres.

En la misma planta el aceite esencial puede tener una composición distinta según el órgano en el cual está localizado, o bien, de una misma planta pueden obtenerse diversos aceites esenciales con diferentes aplicaciones industriales. La composición del aceite esencial puede variar en función del ciclo vegetativo y es influenciada por factores ambientales como la temperatura, la humedad y la duración del día; sobre todo en las plantas cuyos depósitos se encuentran en la superficie. Así, entre más profundo es el órgano la composición del aceite es más constante. Durante la búsqueda de plantas con principios activos son muy útiles las pruebas químicas sencillas, sensibles, específicas, rápidas y que requieran de equipo mínimo. Los estudios preliminares reúnen dichas características además de permitir la utilización de muestras de 1 a 1000g y orientarse en localizar cualitativamente o cuantitativamente uno o varios principios activos. Los métodos pueden ser:

Histológicos: observación del comportamiento de cortes de tejidos frente a ciertos reactivos que formen colores, precipitados, etc.

Químicos: tratamiento de extractos con agentes cromógenos, sustancias que forman precipitados, etc.

Fisicoquímicos: uso de cromatografía, localización de bandas de absorción en el infrarrojo, etc.

Biológico: ver el efecto de extractos sobre cultivos de microorganismos, grupos de ratones, embriones, órganos aislados, tejidos, etc.

El screening o tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar a la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. El tamizaje consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones colorimétricas.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Obtención del extracto: pesar 50 g de la muestra seca, pulverizarla y macerar en etanol 70% por 24hrs, posteriormente someter a reflujo por 1hr.



Fotografía 1. Reflujo para obtención del extracto.

Ensayo para flavonoides: ensayo de Shinoda

Si la muestra contiene grandes cantidades de clorofila se debe eliminar por precipitación con N-acetato de plomo en solución.

Tomar 1mL de solución en un tubo de ensayo limpio. Se adicionan limaduras de magnesio mientras se sujeta el tubo con una pinza. Añadir cuidadosamente por la pared del tubo HCl concentrado (pureza del 37%) hasta el final del desprendimiento de gases.

Una coloración rosada, roja, violeta o naranja indican una prueba positiva para flavonoides.

Ensayo para leucoantocianidinas: ensayo de Rosenheim

Tomar 1.0 ml de solución en un tubo de ensayo limpio. Añadir 0.5 ml de HCl concentrado. Mezclar. Calentar durante 10 minutos a 100 °C y enfriar.

Pasar a otro tubo de ensayo. Añadir 0.4 ml de alcohol amílico y agitar. Dejar separar las fases.

La prueba se considera positiva si aparece coloración en la fase amílica que vaya desde el carmesí oscuro al rosado débil.

Ensayo para compuestos fenólicos: ensayo del FeCl₃

Tomar 1.0 ml de solución en un tubo de ensayo limpio. Añadir 1 gota de FeCl₃ al 1% acuoso o alcohólico. Mezclar.

La aparición de coloración violeta, verde, azul u oscura se considera prueba positiva.

Ensayo para triterpenoides: ensayo de Liebermann-Burchard

La reacción libera calor por lo que el tubo de ensayo debe tomarse con pinzas y cuidar que esté completamente seco antes de su uso para evitar salpicaduras.

Tomar 0.5mL de la solución en un tubo de ensayo limpio y seco, añadir 0.5mL de anhídrido acético y añadir por la pared del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado.

La prueba se considera positiva cuando aparecen coloraciones violeta, verde o azul.

Ensayo para nafto y antraquinonas: ensayo de Borntranger

Tomar 3mL de la solución y llevarlos a sequedad.

Redisolver en 5mL de alcohol : agua (1:7).

Añadir 1mL de agua oxigenada de 20 volúmenes, 1 mL de ácido sulfúrico al 50% y calentar la mezcla en un baño de agua hirviendo durante 10-15 minutos.

Dejar enfriar y extraer en un embudo de separación con 5mL de benceno o tolueno.

Retirar 2 ml de la fase orgánica y agitarla en otro tubo con 1.0 ml de solución de NaOH al 5% en NH₄OH al 2%.

La prueba se considera positiva cuando aparecen coloraciones que van del rosado al rojo intenso.

Ensayo para taninos: ensayo de la gelatina-sal

Preparación del reactivo de gelatina-sal: remojar 25g de gelatina durante 1 hora en una solución saturada de cloruro de sodio; se calienta hasta disolución completa y se afora a 1 litro.

Tomar 1 mL de solución en un tubo de ensayo limpio y añadir 1mL del reactivo de gelatina-sal. La formación de precipitado se considera una prueba probablemente positiva.

Decantar el sobrenadante y añadir 3 gotas de $FeCl_3$, si hay precipitado verde, azul o negro la prueba se considera positiva

4. RESULTADOS

Se realizó la extracción de componentes de la especie vegetal *clerodendrum bungei* por maceración, se realizaron los ensayos para la determinación cualitativa de flavonoides y leucoantocianidinas por el método de *ensayo de Shinoda*, así mismo para compuestos fenólicos con el *ensayo del $FeCl_3$* y taninos con el ensayo de la gelatina-sal, como resultados de las pruebas por el método aplicado fue posible detectar la presencia de taninos, triterpenoides y compuestos fenólicos, no se encontró la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, nafto y antroquinonas.

Fracción a		Fracción b		Fracción c	
Flavonoides	N	Triterpenoides	P	Reactivo de Dragendorff	N
Leucoantocianidinas	N	Nafto y antroquinonas	N	Reactivo de Valser	N
Compuestos fenólicos	P	Flavonoides	N	Reactivo de Mayer	N
Taninos	P				

Tabla 1. Resultados del tamizaje fitoquímico. N: negativo | P: positivo



Fotografía 2. Pruebas realizadas.

- El tubo de la derecha muestra la fracción clorofórmica del extracto etanólico sin procesamiento, el tubo de la izquierda muestra la positividad de dicha fracción para triterpenoides.
- El tubo de la derecha contiene un estándar de ácido tánico presentando positividad para la reacción de gelatina-sal; el tubo de la izquierda muestra la positividad para la misma prueba en la fracción acuosa del extracto etanólico.
- El tubo de la derecha muestra la fracción acuosa del extracto etanólico sin procesamiento, el tubo de la izquierda presenta la positividad del ensayo de $FeCl_3$ en dicha fracción.

5. CONCLUSIONES

Se corrieron los ensayos correspondientes detectándose la presencia de taninos, triterpenoides y compuestos fenólicos, en la especie vegetal en estudio, no se encontró la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, nafto y antroquinonas.

BIBLIOGRAFÍA

1. F. Capasso, 2011 Farmacognosia: Botanica chimica e farmacologia delle piante medicinali, Italia: Springer.
2. J. L. F. Hernández, "Reflexiones respecto a plantas medicinales y su enseñanza en medicina. Revista digital universitaria UNAM" septiembre 2009.

PERFIL DE EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA EIF3F EN CULTIVOS CELULARES DE EUCARIOTAS SUPERIORES

Dulce Lorena Medina García, Marco Aurelio Pardo Galván y Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

RESUMEN

La subunidad f del complejo multiproteínico 3 del inicio de la traducción (eIF3f) está involucrada en diferentes procesos celulares, como el control de la síntesis de proteínas, la transcripción y la proliferación celular. En células tumorales humanas A549 su expresión durante el ciclo celular es bifásica y circunscrita a las fases S y G2/M del ciclo celular; y una desregulación en su expresión induce muerte celular programada. No se conoce si esto es una característica general a células tumorales o incluso de especie. Por lo cual, es importante definir si existen diferencias en su perfil de expresión con respecto a tipos celulares de origen embrionario distinto, entre células normales y tumorales, incluso entre dos especies mamíferas o de distintos reinos. Se determinó, por citometría de flujo, el perfil de expresión de la proteína eIF3f en varias líneas celulares tumorales humanas (C33A, Ramos), en preosteoblastos murinos MC3T3E1, en linfocitos humanos y murinos. Se encontró que la expresión de eIF3f es dependiente de la fase del ciclo celular en los distintos tipos celulares, como lo ya reportado para A549. La expresión de eIF3f es bifásica respecto al ciclo celular en células de mamífero, presentando máximos de expresión en las fases S temprana y en la transición G2/M.

1. INTRODUCCIÓN

La división celular es una de las propiedades fundamentales de la vida. En células eucariotas ésta se lleva a cabo a través de una secuencia de eventos ordenados, seriados e irreversibles a través de los cuales las células crecen y duplican su genoma dando origen a dos células hijas.

El ciclo celular se divide en cuatro fases: G1, S, G2 y M. Cuando la célula se encuentra en un estado de no proliferación o quiescente se le considera en fase G0. Al recibir señales externas (mitógenos) y contar con las condiciones metabólicas favorables, entra al ciclo celular. Este ciclo comienza en la fase G1 donde se sintetizan profusamente biomoléculas, como ARN y proteínas; es un periodo funcional durante el cual la célula se prepara para la fase S. Durante la fase S la célula duplica su material genético para proporcionar una copia idéntica del genoma a cada una de las células hijas resultantes al final del ciclo. Después la célula entra a otro periodo de crecimiento denominado G2; durante esta fase se determina si la célula está lista para entrar a la fase M. Una de sus características principales en esta fase es la elevada tasa de síntesis de proteínas necesarias para la siguiente fase llamada mitosis. La mitosis es la última fase del ciclo donde finalmente la célula se divide por igual en dos células hijas.

Existen proteínas específicas al ciclo celular. En un sistema alterado en el control de la proliferación y división celular como es el cáncer, se ha encontrado que la expresión de algunas de estas proteínas específicas asociadas al ciclo se encuentra alterada (Guanghua, Na, Chuanjin, & Bo, 2014).

Recientemente existen reportes en la literatura donde se estudian a las subunidades de eIF3 en relación al ciclo celular. Higareda-Mendoza y Pardo Galván (2010) reportan que en células A549 el nivel de expresión del gen eIF3f está abatido en estado quiescente, comparado con células en proliferación, y que la expresión del gen eIF3f presenta dos máximos durante las fases S temprana y M del ciclo celular (perfil de expresión bifásico). Esto significa que eIF3f, podría estar regulando diferentes procesos durante los periodos S y G2/M del ciclo celular.

Así también, Higareda-Mendoza y Pardo Galván (2010) demostraron que el silenciamiento de eIF3f genera muerte celular, por lo que no hay sustitución funcional. La velocidad con que el silenciamiento de eIF3f genera apoptosis es de 24 a 48 horas posteriores al tratamiento, es decir, de uno a dos ciclos celulares. Esto significa que, en teoría, un tratamiento de terapia génica usando a eIF3f como blanco a silenciar eliminaría al cáncer en un corto periodo de tiempo.

2. TEORÍA

En el genoma humano, eIF3f se encuentra codificado en el cromosoma 11p15.4; es un gen con 8 exones y 7 intrones y codifica una proteína de 357 aminoácidos (aa). Existe una segunda copia del gen en el cromosoma 2 que sólo presenta la secuencia codificante (sin intrones) de una proteína de 361 aa. La identidad entre las 2 secuencias de aminoácidos es del 97%. En las líneas celulares humanas A549 y 293H se ha demostrado que la copia en el cromosoma 2 no es funcional tratándose de un retropseudogen. Interactúa establemente con proteínas involucradas en diferentes procesos celulares como transcripción, traducción y proliferación celular. En células tumorales humanas A549 su expresión durante el ciclo celular es bifásica circunscrita a la fase S y G2/M y una desregulación en su expresión induce a una muerte celular programada. (Higareda-Mendoza & Pardo-Galván, 2010). Con respecto al proceso de síntesis de proteínas, experimentos in vivo e in vitro muestran que la sobreexpresión del gen de eIF3f disminuye la velocidad de síntesis proteínica por lo que se considera un modulador del proceso (Higareda-Mendoza & Pardo-Galván, 2010). La proteína eIF3f forma parte de eIF3, y es capaz de interactuar con proteínas diferentes a las de este complejo multiproteínico. Por ejemplo, recientemente (Gutiérrez-Fernández, Higareda-Mendoza, Gómez-Correa, & Pardo-Galván, 2015) demostraron una asociación física de eIF3f con el receptor adrenérgico $\alpha 1B$ en la línea celular A549, y posteriormente se repitieron los experimentos en dos líneas celulares más, la HepG2 y la Ramos, mostrando los mismos resultados. Este dato nos confirma que el complejo de (eIF3f-Receptor adrenérgico $\alpha 1B$) no es tipo celular específico.

Por otro lado el complejo multiproteínico formado por eIF3f y el receptor adrenérgico $\alpha 1B$ modulan la degradación de la proteína p27 marcada con ubiquitina, con la participación río arriba de Akt relacionado a la fase S del ciclo celular. También se conoce que eIF3f es fosforilada en Serina 258 por el complejo CDK1/Ciclina B y que este complejo actúa en la fase G2/M del ciclo celular (Gómez-Correa, 2013) (Jiménez-Alcántar, 2014). Estos datos sugieren que eIF3f podría participar en otros procesos celulares, además del inicio de síntesis de proteínas y explicaría el perfil bifásico de expresión durante el ciclo celular. No se conoce si esto es una característica general a células tumorales o incluso de especie por lo cual es importante definir si existen diferencias en su perfil de expresión con respecto a tipos celulares de origen embrionario distinto, entre células normales y tumorales, incluso entre especies mamíferas o de distintos reinos. La expresión transcripcional de eIF3f en plantas y en hongos es monofásica circunscrita a la fase G2/M; desde el punto de vista filogenético la expresión de eIF3f durante la fase G1/S en humano fue adquirido posteriormente por el reino Animalia durante su evolución (Higareda-Mendoza & Pardo-Galván, 2010).

En la actualidad existen varias metodologías por las cuales se puede determinar la expresión de un gen, por ejemplo los experimentos realizados por Higareda-Mendoza y Pardo-Galván (2010) se realizaron por Western blot limitándose a muestras homogéneas ya que acudieron a la sincronización de células en cada fase del ciclo celular arrojando resultados promedio de cada cultivo. Sin embargo, el realizar los experimentos por citometría de flujo nos permite analizar tipos

celulares heterogéneos asincrónicos en una muestra de una manera más fina. Además, los datos arrojados por este método son de cada célula individual, lo que nos permite conocer la fase del ciclo celular en la que se encuentra la célula y la cantidad de proteína de eIF3f contenida en ella.

Pregunta de investigación:

¿Es bifásica la expresión de eIF3f durante el ciclo celular en células de mamíferos en general?

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para determinar el nivel de expresión de la proteína eIF3f se emplearon las líneas celulares A549 correspondiente a un adenocarcinoma pulmonar, C33A (VPH negativo) correspondiente a un carcinoma de cérvix, y MC3T3-E1 correspondiente a preosteoblastos de ratón, cuya morfología de crecimiento es adherente y cuentan con un nivel de bioseguridad 1. También se utilizó la línea celular RAMOS perteneciente a un linfoma de Burkitt, crece en suspensión y cuenta con un nivel de bioseguridad 1.

Las líneas celulares se propagaron en Medio Mínimo Esencial (MEM por sus siglas en inglés), suplementado con NaHCO₃, L-glutamina, Hepes, y suero fetal bovino (SFB) al 10%. Los cultivos se mantienen con una atmósfera de CO₂ al 5% a 37 °C, realizando recambio de medio de dos a tres veces por semana y manteniendo la concentración celular en la fase logarítmica de crecimiento.

Para sincronizar el cultivo A549 durante tiempos y fases específicas del ciclo celular se le agrega al cultivo un agente sincronizante, se incuba a 37°C y 5% de CO₂ y posteriormente se libera el cultivo mediante tres o más lavados con medio de cultivo fresco. Para enriquecer el cultivo en fase S, usamos afidicolina, para enriquecer las células en la fase M usamos Nocodazol y para enriquecer el cultivo en estado quiescente (fase G0) se le añade medio de cultivo MEM con 0.1% de SFB durante 48. Para el aislamiento de linfocitos se extrae la sangre en un tubo que contenga anticoagulante EDTA y se procede a realizar el aislamiento de linfocitos B utilizando el kit Rosette sep™.

Para la determinación del perfil de expresión de eIF3f se toma una alícuota que contenga 500,000 células y se realizan dos lavados con solución de (PBS/SFB2%/EDTA). Después se fija con una solución de (2%formaldehído/0.2%glutaraldehído/PBS) y se incuba por 10 minutos a 37°C con agitación. Se centrifuga, y luego se decanta el sobrenadante y se lava con solución de lavado. Se centrifuga y se resuspende en 25µL de solución de lavado, se le agrega el anticuerpo primario (eIF3f 1:50), y se deja incubar por 1h a 37°C con agitación. Se centrifuga y se lava con solución de lavado 2 veces. Se resuspende en 25 µL de solución de lavado. Se añade el anticuerpo secundario (anti eIF3f FITC) y se incuba en oscuridad 30 minutos a 37°C con agitación. Se centrifuga y se lava dos veces con solución de lavado. Se centrifuga y se resuspende en solución de lavado.

Para la determinación del ciclo celular se adiciona 200µL mezcla de yoduro de propidio y RNAsa al tubo con las células. Se incuba por 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad y se lee en un citómetro de flujo BD Acurri C6 (BD Biosciences, USA).

4. RESULTADOS

Con el programa Mod Fit 4.1 (Verity Software House, USA) se determinó el porcentaje de células en cada fase del ciclo celular (G0/G1, S y M) y para cada condición de cultivo: células enriquecidas en la fase M (Fig. 1A), en la fase S (Fig. 1B) y en la fase G0/G1 (Fig. 1C). Los datos fueron verificados con el propio “software” del equipo; con éste se generaron ventanas para analizar distintas subpoblaciones (FL2-H) con respecto a la expresión de eIF3f, medida como la intensidad del fluorocromo FITC (FL1-A). La figura 2 ejemplifica cómo, al generar un gráfico FL2 contra FL1, se pueden seleccionar poblaciones celulares que son específicas a una fase del ciclo celular y que se agrupan de acuerdo a la concentración de la proteína de interés (medida a través de la

intensidad de FITC), siempre que esté presente una expresión diferencial con respecto a las distintas fases del ciclo celular. La tabla de la siguiente figura registra los promedios y medianas de la intensidad de FICT de las poblaciones seleccionadas y representan células en las fases G0/G1 (Plot 30), S (Plot 31) y G2/M (Plot 32), de los tres cultivos: enriquecidos en M (B01), S (C01) y G0 (D01).

Los resultados de tres experimentos independientes confirman que la expresión de la proteína eIF3f presenta un máximo de expresión en la transición G2/M del ciclo celular, una expresión importante durante la fase S y baja o nula expresión en la fase G1. Esto refuerza los resultados reportados anteriormente.

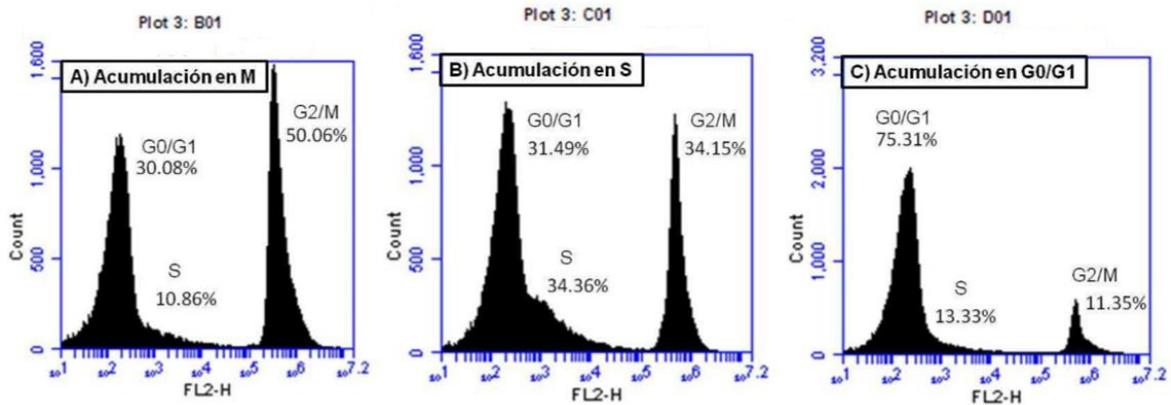


Figura 1. Distribución de células A549 en fases G0/G1, S y G2/M del ciclo celular. Se observa el cambio en la distribución dependiente del enriquecimiento celular en las fases M (A), S (B) y G0 (C).

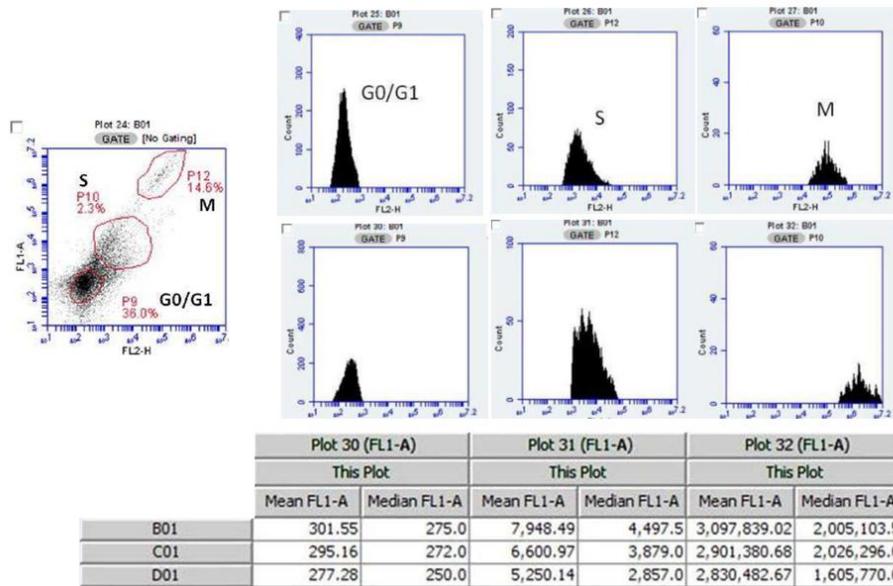


Figura 2. Análisis de la expresión de la proteína eIF3f (FL1-A) por subpoblaciones celulares específicas a una fase del ciclo celular.

5. CONCLUSIONES

La expresión de eIF3f es bifásica circunscrita a las fase S temprana y G2/M en todas las líneas celulares estudiadas, lo que nos indica que esta característica de expresión es general a los mamíferos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gómez-Correa, C. A. (2013). Análisis de fosforilación en eIF3f humano. Tesis de Maestría . División de estudios de posgrado. Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez", 1-54.
2. Guanghua, L., Na, W., Chuanjin, S., & Bo, L. (2014). Decreased expression of eukaryotic initiation factor is an adverse prognostic factor for stage I-III gastric cancer. *WORLD JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY*, 12:72.
3. Gutiérrez-Fernández, M., Higareda-Mendoza, A., Gómez-Correa, C., & Pardo-Galván, M. (2015). The eukaryotic translation initiation factor 3f (eIF3f) interacts physically with the alpha 1B-adrenergic receptor and stimulates adrenoceptor activity. *BMC Biochemistry*, 16-25.
4. Higareda-Mendoza, A., & Pardo-Galván, M. (2010). Expression of human eukaryotic initiation factor 3f oscillates with cell cycle in A549 cells and is essential for cell viability. *Cell division*, 10:1-13.
5. Jiménez-Alcántar, P. (2014). Identificación de la vía de transducción de señales modulada por la interacción eIF3f/Receptor adrenérgico- α 1B en células humanas. Tesis de Maestría . División de estudios de posgrado. Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas, 1-86.

EFFECTO DE LOS SUTITUYENTES EN ANILLOS BENCENICOS UTILES EN REACCIONES DE ACOPLAMIENTO CARBONO-CARBONO

Carlos Felipe Hernández Fuentes¹, Paulina Garnica Chávez¹, Paulina Molina Maldonado², María del Rosario Ruíz Guerrero³.

¹ Posgrado del Centro de Investigación e Innovación Tecnológica (CIITEC-IPN), ² Posgrado del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (Cicata Legaria -IPN), ³ Profesor Investigador –IPN CIITEC Cerrada CECATI s/n Colonia Santa Catarina, Delegación Azcapotzalco, México, D.F., CP. 02250.

RESUMEN:

El siguiente trabajo reporta el estudio de diversos sustituyentes en reacciones de acoplamiento carbono- carbono con ayuda de catalizadores de paladio II para la síntesis de macromoléculas y compuesto de química fina

1. INTRODUCCIÓN

Las reacciones catalizadas por metales de transición han jugado un papel importante en la Química desde mediados del siglo XX. Sin embargo, su papel no era clave hasta que aparecieron las reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por paladio, las cuales iniciaron una verdadera revolución en la industria a finales de la década de 1970.

El creciente interés por las reacciones de acoplamiento en el área de la química fina se debe a su aportación en la síntesis de compuestos útiles para la salud, la agricultura y la ciencia de materiales.

El siguiente trabajo está centrado en identificar el efecto de distintos sustituyentes en anillos bencénicos útiles en reacciones de acoplamiento carbono-carbono a partir de un sistema de acoplamiento sencillo utilizando sales de paladio II

2. TEORÍA

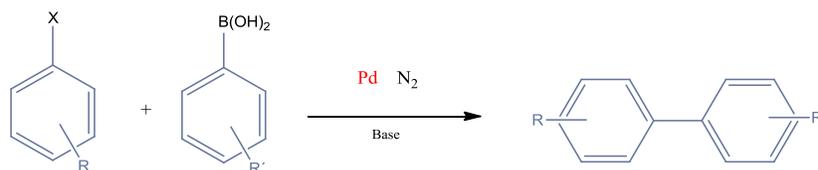
Reacciones de acoplamiento cruzado.

En 1901, el Prof. Ullmann describió la unión de dos anillos bencénicos haciendo reaccionar dos equivalentes de cloruro de arilo con un equivalente de cobre a 200°C para dar el biarilo correspondiente y cloruro de cobre. Este fue el primer ejemplo de acoplamiento de dos carbonos sp^2 catalizado por un metal. Las limitaciones de esta metodología eran obvias: sólo se podían sintetizar biarilos simétricos, el metal estaba en cantidad estequiométrica y las condiciones de reacción eran muy drásticas.

Después de 70 años se encontraron dos avances significativos: el primero, fue el descubrimiento por Heck y Mizoroki de manera independiente en la década de los años 70 sobre el acoplamiento entre olefinas y haluros de arilo catalizados por paladio; el segundo, el uso de níquel, primero en cantidades estequiométricas, y luego en cantidades catalíticas, en el acoplamiento de reactivos de Grignard con haluros de arilo por Kumada y Corriu en 1972. Este segundo conllevó la búsqueda de

otros metales distintos al cobre, como catalizadores de acoplamientos de haluros de arilo con compuestos organometálicos, de entre los cuales el paladio resultó el más eficiente.

La reacción de Suzuki-Miyaura es una reacción de acoplamiento carbono-carbono que emplea compuestos de paladio para la unión de ácidos borónicos con haluros orgánicos. (Figura 1.1)



Figural. 1.1 Reacción de acoplamiento Suzuki-Miyaura

La reacción de Suzuki-Miyaura es la reacción de acoplamiento más estudiada, esto debido a la amplia cantidad de compuestos que pueden ser acoplados en altos rendimientos. Entre estos se pueden citar compuestos halogenados como haluros alquenílicos, arílicos y compuestos fenólicos los cuales son capaces de reaccionar con compuestos de boro como lo son ácidos borónicos, boranos, trifluoroboratos y ésteres borónicos. La reacción de Suzuki mantiene como ventaja el poderse llevar a cabo en distintos disolventes, tanto orgánicos como inorgánicos. La mayoría de las reacciones se efectúan con paladio en estado de oxidación (0).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Los compuestos de paladio (0) son muy inestables al medio ambiente, las reacciones que emplean este tipo de paladio necesitan de atmósfera inerte para evitar su degradación.

A continuación se describe la metodología experimental seguida para el acoplamiento con sales de paladio II de distintos compuestos bromados y distintos ácidos borónicos. En todas las reacciones se evaluaron tiempos, reactivos y rendimientos, con el fin de analizar el comportamiento de cada una de ellas

Las reacciones llevadas a cabo fueron vía Suzuki-Miyaura, al utilizar compuestos bromados y ácidos borónicos. Se hicieron reaccionar 3 compuestos bromados (4-bromofenol, 2-*ter*-butil-4-bromofenol y 5-bromo-3-*ter*-butil-2-hidroxibenzaldehído) y dos ácidos borónicos (Ácido Fenil borónico y Ácido 4-piridinil borónico) para dar un total de 6 combinaciones diferentes.

Debido a la naturaleza del sustrato borado se siguieron dos metodologías para lograr su correcta disolución.

Metodología A

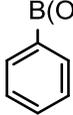
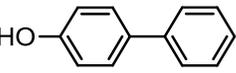
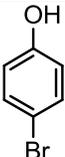
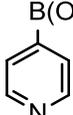
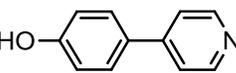
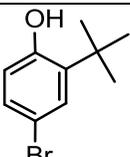
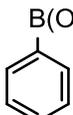
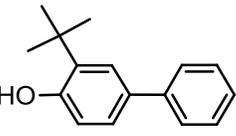
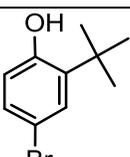
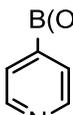
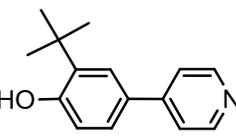
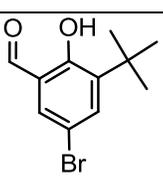
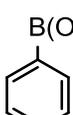
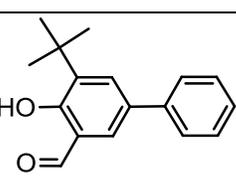
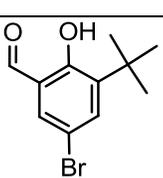
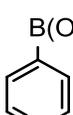
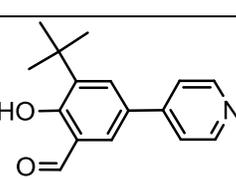
En un matraz de 25 ml se colocaron 1 mmol de compuesto bromado en 5 ml de cloroformo. A continuación, se agregaron 1mmol de ácido fenil borónico una mmol de sal bromada como surfactante y 0.2%mol de Cloruro de paladio. Posteriormente, se agregó 4 ml de solución acuosa 1M de KOH. La mezcla se agitó por 4 horas a temperatura ambiente.

Metodología B

En un matraz de 25 ml se colocaron 1 mmol de compuesto bromado en 5 ml de una mezcla Tolueno – Alcohol isopropílico. A continuación, se agregaron 1mmol de ácido 4-piridinil borónico,

una mmol de sal bromada como surfactante y 0.2%mol de Cloruro de paladio. Posteriormente, se agregó 4 ml de solución acuosa 1M de KOH. La mezcla se agitó por 4 horas a temperatura ambiente.

En la siguiente tabla se muestran las distintas acoplamientos llevados a cabo con Cloruro de paladio en un medio orgánico y usando una sal de bromo como medio surfactante.

Bromado	Borónico	Metodología	Producto	Rendimiento
		A		90%
		B		80%
		A		72%
		B		65%
		A		50%
		B		36%

4. RESULTADOS

La purificación de los productos se realizó por cromatografía de columna y se verificó la pureza de los productos por FT-IR y RMN de ^1H .

5. CONCLUSIONES

Los distintos sustituyentes en los anillos bencénicos a acoplar influyen en el rendimiento final del acoplamiento, menor cantidad de sustituyentes y sustituyentes más sencillos generan una mayor eficiencia.

La naturaleza del sustrato bromado interfiere en la eficiencia final del acoplamiento, compuestos borados con anillos piridínicos generan menor rendimiento en comparación con anillos bencénicos.

El medio de disolución en el que se desarrolla la reacción y la constante agitación, son de vital importancia al ayudar a la interacción entre las moléculas, en las reacciones de acoplamiento

La adición de un surfactante ayuda a la dilución del catalizador de paladio y aumentar su eficiencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. A M. Beller, A personal view on important developments in homogeneous catalysis; *Springer Series in Chemical Physics*, 2004, 75, 365-401.
2. M. Beller and A. Zapf, Fine chemical synthesis with homogeneous palladium catalysts: examples, status and trends; *Top. Catal.*, 2002, 19, 101.
3. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
4. A. Corma and H. Garcia, Lewis Acids: from conventional homogeneous to green homogeneous and heterogeneous catalysis; *Chem. Rev.*, 2003, 103, 4307-65.
5. R. F. Heck, "Palladium Reagents in Organic Synthesis", Academic Press, 1985.
6. W. A. Herrmann and Editor, 'Synthetic Methods of Organometallic and Inorganic Chemistry, Volume 10: Catalysis', 2002.
7. N. Miyaura and A. Suzuki, Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds; *Chem. Rev.*, 1995, 95, 2457-83.
8. A. Corma and H. Garcia, Lewis Acids as Catalysts in Oxidation Reactions: From Homogeneous to Heterogeneous Systems; *Chem. Rev.*, 2002, 102, 3837- 92.
9. G. Poli, G. Giambastiani, and A. Heumann, Palladium in Organic Synthesis: Fundamental Transformations and Domino Processes; *Tetrahedron*, 2000, 56 5959-89.
10. J. Tsuji, 'Palladium Reagents and Catalysts. Innovations in Organic Synthesis', Wiley, 1995.
11. W. A. Herrmann, R. W. Fischer, M. Groarke, and F. E. Kuhn, Synthesis and catalytic applications of Re(VII) and Mo(VI) oxo complexes; *Synthetic Methods of Organometallic and Inorganic Chemistry*, 2002, 10, 127-48.

FABRICACIÓN DE NANOMATERIALES ORGÁNICOS FLUORESCENTES

Yunuén D. Solorio-Cendejas¹, Daniel Barajas-Ramirez¹, Laura Aparicio-Ixta¹, Mario Rodríguez¹, Gabriel Ramos-Ortiz¹, Violeta Álvarez-Venicio¹, Myrna Sabanero²

¹Centro de Investigaciones en Óptica A.C., A.P. 1-948, 37000 León, Gto., México. ² División de Ciencias Naturales y Exactas Noria Alta S/N; C.P. 36050; Guanajuato, Gto., México.

RESUMEN

Actualmente existe un gran interés por la fabricación y estudio de nanomateriales orgánicos debido a sus propiedades ópticas tales como absorción y luminiscencia. De manera particular, la fotoluminiscencia de estos sistemas es explotada en el campo de la biomedicina en la detección y diagnóstico de enfermedades, esto a través de su uso como marcadores celulares. En este trabajo se fabricaron nanopartículas a partir de un fluoróforo (ACN5-F) basado en Benzotiadiazol mediante el método de microemulsión. Las nanopartículas fueron recubiertas de una capa de sílice, funcionalizadas con grupos amino y bioconjugadas con ácido fólico. Las propiedades ópticas del fluoróforo en solución y en nanopartícula fueron evaluadas mediante espectroscopía de absorción Uv-Vis, fotoluminiscencia y fluorescencia promovida por la absorción de dos fotones. Las propiedades morfológicas de la nanopartículas fueron evaluadas mediante microscopía SEM. Finalmente, las nanopartículas fabricadas en este trabajo se evaluaron como agentes de contraste de la línea celular HeLa mediante microscopía confocal.

1. INTRODUCCIÓN

La investigación de los materiales a escala nanométrica ha tenido un auge en las últimas décadas gracias a sus posibles aplicaciones, por ejemplo en el área de la optoelectrónica (dispositivos fotovoltaicos y sensores), electrónica (semiconductores, construcción) y la biomedicina (nanopartículas antimicrobianas, teranósticas o fluorescentes para marcaje celular) por mencionar algunas. El uso de materiales orgánicos fluorescentes nanoestructurados está surgiendo como una nueva metodología para la detección y diagnóstico de diversas enfermedades debido a que estos materiales pueden ser específicos, además de que se pueden explotar las propiedades ópticas no lineales tal como la absorción de dos fotones (TPA). El proceso de TPA involucra la absorción instantánea de dos fotones en particular de la región del infrarrojo para alcanzar el mismo estado excitado que por la absorción de un fotón del ultravioleta o visible. Algunas ventajas de esta propiedad óptica no lineal es que al excitar con luz en el infrarrojo se puede causar un daño menor en la muestra biológica y se incrementa en la profundidad de penetración, además se obtiene una señal débil de la autofluorescencia.

Para cuantificar la absorción de dos fotones introducimos un parámetro denominado sección transversal de TPA, el cual se puede determinar mediante un método indirecto conocido como TPEF (Two-Photon Excited Fluorescence), considerando que la intensidad de la emisión de fluorescencia es un efecto secundario del proceso de TPA. Para obtener el espectro de fluorescencia excitado por dos fotones es necesario utilizar un láser pulsado del orden de femtosegundos. La sección transversal de TPA puede ser calculada mediante la **Ec. 1**, donde $C(C_{ref})$ y $n(n_{ref})$ es la concentración y el índice de refracción de la muestra(referencia), respectivamente, y $F(F_{ref})$ es la integral del espectro de fluorescencia excitada por dos fotones.

$$\sigma_{TPA} = \sigma_{ref} \frac{\phi_{ref}}{\phi} \frac{C_{ref}}{C} \frac{n_{ref}}{n} \frac{F}{F_{ref}}$$

Ec. 1

Las moléculas que poseen sistemas π -conjugados son cromóforos (absorben), y en algunos casos estos mismos sistemas son fluoróforos (emiten)¹. Aprovechando su insolubilidad de algunos de estos materiales en agua, se ha reportado la fabricación de nanopartículas (NP's) fluorescentes que presentan una gran estabilidad contra la fotodegradación.² Adicionalmente, estos pueden ser recubiertos de capas biocompatibles (su superficie se ha funcionalizado) y además bioconjugados con moléculas para lograr un reconocimiento celular.

2. PARTE EXPERIMENTAL

El fluoróforo ACN5-F (**Fig. 1**) se sintetizó dentro del laboratorio de materiales del Grupo de Propiedades Ópticas de la Materia (GPOM) usando nanopartículas de Paladio como catalizador, su caracterización química se llevó a cabo y se comparó con los datos reportados por Ishi *et al.*, 2015³. Para este fluoróforo se estudiaron las propiedades ópticas en solución de N-metilpirrolidona (NMP) y tetrahidrofurano (THF) por medio de espectroscopía de absorción y emisión. Para esto se utilizó un espectrómetro Perkin Elmer LAMBDA 900 y un fluorómetro FS5 de Edinburgh Instruments.

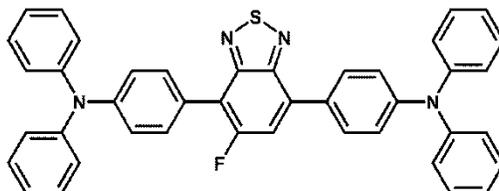


Fig. 1. Estructura química del compuesto ACN5-F.

Nanopartículas de Sílice dopadas con ACN5-F (SNP's)

Para fabricar las nanopartículas de sílice dopadas con ACN5-F (SNP's) se partió de una solución micelar; para esto se disolvieron 0.3 g de Aerosol-OT (surfactante) en 300 μ L de 1-Butanol (co-surfactante), 10 mL de agua ultrapura y 200 μ L de N-Metil pirrolidinona (NMP) como disolvente hidrofílico. Aproximadamente después de una hora de agitación continua y vigorosa se adicionó una solución del compuesto ACN5-F en NMP a una concentración 10 mM. Después de media hora más de agitación, se añadieron 100 μ L de Trietoxivinilsilano (VTES) y una vez transcurrida una hora más, 20 μ L de Aminopropil trietoxisilano (APTES). El último precursor de sílice es el que contiene los grupos amino que funcionalizan la superficie de las nanopartículas y son requeridos para la posterior bioconjugación con el ácido fólico. (**Fig. 2**). Para remover residuos de surfactante, co-surfactante, y fluoróforo no encapsulado, se centrifugó la suspensión acuosa a 12,000 rpm durante 20 minutos. Posteriormente se retiró el sobrenadante y el precipitado se redispersó en un volumen de agua ultrapura equivalente al sobrenadante eliminado.

Bioconjugación de las nanopartículas

Para preparar las nanopartículas bioconjugadas (SNP's-FA), se usó el precipitado de 2 mL de suspensión de nanopartículas redispersado en 2 mL de buffer de fosfato de sodio [0.1 M]. Posteriormente se adicionaron 400 μ L de 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropyl) carbodiimida (EDC) para promover la unión amino-carboxilo³. Después de media hora en agitación vigorosa, se añadió una solución de Ácido fólico (2 mg en 200 μ L del buffer de fosfato de sodio utilizado anteriormente) y se dejó en agitación durante cuatro días. Finalmente para eliminar el exceso de ácido fólico que no se unió covalentemente a las nanopartículas se centrifugó nuevamente y el precipitado se redispersó en una cantidad equivalente de agua ultrapura. (**Fig. 2**).

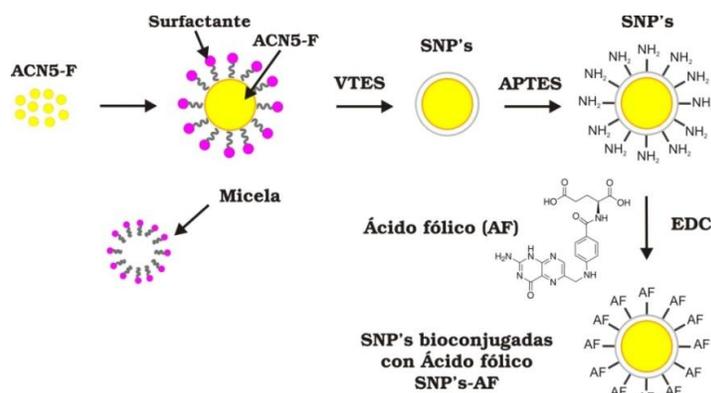


Fig. 2. Esquema general de fabricación de nanopartículas de sílice dopadas con ACN5-F por el método de microemulsión y su posterior bioconjugación.

Tinción celular

Se cultivaron células de la línea HeLa en medio DMEM (Dulbecco's Minimal Essential Medium) con un 10% de suero fetal bovino (FBS) a 37°C y con 5% de CO₂ hasta alcanzar una confluencia del 90% (**Fig. 3**). Para su fijación en el cubreobjetos, se utilizó 1mL de glutaraldehído (0.05%) y paraformaldehído (4%) durante 15 minutos, después se enjuagaron tres veces con buffer de fosfato salino (PBS). En esta ocasión se llevó a cabo la permeabilización de las células adicionando TRITON X100 (0.5%) y se dejó actuar durante tres minutos. Posteriormente se hicieron tres lavados del cubreobjetos con PBS.

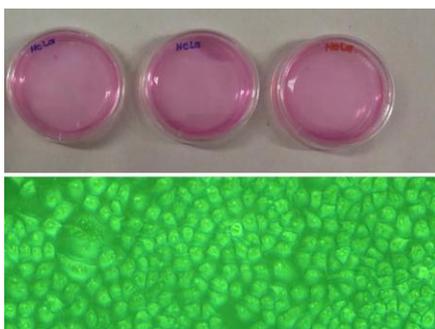


Fig. 3. Cultivos de células HeLa, imagen de microscopía de fluorescencia.

Para la tinción de las células HeLa se añadieron las SNP's y las SNP's-FA (20 μL) a sus respectivos cubreobjetos. Se dejaron en reposo durante 30 minutos en condiciones de nula iluminación, se retiró el medio de cultivo y se lavaron una vez más con PBS. Después se agregaron aproximadamente 10 μL del fluoróforo Hoechst 33342 (200mM), dejando reposar durante 10 minutos bajo las condiciones anteriores. Después de un último lavado con PBS, se montaron los cubreobjetos sobre sus respectivos portaobjetos, se adicionaron 200 μL de medio de montaje (Vectashield) para conservar la fluorescencia.

3. RESULTADOS

Los espectros de absorción en solución del fluoróforo ACN5-F en NMP y THF, así como para las suspensiones de SNP's y SNP's-FA son mostrados en la **Fig. 4**. El espectro de absorción de este fluoróforo en solución se compone de dos bandas de absorción, las cuales son asignadas a la transición eléctrica del tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ la desplazada hacia el azul (310 nm), por otro lado, la banda de transferencia intramolecular de carga (ICT) se localiza en 454 nm. Esta forma de su espectro de absorción confirma la arquitectura electrónica cuadrupolar del fluoróforo ACN-F con la cual fue diseñado y que favorece las propiedades de TPA. La absorción molar del cromóforo ACN5-F en solución de NMP y THF está en $13 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $29 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, respectivamente. La banda de absorción del compuesto ACN5-F en suspensión acuosa de SNP's y SNP's-FA presentó un corrimiento hacia el azul de 11 y 13 nm, respectivamente, esto comparada con la banda mostrada en solución. Los experimentos de fotoluminiscencia demostraron que el compuesto ACN5-F conserva sus propiedades luminiscentes después de ser procesado como nanopartícula, su banda de emisión esta desplazada ligeramente hacia el azul comparada con las producidas por la solución. Por otra parte, el rendimiento cuántico de fluorescencia para la solución en THF fue de 0.66 y estas propiedades se ve disminuida en 16% cuando el fluoróforo fue procesado como SNP's. Los valores de absorción y emisión máxima, así como el rendimiento cuántico de fluorescencia de cada muestra son presentados en la **Tabla 1**. En la **Fig. 4** se muestra una fotografía de las suspensiones de nanopartículas SNP's y SNP's-F bajo luz UV, esta muestra la luminiscencia de ambos nanomateriales.

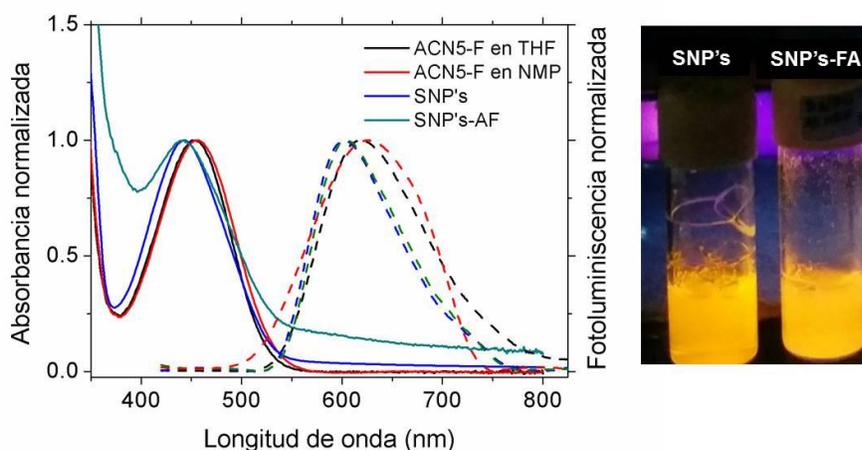


Fig. 4. Espectros de absorción y emisión de ACN5-F en soluciones y suspensiones acuosas. Fotografía de las suspensiones acuosas de SNP's y SNP's-FA bajo una lámpara de luz UV.

Para evaluar las propiedades de absorción de dos fotones del cromóforo ACN5-F se realizaron los experimentos usando el método TPEF, para lo cual se adquirió el espectro de fluorescencia

empleando como fuente de excitación un láser de titanio zafiro (100 fs/pulso, frecuencia de repetición de 80 MHz, sintonizable de 740 a 830 nm). La sección transversal de TPA fue calculada mediante la Ec. 1, empleando como referencia la Rodamina 6G en metanol. Como se observa en la **Gráfica 5**, el ACN5-F en solución de THF presentó una sección transversal de dos fotones de ~300 GM (1 GM = 10^{-50} cm⁴ s foton⁻¹) en 740 nm y la sección transversal de TPA para las SNP's fue ligeramente menor.

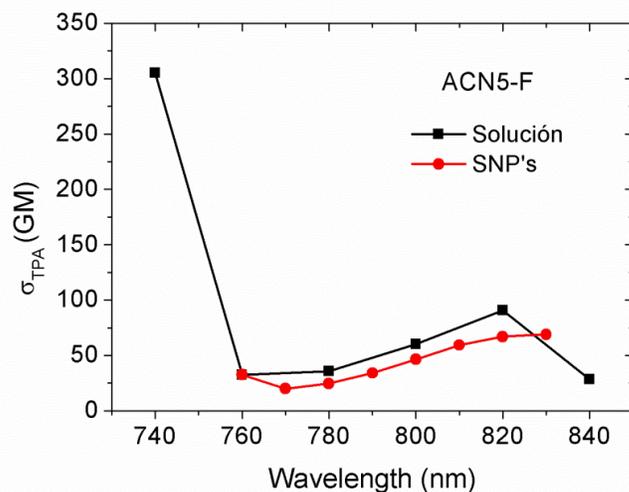


Figura 5. Espectro de fluorescencia producido por la absorción de dos fotones para ACN5-F en solución y suspensión acuosa de SNP's

El tamaño y la morfología de las SNP's se evaluaron por medio de microscopía de barrido electrónico (SEM), una micrografía representativa de la morfología de las nanopartículas se muestra en la figura (**Fig. 6**). De manera general se observan nanomateriales de forma semi-esférica con un tamaño menor a 100 nm. Una Grafica de distribución de tamaño muestra que esferas de tamaño cercano a 40 nm fueron obtenidas con mayor preferencia por el método de síntesis empleado. Se ha reportado que para pruebas biológicas en particular en uso de nanomateriales como marcadores o agentes de contraste son requeridas esferas de diámetros menores a 50 nm.

Tabla 1. Valores obtenidos para la caracterización óptica del compuesto ACN5-F en soluciones y suspensiones acuosas

Muestra	Absorbancia λ_{Max} (nm)	Fotoluminiscencia λ_{Max} (nm)	ϕ (Rendimiento cuántico de fluorescencia)	$\sigma_{TPA}Max.$ (GM)
SNP's	443	603	0.58	70 (830 nm)
SNP's-FA	443	606	0.50	---
Sol. THF	453	618	0.66	305 (740 nm)
Sol. NMP	456	626	0.19	---

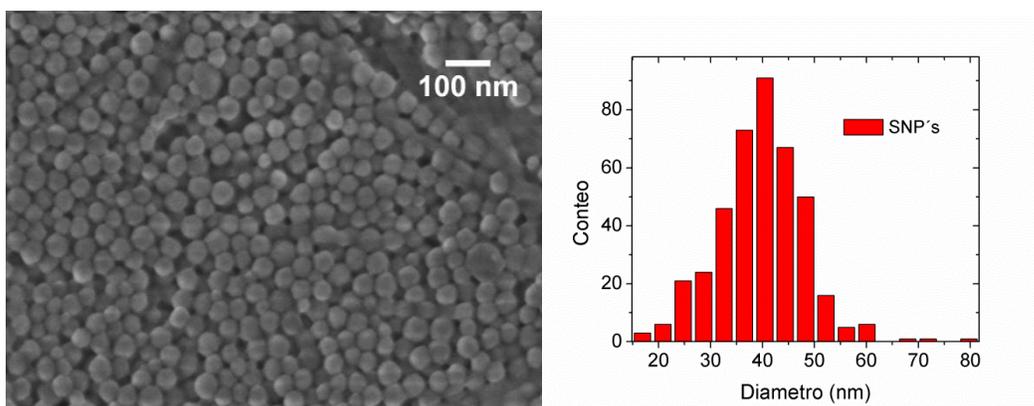


Fig. 6. Micrografía de SEM para las SNP's fabricadas por el método de microemulsión a partir de ACN5-F, gráfica de la distribución de tamaños.

Después de completar la caracterización de las propiedades ópticas y morfológicas de las nanopartículas, se observó que el fluoróforo ACN5-F al ser procesado como SNP's conserva sus propiedades luminiscentes al ser excitado por la absorción de uno y por dos fotones, así mismo el tamaño de las esferas de sílice es aceptable para su posible uso en medios biológicos. Debido a lo anterior estos nanomateriales se evaluaron estos como agentes de contraste para células del tipo HeLa, en particular se determinó la capacidad de las esferas bio-conjugadas de teñir el citoplasma de este tipo de células. Las muestras de la línea celular teñidas con las SNP's y SNP's-F fueron analizadas usando microscopio confocal (Fig 7), donde se observa que el citoplasma se tiñe por las nanopartículas, mientras que los núcleos se tiñeron de color azul para lo cual se usó el colorante comercial Hoechst 33342 el cual se une específicamente al núcleo de la célula y se toma como indicativo que la célula está completa.

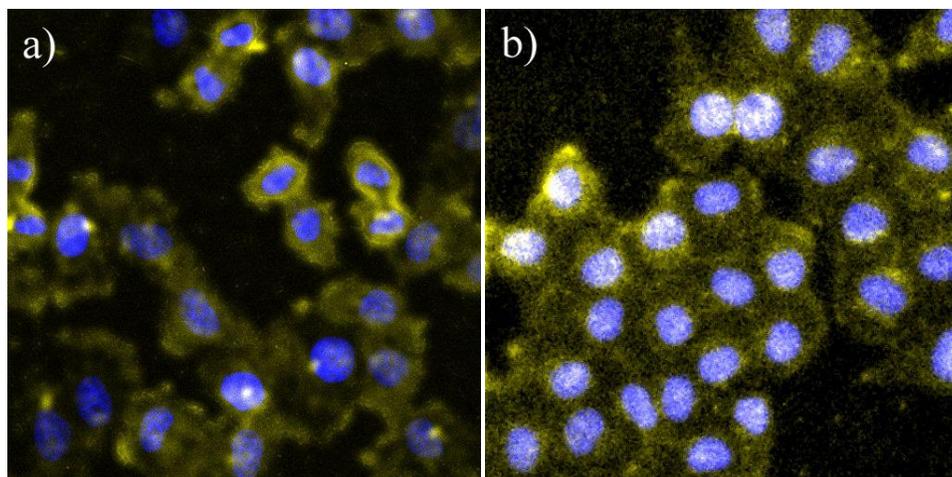


Fig. 7. Células HeLa teñidas con: A) SNP's de ACN5-F y B) SNP's-FA.

4. CONCLUSIONES

Se logró fabricar nanopartículas de sílice dopadas con el fluoróforo ACN5-F con morfología esférica y tamaño menor que 100 nm de diámetro. Se obtuvo un valor de absorción de dos fotones (TPA) modesto para el ACN5-F en solución y en SNP's que comparado con los valores reportados para los colorantes comerciales⁵ es 5 veces mayor. Las micrografías obtenidas mediante microscopía confocal lograron comprobar el uso de las SNP's y SNP's-FA como agentes de contraste para la línea celular HeLa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kaeser, A., Schenning, A.P.H.J, "Fluorescent Nanoparticles Based on Self-Assembled π – Conjugated Systems" *Adv. Mater.* 2010, 22, pp. 2985–2997.
2. Aparicio-Ixta, L., Gabriel Ramos-Ortiz, Juan L. Pichardo-Molina, José Luis Maldonado, Mario Rodríguez, Víctor M. Tellez-Lopez, Daniel Martinez-Fong, Mikhail G. Zolotukhin, Serguei Fomine, Marco. A. Meneses-Nava and Oracio Barbosa-García, "Two-photon excited fluorescence of silica nanoparticles loaded with a fluorene-based monomer and its crossconjugated polymer: their application to cell imaging", *Nanoscale*, 2012, 4, pp. 7751–7759.
3. Ishi-i, T., Kei, I., Michiaki O., Yutarou, K. "Light-emitting properties of donor–acceptor and donor–acceptor–donor dyes in solution, solid, and aggregated states: structure–property relationship of emissionbehavior" *RSC Adv.*, 2015, 5, 89171.
4. García- Cortez, M., 2013, "Síntesis de nanopartículas metálicas funcionalizadas: aplicación al análisis bioquímico, posibilidades de amplificación para biomarcadores" Tesis de maestría, Universidad de Oviedo, España.
5. Makarov, N., Mikhail, D., Alexander, R, "Two-Photon Absorption standards in the 550-1600 nm excitation wavelength range" *Optics Express*, 2008,16 (6) pp. 4029-4047.

DETERMINACIÓN DE FLUORUROS EN POBLACIÓN INFANTIL EN SALAMANCA, GTO.

Israel Enciso-Donis¹, Fátima del Carmen Durán-Mendoza¹, Ricardo Omar Fernández-Hernández¹, Gustavo Cruz-Jiménez¹, Diana Olivia Rocha-Amador¹.

¹ División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato

RESUMEN

De acuerdo con estudios previos, en la ciudad de Salamanca, Guanajuato, se ha encontrado que los niveles de flúor en algunos pozos de localidades y aguas embotelladas son superiores a los reportados en las normas NOM-127-SSA1-1994 y NOM-041-SSA1-1993 [1], las cuales, indican los valores límite para aguas de uso y consumo humano, y aguas embotelladas, respectivamente. La presencia de estos niveles puede llevar a una ingesta elevada de flúor, por lo que resulta de importancia estudiar los niveles de flúor (en orina) en la población de Salamanca. Actualmente, la normativa existente solo muestra normas de exposición ocupacional.

Los resultados obtenidos en este proyecto muestran que 48.48% de la población se encuentra en el límite establecido por la ACGIH al inicio de la jornada laboral o lo sobrepasa (2 mg L^{-1}). Por otro lado, cuando se realiza la corrección por creatinina se obtiene que 8.08% sobrepasa el valor límite de 3 mg g^{-1} de Creatinina establecido por la NOM-047-SSA1-2011, para antes de la jornada laboral. Por último, las comparaciones con las normas nos muestran que los niveles encontrados son de preocupación, esto debido a que estas no son para la población en general y mucho menos para niños, puesto que para estos no existe un límite de regulación en normas, y los resultados obtenidos muestran que posiblemente por lo menos un 8.08% de la población puede presentar los efectos asociados a este elemento.

1. INTRODUCCIÓN

El flúor es un elemento que se encuentra en estado gaseoso y el cual posee un color amarillo pálido [2]. Este elemento principalmente de manera natural se encuentra en el ambiente en forma de anión (fluoruros), esto debido a sus características físico-químicas [3]. Los fluoruros se pueden encontrar en pequeñas cantidades en rocas, carbón, y arcilla, además de plantas y animales. Debido a los ciclos naturales éste elemento puede llegar y encontrarse en el agua, por lo cual, es común encontrarlo en fuentes naturales de agua y a su vez, por los procesos de explotación de la misma, encontrarse en el agua de la llave, así como en agua de garrafón para consumo humano. Los fluoruros generalmente, pueden adicionarse al agua en cantidades de 1 mg L^{-1} , esto con el fin de prevenir caries dental, sin embargo, muchas veces los niveles de éste compuesto pueden verse aumentados debido a las fuentes de donde se toma el agua [2].

En la actualidad, existen normas que regulan las concentraciones máximas permitidas tanto para agua de la llave como para agua embotellada. La NOM-127-SSA1-1994 "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización" hace mención a los límites de fluoruros que deben encontrarse en agua potable y de consumo humano, siendo el límite establecido de 1.5 mg L^{-1} [4]. Por otro lado, la NOM-041-SSA1-1993 "Bienes y servicios. Agua purificada envasada" establece un límite máximo permisible de 0.7 mg L^{-1} para el agua embotellada [5], pero, éstos límites la mayoría de las veces

se ven excedidos y es cuando puede representar un problema de salud para la población, por lo que es de relevancia estudiar los niveles de fluoruros en la población. Estos niveles pueden ser determinados en fluidos como la orina, sin embargo, hasta el momento las normas existentes tanto extranjeras como nacionales que regulan la cantidad de fluoruros en población, lo hacen a nivel ocupacional, no para la población en general. En México la NOM-047-SSA1-2011 "Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas" [6] menciona que los niveles máximos de fluoruros al inicio de la jornada laboral deben ser de 3 mg g^{-1} de Creatinina y al final de la jornada de 10 mg g^{-1} de Creatinina. Como se menciona anteriormente, existe también una normativa internacional establecida por la ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), la cual establece un límite de 2 mg L^{-1} antes de la jornada laboral [7].

Como ya se mencionó anteriormente, en la ciudad de Salamanca, Gto., se han realizado estudios para determinar la cantidad de fluoruros existentes en el agua de los pozos, y debido a los resultados, se considera de importancia la realización de un estudio en la población de ésta ciudad, ya que éste compuesto puede causar efectos adversos a la salud.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Selección de la población

La población estudiada fue de 99 niños de entre 6 y 12 años, procedentes de 4 escuelas cercanas a las principales industrias de la ciudad.

Aspectos éticos del estudio

Para llevar a cabo el estudio, se solicitó y obtuvo la aprobación del Comité de Bioética de la Universidad de Guanajuato, el cual avaló que los procedimientos que se llevaron a cabo se apegan al protocolo establecido.

Además, se llevaron a cabo pláticas informativas para los padres o tutores de los niños que participaron en el estudio, esto con el fin de que conocieran en que consiste el proyecto, así como los posibles riesgos y los beneficios que tiene dicho estudio. Como la edad de la población no sobrepasó los 18 años, fue necesario solicitar la firma del padre o tutor como aceptación de lo establecido en un consentimiento informado.

Los resultados serán informados a los padres o tutores de los niños participantes, una vez que se haya finalizado el estudio.

Es importante mencionar que no es obligatoria la permanencia de los participantes, por lo que el padre o tutor tuvo la opción para retirar al niño del estudio realizado, en el momento que el considerara conveniente.

Protocolo de toma de muestra

Las muestras se colectaron en frascos de polipropileno, nuevos y estériles, siendo la primera orina de la mañana la que se colectó. Las muestras se mantuvieron a una temperatura de 4°C durante su traslado y a -20°C una vez en el laboratorio hasta su análisis.

Preparación de soluciones

Para el análisis de las muestras se preparó una solución de TISAB, la cual contiene ácido acético, cloruro de sodio, citrato de sodio y se ajustó a un pH entre 5 y 5.5. Además, se preparó una solución patrón de 100 mg L^{-1} de fluoruros, para la cual se tuvo que desecar durante 2 horas a

105°C 0.221 g de NaF. Una vez preparada la solución de fluoruros se prepararon soluciones de 1 y 10 mg L⁻¹, para llevar a cabo la calibración del equipo.

Análisis de las muestras

24 horas antes del análisis de las muestras se les adicionó 0.01 g de EDTA por cada 5 mL de muestra y se dejaron a 4°C. Una vez transcurrido el tiempo, se pasó una alícuota de 1 mL a un vaso de precipitados y se le adicionó la misma cantidad de la solución de TISAB previamente preparada.

Se realizó la calibración del equipo, cuidando que la pendiente tuviera un valor de -57 ± 2 .

Las muestras fueron leídas obteniendo los resultados en $\mu\text{g L}^{-1}$. El electrodo utilizado fue un electrodo de ion selectivo de fluoruro Thermo Scientific conectado a un medidor Orion Star de la misma marca.

Los resultados obtenidos fueron corregidos por creatinina, la cual fue determinada por el método colorimétrico de Jaffé, empleando un Kit de creatinina SPINREACT.

3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este proyecto muestran que la media de fluoruros en la población estudiada fue de 1.62 mg g⁻¹ de Creatinina con una desviación estándar de 1.02 mg g⁻¹ de Creatinina, encontrando un valor mínimo de 0.30 mg g⁻¹ de Creatinina y un máximo de 6.42 mg g⁻¹ de Creatinina, éstos valores fueron comparados con la NOM-047-SSA1-2011, la cual establece un valor de 3 mg g⁻¹ Creatinina al inicio de la jornada laboral y se observa que un 8.08% de la población excede o está en el límite de ésta norma.

Por otro lado, la ACGIH, establece límites de 2 mg L⁻¹, y al comparar los resultados obtenidos se encontró que para este valor establecido un porcentaje del 48.48% lo excede o se encuentra en éste límite; en donde la media fue de 1.83 mg L⁻¹ y una desviación estándar de 1.03 mg L⁻¹, con un mínimo y un máximo de 0.7 y 5.83 mg L⁻¹.

4. CONCLUSIONES

Las fuentes con las que normalmente se abastece de agua a un gran número de la población tiene una mayor cantidad de fluoruros respecto a lo establecido para estos en las normas, ya que en estudios hechos en pozos y en agua embotellada en la ciudad de Salamanca se encontró para pozos un 83.33% se encontraba por arriba de 0.7 mg L⁻¹ y de las aguas embotelladas se encontró que el 100% se encontraba por arriba de 0.7 mg L⁻¹ (nivel establecido por la NOM-041-SSA1-1993) [1] lo que ocasiona que aquellas personas que consuman de esta agua estén expuestas a este elemento.

Los resultados encontrados durante ésta investigación muestran que los niños tienen un alto grado de exposición, ya que hay que recalcar que las normas que son mencionadas para comparar los resultados obtenidos son para población ocupacionalmente expuesta.

Las afecciones por exposición a fluoruros son fluorosis dental (siendo ésta la más común) o enfermedades que resultan de una exposición alta y prolongada a este elemento, como la fluorosis del esqueleto, la cual implica padecimientos como aumento de la densidad ósea, dolor de articulaciones y limitaciones en el movimiento de éstas. Es por esto que es de importancia verificar las fuentes de consumo de la población afectada, así como verificar el estado de salud del niño y prevenir o tratar posibles afectaciones debido a la exposición a fluoruros.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cervantes Gonzalez ME, Ortíz Burgos J, Wilbert Ovalle J. 1998. Concentración de Flúor en p.p.m. de los pozos de agua potable y aguas embotelladas de la ciudad de Salamanca, Guanajuato. *Revista ADM* 55:18-20.
2. ATSDR. 2003. Toxicological Profile for Fluorides, Hydrogen Fluoride and Fluorine., Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
3. Aldabe S, Aramendía P, Lacreu L. 1999. Química 1: Fundamentos. Ediciones Colihue, Argentina.
4. SSA. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. In Salud Sd, ed. Diario Oficial de la Nación.
5. SSA. 1993. Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA1-1993 "Bienes y servicios. Agua purificada envasada". In Salud Sd, ed. Diario Oficial de la Nación.
6. SSA. 2012. Norma Oficial Mexicana NOM-047-SSA1-2011, Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas. In Salud Sd, ed. Diario Oficial de la Nación.
7. OSHA. 2014. Chapter 2. Occupational Skin Exposure. In OSHA, ed, OSHA Technical Manual. Occupational Safety & Health Administration, Washington, DC.

BIODIVERSIDAD DE ESPECIES DEL GÉNERO AMANITA PRESENTES EN LA SIERRA DE SANTA ROSA GTO.

Morales Rodríguez Laura Maribel¹, Márquez Lucio María Azucena² y Alejo Iturvide Francisco¹

¹Licenciatura en Biología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. ²Ingeniería bioquímica del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato.

RESUMEN

Los hongos son organismos eucariotas heterótrofos se dividen en superiores e inferiores. El estudio de hongos en cierta área es de gran importancia debido a las funciones que desempeñan. Este trabajo se enfoca en la biodiversidad del género *Amanita* el cual presenta especies micorrizas, comestibles y tóxicas. Se seleccionó la Sierra de Santa Rosa ya que no hay trabajos específicos de este género en Guanajuato, además presenta relación simbiótica con especies de *Quercus* el cual es abundante en esta sierra. La metodología se llevó a cabo en dos fases, una de campo y otra en laboratorio. La fase de campo se basa en el muestreo, colecta de material biológico y toma de datos, esto último sirvió para realizar la identificación morfológica y a su vez evaluar la biodiversidad mediante el índice de Margalef al conocer el número total de organismos y especies en el área de estudio. En la fase de laboratorio se realizó una identificación genética la cual se dividió en tres partes (extracción de ADN, amplificación por PCR-ITS y restricción), al final se comparó los resultados obtenidos de la identificación morfológica y genética en donde se obtuvieron resultados variables ya que no todos los organismos identificados morfológicamente coincidieron en la identificación genética. En cuanto a la evaluación de la biodiversidad se obtuvo buen resultado tomando en cuenta los valores del índice utilizado por lo que se concluye que la diversidad de especies del género *Amanita* es buena. No es posible asignar un nombre científico a todos los organismos con la identificación genética debido a la variabilidad que existe con la identificación morfológica.

1. INTRODUCCIÓN

Este trabajo hace referencia a la biodiversidad del género *Amanita* presentes en la Sierra de Santa Rosa, Gto. Para llevar a cabo esto fue necesario Identificar las especies, en este caso se utilizaron dos métodos que son la identificación morfológica y molecular, también fue necesario estimar la biodiversidad mediante índices de diversidad.

Para la medir la biodiversidad de género *Amanita* fueron utilizados índices en los que se representa la cantidad de individuos en el área de estudio. Además se menciona la función e importancia como de esta especie la función e importancia como comestibles, tóxicos o si son simbiontes micorrícicos con el fin de representar la biodiversidad del género *Amanita* en el área de estudio. Se mencionara las diferentes formas que pueden tener los macromicetos y esto ayuda a diferenciar unos de otros como en el caso de los que presentan sombrero con laminillas, aguijones o poros, si presentan pie o no entre otros. En el caso de las especies del género *Amanita* estas formas ayudaron para llevar a cabo una identificación morfológica y estas formas sirvieron para llevar a cabo la identificación morfológica. Las diferentes características que presenta cada especie fueron tomadas en cuenta para la caracterización como color, si presenta volva o anillo, la forma del sombrero y del pie, entre otras.

Para la caracterización molecular se utilizó la técnica de amplificación por PCR de la región ITS en la que se obtuvieron miles de copias del fragmento amplificado para posteriormente ser restringido con enzimas obteniendo diferentes fragmentos de la región con ITS con diferente peso molecular dependiendo la especie. Se utilizaron dos enzimas para que la clasificación fuera más confiable. En el caso de que haya varios organismos de la misma especie los fragmentos generados serán iguales en número y tendrán el mismo peso molecular con ambas enzimas de lo contrario no se tratará de la misma especie. Al final se realizó una comparación de ambos métodos con el fin de confirmar que se haya llegado a la misma especie.

2. TEORÍA

Los hongos son organismos eucariotas que se encuentran dentro del Reino Fungi, pueden ser unicelulares (levaduras) o pluricelulares (mohos u hongos filamentosos), presentan membrana celular compuesta por celulosa y quitina, se encuentran fácilmente en suelo y lugares húmedos ya que necesitan esta humedad para desarrollarse aunque también es probable encontrarlos en medios acuáticos piel de animales, alimentos, bebidas, lugares donde haya materia orgánica entre otros, la temperatura a la que pueden encontrarse es entre los 10 y 50°C y el pH oscila entre 5.5 y 8 dependiendo la especie, son heterótrofos que se alimentan por absorción, presentan digestión externa secretando enzimas al medio que actúan degradando la materia orgánica (Morales M., 2009). Estos hongos se pueden clasificar en inferiores y superiores de acuerdo a si presentan o no cuerpo fructífero siendo los inferiores caracterizados por su tamaño microscópico y no se presentan en forma de seta (Ubillos J. 2012) y hongos macroscópicos que presentan cuerpo fructífero llamados también macromicetos.

La forma más común de los macromicetos son los que presentan el píleo (sombrero) y el estípite (pie). En la cara inferior del píleo se encuentra el himenóforo, que puede estar formado por poros, laminillas, dientes o agujijones, o formando un reticulado, y es la parte que sostiene al himenio, que a su vez contiene las esporas sexuales (Kuhar F. *et al.*, 2013).

Los ecosistemas en los que se encuentran los macromicetos varían dependiendo la especie, pudiéndolos encontrar en pinares, robledales, encinares, praderas, pastizales o erizales. Además del tipo de sustrato, otro factor que influye para observar a diferentes especies de hongos es la época, que influye de manera determinante por lo que no logran observarse a lo largo de todo el año debido a su dependencia de la temperatura y humedad (Molina I. *et al.*, 2005).

Los macromicetos tienen gran importancia ya que han sido usados con fines curativos, rituales y alimenticios entre otras cosas. El conocimiento experimental que se ha adquirido sobre el uso de los hongos ha disminuido provocando problemas de salud y en la alimentación.

En algunos casos los macromicetos son causantes de enfermedades en plantas ocasionando pérdidas económicas (Franco *et al.* 2000), también tienen un gran aprecio por su alto valor gastronómico, ya que son alimentos que pueden ser certificados como ecológicos, orgánicos o biológicos, pueden colectarse y procesarse para su venta (Deschamps, 2002). En el caso de los saprótrofos descomponen organismos muertos siendo los principales responsables del reciclaje de los componentes vegetales, los parásitos invaden una planta o animal vivo y se alimentan y multiplican dentro de él sin causarle daño ni beneficio mientras pueda existir equilibrio, si no lo hay generan enfermedades y los simbioses que establecen relaciones mutualistas con otros organismos, como es el caso de la micorrizas (Franco, *et al.* 2000).

Para la identificación es necesaria una buena observación y búsqueda de bases de datos que proporcionaran información confiable de las características de los diferentes tipos de hongos encontrados (Gómez M. y Gutiérrez K., 2014). Los especímenes frescos pueden compararse con ilustraciones a color disponibles en guías para su identificación morfológica, también es útil el uso de claves para que sea más confiable la identificación. Para identificar una seta es importante

describir la morfología de todas sus partes. La ventaja de este método es que se puede realizar en campo o laboratorio fácilmente además de que existe mayor información de ejemplares para llevar a cabo la identificación morfológica (Molina I. *et al.*, 2005). Existen otras técnicas para realizar identificación de especies, una de ellas es la técnica de PCR-RFLP se conoce como el procedimiento que detecta la región polimórfica del ADN, siendo uno de los más usados el ADN ribosomal amplificado por un primer específico de oligonucleótidos y digerido con enzimas de restricción. La variable que se utiliza para estos estudios moleculares es la secuencia de Espaciador Interno de Transcripción (ITS) completo (Fig. 1) que es una pieza de ADN no funcional (Carranza Z., 2006), la manera que funciona es para separar las diferentes especies (Guevara G. *et al.* 2004).



Figura 2. Esquema de amplificación por PCR.

Es importante y de alto valor realizar estos estudios ya que el objetivo principal de medir la biodiversidad es aportar conocimientos ecológicos del área donde se llevan a cabo los estudios y contar con la información suficiente para tomar decisiones en favor de la conservación de los organismos o de las zonas amenazadas, así como el monitoreo de perturbaciones.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para la colecta de macromicetos fue necesario seleccionar puntos de muestreo. Estos puntos están conformados por rodales, se seleccionaron los meses adecuados para realizar estos muestreos con el fin de obtener mejores resultados, siendo los meses más apropiados entre junio y noviembre. Para la búsqueda de especies del género *Amanita* se deben tomar en cuenta características que las diferencian de otros géneros como volva y anillo, además se anotaron todas sus características morfológicas en fichas micológicas. En estas fichas es necesario anotar el número de ejemplar, las coordenadas en donde se encuentren, el punto en el que se colecten y las características de la especie. Los ejemplares que sean colectados deben ser llevados a laboratorio en donde se procederá a la identificación más detallada con la ayuda de guías de identificación y claves para asegurar que morfológicamente sea la especie correcta. De las especies identificadas se realizan bases de datos tomando en cuenta diferentes características, entre ellas, los meses en que fueron colectadas, número total de especies, número total de organismos, especies comestibles, tóxicas entre otras. La base de datos con el número total de especies y la que tenga el número total de organismos se utilizará para evaluar la riqueza de macromicetos que se encuentran en el área de estudio. Para ello la diversidad se evaluó mediante los índices de riqueza específica de Margalef el cual se enfoca en el número total de individuos encontrados y número de especies.

Para los estudios moleculares primero se realiza una extracción de ADN total. Para esto se coloca 300 ul de regulador lisis en un tubo de microcentrífuga más 300ul de fenol-cloroformo-álcohol isoamílico (25:24:1) a pH 8 y un fragmento de tejido del carpóforo pulverizado. Se agita por 30s y se centrifuga a 12,000 rpm por 5 minutos recuperando la fase acuosa (150 uL), pasándola a un tubo nuevo de microcentrífuga y adicionando 300 uL de isopropanol frío o etanol absoluto y se deja a 4°C (hielo) por 15 minutos ó -20°C por tiempo mayor. Después se centrifuga por 2 minutos a 12,000 rpm, se descarta el sobrenadante y se resuspende la pastilla en 20 uL de agua desionizada y se verifica integridad en gel de agarosa al 0.8% a 80V por 25 minutos. Posterior a la extracción se realiza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para esto se deben preparar tubos los cuales deben tener son 5.1uL de agua, 1uL de regulador de taq, 0.6uL de MgCl, 0.2uL dNTP's,

1uL ITS1f, 1uL de ITS4, 0.1uL de ADN pol., más 1uL de ADN para sumar un total de 10uL en cada tubo. Una vez preparados los tubos se colocan en un termociclador para realizar la amplificación de la región ITS con las siguientes condiciones, primero una desnaturalización inicial de 95°C durante 4 minutos seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 95°C por 1 min. Alineamiento 30 ciclos a 52°C por 1:15 min., y con una extensión de 72°C con 30 ciclos de 1 minuto. Después se verifica integridad de fragmentos amplificados en gel de agarosa con las muestras colocando en cada pozo 4 uL de la muestra y 1 uL de colorante para poder ser observado posteriormente (Carranza Z. 2006). Después se procede a la restricción con enzimas en este caso se utilizaron Alu I y Hinf I. La separación de los fragmentos restringidos se realiza en gel de agarosa al 2%.

4. RESULTADOS

Para esto se realizó un mapa donde se encuentran los sitios de muestreo (rodales de encinos) obteniendo 30 puntos de los cuales solo se seleccionaron 20 por accesibilidad (Fig. 2).

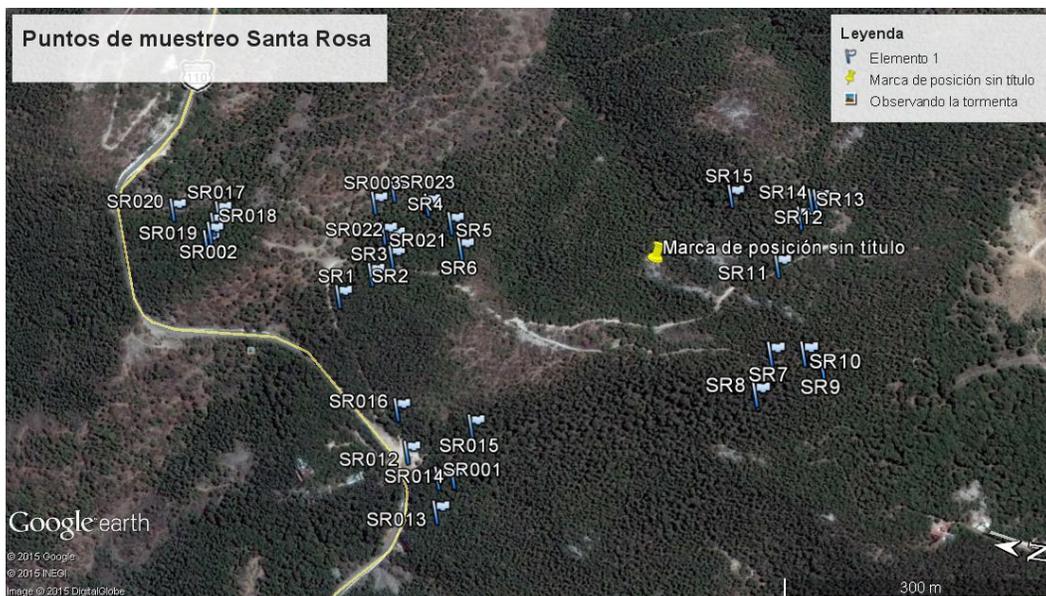


Figura 2. Puntos seleccionados para realizar muestreos.

Se realizaron colectas de dos a cuatro veces por mes aproximadamente siendo estos los días 21 de julio, 5, 16, 23 y 26 de agosto, 4, 5, 16 y 30 de septiembre y 11 y 28 de octubre. En la Tabla 1 se muestra las especies encontradas en cada uno de los meses que se realizó muestreo donde se observa que el mes con mayor diversidad de especies fue septiembre con 14 especies mientras que el mes con menor diversidad fue octubre con 6 especies.

Tabla 4. Muestreo realizado por mes.

Especie	Agosto	Septiembre	Octubre
<i>Amanita verna</i>	x	x	x
<i>Amanita ocreata</i>	x	x	
<i>Amanita velosa</i>		x	
<i>Amanita pantherina</i>	x	x	
<i>Amanita rubescens</i>	x	x	x
<i>Amanita caesarea</i>	x	x	
<i>Amanita flavoconia</i>	x	x	x
<i>Amanita virosa</i>	x	x	
<i>Amanita citrina</i>	x	x	
<i>Amanita submembranacea</i>		x	x
<i>Amanita cecilliae</i>			x
<i>Amanita vaginata</i>		x	x
<i>Amanita ovoidea</i>	x		
<i>Amanita echinocephala</i>	x		
<i>Amanita codinae</i>	x		
<i>Amanita strobiliformis</i>		x	
<i>Amanita spissa</i>	x		
<i>Amanita muscaria</i>		x	
<i>Amanita bisporigera</i>		x	
Total de especies encontradas por mes	12	14	6

En la Tabla 2 se observan las especies encontradas en cada punto de muestreo. En el caso de las especies que se encontraban fuera de los puntos de muestreo se le tomaron coordenadas y se registraron (Tabla 3).

Tabla 5. Especies encontradas en los puntos de muestreo.

Punto	Especies
1	<i>Amanita flavoconia, Amanita verna, Amanita pantherina</i>
3	<i>Amanita ovoidea, Amanita rubescens</i>
03	<i>Amanita citrina, Amanita flavoconia, Amanita velosa</i>
6	<i>Amanita vaginata</i>
8	<i>Amanita virosa, Amanita bisporigera</i>
009	<i>Amanita submembranacea</i>
012	<i>Amanita verna, Amanita ocreata</i>
013	<i>Amanita flavoconia, Amanita spissa, Amanita caesarea, Amanita pantherina</i>
014	<i>Amanita verna, virosa</i>
015	<i>Amanita pantherina, Amanita ocreata</i>
16	<i>Amanita pantherina</i>
018	<i>Amanita ocreata, Amanita verna, Amanita rubescens</i>
017	<i>Amanita muscaria</i>
024	<i>Amanita ocreata, Amanita caesarea.</i>

De los 20 puntos seleccionados para realizar las colectas sólo en 14 de ellos se encontraron especies del género *Amanita*. La mayor diversidad se encontró en el punto 13 (21 % de especies).

Tabla 6. Especies encontradas fuera de los sitios de muestreo.

Fuera de sitio	Especies
N 21° 04' 00.5'' W 101° 13' 27.2'' A 2763m.	<i>Amanita citrina</i> , <i>Amanita echinocephala</i>
N 21° 05' 09.2'', W 101° 11' 13.7'' A 2654m.	<i>Amanita strobiliformis</i> , <i>Amanita codinae</i>
N 21° 05' 14.7'', W 101° 11' 1.3'' A 2643m.	<i>Amanita pantherina</i>
N 21° 04' 55.7'', W 101° 11' 13.6'' A 2647m.	<i>Amanita rubescens</i>
N 21° 05' 04.5'', W 101° 11' 23.2'' A 2643m.	<i>Amanita verna</i>
N 21° 04' 52.7'', W 101° 11' 13.2'' A 2702m.	<i>Amanita caesarea</i> , <i>Amanita flavoconia</i> , <i>Amanita pantherina</i>

En las coordenadas anotadas fuera de los sitios de muestreo se encontraron 2 especies que no se obtuvieron en los rodales seleccionados.

De las especies encontradas se anotaron características morfológicas del hongo en fichas micológicas para que las características originales queden registradas y así ser identificadas morfológicamente con claves y guías micológicas. Se obtuvo un total de 19 especies del género *Amanita* las cuales se muestran en la Tabla 4 con el número de organismos de cada especie.

Una vez identificadas las especies se procedió a realizar el índice de riqueza específica de Margalef en el que se obtuvo un resultado de 3.99 considerándose como buena biodiversidad ya que los valores menores a 2 se consideran de baja biodiversidad y valores de 5 o más se consideran de alta biodiversidad.

Las especies que presentaron mayor abundancia fueron *A. pantherina* con 14 individuos (11 en rodales y 3 fuera de rodales) y *A. flavoconia* con 14 individuos registrados (10 en rodales y 3 fuera de rodales); las especies *A. velosa*, *A. echinocephala*, *A. codinae*, *A. spissa* y *A. bisporigera* fueron las que tuvieron menor cantidad de individuos con sólo 1 individuo (tabla 4).

Se encontró un total de 9 especies comestibles siendo estas *A. caesarea*, *A. rubescens*, *A. velosa*, *A. ovoidea*, *A. codinae*, *A. strobiliformis*, *A. spissa* (47% del total de las especies) y *Amanita vaginata* y *Amanita submembranacea* son comestibles con precauciones (10% del total de las especies). En cuanto a las especies tóxicas se obtuvieron 8 (42% del total de las especies), *A. virosa*, *A. verna*, *A. ocreata*, *A. pantherina*, *A. flavoconia*, *A. echinocephala* posible tóxico, *A. muscaria*, *A. bisporigera* de las cuales las más abundantes son *A. flavoconia* y *A. pantherina*.

Tabla 7. Número de organismos de cada especie del género Amanita.

Especie	# de organismos (rodiales)	Fuera de sitio	de % rodiales	% fuera de sitio
<i>A. verna</i>	8	4	8.7	4.4
<i>A. ocreata</i>	6	2	6.6	2.2
<i>A. velosa</i>	1		1.1	
<i>A. pantherina</i>	11	3	12.1	3.3
<i>A. rubescens</i>	5	2	5.5	2.2
<i>A. caesarea</i>	6	1	6.6	1.1
<i>A. flavoconia</i>	10	4	11	4.4
<i>A. virosa</i>	3	1	3.3	1.1
<i>A. citrina</i>	2		2.2	
<i>A. submembranacea</i>	5	1	5.5	1.1
<i>A. ceciliae</i>	2		2.2	
<i>A. vaginata</i>	3		3.3	
<i>A. ovoidea</i>	3		3.3	
<i>A. echinocephala</i>	0	1	0	1.1
<i>A. codinae</i>	0	1	0	1.1
<i>A. strobiliformis</i>	2		2.2	
<i>A. spissa</i>	1		1.1	
<i>A. muscaria</i>	2		2.2	
<i>A. bisporigera</i>	1		1.1	
Total de organismos	71	20	78%	22%

En la tabla 5 se muestra en la primer columna el código del ejemplar que fue colectado, en la segunda se muestra el resultado de la identificación morfológica para cada ejemplar, en la tercer columna se muestra la enzima (Hinf I) con la que se realizó la restricción, en la cuarta el número de bandas generadas en cada ejemplar en la restricción y en la última el peso de cada banda.

Tabla 5. Peso y cantidad de bandas generadas en la restricción del fragmento ITS con la enzima Hinf I.

Código del ejemplar	Identificación morfológica	Enzima	Número de bandas	Peso de bandas
3	<i>A ocreata</i>	Hinf I	2	570, 505, 154
10	<i>A ocreata</i>	Hinf I	4	834, 677, 401, 139
103	<i>A ocreata</i>	Hinf I	4	427, 289, 136, 71
29	<i>A ocreata</i>	Hinf I	3	442, 290, 142
137	<i>A ocreata</i>	Hinf I	3	427, 140, 70
129	<i>A ocreata</i>	Hinf I	3	433, 272, 123
5	<i>A verna</i>	Hinf I	5	677, 467, 345, 134, 88
1	<i>A verna</i>	Hinf I	4	448, 422, 150, 77
35	<i>A verna</i>	Hinf I	3	467, 193, 147
91	<i>A verna</i>	Hinf I	3	433, 290, 145
106	<i>A virosa</i>	Hinf I	3	737, 434, 423
130	<i>A virosa</i>	Hinf I	2	443, 425
107	<i>A bisporigera</i>	Hinf I	2	455, 390
133	<i>A submembranacea</i>	Hinf I	4	390, 359, 144, 66
205	<i>A ceciliae</i>	Hinf I	4	427, 396, 163, 82
108	<i>A vaginata</i>	Hinf I	2	394, 334
136	<i>A flavoconia</i>	Hinf I	3	596, 506, 180
126	<i>A flavoconia</i>	Hinf I	2	425, 336
127	<i>A caesarea</i>	Hinf I	4	751, 448, 394, 65
87	<i>A pantherina</i>	Hinf I	3	431, 285, 155
2	<i>A pantherina</i>	Hinf I	5	710, 414, 389, 268, 137
128	<i>A pantherina</i>	Hinf I	5	700, 450, 366, 259, 142
72	<i>A velosa</i>	Hinf I	3	487, 450, 103
6	<i>A citrina</i>	Hinf I	4	471, 186, 164, 73

En la tabla 6 se muestra también en la primer columna el código del ejemplar que fue colectado, en la segunda se muestra el resultado de la identificación morfológica para cada ejemplar, en la tercer

columna se muestra la enzima (Alu I) con la que se realizó la restricción, en la cuarta el número de bandas generadas en cada ejemplar en la restricción y en la última el peso de cada banda.

Tabla 6. Peso y cantidad de bandas generadas en la restricción del fragmento ITS con la enzima Alu I.

Código del ejemplar	Identificación morfológica	Enzima	Número de bandas	Peso de bandas
3	<i>A ocreata</i>	Alu I	4	926, 728, 660, 281
10	<i>A ocreata</i>	Alu I	3	574, 400, 304
103	<i>A ocreata</i>	Alu I	6	956, 873, 579, 394, 297, 205
29	<i>A ocreata</i>	Alu I	3	674, 458, 328
137	<i>A ocreata</i>	Alu I	7	953, 861, 577, 394, 292, 202, 119
129	<i>A ocreata</i>	Alu I	4	810, 571, 225, 133
1	<i>A verna</i>	Alu I	4	572, 326, 210, 115
35	<i>A verna</i>	Alu I	4	664, 321, 132, 74
91	<i>A velosa</i>	Alu I	5	572, 386, 285, 199, 113
106	<i>A virosa</i>	Alu I	5	847, 737, 591, 234, 58
130	<i>A virosa</i>	Alu I	3	873, 628, 269
107	<i>A bisporigera</i>	Alu I	5	817, 594, 231, 182, 65
133	<i>A submembranacea</i>	Alu I	4	579, 216, 121, 80
205	<i>A ceciliae</i>	Alu I	3	518, 201, 110
108	<i>A vaginata</i>	Alu I	3	924, 724, 217
136	<i>A flavoconia</i>	Alu I	3	746, 627, 367
126	<i>A flavoconia</i>	Alu I	4	824, 651, 548, 177
127	<i>A caesarea</i>	Alu I	6	920, 724, 606, 190, 105, 71
87	<i>A pantherina</i>	Alu I	5	615, 489, 294, 132, 79
2	<i>A pantherina</i>	Alu I	7	854, 762, 618, 490, 260, 185, 83
128	<i>A pantherina</i>	Alu I	7	802, 651, 508, 439, 227, 189, 134
72	<i>A velosa</i>	Alu I	1	642
6	<i>A citrina</i>	Alu I	3	469, 273, 191

5. CONCLUSIÓN

Es necesario que exista gran humedad para poder encontrar especies de *Amanita*. El mes de septiembre presentó mayor diversidad y abundancia pudiéndose relacionar con la humedad. Se logró evaluar la biodiversidad del género *Amanita* en base a la identificación morfológica tomando en cuenta el índice de diversidad de Margalef. Se obtuvieron buenos resultados de la identificación morfológica analizando las características de cada especie y consultando claves y guías taxonómicas. No es posible asignar un nombre científico a todos los organismos con la identificación genética ya que al realizar una comparación con la identificación morfológica los resultados son muy variados. Existe similitud entre especies del género *Amanita* en cuanto a morfología por lo que se recomienda evitar su consumo en caso de no saber a qué especie pertenece.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carranza Z., (2006). Selección e identificación de especies de hongos ectomicorrizógenos del estado de Hidalgo más competentes en medio de cultivo sólido. Tulancingo de Bravo, Hgo. Pp. 6-40.
2. Deschamps, J. (2002). Hongos comestibles del mercosur con valor gastronómico. Documento de trabajo Universidad de Belgrano. Buenos Aires-Argentina.
3. Franco A., Aldana R., Halling R., (2000C). Setas de Colombia (Agaricales, Boletales y otros hongos); Colciencias Universidad de Antioquia, Medellín, 156
4. Gómez M. y Gutierrez K., (2014). Caracterización taxonómica y química de hongos macromicetos del jardín botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. Pp. 18-30.
5. Guevara G., Garza F., Zares E. (2004). Estudio del ITS nuclear en algunas especies del género *Cantharellus* de México. VOL. VII, No. 3.
6. Kuhar F., Castiglia V., Papinutti L., (2013). Reino fungi: morfologías y estructuras de los hongos. Revista boletín biológica N° 28. Pp. 11-16.
7. Molina I., Agregada T., López M. (2005). Guía del aprendiz de micólogo. ADEMA, Proyecto "Micología y Calidad". Soria.
8. Morales M. (2009). Los Hongos. Innovación y experiencias educativas, núm. 17, pp. 1-8.
9. Ubillos J. (2012). Curso de iniciación a la micología.

DESARROLLO DE UN SIMULADOR DE OSCILACIÓN BIOQUÍMICA

Arturo Reyes Lazalde¹, Marleni Reyes Monreal², María Eugenia Pérez Bonilla¹

¹Escuela de Biología, BUAP. ²Escuela de Artes Plásticas y Dirección General de Innovación Educativa, BUAP

RESUMEN

Los métodos tradicionales de enseñanza-aprendizaje de la biología celular llevan al alumno a pensar que la célula y lo que sucede dentro de ella, procesos físicos y químicos, son estáticos. Las presentaciones PowerPoint, la lectura de texto e incluso artículos especializados, no permiten visualizar los mecanismos dinámicos que se presentan. Esto ha motivado la producción de videos que se graban durante un experimento y que ahora son parte complementaria importante de algunas publicaciones especializadas. Los marcadores celulares actuales, permiten ver, por ejemplo, la entrada de calcio a la célula y la oscilación de calcio en un oocito. Muchas de las reacciones químicas dentro de la célula están oscilando. Gracias a estas técnicas de registro se han publicado numerosos trabajos que reportan datos cuantitativos. Esto permitió el desarrollo de modelos matemáticos que reproducen estos procesos en la computadora. Las bases moleculares de los ritmos circadianos son de mucho interés. Por ejemplo, se presume que algunos de ellos están involucrados en el cáncer. Al respecto de los ritmos que oscilan, un avance fundamental fue hecho por Konopka y Benzer en 1971, con el descubrimiento del gen en *Drosophila*. Fue 25 años después que los detalles moleculares de este oscilador circadiano comenzaron a dilucidarse. En este trabajo se presenta el diseño y desarrollo de un simulador interactivo computacional que reproduce el ritmo circadiano de la síntesis de proteínas citosólicas. El simulador está basado en el modelo propuesto por Goldbeter (1995) y fue desarrollado en lenguaje Visual Basic®, versión 5.0, para ambiente Windows®, de XP a Windows 8. Las ecuaciones cinéticas que describen los mecanismos fueron resueltas por métodos numéricos. El software es una herramienta de apoyo didáctico para la enseñanza-aprendizaje del tema.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente uno de los graves problemas primarios de salud pública mundial son las enfermedades neurodegenerativas, resultantes del espectacular incremento en la expectativa de vida humana (mayores de 80 años) y los estilos de vida. Se ha reportado que la mayoría de los cambios biológicos del crecimiento, desarrollo y envejecimiento están regidos por diversos relojes biológicos ubicados principalmente en el sistema nervioso. Recientemente, algunos de los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades neurodegenerativas se han relacionado con los ritmos de los relojes biológicos circadianos [1]. Los ciclos circadianos de los relojes biológicos tienen un período aproximado de 24 horas. Los relojes circadianos son mecanismos moleculares que permiten mantener una ritmicidad determinada en una gran variedad de células. Los ritmos circadianos son mecanismos adaptativos fundamentales, que permiten a los organismos regular y controlar la mayor parte de sus funciones biológicas corporales y acoplarlas con las fases de luz-obscuridad características del ciclo día-noche. El ciclo diario de luz-obscuridad gobierna los cambios rítmicos fisiológicos de la mayoría de las especies. Adicionalmente, estos ciclos circadianos pueden sincronizarse a señales externas; pero pueden persistir en ausencia de tales señales, regulados por señales internas (endógenas). Diversos estudios han encontrado que los relojes

internos consisten en conjuntos de genes y los productos protéicos que codifican y son capaces de regular diversos procesos fisiológicos mediante retroalimentación positiva y negativa. En este trabajo se presenta el diseño y desarrollo de un programa computacional interactivo para la simulación del mecanismo biofísico-molecular de autorregulación del primer reloj circadiano descrito en la neurona de la mosca *Drosophila melanogaster*, conocido como modelo PER. El simulador está basado en el modelo matemático de Goldbeter [2].

Modelo biológico de autorregulación del reloj PER en neurona de *Drosophila melanogaster*:

Mecanismo de retroalimentación negativa que regula la expresión del complejo PER

A nivel cerebral, el sistema de reloj circadiano de la mosca está conformado por 150-200 neuronas tipo reloj, que se agrupan en siete núcleos, con diez subtipos neuronales diferentes [3, 4].

Muchas de las funciones biológicas de los seres vivos son reguladas por sistemas de relojes que operan molecularmente (figura 2). En 1984 se reportó el primer gen tipo reloj, llamado “period” (PER), aislado en *Drosophila*. Consecutivamente se identificaron otros genes tipo reloj circadiano en la misma especie: “timeles” (TIM), “clock” (CLK), “cycle” (CYC), “double-time” (DBT), “cryptochrome” (CRY) y “vrille” (VRI).

Posteriormente se descubrió que la transcripción del gen PER se induce cuando los niveles del producto, la proteína “period” son reducidos. De modo que *Drosophila* se convirtió en el primer modelo de autorregulación, mediante la vía de retroalimentación negativa que causaba las oscilaciones repetitivas de la transcripción del gen (figura 1). En este modelo de experimentación, la expresión molecular de los genes reloj se agrupa en matutina (CLK y CRY), vespertina (PER, TIM, VRI) y nocturna (CYC, DBT), con duración de ocho horas por periodo.

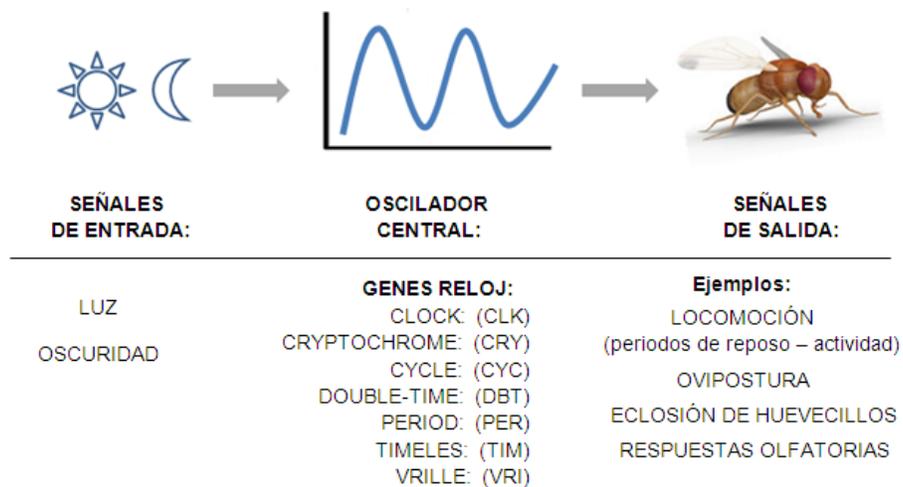


Fig. 1. El sistema de reloj circadiano molecular de la *Drosophila melanogaster*. El mecanismo cronobiológico general está basado en un sistema de oscilación periódica, regulado exógena y endógenamente por los estímulos de luz- oscuridad. En la tabla se enlistan los siete genes tipo reloj más estudiados en este modelo, anotados en orden alfabético; así como algunos ejemplos de las funciones que dependen del sistema [5].

2. MATERIAL Y MÉTODO

El simulador está basado en el modelo biofísico de Goldbeter de cinco variables que explica el mecanismo de regulación de la proteína PER, mediante la fosforilación y desfosforilación postraduccional, considera cinco compartimientos básicos: el RNAm de PER (M); la PER desfosforilada (P₀); PER monofosforilada (P₁); PER bifosforilada (P₂) y PER nuclear (P_N) (figura 2).

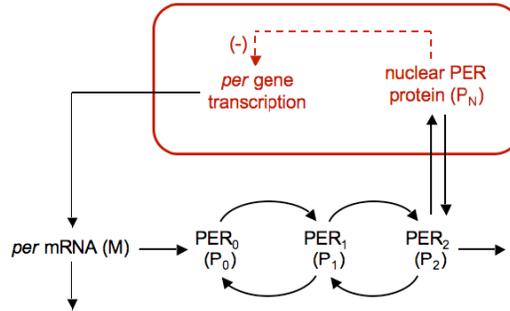


Fig. 2. Modelo de oscilación circadiana de la proteína PER en neurona de *Drosophila melanogaster*. El modelo explica el mecanismo de regulación rítmica de la proteína PER, basado en la modificación postraduccional de PER mediante fosforilación y desfosforilación protéica. Las cinco variables básicas son: M: el RNAm de PER; P₀: PER desfosforilada; P₁: PER monofosforilada; P₂: PER bifosforilada; P_N: PER nuclear [2].

Modelo de oscilación circadiana de Goldbeter de cinco compartimientos:

Proteína PER de neurona de *Drosophila melanogaster*

En la figura 3 se resumen las ecuaciones del modelo de cinco variables de Goldbeter [2], cuya resolución permite simular computacionalmente el mecanismo de regulación oscilatoria circadiana de la proteína PER.

MENSAJERO PER	$\frac{dM_P}{dt} = v_s \frac{K_I^n}{K_I^n + P_N^n} - v_m \frac{M_P}{K_m + M_P}$
PER DESFOSFORILADA	$\frac{dP_0}{dt} = k_s M_P - v_1 \frac{P_0}{K_1 + P_0} + v_2 \frac{P_1}{K_2 + P_1}$
PER MONOFOSFORILADA	$\frac{dP_1}{dt} = v_1 \frac{P_0}{K_1 + P_0} - v_2 \frac{P_1}{K_2 + P_1} - v_3 \frac{P_1}{K_3 + P_1} + v_4 \frac{P_2}{K_4 + P_2}$
PER BIFOSFORILADA	$\frac{dP_2}{dt} = v_3 \frac{P_1}{K_3 + P_1} - v_4 \frac{P_2}{K_4 + P_2} - v_d \frac{P_2}{K_d + P_2} - k_1 P_2 + k_2 P_N$
PER NUCLEAR	$\frac{dP_N}{dt} = k_1 P_2 - k_2 P_N$

Fig. 3. Sistema de ecuaciones del Modelo de oscilación circadiana de la proteína PER en neurona de *Drosophila melanogaster* de Goldbeter [2].

Las ecuaciones descritas fueron implementadas en el software de Visual Basic® y resueltas por métodos numéricos. Para establecer los rangos de simulación se predeterminaron los valores de los veinte parámetros cinéticos utilizados en el modelo: v_s , k_i , n , v_m , k_m , k_s , v_1 , v_2 , v_3 , v_4 , k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , pk_1 , pk_2 , vd , kd , vn y kn [7].

Programación del software: El programa se realizó con el lenguaje Visual Basic®, versión 5.0 para ambiente Windows®, desde XP a Windows 8, con una resolución de pantalla de 1,366 x 768 pixeles. El programa genera los valores muy cercanos a los reportados [8].

3. RESULTADOS

Se elaboró la primera versión de un programa computacional, interactivo, autoejecutable directamente, titulado "OSCILAR-PER". En la figura 5A se muestra la pantalla de presentación y en la 5B el menú principal. El programa se compone de una sección informativa, en la que se incluye la información descriptiva de los conceptos básicos relacionados con el tema. La sección contiene siete opciones: ¿Qué es un ritmo circadiano?, alteraciones en la proteína PER, la retroalimentación negativa, características del gen PER, los comportamientos del gen PER durante un ritmo circadiano, genes que participan en la síntesis del gen PER. Desde cada opción se puede regresar directamente al menú principal (Figura 4A).

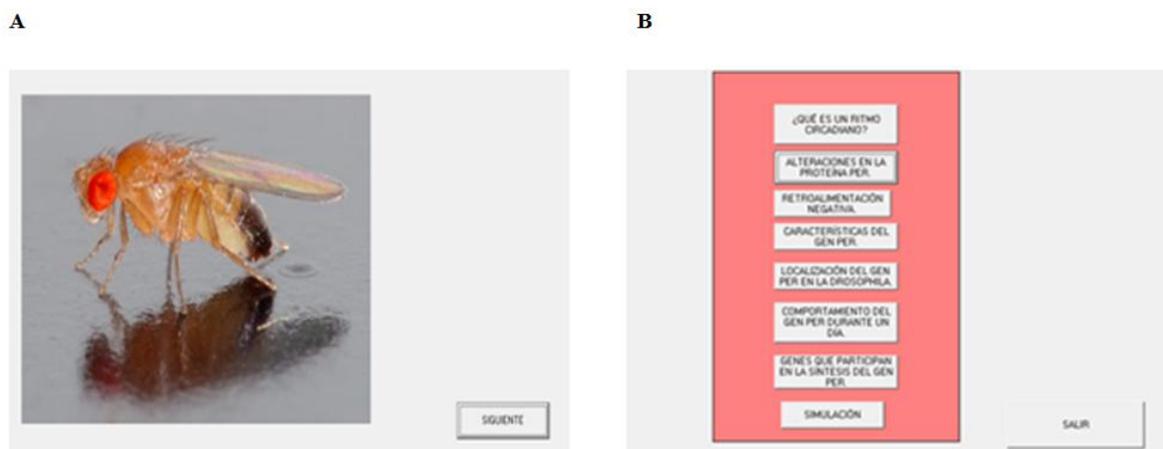


Fig. 4. Pantalla e interfaz del programa. (A) pantalla de presentación del programa. (B) interfaz del menú principal, que consta de ocho botones: siete informativos y el simulador. El programa no tiene un orden predeterminado, el usuario puede navegar a libre elección.

Ejemplo de simulación interactiva

El simulador describe dos tipos de funciones: las variaciones de concentración de la proteína PER en diversos estados de fosforilación y la concentración del RNAm respectivo. En la interfase de simulación se presenta una pantalla con cinco opciones: el RNA mensajero de PER (M); la proteína PER desfosforilada (P_0); la PER monofosforilada (P_1); la curva de PER bifosforilada (P_2) y la curva de PER nuclear (P_N) (figura 5B). En todos los casos el usuario puede observar el comportamiento oscilatorio del ritmo circadiano de la proteína PER en un periodo aproximado de cuatro días y medio.

El comportamiento de los ritmos circadianos se puede analizar a través de gráficas sinusoidales, que describen su naturaleza periódica y oscilante por medio de los siguientes parámetros: Amplitud (diferencia entre el valor máximo de la variable y el menor); Periodo (tiempo que dura una oscilación completa); Valor medio o mesor (media de los valores que toma un parámetro durante un ciclo); Fase (tiempo en que se alcanza el valor máximo de un periodo) y Frecuencia (número de ciclos por unidad de tiempo). Las curvas se pueden visualizar individualmente o bien simultáneamente. En la figura 6A se muestra un ejemplo de doble graficado y en la 8B las cinco curvas simultáneamente.

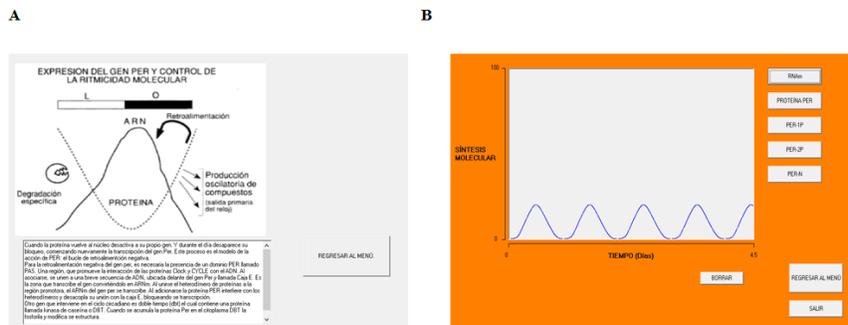


Fig. 5. Ejemplos de pantalla de información e interfaz del simulador. (A) ejemplo de pantalla de información. (B) la interfaz del simulador con las cinco opciones de graficado: el RNA mensajero de PER (M); la proteína PER desfosforilada (P0); la PER monofosforilada (P1); la curva de PER bifosforilada (P2) y la curva de PER nuclear (PN). En este ejemplo se muestra en azul la curva del RNAm.

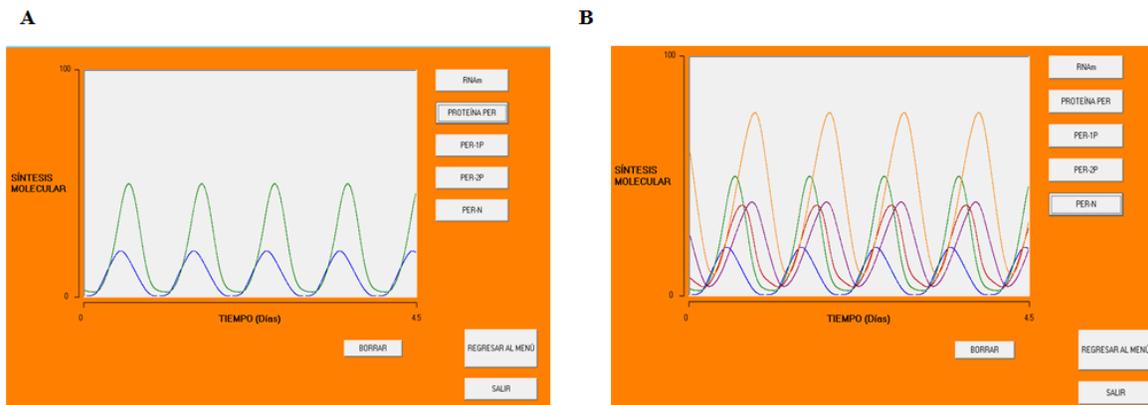


Fig. 6. Pantalla e interfaz del programa. (A) en color azul el mensajero de PER (M) y en verde la proteína PER desfosforilada (P0). (B) en azul el mensajero de PER (M); en verde la PER desfosforilada (P0); en rojo la PER monofosforilada (P1); en morado la curva de PER bifosforilada (P2) y en color naranja la curva de PER nuclear (PN).

4. CONCLUSIONES

El programa “Oscilar-Per” es una herramienta computacional didáctica de fácil manejo. El usuario tiene la facilidad de acceder de forma rápida a cada apartado e igualmente tiene la posibilidad de cambiar de interfaz fácilmente para interactuar con cada opción del simulador.

Con el módulo informativo el usuario puede adquirir información directa, de forma general y clara sobre los procesos relacionados y los factores que intervienen e interactúan para dar lugar a los cambios conformacionales proteicos de PER.

Con el módulo de simulación se pueden reproducir los cinco tipos oscilatorios PER correspondientes a las curvas de concentración en función del tiempo: el RNA mensajero de la proteína PER (M); la proteína PER desfosforilada (P_0); la PER monofosforilada (P_1); la PER bifosforilada (P_2) y la curva de PER nuclear (P_N). Las curvas se pueden simular individual o simultáneamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. P. Emery, “Connecting Circadian Genes to Neurodegenerative Pathways in Fruit Flies”, *PLoS Genet*, vol. 11, 6, 2015, pp. 1-4.
2. A. Goldbeter, “A model for circadian oscillations in the *Drosophila* period protein (PER)”, *Procc Biol Sci*. Vol. 261, 1362, 1995, pp. 319-324.
3. O. T. Shafer, C. Helfrich-Förster, S. C. Renn, P. H. Taghert, “Reevaluation of *Drosophila melanogaster*'s neuronal circadian pacemakers reveals new neuronal classes”, *J. Comp. Neurol.*, vol. 498, 2006, pp. 180-193.
4. C. Helfrich-Forster, O. T. Shafer, C. Wulbeck, E. Grieshaber, D. Rieger, P. Taghert, “Development and morphology of the clock-gene-expressing lateral neurons of *Drosophila melanogaster*”, *J Comp Neurol.*, vol. 500, 2007, pp. 47-70.
5. N- R. J. Glossop, Circadian timekeeping in *Drosophila melanogaster* and *Mus musculus*. *Essays Biochem.* 49: 19-35. DOI: 10.1042/bse0490019.
6. D. Gonze, “Modeling the molecular mechanism of circadian clocks”, 2011, Presentación pptx disponible libremente en página de la Universidad Libre de Bruselas, Bélgica (ULB). <http://homepages.ulb.ac.be/~dgonze/>.
7. Ch. Li, M. Nagasaki, A. Saito, S. Miyano, “Time-dependent structural transformation analysis to high-level Petri net model with active state transition diagram”, *BMC Systems Biology.*, 4, 39, 2010, pp. 2-14.
8. N. Peschel, C. Helfrich-Förster, “Setting the clock – by nature: Circadian rhythm in the fruitfly *Drosophila melanogaster*”, *FEBS Letters.*, vol. 585, 2011, pp. 1435–1442.

SÍNTESIS DE RECUBRIMIENTOS ANTIBACTERIALES DE ZNO:AG ESTRUCTURADOS CON ENERGÍA INFRARROJA

Brenely González Penguelly¹, Ángel Morales Ramírez¹, Miriam Rodríguez Rosales², Margarita García Hernández³, Odín Rodríguez Nava², Miguel Sánchez Méndez¹, Alejandra Marin Flores¹

¹Centro de Investigación e Innovación Tecnológica. ²Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.

³Instituto Tecnológico de Ciudad Madero

RESUMEN

Actualmente los recubrimientos antibacteriales son una necesidad, ya que las superficies industriales, hospitalarias y domésticas, son fuentes de infecciones debido a la colonización de microorganismos. Estos recubrimientos se aplican a telas, pinturas, vidrios, loseta, instrumental, etc. Sin embargo, existe la limitante de que estos se deben hacer desde su fabricación, ya que requieren un tratamiento térmico en horno convencional, por lo que una alternativa viable es la estructuración mediante una energía alterna como la infrarroja. Se sinterizaron recubrimientos antibacteriales de ZnO dopados con Ag al 0, 1, 3 y 5 % molar, los cuales se estructuraron mediante energía infrarroja. Los recubrimientos se obtuvieron a partir de sol-gel, junto con dip-coating. La estructuración de los recubrimientos se realizó mediante una lámpara infrarroja con la finalidad de poder aplicar el recubrimiento sobre cualquier superficie, después de su fabricación. Para analizar las propiedades estructurales se utilizó DRX e IR obteniéndose ZnO en la fase hexagonal. Se observa mediante MEB y MFA una distribución homogénea y una morfología porosa característica del Pluronic F127. Se midió la rugosidad de las películas obteniéndose un valor de 100 nm. Se realizaron pruebas de adherencia con Scratch obteniéndose una carga crítica de 1.93 N para el ZnO y 1.8 N para el ZnO: Ag al 5 %. El espesor es de 950 nm con 3 depósitos, según elipsometría. Se comprobó la actividad antibacteriana en un caldo nutritivo bajo condiciones de oscuridad, luz y luz-oscuridad, siendo los mejores resultados los del ZnO: Ag.

1. INTRODUCCIÓN

Un aspecto que resulta crucial en la vida de los seres humanos es la salud, ya que constituye una necesidad básica para tener una calidad de vida apropiada. Una sociedad funcional debe de proveer salud a sus habitantes, pero no sólo en lo que se refiere al servicio médico, también se deben de encargar de la prevención de enfermedades. Recientemente se han estudiado los factores de riesgo para la propagación de enfermedades y uno de ellos son los focos infecciosos como las superficies industriales, de hospitales y del hogar que son fuentes de infecciones debido a la colonización bacteriana que se produce en ellas, por lo que se han buscado nuevos materiales que impidan dicha colonización. Un ejemplo de estos materiales son los recubrimientos antibacteriales que tienen un amplio número de aplicaciones como en pinturas, vidrios para la construcción de rascacielos, loseta, telas, prótesis óseas y dentales, etc.(1).

2. TEORÍA

Existen muchos materiales cerámicos que pueden ser utilizados con fines antibacteriales, sin embargo, en este caso la matriz utilizada es el óxido de zinc (ZnO), presenta por si misma propiedades antibacteriales (2).

El óxido de zinc tiene propiedades como alta eficiencia fotocatalítica, además es económico y amigable con el medio ambiente (3), por otro lado, inhibe el crecimiento de microorganismos (4). El mecanismo antibacteriano de ZnO está aún bajo investigación, sin embargo, se ha sugerido que la generación fotocatalítica de peróxido de hidrógeno es uno de los mecanismos primarios. Adicionalmente, la penetración de la envoltura celular y la desorganización de la membrana de las bacterias al entrar en contacto con nanopartículas de ZnO fueron indicadas también para inhibir el crecimiento bacteriano. ZnO se puede utilizar ya sea en la forma de un polvo o como una película delgada. Las películas delgadas de ZnO tienen una alta transparencia, pueden ser depositadas sobre vidrio y conservar sus propiedades fotocatalíticas y antibacterianas. Su propiedad antibacteriana los hace deseables en lugares donde la higiene es importante, como en los hospitales, en la industria farmacéutica y las industrias de alimentos (5).

Ya se estableció la matriz con el objetivo de aumentar la actividad antibacterial de los recubrimientos, ahora se propone la adición de un ion dopante que inhiba aún más el crecimiento microbiano. Choi y colaboradores (6) demostraron que, en el caso de partículas de plata, la citotoxicidad de ésta es mayor cuando la misma se encuentra en estado iónico en lugar del estado metálico. Los resultados establecieron que, aunque aún no ha sido posible establecer el mecanismo, los iones Ag^+ tenderán a migrar a la superficie, y es a partir de dicha migración que entran en contacto con las células, inhibiendo sus procesos microbiológicos. La plata es uno de los materiales antibacterianos más interesantes debido a su amplio espectro de actividades antimicrobianas, y a su baja toxicidad para las células (7). Generalmente se cree que la plata se puede unir a la membrana de la pared celular bacteriana, dañarla y así alterar su funcionalidad (8). Además, debido a la interacción entre la estructura de plata y el ADN de las bacterias, se puede prevenir la multiplicación de estas (9). De acuerdo con este mecanismo, la plata puede prevenir el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos tales como hongos, virus y bacterias (10).

Existen muchos estudios acerca de la plata, como el realizado por Akhavan y colaboradores (11), en 2010, quienes elaboraron películas delgadas mesoporosas de TiO_2 con nanopartículas de Ag, estudiando la actividad antibacterial contra la E. coli, en la oscuridad y expuesta a la luz, obteniéndose resultados favorables como bacterizada.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis del sol de ZnO:Ag

Para la elaboración de los soles se disolvió acetato de zinc dihidratado $[Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$ en isopropanol y agua destilada, posteriormente se adicionó hidróxido de amonio para modificar el pH hasta 10.5. La solución fue agitada a 30 °C por 5 minutos y se adiciona la monoetanoamina como agente estabilizador. Para el dopaje se utilizó acetato de plata disuelto en una pequeña cantidad de agua destilada, el cual se agrega gota a gota para evitar la precipitación. Las concentraciones molares de plata utilizadas fueron 1, 3 y 5 %. La urea fue adicionada para aumentar la energía durante la combustión, además se utilizaron los agentes reológicos dietilenglicol y Pluronic F127 para modificar la viscosidad e incrementar el espesor. El sol obtenido se agitó durante 30 minutos y se filtró con un Milipore de 45 μm .

Elaboración de las películas mediante dip- coating

Los recubrimientos de ZnO se depositaron sobre sustratos de vidrios Corning, previamente lavados con agua destilada y metanol en un baño ultrasónico, mediante dip- coating a una velocidad controlada de 3 $mm s^{-1}$. Con el objetivo de aumentar el espesor, el proceso de deposición se repite 3 veces.

Estructuración de las películas mediante energía infrarroja

Las películas fueron expuestas a la lámpara infrarroja durante 15, 30, 45, 60 y 180 minutos para evaporar solventes y promover la cristalización.

Pruebas microbiológicas

Para medir la actividad antibacterial de los recubrimientos se realizó mediante turbidez y utilizando un consorcio de bacterias ambientales, el cual fue obtenido del aire, al dejar expuesto un matraz con caldo nutritivo al medio ambiente. Se analizó la cinética de crecimiento de todas las muestras adicionándolas a matraces de 50 mL con 25 mL de medio de cultivo, previamente esterilizado en una autoclave a 14 psi durante 15 minutos. Como referencia se utilizó un matraz con caldo nutritivo inoculado, en el cual, al tener las condiciones ideales para el desarrollo de las bacterias, el crecimiento se considera 100 %. Se midió la densidad óptica del sustrato de vidrio y de los recubrimientos de ZnO con dopajes del 0, 1, 3 y 5 % molar de Ag, para determinar el porcentaje de inhibición.

4. RESULTADOS

Propiedades estructurales DRX y FT-IR

Se analizaron mediante espectroscopia infrarroja (FT-IR) los polvos de ZnO:Ag al 5 %, los cuales por ser obtenidos del mismo sol, son equiparables con los recubrimientos. Se utilizó el método de empastillado en KBr. En la figura 1 se observa que la banda correspondiente al enlace Zn-O aparece a 450 cm^{-1} a partir de 15 minutos de tratamiento térmico. Las bandas producidas por los materiales orgánicos residuales aparecen a 680 cm^{-1} para el enlace C-H y entre 1150 y 1100 cm^{-1} para los enlaces C-C y C-O. Finalmente a 3400 cm^{-1} esta presenta la banda correspondiente al O-H debido a la absorción de agua del medio ambiente de las pastillas. Es importante destacar que a partir de 45 minutos de tratamiento, prácticamente desaparecen todos los residuos orgánicos y que en ningún caso se observan compuestos de plata. Estos resultados son similares a los obtenidos en investigaciones previas (12,13).

La figura 2 muestra los difractogramas obtenidos mediante difracción de rayos X (DRX); y se analizaron los recubrimientos con los distintos porcentajes de dopaje (0, 1, 3 y 5 % molar de Ag), observándose la presencia de los picos característicos del óxido de zinc en la fase hexagonal (14), sin impurezas de plata u otros compuestos. Estos recubrimientos fueron tratados térmicamente con la lámpara infrarroja durante 45 minutos, para evitar la presencia de material orgánico residual.

Propiedades morfológicas MEB y MFA

Con el objetivo de determinar la morfología de los recubrimientos se utilizó microscopia electrónica de barrido (MEB) y microscopía de fuerza atómica (AFM). En la figura 3, se muestran micrografías de un recubrimiento de ZnO a 5000X (a), 10000X (b) y 50000 X (c), principalmente se observa una morfología homogénea, libre de macrofracturas y conformada por pequeñas esferas rodeadas por poros característicos del Pluronic F127. Por otro lado, la figura 4 presenta las micrografías 2D (a) y 3D (b) del recubrimiento de ZnO tratado con infrarrojo durante 45 minutos, se estudió un área de $5\text{ }\mu\text{m}$ y las imágenes son congruentes con las obtenidas mediante MEB. Adicionalmente se determinó la rugosidad promedio del recubrimiento, siendo esta de 100 nm.

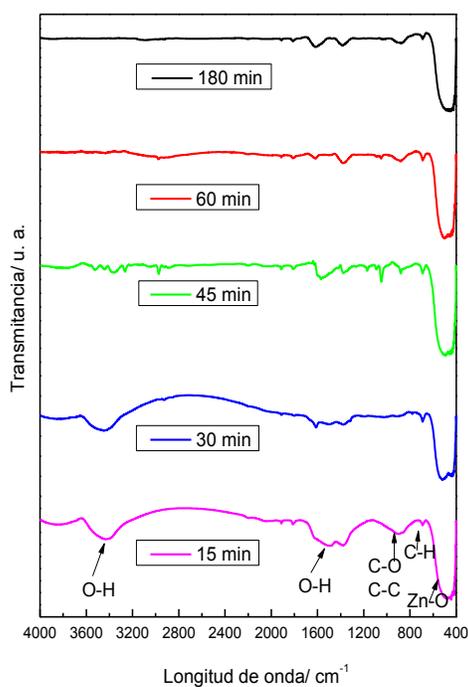


Figura 1. Espectros IR de polvos de ZnO:Ag 5 % molar con tratamiento térmico infrarrojo durante 15, 30, 45, 60 y 180 minutos.

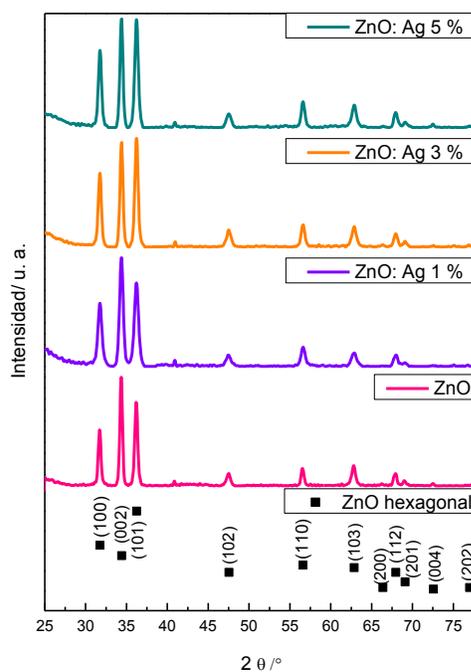


Figura 2. Difractograma de recubrimientos de ZnO:Ag al 0, 1, 3 y 5 % molar y tratamiento térmico infrarrojo durante 45 minutos.

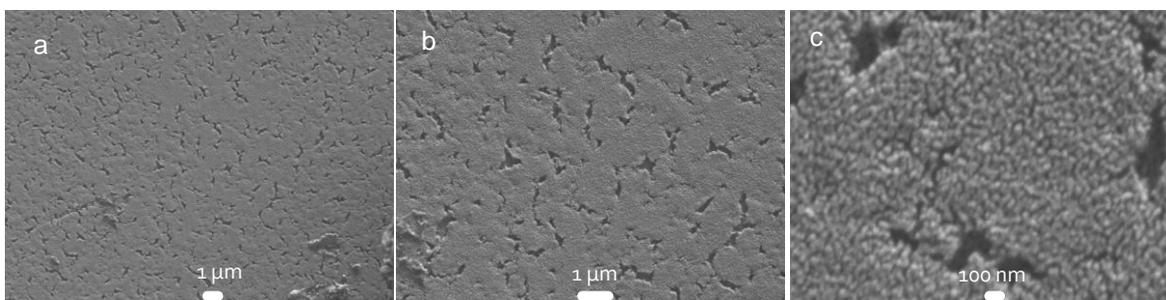


Figura 3. Micrografías del recubrimiento de ZnO tratado térmicamente con infrarrojo a distintos aumentos 5000X (a), 10000X (b) y 50000 X (c).

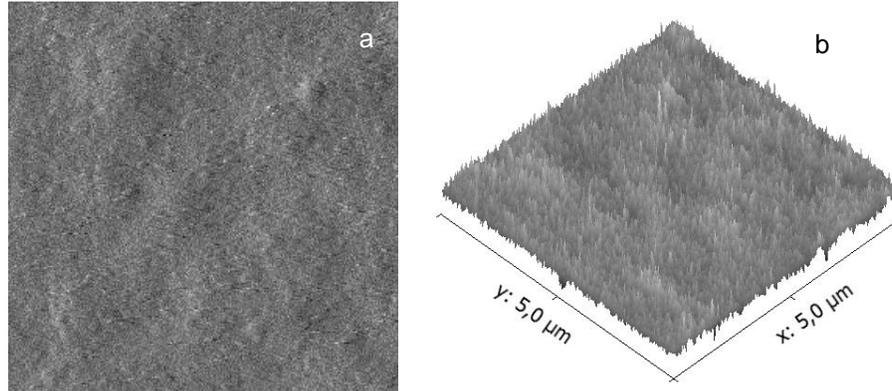
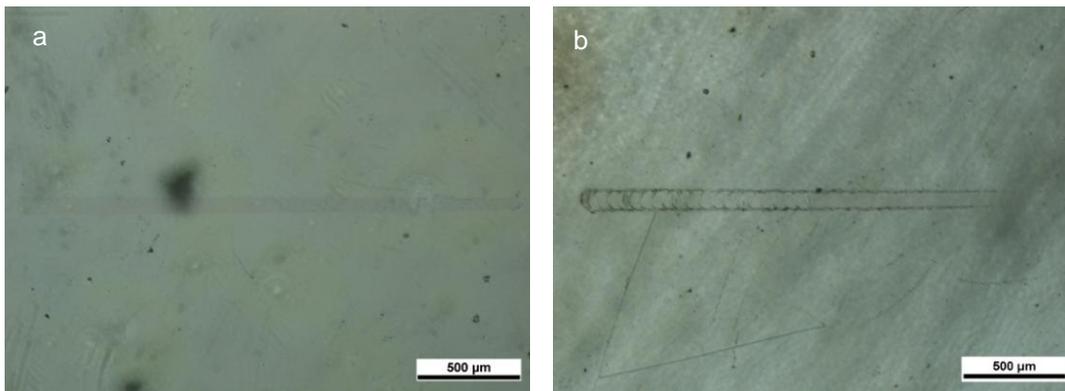


Figura 4. Micrografías 2D y 3D de un recubrimiento de ZnO tratado térmicamente con infrarrojo durante 45 minutos.

Adherencia Scratch

Se midió la adherencia de las películas mediante la prueba de Scratch, utilizándose una carga máxima de 20 N y una velocidad de 2.5 mm/min. En la figura 5 se observó una disminución en la adherencia al doparlo siendo de 1.93 N para el caso sin dopar (a) y 1.8 para el dopado al 5 % (b). Además de que el comportamiento de fractura fue distinto ya que la huella dejada por la punta de diamante es diferente.



Actividad antibacterial

La prueba antibacterial se llevó a cabo conforme las condiciones mencionadas en la parte experimental para tres diferentes condiciones de iluminación: oscuridad, luz-oscuridad y luz. Se puede observar en la figura 5 que para todas las condiciones de iluminación la existencia de un recubrimiento, sin importar si esta dopado o no, aumenta la actividad antibacterial respecto a la referencia y al vidrio que se comportan prácticamente igual. En la figura 5 (a) se muestra los resultados obtenidos en el caso de oscuridad y la mejor inhibición se obtiene con el ZnO:Ag 5 %

molar siendo esta del 70 %. En el caso de luz-oscuridad (figura 5 (b)) se obtiene un resultado similar, siendo en este caso de 64 % de inhibición para el ZnO:Ag 5 %. Finalmente para la condición de luz, mostrada en la figura 5 (c), se obtiene una inhibición de 95 % para el recubrimiento de ZnO:Ag 1 %, aunque es importante destacar que para el 3 % fue de 94 % y para el 5 % de 91%.

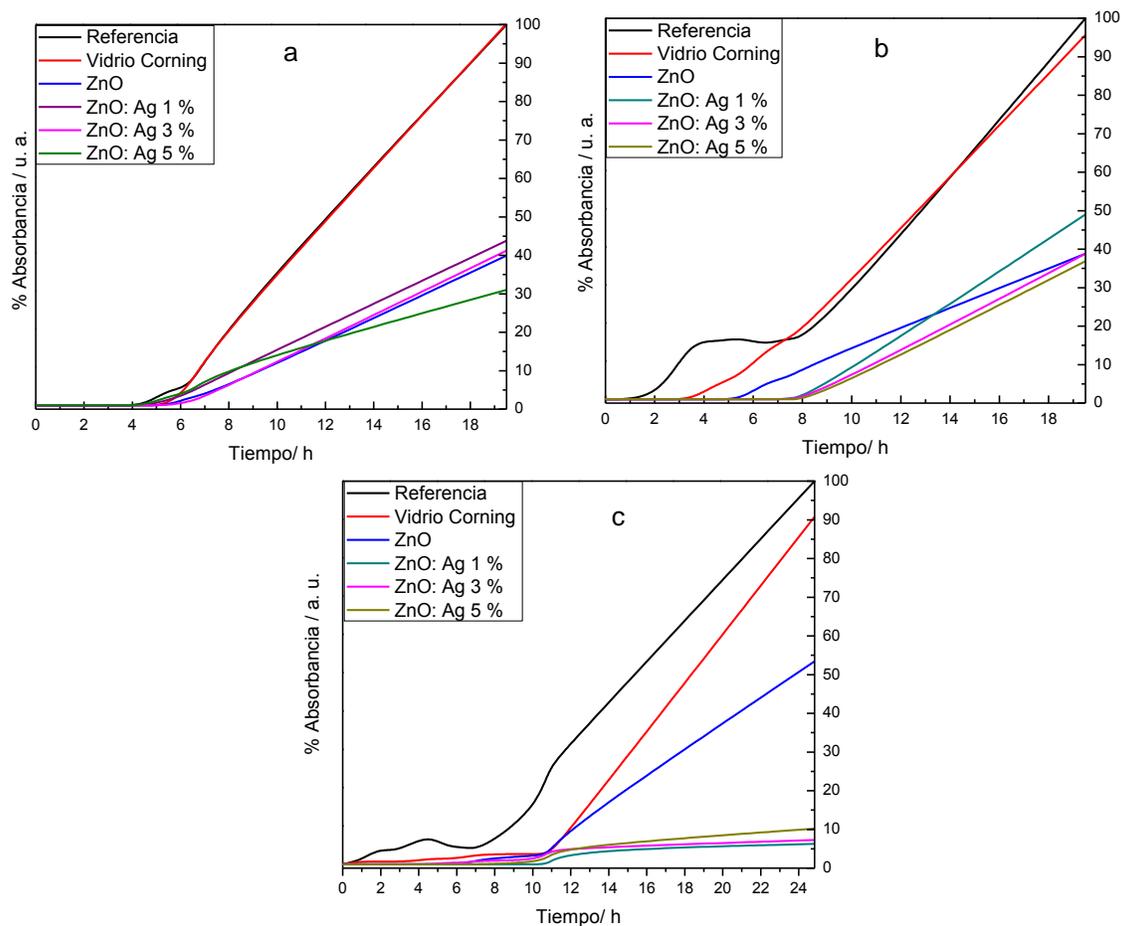


Figura 5. Actividad antibacteriana de los recubrimientos de ZnO:Ag al 0,1,3 y 5 % molar estructurados con infrarrojo durante 45 minutos en condiciones de (a) oscuridad, (b) luz-oscuridad y (c) luz.

5. CONCLUSIONES

Se pueden estructurar recubrimientos de ZnO: Ag con energía infrarroja en la fase hexagonal en tan sólo 15 minutos. Los recubrimientos obtenidos son homogéneos, libres de macrofracturas y con la morfología porosa característica del Pluronic F127. Los recubrimientos tienen una rugosidad de 100 nm y buena adherencia, la cual disminuye ligeramente al adicionar el dopante. El espesor

de las películas fue de 950 nm para 3 depósitos. La actividad antibacterial se ve favorecida cuando el ZnO está dopado, siendo el dopaje de 1 % suficiente para inhibición. Adicionalmente, la luz incrementa la propiedad antibacterial de los recubrimientos, alcanzando una inhibición del 95 %.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marini M, Bondi M, Iseppi R, Toselli M, Pilati F. Preparation and antibacterial activity of hybrid materials containing quaternary ammonium salts via sol-gel process. *Eur Polym J*. 2007;43(8):3621–8.
2. Kawashita M, Tsuneyama S, Miyaji F, Kokubo T, Kozuka H, Yamamoto K. Antibacterial silver-containing silica glass prepared by sol-gel method. *Biomaterials*. 2000;21(4):393–8.
3. Liqiang J, Xiaojun S, Jing S, Weimin C. Review of surface photovoltage spectra of nano-sized semiconductor and its applications in heterogeneous photocatalysis. *Sol Energy Mater*. 2003;79:133–51.
4. Sunada K, Kikuchi Y, Hashimoto K, Fujishima A. Bactericidal and detoxification effects of TiO₂ thin film photocatalysts. *Environ Sci Technol*. 1998;32(5):726–8.
5. Caballero L, Whitehead KA, Allen NS, Verran J. Inactivation of *Escherichia coli* on immobilized TiO₂ using fluorescent light. *J Photochem Photobiol A Chem*. 2009;202(2-3):92–8.
6. Choi O, Deng KK, Kim NJ, Ross L, Surampalli RY, Hu Z. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res*. 2008;42(12):3066–74.
7. Chalkidou A, Simeonidis K, Angelakeris M, Samaras T, Martinez-Boubeta C, Balcells L, et al. In vitro application of Fe/MgO nanoparticles as magnetically mediated hyperthermia agents for cancer treatment. *J Magn Magn Mater*. 2011;323(6):775–80.
8. Percival SL, Bowler PG, Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. *J Hosp Infect*. 2005;60(1):1–7.
9. Yuranova T, Rincon AG, Bozzi A, Parra S, Pulgarin C, Albers P, et al. Antibacterial textiles prepared by RF-plasma and vacuum-UV mediated deposition of silver. *J Photochem Photobiol A Chem*. 2003;161(1):27–34.
10. Thati B, Noble A, Rowan R, Creaven BS, Walsh M, McCann M, et al. Mechanism of action of coumarin and silver(I)-coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*. *Toxicol Vitro*. 2007;21(5):801–8.
11. Akhavan O, Azimirad R, Safa S. Functionalized carbon nanotubes in ZnO thin films for photoinactivation of bacteria. *Mater Chem Phys*. 2011;130(1-2):598–602.
12. Ma XY, Zhang WD. Effects of flower-like ZnO nanowhiskers on the mechanical, thermal and antibacterial properties of waterborne polyurethane. *Polym Degrad Stab*. 2009;94(7):1103–9.
13. Liu Y, Kim H II. Characterization and antibacterial properties of genipin-crosslinked chitosan/poly(ethylene glycol)/ZnO/Ag nanocomposites. *Carbohydr Polym*. 2012;89(1):111–6.
14. Al-Gaashani R, Radiman S, Daud AR, Tabet N, Al-Douri Y. XPS and optical studies of different morphologies of ZnO nanostructures prepared by microwave methods. *Ceram Int*. 2013;39(3):2283–92.

DESARROLLO DE UN GEL DE FASE CÚBICA DE LIBERACIÓN TRANSDÉRMICA CONTROLADA A BASE DE EXTRACTO DE LAS RAÍCES DE *Heliopsis longipes* (A. Gray) S.F Blake

Carolina Escobedo-Martínez¹, Silvia Laura Guzmán-Gutiérrez², Verónica Morales-Arias¹, Antonio Nieto Camacho³, Alfonso Trujillo-Valdivia¹, Luis Manuel Orozco-Castellanos¹ y Ricardo Reyes Chilpa³

¹ Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas. ² Catedrática CONACyT. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. ³ Instituto de Química, UNAM.

RESUMEN

Heliopsis longipes (A. Gray) S.F. Blake, es una hierba perenne perteneciente a la tribu Heliantheae de la familia Asteraceae y mejor conocida comúnmente como chilcuague. Tiene una larga tradición en la herbolaria indígena como lo indican sus denominaciones de origen náhuatl, caracterizada por su alto contenido de alcanidas en sus raíces, siendo la afinina la alcanida mayoritaria aislada y a quien se le ha atribuido la responsabilidad de los efectos biológicos observados, entre los que se destaca principalmente, la acción anestésica local, analgésica, antiinflamatoria y antinociceptiva. Tomando como referencia estas actividades biológicas se desarrolló una formulación farmacéutica en gel de fase cúbica de liberación transdérmica controlada utilizando como principio activo el extracto etanólico de las raíces de *Heliopsis longipes*, el cuál contuvo a la afinina como metabolito mayoritario en un 95 %. La formulación de gel se realizó para tres cantidades diferentes de extracto: 45.26, 136.84 y 408.42 mg por cada 10 g de gel de fase cúbica. A cada gel se le realizaron mediciones de estabilidad física, ensayos de irritabilidad en piel de conejos, evaluación de la capacidad del gel de fase cúbica para liberar el principio activo de manera controlada mediante un estudio por espectrofotometría UV-Vis y evaluación de la actividad antiinflamatoria mediante el modelo biológico de formación de edema auricular de ratón inducido por 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA). Los resultados de la actividad antiinflamatoria para las tres concentraciones evaluadas (0.13, 0.76 y 1.67 mg de extracto/oreja), incluyendo la indometacina como fármaco referencia mostraron una disminución significativa del peso del edema auricular de ratón con respecto al edema inducido por TPA del grupo control.

1. INTRODUCCIÓN

México es uno de los países más diversos en recursos naturales cuyas características topográficas de altitud y latitud han originado una gran biodiversidad florística estimada en 36000 especies de plantas (Rzedowskii, 1992). De este total, al menos 7000 especies son nativas y se emplean con fines medicinales, ornamentales o alimenticios, y se han determinado en la actualidad cerca de 3500 especies utilizadas en la medicina tradicional (Bye *et al.*, 1991).

Heliopsis longipes (A. Gray) S.F. Blake, localizada en las regiones conformadas por porciones donde coinciden parte de los estados de San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro, es una hierba perenne (Cilia-López, 2008), perteneciente a la tribu Helianthae de la familia Asteraceae y mejor conocida comúnmente como chilcuague tiene una larga tradición en la herbolaria indígena como lo indican sus denominaciones de origen náhuatl, caracterizada por su alto contenido de alcanidas en sus raíces, y siendo la afinina la alcanida mayoritaria aislada de sus raíces y a quien se le ha

atribuido la responsabilidad de los efectos biológicos observados, entre los que se pueden considerar principalmente la acción de anestésica local (García-Chávez, 2004), analgésica (Ríos, 2007, Cilia-López, 2010), antiinflamatoria (Hernández, 2009), y antinociceptiva (Cariño-Cortés, 2010).

Con base en las actividades biológicas citadas anteriormente, el objetivo principal de esta investigación ha sido desarrollar una formulación farmacéutica de gel de fase cúbica de liberación transdérmica controlada utilizando como principio activo el extracto etanólico de las raíces de *Heliopsis longipes* (A. Gray) S.F. Blake.

Una fase cúbica es un sistema termodinámicamente estable que favorece la penetración de un principio activo a la piel, permitiendo una liberación prolongada. Este sistema tiene la ventaja de poder integrar diferentes agentes que van desde medicamentos con peso molecular bajo hasta proteínas, péptidos, aminoácidos y ácidos nucleicos.

El desarrollo de formulaciones farmacéuticas transdérmicas de liberación controlada han sido poco estudiadas para su uso como vehículo de principios activos como el caso del Chilcuague. En esta investigación hemos buscado integrar la innovación de las fases cúbicas en una formulación farmacéutica tópica utilizando un principio activo con una amplia variedad de efectos terapéuticos.

Para el desarrollo de este proyecto se realizó un gel de fase cúbica con características físicas y organolépticas adecuadas ue contenga extracto de chilcuague. Se evaluó la estabilidad física y se realizaron ensayos de irritabilidad en piel de conejos. Así mismo, se evaluó la capacidad del gel de fase cúbica para liberar el principio activo de manera controlada mediante espectrofotometría UV-Visible y se midió la actividad antiinflamatoria del mismo utilizando el modelo biológico de edema auricular de ratón inducido por TPA.

2. TEORÍA

SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA.

El desarrollo de los sistemas de liberación controlada ha significado hasta la fecha, una manera de mejorar el suministro de los fármacos al organismo. Estas nuevas formas de dosificación son un método novedoso de administración, que se fundamenta en dirigir el efecto farmacológico hacia un lugar específico del organismo, controlando la velocidad con que los fármacos son liberados y manteniendo dicha velocidad de suministro más o menos constante. De esta manera la concentración de los fármacos en el sitio de acción permanece en los niveles terapéuticos necesarios para establecer la salud del paciente, dado que significa un número menor de tomas o aplicaciones y en muchos casos la disminución o desaparición de los efectos secundarios observados al alcanzar niveles del fármaco mayores a los necesarios, tras la aplicación de una formulación con una dosificación en la cual no se controla la velocidad de liberación (Avellato, 2007). Algunas de sus múltiples ventajas son: minimizar efectos secundarios indeseables, aumentar la eficacia del principio activo, evitar la biodegradación del fármaco durante su distribución, posibilitar el acceso del principio activo a la biofase y presentar una liberación constante del activo con una cinética de orden cero.

Luo y colaboradores (2011), definen un gel cúbico como aquel sistema que está formado espontáneamente cuando lípidos anfipáticos se encuentran en un ambiente acuoso. Un gel cúbico consiste de una bicapa lipídica bicontinua curva y tiene una estructura termodinámicamente estable, ejemplo es el sistema monooleato de glicerilo y agua. Ellos pueden incorporar moléculas pequeñas de medicamentos y grandes proteínas, y tienen la habilidad de mejorar la permeabilidad.

El gel de fase cúbica es transparente pero rígido y viscoso, lo cual limita su uso potencial como sistema de suministro (Shah *et al.*, 2001). Sin embargo, un gel de fase cúbica con menor viscosidad se puede obtener mediante la adición de disolventes orgánicos (por ejemplo,

propilenglicol (PG), etanol, polietilenglicol, y N-metil-2 pirrolidona) (Chang *et al.*, 1998, Wadsten *et al.*, 2007). Chang y colaboradores, realizaron la incorporación de PG por dos razones: El PG podría disminuir la viscosidad de la fase cúbica del gel y el PG es bien conocido como potenciador de la penetración en piel y se utiliza comúnmente como aditivo en formulaciones tópicas (Chang *et al.*, 1998, Wadsten *et al.*, 2007). Como el espesor de la bicapa lipídica es aproximadamente 3.5 nm y el diámetro del canal de agua es aproximadamente 5 nm (Hide *et al.*, 1984), la fase cúbica puede ser considerada como un material suave nanoestructural (Bender *et al.*, 2005).

HELIOPSIS LONGIPES (CHILCUAGUE).

Heliopsis longipes S.F. Blake es una hierba perenne endémica de la región conformada por porciones de la Sierra de Álvarez y la Sierra Gorda, donde coinciden parte de los Estados de San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro (Little, 1948). En estas regiones de Guanajuato y de Querétaro se ha iniciado el cultivo de chilcuague que se lleva a cabo en forma limitada en las orillas de las parcelas o en la sombra de algunos árboles, en lugares protegidos del pastoreo, aunque a la fecha ya es posible observar terrenos dedicados completamente a plantíos de esta especie. Las personas que lo cultivan indican que a partir de la propagación por esqueje, y en algunos casos por semilla, el desarrollo total de las raíces transcurre en dos a tres años. Los nombres comunes de esta planta son chilcuague, pelitre, raíz de oro y raíz azteca (Ramírez, 1902; Santamaría, 1959; Martínez, 1967). El uso del chilcuague ha implicado la destrucción total de la planta por lo que las poblaciones de esta especie han disminuido, desapareciendo en algunas zonas (Little, 1948b; Molina-Torres y García-Chávez). Por fortuna el chilcuague no se ha extinguido a la fecha por la euforia de su exportación, a pesar de que la población silvestre se vio severamente reducida.

AFININA, METABOLITO SECUNDARIO MAYORITARIO PRESENTE EN LAS RAÍCES DE HELIOPSIS LONGIPES.

La raíz de oro contiene un compuesto insaturado al que denominaron afinina y se aisló en el año de 1945 por Acre, Jacobson y Haller.

La afinina se describe como un aceite amarillo, viscoso soluble en disolventes no polares (cloroformo, éter, benceno, *etc.*) y prácticamente insolubles en soluciones ácidas y alcalinas. Tiene una banda de adsorción máxima de 228.5 nm con un punto de ebullición de 114°C a 0.2mm Hg de presión, y un punto de fusión de 23°C, su peso molecular es de 221.33. La afinina está compuesta por 75.96% de carbono, un 10.47% de hidrógeno, 33% de nitrógeno y 7.235% de nitrógeno (Merck, 1983).

Little (1948) reportó que la raíz molida y mezclada con leche se utilizaba para matar a las moscas que la bebían. La acción insecticida del chilcuague es atribuida a la afinina, que Domínguez *et al.*, (1958) comprobó al evaluar este metabolito secundario contra el gorgojo del frijol *Acanthoscelides obtecus* Say.

Damian Badillo *et al.*, (2008) evaluó las propiedades antifúngicas de extractos orgánicos crudos (acetato de etilo y cloroformo-metanol), provenientes de las raíces de *Heliopsis longipes*, sobre las los hongos de *Candida albicans*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Mucor circinelloides*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Sporothrix schenckii*, encontrando que posteriormente a las 72 horas de incubación en estos extractos se inhibió el crecimiento de todo el hongo.

Ivones Hernández *et al.*, (2008) reportó el efecto de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico y la afinina, realizado a través del edema en oreja de ratón por medio de dos agentes irritantes, el ácido araquidónico (AA) y el miristato aceto de forbol (PMA), mostrando un marcado efecto antiinflamatorio sobre el modelo AA con una ED50=0.8 y 1.2 mg/oreja respectivamente, utilizó Nimesulida (1mg/oreja) como fármaco referencia. En el modelo PMA, el extracto etanólico y

la afinina mostraron un efecto antiinflamatorio dosis dependiente con una $DE_{50}=2.0$ y 1.3 mg/oreja, respectivamente, utilizando indometacina (3mg/oreja) como fármaco referencia.

Cilia-López *et al.*, (2010) evaluó la actividad analgésica y su efecto sobre el sistema nervioso en modelo de ratón adulto. Encontrando que la afinina (1mg/kg) y el extracto etanólico (10 mg/kg) de las raíces de *Heliopsis longipes*, ambos juegan una acción analgésica similar al ketorolaco (6 mg/kg) y un efecto de estimulación comparable a la cafeína sobre el sistema nervioso.

Cariño-Cortés *et al.*, (2010) mostró evidencia de que tanto el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* ejerció efectos analgésicos, así como sin efectos citotóxicos realizados sobre eritrocitos de sangre periférica en ratón CD1+ *in vivo*, esto se convierte en una contribución importante para explicar el uso de la raíz como un analgésico efectivo utilizado en la medicina tradicional, así como el establecimiento por primera vez de la ausencia de efecto tóxico, después de realizar estudios histopatológicos y encontrar que a dosis de 1000 mg/kg (dosis mayor que la dosis ingerida como condimento, analgésico, antiinflamatorio dental o utilizado en otras patologías humanas) no se presentaron daños o cambios histopatológicos en cerebro, hígado y corazón.

3. PARTE EXPERIMENTAL

A) preparación del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Heliopsis longipes* se elaboró con las raíces secas y molidas de esta planta colectada. Para obtenerlo, se pesaron 298,6 g de las raíces secas y molidas a la que se les añadieron 514 mL de alcohol etílico absoluto anhidro, dejando la solución en maceración a temperatura ambiente durante 30 días. El macerado se filtró con un papel filtro Whatman No. 4 y se concentró en rotavapor (BUCHI). En el extracto fue detectada la molécula de afinina a través del registro de sus espectros de 1H y ^{13}C mediante Resonancia Magnética Nuclear.

B) procedimiento de manufactura para los geles en fase cúbica a proporciones de 45:45:10 propilenglicol:monooleato de glicerilo:agua con el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo

Se pesaron (1) y (2) en recipientes separados (Ver tabla I). Esto con objeto de calentar (2) en baño María a temperatura de 45°C. Una vez fundido se adicionó (4, una concentración para cada gel). Se agitó constantemente con una varilla de vidrio manteniendo una temperatura entre los 45°C y 50°C, obteniéndose la mezcla (A).

Por otro lado, en un recipiente de acero inoxidable se calentó (1) en baño María a 45 °C. Se agregó a (A) y se agitó durante 10 minutos con varilla de vidrio para permitir que se homogenizará la mezcla (B). Ésta se retiró del calentamiento y se continuó agitando hasta la formación de una emulsion (C).

A continuación se adicionó (3) a (B), previamente calentando a 30 °C y se continuó agitando constantemente hasta tener la consistencia deseada del gel. Finalmente se acondicionó en un frasco de vidrio rotulado y sellado.

El mismo procedimiento se realizó para las tres concentraciones: 45.26 mg, 136.84 mg y 408.42 mg localizadas en (4). Además de realizar la formulación placebo.

Tabla I. Formulación de geles en fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes*

No.	MATERIA PRIMA	CANTIDAD UNITARIA	UNIDAD	FUNCIÓN
1	Propilenglicol	4.5	g	Emulsificante
2	Monooleato de glicerilo	4.5	g	Fase oleosa
3	Agua	1	mL	Formador de la fase cúbica
4	Extracto etanólico de <i>Heliopsis longipes</i>	45.26 (Concentración 1) 136.84 (Concentración 2) 408.42 (Concentración 3)	mg	Principio activo

Análisis del producto terminado por cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa

Esta prueba se realizó para comprobar que en los geles de fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo se encontraba en su contenido la alcalamida mayoritaria N-isobutil-decatrien, 2E, 6Z, 8E- amida, "Afinina". Para ello fueron analizadas las muestras en HPLC marca Waters, donde cada muestra fue inyectada en una columna Kromasil 100-5 C18 de 15 cm de largo x 4.6mm de diámetro interno.

Para la elución de las muestras se utilizó un método de gradiente agua (A), acetonitrilo (B), con un tiempo de corrida de 35 min a un flujo de 1 mL min⁻¹. Con la ayuda de un software Breeze se confirmó la presencia de la afinina a los 230 nm.

Estudio de liberación in vitro

Los estudios de liberación del gel en fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* se realizaron utilizando un dispositivo modificado de las celdas de Franz, las cuales se utilizan para ensayos de liberación en formulaciones tópicas. El sistema está formado por dos compartimentos constituidos por:

a) Fase receptora: La cual se encuentra contenida en un vaso de precipitado con 500 mL de solución buffer de fosfatos a pH 7,4. El vaso de precipitado se sumergió en un baño María a una temperatura constante de 37±0,1°Cy con agitación constante.

b) Fase dadora: Como membrana de diálisis se hizo con piel de cerdo sin grasa, en una medida de 10x10 cm. Colocando en el centro de la membrana 2 g del gel, y sellándola perfectamente por los extremos con hilo. Cada membrana fue suspendida dentro de la fase receptora, a través de un hilo sujetó a un anillo metálico sostenido en un soporte universal. La duración del ensayo fue de 12 h a partir de estar en contacto la membrana con el líquido de la fase receptora.

El volumen de muestra de líquido receptor que se tomó a los diferentes tiempos fue de 1 mL. Los intervalos de toma de muestra que se eligieron fueron cada 10 min durante la primera hora, después cada 30 min durante las siguientes 3 h, y finalmente cada hora durante las 8 h restantes.

Las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 230 nm, que es en donde la afinina presenta su máxima absorción.

E) Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la formulación en gel de fase cúbica a base del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* sobre un modelo biológico de inflamación aguda en edema auricular de ratón inducido por 13-acetato-12-o-tetradecainolforbol (tpa)

La evaluación antiinflamatoria se realizó tanto en el gel en fase cúbica placebo y en los geles de fase cúbica a las siguientes concentraciones de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*: 0.13, 0.76 y 1.67 mg/oreja. El fármaco de referencia empleado fue la indometacina a una dosis de 0.36 mg/oreja.

Se emplearon ratones CD-1 machos, de entre 25 a 30 g de peso. Los animales (n=6) fueron mantenidos en condiciones estándar de fotoperiodo (12 h luz/ 12 h oscuridad) a una temperatura de 19 – 23°C, humedad relativa de 45-55%, suministro de aire filtrado, agua ozonizada baja en sales y alimento de importación de Purina Lab Diet fórmula 5001.

Los ratones fueron divididos en 5 grupos de 6 ratones cada uno y se colocaron en jaulas diferentes. Los grupos correspondieron al siguiente tratamiento: Grupo 1. Control tratado solamente con TPA. Grupo 2. Grupo tratado con TPA e indometacina 0.36 mg/oreja. Grupo 3. Grupo tratado con TPA y gel de fase cúbica con 0.13 mg/oreja de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Grupo 4. Grupo tratado con TPA y gel de fase cúbica con 0.76 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Grupo 5. Grupo tratado con TPA y gel de fase cúbica con 1.67 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*.

Los ratones fueron anestesiados con una solución de pentobarbital sódico (23.2 mg/Kg, vía i.p).

A los ratones del grupo 1 se les aplicó en la oreja derecha (tratada) 10 µg solución de TPA al 2.5 % con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular derecho y en la oreja izquierda (no tratada) sólo se colocaron 10 µL de etanol (vehículo del TPA) con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular izquierdo.

A los ratones del grupo 2 se les aplicó en la oreja derecha (tratada) 10 µg solución de TPA al 2.5% con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular derecho, así como, 0.36 mg de indometacina con dos aplicaciones de 0.18 mL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular y en la oreja izquierda (no tratada) sólo se colocaron 10 µL de etanol con dos aplicaciones de 5 µL en cada superficie (interna y externa) del pabellón auricular izquierdo. Este mismo procedimiento se realizó a los ratones del grupo 3, 4 y 5 para las aplicaciones de 20 µg de gel en fase cúbica que corresponderían a 0.13 mg, 0.76 mg y 1.67 mg, respectivamente, en vez de indometacina.

Los porcentajes de inflamación y de inhibición fueron calculados con las siguientes ecuaciones (Swartz, 2011):

Inhibición del edema= C-E

En donde:

C= Edema del grupo control expresado en mg (tratado con TPA)

E= Edema del grupo experimental expresado en mg (TPA mas el compuesto)

Finalmente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey con los valores obtenidos de edema.

4. RESULTADOS

Detección de la molécula de afinina en el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* mediante resonancia magnética nuclear (rmn).

Se llevó a cabo la detección de la molécula de afinina en un extracto hexánico enriquecido que contenía entre un 97 – 98% de la misma. Al realizar la comparación del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* con el extracto hexánico de *Heliopsis longipes* enriquecido en afinina (Figura 1) en un equipo Bruker Avance III HD de 400 MHz, se observó que tanto el extracto etanólico como el hexánico presentan la misma cantidad de afinina.

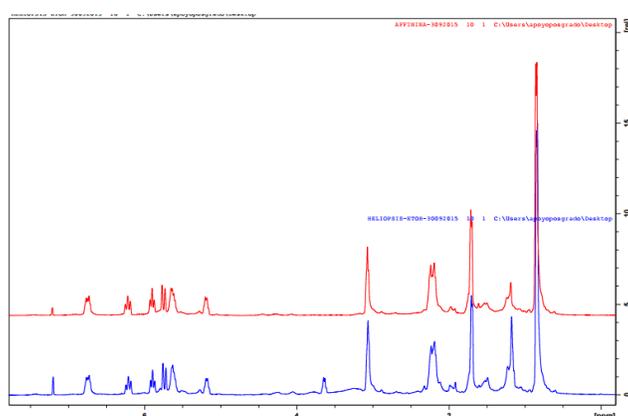


Figura 1. Comparación entre los espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del extracto hexánico de *Heliopsis longipes* enriquecido en afinina (Rojo) y el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* (Azul). Espectro adquirido en Bruker Avance III HD de 400 MHz.

Preparación del gel en fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo

Para la realización de los geles en fase cúbica, el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* se incorporó a la fase oleosa (MO). Durante el desarrollo de la formulación se integraron todos los componentes, obteniendo la consistencia deseada de un producto de uso tópico (Figura 2). A las formulaciones no se les añadió ningún conservador debido a que mostraron una buena estabilidad, además, por sí solo el extracto etanólico de *Heliopsis longipes* presenta actividad bactericida y fungicida.

Los tres geles presentaron características físicas y organolépticas muy aceptables: Brillantes, sensación al tacto suave, una evanescencia y consistencia aparente alta y no fueron viscosos, y con registro en la escala de pH entre 5 y 6 similar al de la piel.

Los geles presentan una buena estabilidad tanto a temperatura ambiente como a 5°C , así mismo, se logró la observación de que no existe crecimiento de agentes extraños en los mismos.



(1) (2) (3)
Figura 2. Geles en fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo. (1) 45.26 mg, (2) 136.84 mg y (3) 408.42 mg

Análisis del producto terminado por cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa

Al analizar los cromatogramas después de la inyección de las soluciones que contenían los geles de fase cúbica de las distintas concentraciones de extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo, se logró observar la presencia de la afinina a los 14 minutos (Figura 3).

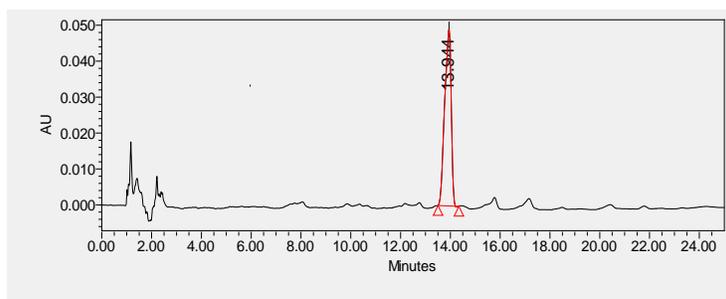


Figura 3. Cromatograma del gel en fase cúbica con 45.26 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes* observado a 230 nm.

Estudio de liberación *in vitro*

Para comprobar que los geles formulados con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* tuvieron una liberación prolongada se realizó un estudio de liberación *in vitro* utilizando una membrana de piel de porcino de 10 cm x 10 cm para asemejar la piel de los humano, la liberación se analizó durante 12 horas. Los valores de absorbancia obtenidos durante la primera hora del estudio fueron incrementando paulatinamente conforme transcurrió el tiempo (Figura 4). Este comportamiento sucedió para las tres concentraciones.

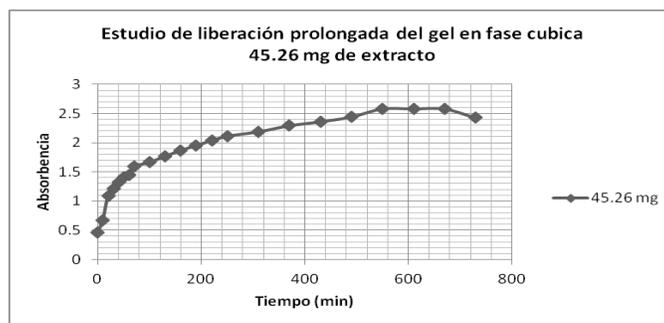


Figura 4. Estudio de la liberación prolongada del gel en fase cúbica con 45.26 mg de extracto etanólico de *Heliopsis longipes*.

Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la formulación en gel de fase cúbica a base del extracto etanólico de *Heliopsis longipes* sobre un modelo biológico de inflamación aguda en edema auricular de ratón inducido por 13-acetato-12-o-tetradecainolforbol (tpa).

Obtenidos los pesos de los edemas auriculares de ratón para los distintos grupos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey. La significancia estadística evaluada fue considerada $p < 0,05$, mostrando los geles de fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* un efecto antiinflamatorio en el edema auricular de ratón inducido por TPA (Figura 5).

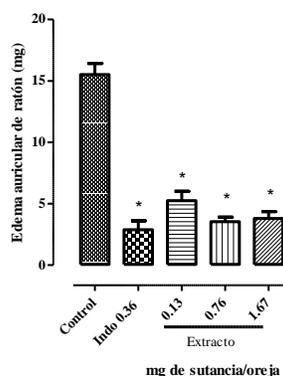


Figura 5. Efecto antiinflamatorio del gel de fase cúbica con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* en edema auricular de ratón inducido por TPA. Indo = Indometacina. Cada barra representa el promedio \pm EEM ($n=6$). Los datos se analizaron con ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

* Estadísticamente diferente con respecto al control ($p < 0.05$).

5. CONCLUSIONES

Al término de esta investigación se logró desarrollar la formulación de un gel de fase cúbica de liberación transdérmica controlada con extracto etanólico de *Heliopsis longipes* como principio activo, presentando todas las características de una formulación farmacéutica de uso tópico:

Estable, no irritante, no tóxica y con buenas propiedades físicas y organolépticas. Se comprobó que todos los geles de fase cúbica formulados a las tres concentraciones con excepción del placebo contuvieron el principio activo incorporado. Las distintas concentraciones de los geles presentaron actividad antiinflamatoria significativa en el modelo biológico del edema auricular de ratón, en comparación con el fármaco de referencia indometacina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rzedowski, J. 1992. Diversidad del universo vegetal de México: Perspectiva de un conocimiento sólido. In: México ante los retos de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Usos de la Biodiversidad, México, DF. 251-258 pp.
2. Bye, R., Estrada, L. E. y Linares, M. 1991. Recursos genéticos en plantas medicinales de México. In: Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México. SOMEFI. Chapingo, México. 341-359 pp.
3. Cilia-López, V.G., Aguirre-Rivera, J.R., Reyes-Agüero, J.A., Juárez-Flores, B.I. 2008. Etnobotánicas de *Heliopsis longipes* (asteraceae: heliantheae). Boletín de la Sociedad Botánica de México. 83: 81-87.
4. García-Chávez A., Ramírez C.E. y Molina-Torres J. 2004. El género *Heliopsis* (Heliantheae: Asterales) en México y las alcaloides presentes en sus raíces. *Acta Botánica Mexicana*. 69: 115-131.
5. Ríos, M.R., Aguilar-Guadarrama, B., Gutiérrez, M.C. 2010. Analgesic activity of affinin, an alkaloid from *Heliopsis longipes* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 110: 364-367.
6. Cilia-López, V.G., Juárez-Flores, B.I. Aguirre-Rivera, J.R. Reyes-Agüero, J.A. 2010. Analgesic activity of *Heliopsis longipes* and its effect on the nervous system. *Pharmaceutical Biology*. 48: 195-200.
7. Hernández, I. Márquez, L., Martínez, I. Dieguez, R. Deporte, C., Prieto, S., Molina-Torre, J. Garrido, G. 2009. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract and alkaloids-derived from *Heliopsis longipes* roots. *Journal of Ethnopharmacology*. 124: 649-652.
8. Cariño-Cortés, R. Gayosso-De-Lucio, J.A. Ortiz, N.I., Sánchez-Gutiérrez, M. García-Reyna, P.B., Cilia-López, V.G., Pérez-Hernández, N., Moreno, E. Poce-Monter, H. 2010. Antinociceptive, genotoxic and histopathological study of *Heliopsis longipes* S.F. Blake in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 130: 216-221.
9. Luo, Shen, Chen. 2011. Transdermal delivery of paeonol using cubic gel and microemulsion gel. *International Journal of Nanomedicine*. 6: 1603-1610.
10. Shah, J.C. Sadhale, Y. Chillukuri, D.M. 2001. Cubic phase gels as drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 47: 229-50. Chang, C. Boodmeier, R. 1998. Low viscosity monoglyceride-based drug delivery systems transforming into a highly viscous cubic phase. *Int. J. Pharm.* 173: 51-60.
11. Hyde, S. Andersson, S. Ericsson, B. Larsson, K. 1984. A cubic structure consisting of a lipid bilayer forming an infinite periodic minimum surface of the gyroid type in the glycerolmonoleate-water systems. *Z. Kristallogr.* 168: 213-219.
12. Bender, J., Ericson, M., Merclin, N., Lani, V.; Rosén A., Engström, S. 2005. Lipid cubic phases for improved topical drug delivery in photodynamic therapy. *J. Control Release*. 106: 350-360.
13. Little, E. 1948. El chilcuague (*Heliopsis longipes*). Planta insecticida. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 7: 23-27.

PRESENCIA DE FGE Y FTE RELACIONADA CON LA TEMPORALIDAD AMBIENTAL Y LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN DOS MICROMAMÍFEROS SILVESTRES

Alondra Castro-Campillo¹, Arturo Salame-Méndez², Jorge Haro-Castellanos², Miguel Ángel Briones-Salas⁴, Héctor Serrano³, María Dolores García-Suárez¹, José Luís Gómez-Olivares³ y José Ramírez-Pulido¹.

Departamentos de ¹Biología, ²Biología de la Reproducción y ³Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana. ⁴Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Oaxaca (CIIDIR-Oaxaca), Instituto Politécnico Nacional.

RESUMEN

Los FGE y FTE son compuestos fenólicos de hongos (fungiquímicos) y plantas (fitoquímicos), respectivamente, con actividad estrogénica, derivados de isoflavonas, lignanos y coumestanos, que al ser fluorescentes, son detectables mediante cromatografía en capa fina (CCF). En mamíferos herbívoros domesticados, estos compuestos pueden actuar como reguladores o disruptores endócrinos de su fisiología reproductiva, pero ¿cómo actúan en micromamíferos silvestres con diferente grado de herbivoría? Examinamos la presencia de FGE y FTE en heces de individuos silvestres de *Peromyscus difficilis* (ratón generalista) y de *Artibeus jamaicensis* (murciélago frugi-folívoro), usando analitos representativos (genisteína, GEN; zearalenona, ZEA; coumestrol, COU) para verificar: 1) cuáles analitos estaban presentes; 2) si éstos tenían un patrón temporal, o permanecían constantes a lo largo de un año; 3) si podíamos relacionar cualitativamente los patrones temporales de los fungi y fitoquímicos con la actividad reproductiva. Confirmamos que la presencia, en las heces de ambas especies, de ciertos analitos representativos, junto con compuestos fluorescentes desconocidos (posibles FGE y FTE), concuerda con las estaciones del año, el régimen pluvial y su actividad reproductiva. Estas evidencias hacen posible continuar nuestras investigaciones para determinar la naturaleza de los compuestos desconocidos, la forma en que son metabolizados y si realmente ejercen algún efecto sobre la reproducción de las respectivas especies.

Palabras clave: fungiestrógenos, fitoestrógenos, xenoestrógenos, *Peromyscus*, *Artibeus*, reproducción.

1. INTRODUCCIÓN

Entre los compuestos secundarios que las plantas producen como defensa ante la depredación por mamíferos (mastoherbívoros), algunos tienen semejanza estructural con el estrógeno estradiol, E2 (García-Suárez et al. 2014), razón por la cual se les denomina fitoestrógenos (FTE). De igual modo, los mohos parásitos de los tejidos de las plantas (e. g., *Aspergillus*, *Fusarium* Carrillo y Gómez-Molina 2007), o mutualistas de sus raíces (e. g., *Glomus*, *Gigaspora* Carrillo y Gómez-Molina 2007), también pueden producir micotoxinas con semejanza estructural al E2 (Minervi y Dell'Aquila 2008), o fungiestrógenos, FGE. Como ambos (FTE y FGE) son ajenos a los estrógenos de los mamíferos (y de otros vertebrados), también se les denomina xenoestrógenos (XNE, Krimsky 2001).

La semejanza estructural de los XNE con el E2, puede interferir en la reproducción del mamífero a partir, por ejemplo, de unirse a los receptores gonadales y extra-gonadales (e. g., hipotálamo) de E2, lo que los convierte en disruptores endócrinos (Lenis Sanin et al. 2010, Prakash y Gupta 2011, Zaho y Mu 2011). Como falsos estrógenos, los XNE pueden engañar a las células de los tejidos, asociados con la función reproductiva a diferentes niveles, alterando así los respectivos procesos y comprometiendo la fertilidad, salud y perpetuación de los mamíferos (Pérez-Rivero et al. 2007). A lo anterior se añade que en ciertas cantidades, los xne favorecen tumores en los mamíferos, mientras que en otras, los previenen, además de que evitan la formación de radicales libres, funcionando como antioxidantes (García-Suárez et al. 2014; Ososki y Kennelly 2003, Tham et al., 1998).

Al respecto, la planta puede producir y almacenar mayor concentración de FTE en sus tejidos aéreos (tejidos por encima del suelo; e. g., tallos, hojas, flores, frutos, Butkutė et al. 2014), por lo que es posible que si éstos son ingeridos por un mamífero, la función reproductiva de éste último puede quedar comprometida; en cambio, si la planta produce una cantidad menor de FTE en sus raíces (tejidos hipogeos Butkutė et al. 2014) y son ingeridas por el herbívoro, la función reproductiva puede ser que no se altere. Esta combinación de producción y almacenaje diferencial por parte de la planta y de consumo por los herbívoros, puede hacerse más complejo si el compuesto vegetal sólo se produce en algunas épocas del año. Además, con la explosión de mohos durante las lluvias, la cantidad de XNE en los tejidos de los mamíferos puede incrementarse al contar con los FGE. En consecuencia, el riesgo de disrupción endócrina para el mamífero consumidor también se vuelve diferencial, tanto a nivel temporal como de los ítems vegetales que consume.

En respuesta, los mamíferos pueden disminuir los efectos de los XNE, por ejemplo biotransformarlos en sustancias que no afectan su estrategia reproductiva. Entre otras posibilidades (Freeman & Janzen 1974, Adams 1995), los mamíferos pueden optar por una dieta diversa que sólo los expone a pequeñas dosis de FTE contenidas en diferentes plantas, permitiéndoles crear tolerancia; usar las bacterias y probióticos en la flora de su aparato digestivo, las cuales metabolizan a los XNE; consumir alimentos que alcalinizan el pH de su tracto digestivo, o que impiden la conformación de radicales o compuestos que favorecen la acción tóxica de los XNE, a través de su metabolismo.

Los efectos endócrino-disruptivos y de los XNE son relevantes para las ciencias biológicas, biomédicas y agropecuarias, pues comprometen la salud reproductiva de mamíferos herbívoros y omnívoros (hombre, especies pecuarias), ocasionando morbilidad y pérdidas económicas (Cornwell et al. 2004, Elobeid y Allison 2008). Por ello, se ha estudiado la incidencia de hongos productores de FGE en la producción, almacenaje y consumo de alimentos vegetales, especialmente de cereales para consumo humano (Méndez-Albores y Moreno-Martínez 2009), y de forrajes para especies pecuarias de mamíferos (Placinta et al. 1999, Pacin 2001, Eriksen 2006), así como la presencia y cantidad de FTE en productos vegetales en la dieta humana, ya sea crudos o procesados (Mackova et al. 2006, Thompson et al. 2006). Los efectos endócrino-disruptivos se han estudiado en mamíferos comúnmente utilizados en investigación (especies de laboratorio como rata, ratón, y perro; Glover y Assinder 2006, Robertson et al. 2002, Pérez et al. 2005, 2009, Serrano et al. 2010). Sin embargo, son muy escasos los trabajos en donde se haya determinado la presencia de XNE en especies silvestres de mamíferos herbívoros (Salame-Méndez et al. 2012).

En cambio, se ha propuesto que los XNE también podrían promover y/o regular la función reproductiva de los herbívoros vertebrados, cuando éstos tienen acceso a mayores cantidades durante la explosión de plantas (y mohos) disponibles durante las lluvias. La sincronización estacional del patrón reproductivo de varias especies de mamíferos silvestres con el régimen pluvial, se ha explicado con frecuencia, asumiendo que el gasto energético que conlleva la búsqueda, selección y lucha por la pareja para el apareamiento, así como la gestación, lactancia y

crianza, debe ser contrarrestado, mediante la accesibilidad y disponibilidad de recursos alimentarios para los mamíferos herbívoros (Forbey et al. 2009).

Eso es particularmente cierto en latitudes medias con régimen isotérmico, ya que la instalación de la temporada lluviosa garantiza el reverdecimiento, floración y fructificación de las plantas, así como la propagación de los hongos, todos los cuales constituyen en conjunto, recursos e ítems alimentarios diversos para mastoherbívoros. Al respecto, hemos podido corroborar un óptimo estacional en la producción de hormonas esteroideas sexuales como la testosterona, el andrógeno primordial para biosintetizar E2 (Salame-Méndez et al. 2004), asociado con la temporada pluvial y la consecuente propagación de plantas y hongos (Peralta Juárez 2015). En este panorama, si los XNE consumidos son interpretados como un aumento en los niveles de E2 dentro del mamífero, entonces podrían disparar los procesos y mecanismos fisiológicos que inducen la reproducción.

Ya sea que los XNE actúen a favor o en contra de la reproducción en los herbívoros, primero es importante determinar si es posible detectarlos en ellos, a través de pruebas no invasivas. Por ello aquí analizamos la presencia/ausencia de XNE (FTE y FGE), utilizando las heces de dos micromamíferos, mediante dos analitos representativos de FTE (Genisteína, GEN; Coumestrol, COU) y uno de FGE (Zearalenona, ZEA). El primero es *Peromyscus difficilis*, un ratón de campo con dieta generalista que consume mayormente diferentes ítems (tallos, hojas, frutos, flores, polen néctar y semillas) de una gran variedad de plantas (29 especies, 70-90%), junto con algunos insectos (6 Órdenes, 2.5-5%) todo el tiempo, así como cuerpos fructíferos de hongos macromicetos durante las lluvias (14 especies, 25-30%) en el bosque templado mixto en donde vive (Peralta Juárez 2015). El segundo es el murciélago *Artibeus jamaicensis*, un frugívoro generalista, pero especialista en higos, que puede consumir la fruta entera, solo la cáscara o la pulpa; las flores; el polen o el néctar; las hojas y otras partes, incluyendo una pequeña porción de insectos en las selvas en donde habita (Ortega y Castro-Arellano 2001). Estas especies de micromamíferos se distribuyen en ambientes de latitudes medias sin estacionalidad térmica, en donde la estructura del tipo de vegetación es bastante heterogénea y diversa. En ambos casos, el régimen pluvial origina los cambios en la accesibilidad y disponibilidad de los recursos e ítems alimentarios (e. g., provoca cambios fenológicos en la vegetación como reverdecimiento, floración, fructificación y senescencia).

Nuestro objetivo fue verificar: a) cuáles analitos de referencia estaban presentes en las heces; b) si éstos tenían un patrón temporal, o permanecían constantes a lo largo de un año, y c) si podíamos ligar cualitativamente los patrones temporales de los fitoquímicos con la actividad reproductiva.

2. TEORÍA

En general, si los FTE producidos por plantas (y reforzados por los FGE de los mohos) actúan como advertencia, repelente, veneno, toxina, o como disruptor endócrino en contra del depredador mamífero para disuadirlo, enfermarlo o intoxicarlo, se trata de *resistencia* (Vivanco et al. 2005). En particular, si esos XNE actúan como disruptores endócrinos, estarían comprometiendo negativamente el éxito reproductivo del mastoherbívoro. En especial cuando éste tuviese mayor acceso al consumo de vegetales y hongos, lo que aumentaría la concentración de estos compuestos secundarios en sus tejidos.

En cambio, en general, si las defensas fitoquímicas secundarias, especialmente los FTE, permiten el consumo de la planta, sin afectar su capacidad de perpetuarse, se trata de *tolerancia sobrecompensatoria* (Vivanco et al. 2005): la planta remedia el daño infligido por depredación, produciendo más tejido vegetal, ya sea reactivando sus células de crecimiento o reasignando sustancias de reserva hacia las partes dañadas. Asimismo, la planta puede producir atrayentes bioquímicos o morfológicos para asegurar tanto su polinización como la dispersión de sus semillas (e. g., síndrome de herbivoría, Agrawal y Fishbein 2006), mientras que el mamífero puede coevolucionar hacia la sobre-especialización dietética para terminar en un raro "mutualismo

obligado". De manera más general, los XNE podrían funcionar como anabolitos para el crecimiento del mastoherbívoro hasta la pubertad, cuando podrían pasar a estimular su actividad reproductiva y contribuir a la sincronización temporal de la misma en los adultos.

Antes de abordar estas hipótesis, es necesario confirmar primero la presencia de XNE en mastoherbívoros de vida libre, sin comprometer la supervivencia de los ejemplares capturados y utilizando técnicas exploratorias sencillas. Al derivar los FTE de isoflavonas, lignanos y coumestanos y los FGE de las lactonas, ambos XNE son fluorescentes y, por ende, pueden ser detectados mediante cromatografía en capa fina (CCF). La CCF ha sido ampliamente usada para cuantificar XNE en la industria alimentaria y constituye un método adecuado para detectar de manera inicial, la presencia de estos XNE en las heces del ratón y murciélago examinados, cuya dieta vegetal está muy diversificada (Ortega y Castro-Arellano 2001, Peralta Juárez 2015). En esta etapa inicial, el análisis de las heces obtenidas, mediante captura-recaptura con reemplazo, implica una metodología no invasiva que tampoco amenaza su número poblacional. Tanto la técnica como la obtención del material a analizar son sencillas con el entrenamiento adecuado y de costo accesible.

Los estudios ecofisiológicos generan información importante sobre la dinámica de las relaciones planta-animal, ya sean estas tróficas y/o reproductivas. Estos datos coadyuvan a evaluar el riesgo y daño de la producción antrópica de XNE (tanto naturales como sintéticos) sobre la naturaleza cuando se los libera (ecotoxicología en áreas naturales). Finalmente, los estudios sobre disrupción endócrina, ocasionada por XNE, permiten aplicar metodologías biológicas reversibles, poco invasivas y no quirúrgicas en el control reproductivo de mamíferos nocivos (*i. e.*, vampiros, perros callejeros, Serrano *et al.* 2007, 2010).

3. PARTE EXPERIMENTAL / MÉTODOS

Se realizó la captura dirigida para obtener machos adultos vivos de ambas especies, durante las temporadas seca y lluviosa del régimen pluvial, en el área de estudio respectiva. Para *Peromyscus difficilis felipensis* se usaron trampas Sherman, odorizadas con extracto de vainilla en el Parque Nacional Desierto de los Leones (PNDL): 19° 13' 49" N, 99° 15' 19" W, 1,800 msnm; Clima templado-húmedo. Vegetación con bosque templado mixto de coníferas y latifoliadas, Castro-Campillo 2008). Para *Artibeus jamaicensis* se usaron redes de niebla en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-Oaxaca) del Instituto Politécnico Nacional (Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán: 17° 1' 39" N, 36° 43' 11" W a 1,563 msnm. Clima tropical seco. Agricultura de riego (48.42% maíz, frijol y alfalfa, Salame-Méndez *et al.* 2012) y árboles frutales (níspero, guayaba, ciruela y dátiles); selva baja en los alrededores.

Los micromamíferos fueron colocados en bolsas para identificarlos, seleccionar a los machos adultos, medirlos y pesarlos. Los ratones adultos fueron reconocidos por la proporción cabeza-cuerpo y el patrón de coloración de su pelaje; en murciélago se usó la osificación de las epífisis metacarpales, miradas a trasluz. Se documentó la posición de los testículos (inguinal, escrotal). Las heces de cada individuo (n = 3-5) fueron recuperadas de las bolsas usadas para su manipulación y ser depositadas en un tubo Eppendorf con 500-600 µL de etanol al 70%.

La evaluación de XNE en las heces se hizo por cromatografía en capa fina (CCF), utilizando coumestrol (COU), zearalenona (ZEA) y genisteína (GE) de referencia (Sigma-Aldrich, San Louis, MO) como sigue: Cada tubo con heces en etanol, se agitó en vortex (Thermolyne®) y luego se centrifugó a 1,500 rpm/min a temperatura ambiente. De cada sobrenadante se tomó una alícuota de 100 µL que se transfirió a otro tubo Eppendorf al que se le agregó éter:cloroformo (2:1 v/v); los tubos se agitaron en vortex y la disolución se transfirió a otro tubo para evaporarla a sequedad; este procedimiento se realizó dos veces. Evaporada la disolución de extracción, se agregaron 50 µL de acetato de etilo:cloroformo (7:3, v/v) a los tubos, luego se agitaron en vortex y de esta disolución se tomó una alícuota de 1.5 µL que se aplicó a cromatoplasmas de vidrio (20 x 10 cm),

cubiertas con gel de sílice e indicador para absorción de radiación ultravioleta de 254 nm (Merck®). Las cromatoplasmas con los estándares de los tres fitoestrógenos y las muestras a analizar se introdujeron a un recipiente de vidrio *ad hoc* para cromatografía, previamente saturada con acetato de etilo:cloroformo (7:3 v/v) como fase móvil. La cromatografía se realizó a 25°C con humedad relativa del 35%. Al terminar, se sacaron las placas y se dejaron a temperatura ambiental dentro de una campana de extracción hasta que se evaporaron los disolventes orgánicos. Ya secas las cromatoplasmas, se observó la presencia de manchas fluorescentes en ellas dentro de un cuarto oscuro, mediante una lámpara de UV (UVGL-25. UVP, Inc. San Gabriel, CA), se marcaron los sitios de las manchas con lápiz y se determinó el Rf correspondiente.

4. RESULTADOS

Peromyscus difficilis felipensis.

SECAS						LLUVIAS					
13						10					
INVIERNO			PRIMAVERA			VERANO			OTOÑO		
13			8			7			6		
DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV
						Testículos escrotales					

Se obtuvieron 13 compuestos fluorescentes (CP) repartidos por temporada pluvial y estación como se muestra en el esquema de arriba. El número de CF fue mayor durante el invierno y la primavera, estaciones que quedan comprendidas dentro de la temporada seca.

De los analitos de referencia (GEN, COU y ZEA), solo en la primavera, el otoño y el invierno se encontró un CF con un Rf similar a la ZEA, el cual estuvo presente en dos meses invernales dentro de las secas, así como al final de la primavera y en el otoño, durante las lluvias. En el ratón, los testículos escrotales, y/o bien desarrollados, fueron más frecuentes desde el inicio de la primavera, al inicio de la temporada lluviosa.

Artibeus jamaicensis. Se obtuvieron 4 compuestos fluorescentes (CP) repartidos por temporada pluvial y estación como se muestra en el esquema de abajo. El número de CF fue mayor durante la primavera, seguida por el otoño y el verano. En las secas hubo más variedad de CF que en las lluvias.

SECAS						LLUVIAS					
3						2					
INVIERNO			PRIMAVERA			VERANO			OTOÑO		
0			3			1			2		
DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV
Testículos						escrotales					

No se encontró ningún CF con un RF similar a ninguno de los analitos de referencia (GEN, COU y ZEA). En el murciélago, los testículos escrotales, y/o bien desarrollados, fueron más frecuentes a finales de la primavera e inicio de la temporada lluviosa.

5. CONCLUSIONES

Confirmamos la presencia de un analito (ZEA) y de varios compuestos fitoquímicos fluorescentes desconocidos, que concuerdan con las estaciones y el régimen pluvial, así como con la actividad reproductiva de ambos micromamíferos. La presencia de estos compuestos fluorescentes en las heces de ambas especies, indica una eficiente capacidad de sus tejidos intestinales, y/o hepáticos, o de su flora intestinal, para metabolizar los posibles XNE. Por ende, aunque ingieren estos compuestos durante su época reproductiva, los eliminarlos evitando posibles interrupciones en sus respectivas fisiologías reproductivas.

La coincidencia temporal de fitoquímicos que pudiesen ser XNE (FTE, FGE) con la época reproductiva, genera más preguntas sobre la posible influencia que esas sustancias pueden tener en la fisiología del mamífero, ya sea como antioxidantes o como reguladores de su biología reproductiva.

Los resultados de estos estudios realzan la importancia de los trabajos sobre coevolución en la herbivoría, en donde se han documentado, entre otros, los efectos de la resistencia química de las plantas sobre el éxito reproductivo de sus consumidores animales y las respuestas de éstos para no ser afectados, a la par de las respuestas que implican algún beneficio, tanto para la planta como para el herbívoro.

En este nivel, la detección de FTQ y FGQ fluorescentes en las heces de estos micromamíferos, permite responder las preguntas planteadas y representa el primer paso a la posterior cuantificación de estas sustancias tanto en los ítems que consumen como en tejidos de las especies de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. N. R. Adams, "Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle", *J. Anim. Sci.*, Vol. 73, 1995, pp. 1509-1515.
2. A. A & M. Fishbein, "Plant defense syndromes", *Ecology*, Vol. 87, 7, 2006, pp. S132-49. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16922309>
3. B. Butkutė, N. Lemežienė, G. Dabkevičienė, V. Jakštas, E. Vilčinskas & V. Janulis, "Source of variation of isoflavone concentrations in perennial clover species", *Pharmacogn Mag.*, Vol. 10, 1, 2014, pp. S181–S188, doi: 10.4103/0973-1296.127373
4. L. Carrillo & S. E. Gómez-Molina, "Micotoxinas" in *Manual de Microbiología de los Alimentos* Cap. 9. [http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/9%20micotoxinas .pdf](http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/9%20micotoxinas.pdf)
5. A. Castro-Campillo., A. Salame-Méndez, J. Vergara-Huerta, J. Ramírez Pulido y A. Castillo, "Fluctuaciones de micromamíferos terrestres en bosques templados aledaños a la Ciudad de México, Distrito Federal" *En Avances en el Estudio de los Mamíferos de México*. II. (C. Lorenzo Monterubio, E. Espinoza Medinilla y J. Ortega, eds., AMMA C., CIBNOR, ECOSUR, UNAM, UAM, 2008). Cap. 20, pp. 391-410, México.
6. T. Cornwell, W. Cohick & I. Raskin, "Dietary phytoestrogens and health", *Phytochem.*, Vol. 65, 2004, pp. 995-1016.
7. M. A. Elobeid & D. B. Allison, "Putative environmental-endocrine disruptors and obesity: a review", *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, Vol. 15, 5, 2008, pp. 403-408.

8. G. S. Eriksen, "Effects of phyto- and mycoestrogens in domestic animals", in *Endocrine Disruptors* (The Norwegian Academy of Science and Letters, 2006), pp. 114-121.
9. J. S. Forbey, A. L. Harvey, M. A. Huffman, F. D. Provenza, R. Sullivan & D. Tasdemir, "Exploitation of secondary metabolites by animals: A response to homeostatic challenges", *Integra. Comp. Biol.*, Vol. 49, 3, 2009, pp. 314–328
10. W. J. Freeman & D. H. Janzen, "Strategies by mammals: the role of plant secondary compounds", *Amer. Nat.*, Vol. 108, 961, 1974, pp. 269-289.
11. M. D. García-Suárez, A. Lechuga-Corchado, J. L. Gómez-Olivares, A. Castro-Campillo, A. Salame-Méndez y H. Serrano, "Metabolitos secundarios vegetales con importancia natural y biomédica; fenilpropanoides, con actividad estrogénica (isoflavonas, lignanos, cumestanos y lactonas)", *Ciencia en la Frontera*, Vol. XII, 3, 2014, pp. 75-91.
12. A. Glover & S. J. Assinder, "Acute exposure of adult male rats to dietary phytoestrogens reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression", *J. Endocrinol.*, 189, 2006, pp. 565-573.
13. S. Krimsky, "An epistemological inquiry into the endocrine disruptor thesis". En: *Environmental Hormones: The scientific basis of endocrine disruption* (John A. McLachlan, Louis J. Guillete, Tsaisen Iguchi and William A. Toscano, Jr. editors, Annals of the New York Academy of Sciences, 2001). Vol. 948, pp. 130-142.
14. S. Mackova, R. Koblowska & O. Lapcik, "Distribution of isoflavonoids in non-leguminous taxa—An update", *Phytochem.*, Vol. 67, 2006, pp. 849-855.
15. A. Méndez-Albores & E. Moreno-Martínez, "Las micotoxinas: contaminantes naturales de los alimentos", *Ciencia*, julio-septiembre, 2009, pp.1-7.
16. F. Minervini & M. E. Dell'Aquila, "Zearalenone and reproductive function in farm animals". *Internl. J. Mol. Sci.*, Vol. 9, 2008., pp.2570-2584.
17. J. Ortega e I. Castro-Arellano, "Artibeus jamaicensis", *Mam. Spec.* Vol. 66, 2001, pp. 1-9.
18. A. L. Ososki & E. K. Kennelly, "Phytoestrogens: a review of present state of research", *Phytother. Res.*, Vol. 17, 2003, pp. 845-869.
19. C. M. Placinta, J. P. F. D'Mello & A. M. C. MacDonald, "A review of world-wide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins", *Anim. Feed Sci. and Tech.*, Vol. 78, 1999, pp 21-37.
20. A. M. Pacin, "Micotoxinas. Zearalenona: evaluación y riesgo de ingesta", *Énfasis Alimentaria*, Vol. 4, 2001, pp. 32-39.
21. C. M. Peralta Juárez, "Dieta de *Peromyscus difficilis* (Rodentia:Muridae) en un bosque templado en el Parque Nacional Desierto de los Leones, D. F." (Tesis de Maestría en Biología no-publicada. División de Ciencias y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, 2015), 275 pp.
22. J. Pérez, A. Aguilar, A. Villa y H. Serrano, "Detección de receptores estrogénicos beta en testículo de *Desmodus rotundus* mediante el uso de coumestrol", *Vet. Méx.*, Vol. 36, 4, 2005, pp. 469-474. 2005
23. J. Pérez, J. Martínez, M. Pérez, A. Aguilar y H. Serrano, "Efecto del coumestrol sobre la producción espermática y la conducta de exploración olfatoria de perros estimulados con moco vaginal estral" *Vet. Méx.*, Vol. 40, 1, 2009, pp.9-16.
24. J. J. Pérez-Rivero, A. Aguilar-Setién, J. J. Martínez-Maya, M. Pérez-Martínez y H. Serrano, "Los fitoestrógenos y el efecto de su consumo en diferentes órganos y sistemas de animales domésticos". *Agr. Tec.*, Vol. 67, 3, 2007, pp. 325-331.
25. D. Prakash & C. Gupta, "Role of phytoestrogens as nutraceuticals in human health", *Pharmacologyonline*, Vol. 1, 2011, 510-523.
26. Y. Y. Lenis Sanin, M. T. Gutiérrez Gómez & A. M. Tarazona Morales, "Efectos de los fitoestrógenos en la reproducción animal", *Rev. Fac. Agron.*, Vol. 63, 2, 2010, pp. 5555-5565.
27. K. M. Robertson, L. O'Donnel, E. R. Simpson & M. E. E. Jones, "The phenotype of the Aromatase Knockout Mouse reveals dietary phytoestrogens impact significantly on testis function", *Endocrinol*, Vol. 143, 8, 2002, pp. 2913-2021.

28. A. Salame-Méndez, A. Castro-Campillo, E. Mendieta-Márquez, I. H. Salgado-Ugarte, J. Herrera-Muñoz y J. Ramírez-Pulido "Evaluación estacional de la producción de esteroides sexuales en testículos del ratón de orejas oscuras (*Peromyscus melanotis* Allen y Chapman, 1897) de diferentes clases de edad", *Acta. Zool. Mex.* (n. s.). , Vol. 20, 2, 2004, pp. 103-114.
29. A. Salame-Méndez, A. Castro-Campillo, K. Olvera-Olvera, F. Huerta-García, J. J. Esquivel-Florencio, J. Haro-Castellanos, J. Ramírez-Pulido, J. L. Gómez-Olivares, M. D. García-Suárez, H. Serrano, y M. A. Briones-Salas, "Evaluación estacional de fitoestrógenos en heces de machos del murciélago frutero jamaicano (*Artibeus jamaicensis* Leich, 1821)", *Therya*, Vol. 3,1, 2012, pp. 21-39.
30. H. Serrano, J. L. Gómez-Olivares, E. Mendieta, A. Salame y M. D. García-Suárez, "Estrategias de control de la población canina", *Ciencia en la Frontera*, Vol. VIII, 2, 2010, pp. 21-31.
31. H. Serrano, J. J. Pérez-Rivero, A. Aguilar-Setién, O. de-Paz & A. Villa-Godoy, "Vampire bat reproductive control by a naturally occurring phytoestrogen", *Reprod Fertil Dev.*, Vol. 19,3, 2007, pp. 470-472.
32. D. M. Tham, C. D. Gardner & W. L. Haskell, "Potential health benefits of dietary phytoestrogens: A review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence", *J. C. E & M*, Vol. 83, 7, 1998, pp. 2223-2235.
33. L. U. Thompson, B. A. Boucher, Z. Liu, M. Cotterchio & N. Kreiger, "Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans, and coumestan", *Nutrition and Cancer*, Vol. 54, 2, 2006, pp. 184-201.
34. J. M. Vivanco, E. Cosío, V. M. Loyola-Vargas y H. E. Flores, "Mecanismos químicos de defensa en las plantas", *Inv. y Cien.*, 2005, febrero, pp. 68-75
35. E. Zhao & Q. Mu, "Phytoestrogen biological actions on mammalian reproductive system and cancer growth", *Sci. Pharm.*, Vol. 79, 2011, pp. 1-20.

PRODUCTOS QUÍMICOS EN EL HOGAR

Ana Yadira Ramirez Gaona¹, Paulina Rodríguez Pineda¹

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

RESUMEN

El presente proyecto refuerza el proceso enseñanza aprendizaje de los estudiantes de primer grado de ambos turnos de la preparatoria “Lic. Benito Juárez García” de la BUAP que cursan la asignatura de química, fortaleciendo la relación de los conocimientos adquiridos en el aula y los productos que utilizan cotidianamente, mismos que permiten al hombre llevar una vida más confortable.

El propósito de este proyecto es fomentar la cultura de la seguridad química, se reflexiona sobre el uso, manejo, almacenaje y desecho de restos de productos químicos presentes en el hogar a través de sus hojas de seguridad y de la información presente en las etiquetas de sus embaces, se concientiza sobre la vulnerabilidad de los miembros de la familia ante envenenamientos o exposiciones prolongadas de los mismos, con la finalidad de prevenir accidentes y riesgos a la salud, se promueve la reducción y reutilización de estos productos (en algunos casos), así como el almacenamiento adecuado, fomentando un consumo responsable ya que estos tienen un impacto económico en el presupuesto familiar, los cuales finalmente se convierten en residuos peligrosos, que dañan a nuestro planeta.

1. INTRODUCCIÓN

Son múltiples los productos químicos que se tienen en los hogares para innumerables usos, muchos de ellos con riesgos potenciales de producir accidentes e intoxicaciones, si es que no se tiene un debido cuidado en su uso y se mantienen alejados del alcance de los niños, los cuales son los más propensos a envenenamientos con este tipo de productos.

Los productos químicos utilizados en el hogar son de gran ayuda en la vida diaria, permiten rodear a las familias de una serie de comodidades en relación con la limpieza, alimentación y principalmente salud.

No obstante, el mal uso e incorrecto almacenaje que se hace de ellos ha propiciado que se produzcan accidentes y que se escuche con frecuencia que su uso está contribuyendo al deterioro del ambiente que nos rodea, como lo es de productos que han ocasionado deterioro de la capa de ozono de la estratosfera, la cual nos protege de las radiaciones UV; que los detergentes han terminado con la vida de peces en los ríos cercanos a las zonas urbanas; y así, se podrían continuar citando casos cuya problemática es real y seriamente preocupante.

Si bien son ciertos estos problemas, también es verdad que los insecticidas han colaborado a la erradicación de enfermedades y a elevar la calidad de productos agrícolas; que los tetrafluorocarbonos marcaron pautas en el área de la industria de la refrigeración, que la constante investigación en la producción de cada uno de estos compuestos ha permitido encontrar

estructuras químicas de insecticidas menos agresivos y que actualmente se fabrican detergentes biodegradables.

2. TEORÍA

Una sustancia química comprende toda clase de sustancia o materia que tiene una composición molecular química definida puede ser el resultado de la combinación de varios elementos constitutivos de la química.

Una sustancia es el resultado de una reacción química natural, es decir, que se produce en la naturaleza y se presentan en diversos estados, como el gaseoso, líquido y sólido. También se los conoce con el nombre de *Compuestos Químicos Puros* y de ellos se desprenden dos tipos de sustancias: sustancias puras y sustancias compuestas puras. Las sustancias también pueden clasificarse en *orgánicas e inorgánicas*, según sus componentes químicos y las operaciones naturales o intervenidas que realicen. Estas sustancias pueden ser clasificadas, en función de su peligrosidad, de la siguiente forma:

Inflamables: Son aquellas sustancias cuyos vapores arden con extraordinaria facilidad al mezclarse con el aire, bastando para ello una pequeña aportación de calor.

Tóxicas: Son aquellas sustancias que, al acceder al organismo, pueden ocasionar daños a la salud. Las vías de penetración son: la respiratoria, la dérmica y la digestiva.

Corrosivas: En este caso, el daño reside en la acción destructiva o irritante (necrosis) sobre los tejidos que entran en contacto con la sustancia.

Otros tipos de peligrosidad son los correspondientes a las sustancias nocivas o irritantes, que se identifican con aquellas sustancias que, al penetrar en el organismo por inhalación, ingestión o vía dérmica (piel) pueden entrañar, así mismo, riesgos para la salud, sin que sean consideradas tóxicas.

Existen otras sustancias, como las oxidantes, que pueden generar reacciones químicas peligrosas, como los ácidos. También debe ser objeto de consideración el peligro derivado de la inestabilidad o reactividad química de algunas sustancias.

Los criterios preventivos básicos para este tipo de productos son el etiquetado y las fichas de seguridad. Los envases contenedores de sustancias peligrosas deben ir etiquetados por el fabricante o proveedor. Las etiquetas deben indicar el nombre, la concentración y las propiedades de las sustancias, así como información correspondiente al fabricante o entidad comercializadora, y pictogramas, con indicación del tipo de peligro, además de los riesgos específicos y consejos de prudencia. Además, estas sustancias deben ir acompañadas de fichas informativas de seguridad. Un principio básico de seguridad es limitar las cantidades de sustancias peligrosas en los lugares de trabajo a las estrictamente necesarias. Las sustancias deberán ser almacenadas agrupándolas por comunidades de riesgo, depositándolas en recipientes seguros y herméticamente cerrados.

En todas las operaciones en las que intervengan sustancias peligrosas deberían establecerse procedimientos escritos de trabajo en los que se indiquen, junto a la secuencia de operaciones que se han de realizar, las debidas medidas preventivas

3. METODOLOGÍA

Se formaron equipos, los integrantes del mismo seleccionaron varios productos que usan o consumen en forma cotidiana en su hogar como son fármacos, artículos cosméticos, productos de limpieza y de aseo personal.

Investigaron el costo que implica cada uno de ellos y el impacto que tiene en su hogar.

Se procedió a la revisión de etiquetas de los envases para identificar las sustancias químicas que contienen, a que función química pertenecen (orgánica /inorgánica), su fórmula química, el costo del producto, la frecuencia de compra, el gasto en un mes y el impacto ambiental, procediendo a concentrar toda la información en una tabla (tabla 1).

Se procedió a la búsqueda en fuentes confiables de información la hoja de seguridad, de tres sustancias que les llamará la atención procedieron a completar la tabla 2 misma que rescata información relevante de cada una de las sustancias.

Finalmente elaboraron un ensayo y/o infografía con toda la información recopilada y en el que difundan sobre la importancia de conocer cuales sustancias químicas están contenidas en los productos que utilizamos en la vida cotidiana misma que fue evaluado a través de una rúbrica.

Tabla 1

PRODUCTOS DE LIMPIEZA							
Nombre del producto	Sustancia química	Orgánica/ inorgánica	Fórmula	Costo	¿Cuántas veces al mes lo compras?	Gasto total en un mes	Impacto ambiental

Tabla 2

SUSTANCIA No. __	
IDENTIFICACION	
SINONIMOS:	
USO:	
FORMULA :	
PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS	
APARIENCIA	
PROPIEDADES FISICAS	
PROPIEDADES QUIMICAS	
PRIMEROS AUXILIOS	
Información Toxicología	
INFORMACION ECOLOGICA	
CONCIDERACION DE ELIMINACION	
BIBLIOGRAFIA FORMATO APA	

4. RESULTADOS

En general todos los productos analizados en este trabajo mostraron riesgos, principalmente al darle un uso inadecuado a los productos. También se observó que los productos que ocupamos

cotidianamente contienen compuestos químicos algunas veces tan comunes como el cloruro de sodio (la sal común) o muy complejos como el óxido de titanio, compuestos que a veces no nos pasaría por la cabeza que estuvieran presentes en estos productos. Los insecticidas, fue una de las sustancias que se estudiaron y los resultados arrojaron gran toxicidad y al mismo tiempo un gran daño al medio ambiente. En la tabla tres se mencionan algunos productos químicos que los alumnos utilizan en sus hogares comúnmente y el gasto mensual que esto implica.

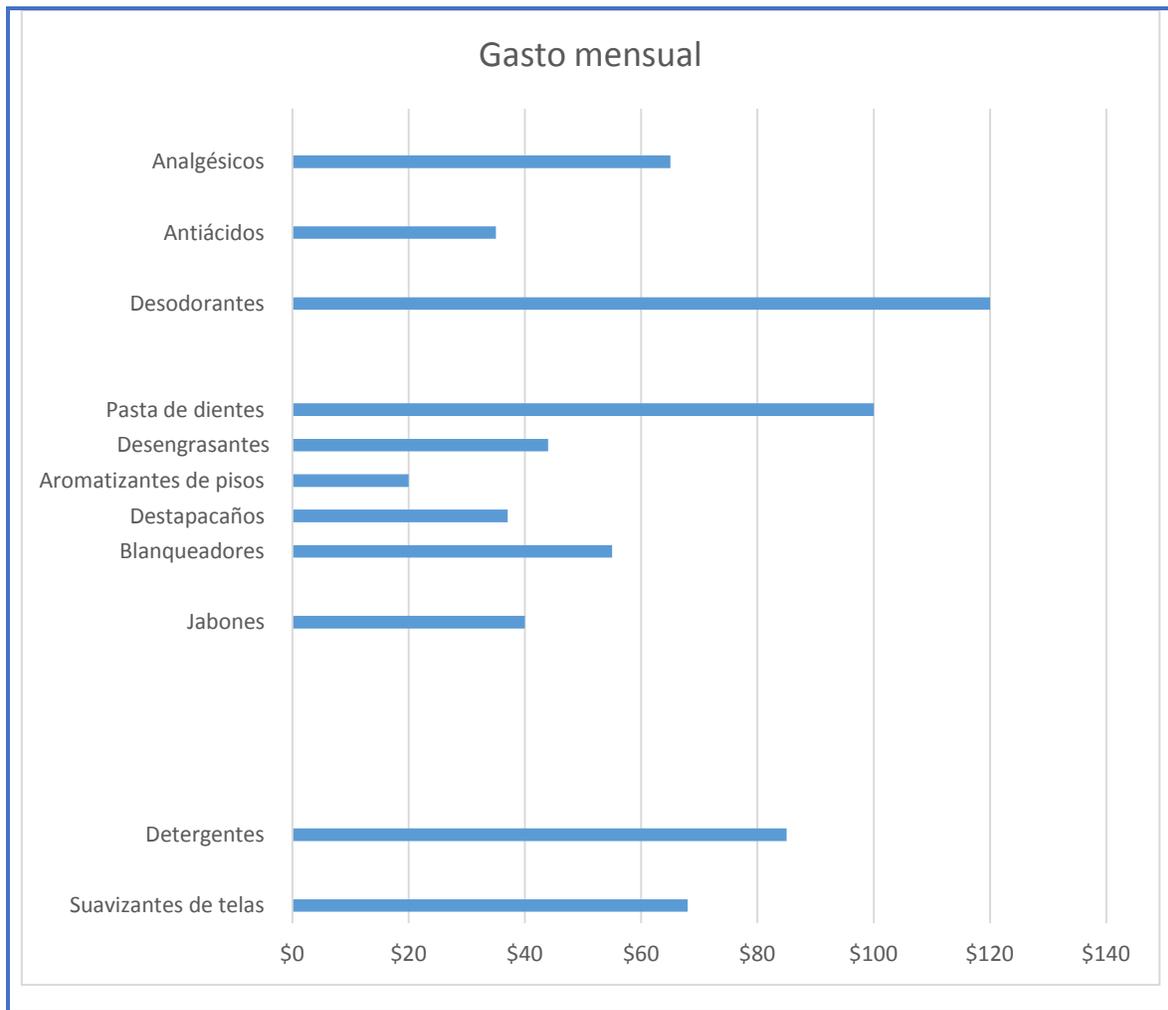
Tabla 3. Algunos productos utilizados en el hogar

No.	Producto	Ejemplo de componente químico	de	Peligros del componente químico	Aplicaciones	Gasto mensual
	Suavizantes de telas	Cloruro de amonio	de	Nocivo por ingestión e irritante de ojos	Productos de limpieza	\$68
	Detergentes	Lauril Sulfato de sodio		Irritante en piel (enrojecimiento), ojos, dolor.		\$85
	Jabones	Hidróxido de sodio	de	Corrosivos e irritantes a la piel, ojos y vías respiratorias	Productos de aseo	\$40
		Hidróxido de potasio	de	Nocivo en caso de ingestión, quemaduras en piel y lesiones en los ojos.		
	Blanqueadores	Hipoclorito de sodio	de	Destrucción de membranas, tracto respiratorio, ojos y piel	Productos de limpieza	\$55
	Destapa caños (ácido muriático)	Ácido clorhídrico		Provoca quemaduras e irrita vías respiratorias		\$37
	Aromatizantes de pisos (fabuloso, pinol)	Alcohol isopropílico		Irritación en ojos, tracto respiratorio y piel, nocivo en caso de ingestión.		\$20
	Desengrasantes	Hidróxido de amonio	de	Corrosivo para la piel, irritante de ojos y fosas nasales		\$44
	Pasta de dientes	Fluoruro de sodio	de	Irritación de la piel, ojos y gastrointestinal.	Productos de aseo	\$100
	Desodorantes	Glicerina		En caso de ingesta dolor abdominal, en caso de contacto con los ojos, enrojecimiento, dolor, vista borrosa.		\$120
	Antiácidos	Hidróxido de aluminio	de	En ojos y vías respiratorias causa irritación.		\$35
	Analgésicos	Ibuprofeno		Enrojecimiento en piel y ojos.	Medicamentos	\$65
		Ácido acetil salicílico				

Como se puede observar en productos de limpieza, de aseo y medicamentos que utilizamos frecuentemente se encuentran presentes productos químicos que causan daño a la salud de los seres vivos, y que el uso cotidiano no nos permite ser conscientes de esto; y del impacto económico que tienen estos productos en la sociedad.

Se puede observar en la siguiente gráfica que tenemos un gasto fuerte en desodorantes, pasta de dientes y detergentes por ejemplo; si hacemos un balance en desodorantes las familias en promedio gastan \$120.00 pesos mensuales si multiplicamos este por los 12 meses del año tenemos un gasto de \$1,440 por familia y tan solo en un grupo de 38 alumnos tenemos un gasto de \$54,720, y así podemos ir sumando las cantidades y lograremos ver que realmente es impresionante el impacto económico que tienen estos productos en la sociedad.

Gráfica 1. Promedio de gasto mensual de productos más utilizados en el hogar



5. CONCLUSIONES

Cuando se adquieren diversos productos debemos revisar las etiquetas de los productos y realizar una evaluación de la información, los cuidados en su manejo y si son adecuados para nuestra salud.

El generar una conciencia de prevención en los estudiantes, debido al uso de diversos productos que se utilizan de manera cotidiana en el hogar puede disminuir el número de accidentes ocasionado por el uso indiscriminado de estas sustancias.

Sería conveniente evitar o reducir el uso de determinados productos, siempre que sea posible, ya que así se reduce el riesgo de algún envenenamiento, se ahorra dinero y se mitiga la cantidad de desechos peligrosos en el hogar.

El colocar productos químicos en sus envases originales y no en el de alimentos y bebidas, esto previene el ser ingeridos accidentalmente.

Finalmente debemos reflexionar acerca de todo el cambio que sucede en nuestro planeta, ya que esta es una causa relacionada con la contaminación, como la del agua, por lo que necesitamos comprender e intentar realizar un cambio radical en nuestro estilo de vida.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alas P.E. "La química y la vida", Sección de Publicaciones de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. Universidad Politécnica de Madrid, 2003, Pp.73- 80
2. D. Wigle, T.E. Arbuckle, "Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants" J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2008 May;11(5-6):373-517.

ANÁLISIS Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE FORMULACIONES DE BIOPLAGUICIDAS A BASE DE CONIDIAS DE *Metarhizium anisopliae*

María Sonia Hernández Duarte¹, Jorge Humberto Zúñiga Contreras², José Armando Rodríguez Hernández³, Carlos Bancalarí Organista¹

¹ Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. ² Centro Universitario de la Ciénega. Universidad de Guadalajara. ³ Centro Universitario de Ciencias de la Salud; Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

La creciente necesidad de reducir el uso de agroquímicos para el control fitosanitario hace necesario desarrollar tecnologías que permitan de forma fácil, económica y efectiva obtener productos a partir de microorganismos, insectos o nematodos con calidad y en cantidades suficientes para su aplicación masiva en las áreas de cultivo. (Fernández-Larrea, 2003).

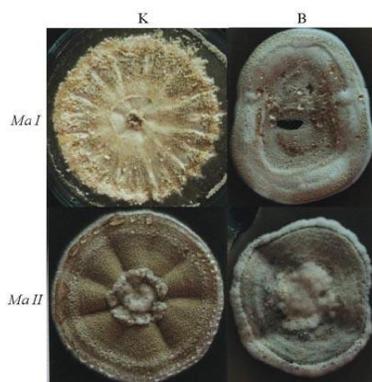
El interés por los Hongos Entomopatógenos como una alternativa para manejar insectos plaga en los cultivos, viene en ascenso, no sólo en Latinoamérica (Monzón, 2001; Pérez, 2003), sino en todo el mundo (Stolz, 1999).

Palabras claves: Insecticidas. Hongos, cultivos, patogenicidad, medio ambiente, plaga, viabilidad, formulaciones.

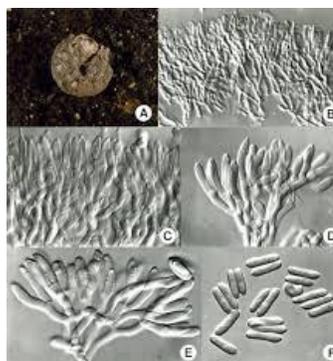
Summary

The growing need to reduce the use of agrochemicals for phytosanitary control makes it necessary to develop technologies that allow easy, economical and effective way to obtain products from microorganism, insects or nematodes quality and in sufficient quantities for mass application areas culture. (Fernandez -Larrea, 2003).

Interest entomopathogenic fungi as an alternative for managing insect pests in crops, is on the rise, not only in Latin America (Monzón, 2001; Pérez, 2003) , but around the world (Stolz , 1999).



Hongos Entomopatógenos



Conidias De Metarhizium Anisopliae

1. ANTECEDENTES

Desde el inicio de la agricultura, la humanidad ha sufrido el ataque de plagas en sus cultivos las cuales provocan pérdidas económicas en los mismos. Consideramos plagas, a todos aquellos organismos (animales, patógenos de plantas o malas hierbas) que nos causan un daño al disminuir la disponibilidad, la calidad o el valor de las plantas cultivadas para un alimento, fibra o placer (Flint & Van Den Bosch, 1981).

Aunque es difícil hacer estimaciones precisas de las pérdidas en los cultivos, se acepta que las plagas son responsables, a nivel mundial, de pérdidas en torno al 35% de las cosechas en pre-recolección y del 10% en post-recolección y estas cifras pueden aumentar considerablemente en las regiones tropicales y subtropicales. Por organismos, las pérdidas en pre-recolección se deben en un 12% a insectos y ácaros, en un 12% a patógenos, en un 10% a malas hierbas y en un 1% a otros animales (Van Lenteren, 1994).

La mayoría de las plagas son insectos, lo que no es de extrañar ya que éstos forman el conjunto natural más extenso que se conoce con más de 1'000,000 de especies descrita en la actualidad, lo que se representa casi un 85% del reino Animal (Davies, 1991). De este gran número de especies, se considera que son plaga únicamente unas 10,000 a nivel mundial (Van Lenteren, 1994). De estas especies, 600 nos causan daños lo suficientemente graves como para requerir medidas de control anuales con el fin de obtener una rentabilidad económica en los cultivos afectados (Schwartz & Klassen, 1981).

Ante esta situación, el hombre fue desarrollando algunas estrategias para su control como la manipulación intencional de las poblaciones de los enemigos naturales de los insectos plaga para limitar su población: A estos organismos se les llama agentes de control y parásitos, así como microorganismos entomopatógenos entre los que figuran hongos, bacterias y virus (De la Torre, 2002). El Control Biológico es una técnica muy antigua. La primera referencia que se tiene viene de China (año 324 a. de c.) y alude al uso de hormigas (*Decophylla smaradigma*) para controlar orugas y coleópteros en cítricos. En Europa se empieza a hablar de ella a partir de principios del siglo XVIII, proponiéndose el uso de crisopas para luchar contra los pulgones en invernadero. Un siglo más tarde se libera por primera vez un enemigo *Lymantria dispar* en choperas, y se habla de la importancia de usar la hormiga *Formica rufa* y de proteger a los pájaros insectívoros creando refugios artificiales, para controlar las plagas defoliadoras en frutales.

Estas investigaciones fueron perdiendo importancia desde 1930 tras el descubrimiento de los insecticidas químicos, compuestos que originalmente fueron concebidos como armas químicas; como resultaron ser mucho más rápidos, baratos y con un espectro de acción más amplio que los enemigos naturales de los insectos, su uso se extendió rápidamente (Fig. 1).



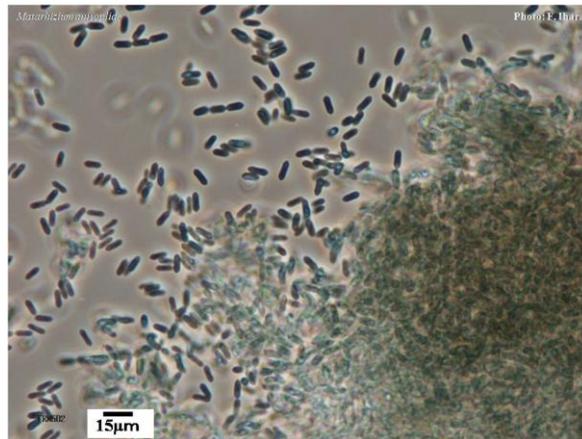
Fig. 1 Fumigación con pesticidas.

Para principios de 1950 los insecticidas organoclorados y organofosforados se habían vuelto una herramienta imprescindible para la agricultura, iniciando con el uso del DDT (*Dicloro Difenil Tricloroetano*), en Suiza, Malathion y Parathion en Alemania y Dieldrin en Estados Unidos de Norteamérica. Debido a la falta de biodegradación de estos compuestos y a su subsecuente permanencia acumulativa en la cadena alimenticia los estragos ambientales se volvieron evidentes; como revelo Rachel Carson en 1962 con su libro “Silent Spring” en el cual demuestra como aves de presa y otros vertebrados se vieron afectados por la acumulación de DDT mostrando un bajo nivel reproductivo y permitiendo la proliferación de nuevas plagas. Llevando, en 1973 a la prohibición del uso del DDT en EUA y Europa, y al desarrollo de nuevos compuestos como los biopesticidas sintéticos. Los cuales, por su uso indiscriminado, fueron creando resistencia en los insectos.

Esto ha generado mucha preocupación en el ámbito mundial limitando la aplicación de los insecticidas químicos y retomando formas de control, efectivas y menos contaminantes como el control biológico. Esto aunado a los problemas de resistencia que han desarrollado los insectos a los pesticidas químicos, al interés de producir alimentos libres de residuos de productos químicos, de conservar el medio ambiente libre de contaminantes y de preservar la diversidad de especies que sufren el impacto negativo de los insecticidas.

Recientemente los hongos entomopatógenos han cobrado interés no solo en países de primer mundo (Stolz, 1999) sino en Latinoamérica (Monzón, 2001); Pérez, 2003); por la posibilidad de producción masiva y de formulación en preparados estables que permiten su almacenamiento por largo tiempo preservando su viabilidad, patogenicidad y brindando la oportunidad de comercializarlos como biopesticidas. La producción, formulación y aplicación de los hongos entomopatógenos viene en desarrollo utilizando los métodos de la industria Farmacéutica y productos químicos.

Los hongos entomopatógenos se comenzaron a utilizar como agentes de control de insectos desde finales de 1800. Uno de los descubrimientos más importantes se llevó a cabo en Rusia por Elie Metschnikoff con el aislamiento de *Metarhizium anisopliae* (Fig. 2) en 1879, quien hizo las primeras producciones masivas y experimentos para controlar plagas de trigo ocasionada por el escarabajo *Anisoplia austriaca*, Herbst y de la remolacha azucarera *Cheonus punctiventris*, Germ.(Posada, 2002). *Metarhizium anisopliae* es un hongo que pertenece a la clase de los Hyphomicetos, que en ese entonces era conocido como; *Entomophthora anisopliae* (Leland, 2001), *Metarhizium anisopliae* es un agente de control de amplio espectro, causante de una enfermedad que termina con la muerte del insecto conocida como “*Muscarina verde*”.



(Fig. 2 *Metarhizium anisopliae*).

En la actualidad se producen Conidias de *Metarhizium anisopliae* en sustratos sólidos como: arroz húmedo y estéril, que directamente son usados como gránulos naturales (Monzón, 2001) o removidas del arroz por tamizado y formuladas en polvo, en otro gránulo o concentradas en aceite.

En Jalisco, el problema de plago de la raíz tiene más de 40 años y durante ese tiempo la única opción de control usada por los agricultores ha sido el químico, mediante la aplicación de insecticidas líquidos, en polvo, impregnando la semilla y granulados.

En Jalisco y otras entidades vecinas existen diversas empresas que comienzan a producir y comercializar hongos entomopatógenos.

A pesar de las ventajas de los mico insecticidas una de las principales causas por las que no se ha dado a conocer la aplicación masiva de entomopatógenos es por falta de difusión.

Los insectos, al igual que los demás organismos son susceptibles a enfermedades causadas por una amplia variedad de organismos patogénicos tales como bacterias, hongos, protozoos, etc. Algunos de ellos con gran potencialidad de uso en el control biológico de insectos plagan. Para completar su ciclo de vida, la mayoría de los patógenos deben entrar en contacto con el hospedante, penetrarlo, reproducirse en los tejidos del hospedante y emitir propágulos los cuales van a entrar en contacto con nuevos hospedantes para repetir el ciclo (Fig. 3). A diferencia de los parasitoides, depredadores y muchos parásitos, los patógenos carecen de estados móviles que les permitan realizar la búsqueda de sus hospedantes en forma activa y así la posibilidad de entrar en contacto con el hospedante es en forma pasiva siendo dispersados por diferentes medios



Figura 3. Los hongos entomopatógenos infectan a un insecto sano y le causan una enfermedad que le produce la muerte. Foto: Milos Villarís.

Entre los agentes causales de enfermedades en insectos se encuentran hongos, bacterias, nematodos, protozoarios y rickettsias, los cuales se desarrollan a expensas del hospedante, causando modificaciones en la fisiología interna del mismo, hasta ocasionar su muerte. La experiencia adquirida desde los últimos tiempos con las investigaciones realizadas en este campo, ha permitido establecer algunos principios básicos para la aplicación del control microbiológico en la agricultura. Según Hurpin, estos principios se basan en los conocimientos sobre los siguientes aspectos:

Las propiedades patológicas y epizootiológicas de los organismos considerados.

La sensibilidad del insecto

Las características ecológicas del medio en el cual se desarrollan

Las necesidades agronómicas y económicas establecidas para los cultivos

En general, las fases que desarrollan los hongos sobre sus hospedantes son: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración colonización y reproducción. El inoculo o unida infectiva está constituido por las estructuras de reproducción sexual y asexual, es decir las esporas y Conidias (Fig. 4).

Los primeros microorganismos que se encontraron causando enfermedad en insectos, fueron los hongos por su crecimiento macroscópico sobre la superficie de sus hospederos. Algunos hongos entomopatógenos sin embargo no producen crecimiento superficial o producen muy poco. La mayoría son patógenos obligados o facultativos y algunos son simbióticos. Su crecimiento y desarrollo están limitados principalmente por las condiciones ambientales externas en particular, alta humedad y temperatura adecuada para la esporulación y germinación de esporas. Las enfermedades causadas por estos hongos son denominadas “*micosis*” (Tanada and Kaya 1993).



Fig. 4 Ciclo de vida de los hongos Entomopatógenos

2. METODOLOGIA BIBLIOGRAFICA

Una buena formulación es la base para el éxito de un bioplaguicida de origen microbiano, la posibilidad de obtener productos adecuados depende de las propias características del microorganismo y su relación con los componentes de la formulación (excipientes) y el ambiente de almacenamiento (Tey et al., 1995).

Para el desarrollo de nuevos productos de origen biológico se deben tener en cuenta diferentes aspectos: primeramente definir un medio de cultivo óptimo y el mejor sistema para la obtención

masiva de inóculo que permita una buena relación costo-rendimiento en la producción, establecer ensayos de producción a pequeña escala, garantizar la estabilidad del producto y determinar las condiciones de almacenamiento; poder utilizar la maquinaria *estándar* de cualquier explotación agrícola para su aplicación y ser efectivo, a una dosis parecidas a las utilizadas para los agroquímicos así como bioensayos de laboratorio, invernadero y campo que confirmen la efectividad del producto una vez formulado (Carballo, 1998).

Es de vital importancia confirmar que la cepa de *Metarhizium anisopliae* tenga capacidad necesaria para infectar al insecto en cuestión, para esto es indispensable realizar un estudio minucioso que confirme su patogenicidad y virulencia.

Dicho estudio comprende los siguientes pasos:

Obtención del hospedante

Obtención de hongo entomopatógeno

Evaluación de patogenicidad y virulencia

Crecimiento y producción de cepas en medio agarizado

OBTENCIÓN DEL HOSPEDANTE

Recolectar 1000 individuos vivos en sus diferentes estadios (adulto, ninfas y huevos) del insecto (Fig. 5). Todos los insectos se mantienen en cuarentena en el lugar de origen durante una semana para su adaptación al cautiverio y luego son enviados al laboratorio donde permanecen en jaulas, en una segunda etapa cuarentenaria por 15 días, a $30\pm 1^\circ\text{C}$ y fotoperiodo 14:10. Los insectos son alimentados diariamente con una dieta adecuada. Los desechos deben ser removidos diariamente.



Fig. 5 Capulín Melanoplus differentialis

OBTENCIÓN DE HONGOS ENTOMAPATÓGENOS

Parte de los insectos recibidos se mantienen en condiciones de alta densidad, para estimular la expresión de las infecciones latentes que pudieran traer del campo, tal como lo indican McCoy et al. (1988) y Shah et al. (1997). Luego que los insectos murieren bajo estas condiciones, son colocados en cámaras húmedas, preparadas con recipientes herméticos conteniendo una porción de algodón humedecido en agua destilada estéril. Posteriormente, se determina cuáles son los agentes infectivos mediante análisis microscópico y microscópico respectivamente (Fig. 6).



Fig. 6 Insecto hospedante infestado con el hongo entomopatogeno *Metarhizium anisopliae*

Las cepas de *Metarhizium anisopliae* se obtienen mediante el aislamiento monospórico de acuerdo con la técnica descrita por Lecuona (1996). Para *Metarhizium anisopliae* se prepara un medio de cultivo de PDA. El medio se esteriliza a 121 °C durante 20 minutos y vierte en cajas de Petri en una cámara de flujo laminar vertical.

El aislamiento monospórico se realiza utilizando un asa bacteriológica, se toma una fracción del hongo presente sobre el cuerpo del insecto y se dispersa en forma de estrías sobre el medio de cultivo, lográndose de esta manera un crecimiento en masa al inicio y colonias separadas, al final. Posteriormente, cada colonia se siembra individualmente en tubos con medio de cultivo agarizado (pico de flauta) y se incuba durante 15 días en una estufa de cultivo a 26 ±1 °C., se almacena en refrigeración a 4 °C hasta el momento de su utilización en ensayos de patogenicidad y virulencia.

EVALUACIÓN DE PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA SOBRE EL INSECTO.

Se evalúa la patogenicidad y virulencia de todas las cepas de *Metarhizium anisopliae*. En todos los casos, el patógeno se suministra en una Porción de alimento previa inmersión en una suspensión en agua destilada estéril del orden de 1×10^8 conidios/ml, equivalente a 1×10^6 conidios/insecto. Con cada una de las cepas, se tratan 10 individuos, los cuales son mantenidos en recipientes individuales y colocados en estufa de cultivo a 26 ±1°C y 12 horas fotofase. Cuando el alimento

contaminado fue consumido, 24 horas después, se les alimenta con dieta sin hongo y se registran los insectos muertos hasta que el último de los individuos de cada tratamiento muera. Se colocan en cámara húmeda para confirmar la micosis (26°C durante 7 días) y con la información obtenida, se realiza un análisis estadístico de sobrevivencia.

CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE CEPAS EN MEDIO AGARIZADO.

Para determinar el crecimiento radial y la producción de conidios de las cepas, se siembran (3 ml de una suspensión de 1×10^7 conidios/ml de cada uno de los aislamientos) en el centro de una caja de Petri, con medio de PDA. Todas las cajas son mantenidas en estufas de cultivo a 26°C durante 9 días. Para cuantificar el crecimiento de las colonias, se realizan mediciones con una regla milimetrada sobre dos diámetros perpendiculares en la base de las cajas de Petri. Se consideran 4 repeticiones por cepa y posteriormente cada colonia se suspende en 10 ml de agua destilada con Tween 80 (polisorbato de sodio) al 0.1 %. Se cuenta el número de conidios totales, utilizando una cámara de Neubauer, lo que permite determinar la producción promedio de conidios por mililitro para cada aislamiento.

Estos datos se transforman a logaritmo y luego se analizan mediante el análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Truckey ($\alpha=0.05$).

3. ELABORACIÓN DE FORMULACIONES

La formulación del hongo es el proceso mediante el cual el ingrediente activo, es decir las Conidias del hongo, se mezclan con materiales inertes, tales como vehículos, solventes, emulsificantes y otros aditivos. Estos materiales inertes ayudan a que el hongo trabaje mejor, todo esto se hace con el fin de lograr una buena homogeneidad y distribución de las partículas del hongo, para poder ser manipuladas y aplicadas adecuadamente. Para ser formulado, la variabilidad del hongo no debe ser menor de 95% y el contenido de humedad debe estar entre 4 y 6%. A temperatura ambiente las Conidias mantiene su viabilidad por más tiempo cuando el hongo ha sido formulado que cuando se almacena el polvo sin formular.

Hay dos tipos de formulaciones:

1.- Seca o polvo mojable.- En la cual se utiliza un vehículo, el cual puede ser de origen mineral o vegetal, que ayuda a absorber la humedad de las Conidias y mantiene la viabilidad por un tiempo considerable.

2.- Líquida o emulsificable.- _Que utiliza un líquido solvente y un emulsificantes. El líquido utilizado tiene la función de mantener suspendidas las Conidias en el medio para lograr una mezcla homogénea que garantice una buena aplicación. Además este líquido debe evitar la absorción de agua por las Conidias y mantener su viabilidad. Ambas formulaciones son de fácil manejo y su uso depende de la disponibilidad.

Los materiales utilizados en la formulación deben presentar algunas características tales como:

No deben tener actividad biológica (efecto sobre animales o plantas)

Debe ser inocuo al ambiente

Debe presentar características físicas adecuadas para mezclarse con la Conidias

Debe facilitar la aplicación del producto

No debe afectar la actividad del hongo

Debe ser económicamente rentable

4. CONCLUSIONES

Después de la revisión bibliográfica acerca del tema se concluyó que el desarrollo de agentes de control biológico y las investigaciones acerca de su uso han sido muy escasos.

Los bioinsecticidas están empezando a sumir un papel importante en el campo de la agricultura sostenible. La aplicación de los biocontroladores permite lograr buenos rendimientos de las cosechas sin perjudicar al ecosistema.

El objetivo de una formulación a base de hongos entomopatógenos es aumentar la estabilidad durante el almacenamiento y después de la aplicación. Las propiedades físicas y biológicas de la formulación deben permanecer estables por un tiempo de 12 meses, pero es recomendable que se mantengan durante 18 meses para permitir su comercialización. Además de mejorar la adhesión a la cutícula del insecto; aumentar o mantener la virulencia y permitir su aplicación con equipos de volumen ultrabajo.

Las formulaciones de granulados y polvos humedecibles a base de Conidias de *Metarhizium anisopliae* son las que mayor éxito han tenido en el mercado, aunque solo en países de primer mundo, ya que en México es necesario realizar más investigaciones en esta área, a fin de obtener formulaciones de mayor estabilidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Abreu, O. C.; P.J. Valarini; B. P. Bastos Cruz; D. A. Olivera; D. Gabriel; B. P. Cruz Bastos and Dalva Gabriel. 1987. Studies of the effect of storage conditions on the viability and pathogenicity of spores of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin. Entomology Newsletter, No.18, Pág. 2.
2. Adamek, L. 1965. Submersed cultivation of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor. Folia Microbiológica. 10: pág. 225-257.
3. Balaraman K. et. al., 1979. Insolation of *Metarhizium anisopliae* *Beauveria tenella* and *Fusarium Oxisporum* (Deuteromycetes) and their pathogenicity to *Culex Fatigans* and *Anopheles Stephensi*. Indian J. Med. Res. 70: pág 718-822.
4. Bateman, R. P 1997. The development of mycoinsecticide for the control of *locusts* and *grasshoppers* Outlook on agriculture 26, Pág. 13-18.
5. Charnley, A. 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. In: Invertebrate-microbial Interactions. Anderson, J.; Rayner, A. And Walton, D. Cambridge University press. Cambridge. Pág. 229-270.
6. Correa, G.S.; e J.L. De-Azevedo. 1986. Influencia da radiacao solar na viabilidade de conidios de *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin. Revista de Agricultura Piracicaba Brazil. 61: 2, Pág. 119-130.
7. David, Y.A. et.al (1967) Importance des plantes hôtes alternatives et des ennemis naturels indigènes dans le contrôle biologique de *maruca testulalis* Geyer (Lepidoptera; Pyralidae), Ravageur de vigne unguiculata walp, these Quebec. Pag.167
8. De la torre, Mayra, Ali Asaff Torre, Yolanda Vidal Reyes y V. Erick. López y López. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. XXX Aniversario de Biotecnología y Bioingeniería. Pag. 1.
9. Fernández-Larrea, Vega Orienta. 2003. Tecnologías para la producción de biopesticidas a base de hongos entomopatógenos y su control de la calidad. Laboratorio de Hongos

- Entomopatógenos INISAV, calle 110 y 5ta, B # 514 Playa Ciudad de la Habana Cuba. Pág. 1-2.
10. García, A; T. Vazquez; T. Perez y M. Lujan. 1990. Efectividad de los hongos entomopatogénos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en suspensiones conidiales individuales y mezclas de ambos sobre *Lissorhoptus brevis*. Ciencia y Técnica en la agricultura, Arroz. 13: 1-2. Pág. 29-38
 11. Lecuona, R. E; B. Papierock y G. Riba. 1996 Hongos entomopatógenos. En Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas, Taller grafico nacional Mariano Más, buenos Aires, Argentina. Pag. 143-150.
 12. Lezama, G: R: 1992. Biología y aplicación de los hongos entomopatógenos. Memorias del III Curso de Control Biológico Facultad de Agronomía. Universidad nacional Autónoma de México. Pag. 166.
 13. López, M.J.E. 1999. Bacterias entomopatógenos. X Concurso Nacional de Control Biológico. Memoria. Colegia de Postgraduados, Montecillos. Edo. De México del 25 al 27 de Octubre.
 14. Metcalf, L:R: y Luckmann, H:W: 1990. Introducción al manejo de plagas de insectos. Editorial Limusa.
 15. Monzón, Arnulfo. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua Avances en el fomento de productos fitosanitarios No-Sintéticos Universidad Nacional Agraria de Nicaragua. Managua, Nicaragua. Pag.1
 16. Pantoja, A. 1997 Artrópodos relacionados con el arroz en América Latina. En: Manejo Integrado de plagas en arroz. Fundación Polar. FEDEARROZ-FLAR-CIAT. Pag. 60-62.
 17. Pérez, C. Nilda. 2003. Control Biológico, bases de la experiencia Cubana Centro de Estudios de agricultura Sostenible del Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana (CEAS-ISCAH), Pag. 1.
 18. Posadas, F: Francisco J. Gabriel M. Saldarriaga R. Juan C. Ortiz F., Patricia Marín M., Sulma N: Gil., Enia Vélez A. y Alex E. Bustillo P. 2002. Colección de hongos entomopatógenos; conocimiento de la Biodiversidad y Recursos Biológicos para el Manejo de Plagas. Disciplina de Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de café, CENICAFE, Chinchina, Caldas, Colombia. Pag. 1-2

COMPORTAMIENTO DE MATERIA ORGÁNICA Y PH CON LA PROFUNDIDAD DEL SUELO

Juan Luis Mora Rosas¹, María Alcalá De Jesús¹, Ma. Salud Rosas Murillo¹

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología. Av. Francisco J. Mújica. Col. Felicitas del Río, Morelia, Mich.

RESUMEN

De manera natural, la materia orgánica (MO) llega al suelo como producto de la desintegración de residuos orgánicos vegetales, su concentración es más alto en los estratos superficiales y menor en la profundidad del suelo. La literatura menciona que el pH es más ácido en donde la MO es alta, sin embargo, este comportamiento también depende del material de origen del suelo. La MO y el pH son indicadores de la fertilidad y sanidad del suelo, motivo por el que es importante saber si estas propiedades se encuentran en los niveles y la profundidad adecuados para las plantas. El objetivo fue determinar el contenido de MO y el pH de un suelo agrícola en una parcela del municipio de Indaparapeo, Mich. Se realizó un corte de suelo a 1.20 m de profundidad; se tomaron muestras de suelo por cada horizonte. Se determinó la MO por combustión húmeda (Walkley-Black) y el pH en agua relación 1:2.5. En los primeros 40 cm la MO es 6.4% y desciende gradualmente a 4.6% a los 120 cm de profundidad; el pH se mantiene neutro (7.2) en los primeros 60 cm e incrementa a medianamente alcalino (8.3) hasta los 120 cm. En todo el suelo, la MO muy alta y el pH neutro favorecen a gran variedad de cultivos. Entre estas propiedades se presentó una relación inversa, a mayor MO el pH fue menor y éste último pudo llegar a ser alcalino en la profundidad, debido al material de origen del suelo rico en cationes.

1. INTRODUCCIÓN

La MO y el pH son indicadores de la fertilidad y sanidad del suelo (Sainz, 2012), se encuentra en grandes cantidades en los suelos de zonas bajas y planas como en los valles. De acuerdo con la literatura, la MO presenta una estrecha relación con el potencial de hidrógeno (pH) al regular el grado de acidez o alcalinidad. La relación entre éstos parámetros es importante porque sirven de referencia para conocer la disponibilidad, solubilidad y movilidad de los nutrientes para las plantas (Ibáñez, 2016). Para el municipio de Indaparapeo, Mich., se carece de información de este tipo, razón por la que en el presente trabajo se propone determinar el contenido de MO y su relación tanto con el pH como con la profundidad de un suelo agrícola. La MO se obtiene a través del método de combustión húmeda y el pH, medido en potenciómetro en relación agua suelo 1:2.5.

2. ÁREA DE ESTUDIO

El sitio se encuentra en una parcela agrícola al noroeste del municipio de Indaparapeo, Mich. en una parte baja y plana. Tiene una altitud de 1926 m. Se localiza entre las coordenadas 19°48'0.20" de latitud N y 100°58'35.15" de longitud W (Figura 1).

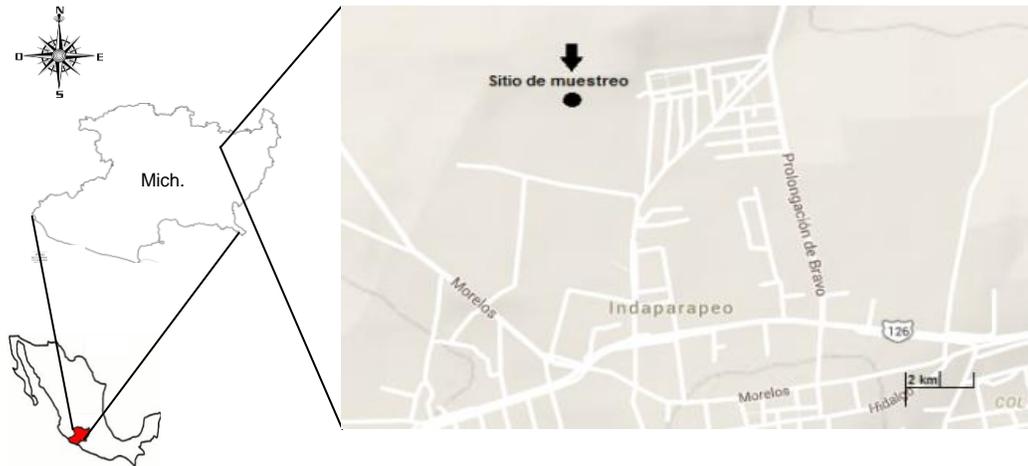


Figura 1. Sitio de estudio al noroeste de Indaparapeo, Mich.

3. METODOLOGIA

Trabajo de gabinete. Para obtener la información de la zona de estudio se utilizaron las cartas E14A14 de uso del suelo y edafológica escala 1:50 000 (DETENAL, 1979). La parcela estudiada se presenta en la Figura 2.



Figura 2. Parcela agrícola en estudio.

Trabajo de campo. Se realizó un corte de suelo de 1.2 m de profundidad para describir su morfología de acuerdo con Cuanalo (1990) y se tomaron muestras de suelo por cada horizonte encontrado.

Trabajo de laboratorio. El suelo se secó a temperatura ambiente y a la sombra, y posteriormente se pasó por un tamiz de 2 mm de diámetro. Se determinó la materia orgánica por el método de combustión húmeda de Walkley y Black, y el pH en relación agua suelo 1:2.5, ambos descritos en la NOM (2003).

4. RESULTADOS

En los primeros 40 cm de profundidad existen valores muy altos de MO (6.3% en promedio) que descendieron a clase alta de manera regular conforme aumenta la profundidad del suelo hasta alcanzar un contenido de 4.6%. El pH es de clase neutra en los primeros 60 cm (7.2) y aumenta en la profundidad a medianamente alcalino hasta 8.3. La MO muy alta y el pH neutro son parámetros favorables para el buen desarrollo de gran variedad de cultivos agrícolas. Se presentó una relación inversa entre el pH y la MO, esto significa que al aumentar el primero, disminuye la segunda. El pH alcalino en los últimos 20 cm de profundidad, puede deberse a su material de origen rico en cationes (Cuadro 1).

Profundidad cm	pH 1:2.5	Clase	Materia	
			orgánica %	Clase
0-20	7.20	Neutro	6.40	Muy alta
20-40	7.10	Neutro	6.20	Muy alta
40-60	7.30	Neutro	5.45	Alta
60-80	7.80	Medianamente alcalino	5.30	Alta
80-100	7.85	Medianamente alcalino	5.05	Alta
100-120	8.25	Medianamente alcalino	4.60	Alta

Cuadro 1. Parámetros químicos del suelo.

5. CONCLUSIONES

La MO muy alta a alta y el pH neutro en los primeros 60 cm de profundidad del suelo así como su ubicación en zona baja y plana, son condiciones favorables para el buen desarrollo de gran variedad de cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cuanalo, C. H. 1990. Manual para la descripción de perfiles de suelos en el campo. 3ª ed. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 40 p.
2. DETENAL. 1979. Carta de uso de suelo E14A12 escala 1:50 000. Secretaría de Programación y Presupuesto. México.
3. DETENAL. 1979. Carta Edafológica E14A12 escala 1:50 000. Secretaría de Programación y Presupuesto. México.
4. Ibáñez. 2016. pH del Suelo. Un Universo invisible bajo nuestros pies. Madrimasd.org. <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2007/04/02/62776>. Consulta el 28 de mayo de 2016.

5. NOM (Norma Oficial Mexicana). 2003. Diario Oficial de la Federación del 23 de abril. NOM-023-SEMARNAT-2001. 73 p.
6. Sainz, H. R. 2012. Niveles de materia orgánica y pH en suelos agrícolas de la región pampeana y extra pampeana argentina. Balcarce, Argentina.

COMPORTAMIENTO CATALITICO DEL COMPLEJO SALEN MN(III) EN REACCIONES DE EPOXIDACIÓN

Molina Maldonado Paulina¹, Hernández Fuentes Carlos Felipe², Garnica Chávez Paulina²,
Mendoza Hernández Fabian¹, Ruíz Guerrero María del Rosario²

¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada [CICATA-Legaría], Instituto Politécnico Nacional. ²Centro de Investigación e Innovación Tecnológica [CIITEC], Instituto Politécnico Nacional

RESUMEN

En este trabajo se reporta el comportamiento catalítico del complejo Salen Mn (III), el cual mantiene en su estructura un ligando tipo base de Schiff unido a un catión metálico (Mn en estado de oxidación 3⁺) para la obtención de óxido de estireno, en la metodología reportada se hace uso de hipoclorito de sodio (NaOCl) como agente oxidante, con lo cual se logra observar mediante un seguimiento en cromatografía de gases los resultados de conversión en la actividad catalítica.

1. INTRODUCCIÓN

Los epóxidos son un tipo de éteres en los que se encuentra unido un átomo de oxígeno a dos átomos de carbón; su fórmula general es $R-O-R'$, característica por la cual son importantes unidades intermediarias para la síntesis de compuestos usados en la preparación de fármacos, agroquímicos y aditivos para alimentos.

En la síntesis empleada para la obtención de epóxidos, se incluyen dos tipos de reacciones, el primer tipo es una variación en la síntesis de éteres de Williamson, la cual hace reaccionar una halohidrina con una base dando lugar a un epóxido, a través de un ataque interno S_N^2 . El segundo tipo mayormente empleado debido a que la formación del epóxido transcurre en un solo paso es el que emplea peroxiácidos, los cuales se utilizan para transformar alquenos en epóxidos, sin embargo, en este tipo de reacciones, se ha observado que si la reacción transcurre en medio ácido (acuoso), el epóxido se transforma en un glicol; por lo tanto, para obtener un epóxido, se utiliza un peroxiácido débilmente ácido que sea soluble en disolventes apróticos.

En un anillo epóxico hay dos átomos de carbono, cada uno de los cuales puede sufrir, un ataque nucleofílico, el punto de ataque depende principalmente de si la reacción se realiza en un medio ácido o básico ya que el nucleófilo ataca al carbono más sustituido en la ruptura (en un medio ácido), y al menos sustituido (empleando bases). Los epóxidos sustituidos simétricamente dan lugar al mismo producto en la apertura del anillo ya sea en medio ácido o básico, sin embargo, los epóxidos no simétricos dan lugar a productos enantioméricos.

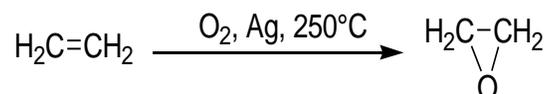
En las últimas décadas, se ha identificado el uso de compuestos metal-orgánicos como catalizadores, para la obtención de epóxidos; la industria química ha emergido como una parte importante de la economía mundial, sin embargo, la fabricación de productos químicos también conduce a una magnitud masiva de residuos nocivos para el medio ambiente. La catálisis heterogénea está desempeñando un papel cada vez más significativo, a menudo por la importante reducción de residuos, por razones económicas y ambientales. Existe en la actualidad un gran

incentivo para reemplazar la catálisis homogénea por sistemas catalíticos heterogéneos más verdes y eficientes.

En el presente trabajo se realizó la síntesis de un complejo M-Salen más “sencillo” al catalizador de Jacobsen, que puede evaluarse como catalizador heterogéneo útil en la formación de epóxidos.

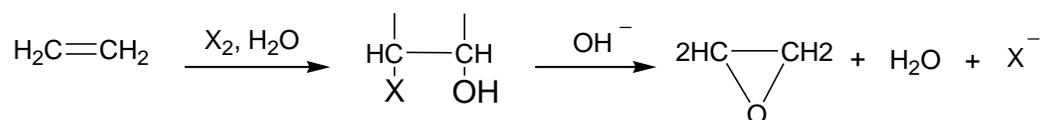
2. TEORÍA

Los epóxidos son compuestos que contienen un anillo de tres átomos; son éteres, pero el anillo de tres átomos les confiere propiedades excepcionales. El epóxido más importante es, con mucha diferencia, el más sencillo, el óxido de etileno. Preparado industrialmente por oxidación catalítica del etileno con el aire



Algunos otros epóxidos se preparan de la siguiente manera:

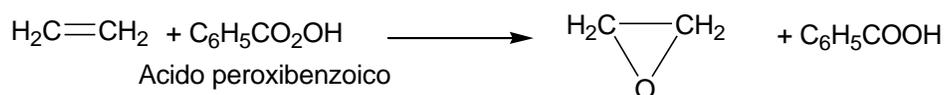
A partir de halohidrinás



La conversión de halohidrinás en epóxidos por la acción de una base, esta es una adaptación de la síntesis de Williamson. Se obtiene el compuesto cíclico porque el alcohol y el halogenuro casualmente forman parte de la misma molécula. En presencia del hidróxido existe una pequeña proporción del alcohol como alcóxido, que desplaza al ion halogenuro de otra parte de la misma molécula para generar el éter cíclico.

Puesto que las halohidrinás casi siempre se preparan a partir de alquenos por adición de halógeno y agua al doble enlace carbono-carbono, este método implica la conversión de un alqueno en un epóxido. Por lo que, como alternativa, puede oxidarse al doble enlace directamente a epóxido mediante el ácido peroxibenzoico.

Peroxidación de dobles enlaces carbono-carbono



Al combinar el peroxiácido y el compuesto no saturado (no necesariamente un alqueno simple) en solución etérea o clorofórmica, reaccionan para dar ácido benzoico y el epóxido correspondiente.()

Por otro lado, la utilización de compuestos de coordinación, mantiene enlaces entre un ligando y un ión metálico. Esto debido a que los ligandos tienen pares de electrones no compartidos los cuales pueden funcionar como bases de Lewis (donadores de un par de electrones) y los iones metálicos (en particular los iones de metales de transición) tienen orbitales de valencia vacíos; por lo tanto, pueden actuar como ácidos de Lewis (receptores de un par de electrones), pudiendo imaginar el enlace entre el ion metálico y el ligando como el resultado de compartir un par de electrones que inicialmente pertenecían al ligando.

Ahora bien, la segunda mitad del siglo XX presenció un gran progreso en el desarrollo de la catálisis basada en metales de transición (Noyori, 1994), siendo los más versátiles los complejos metálicos homogéneos (ligandos con una columna vertebral unida a dos átomos de coordinación). Para los metales nobles, especialmente; Rh, Pd, Ru, Ir y Os, con enlaces terciarios de P o N; para los metales como Ti, B, Zn, Co, Mn o Cu, que se ligan a átomos coordinantes como O y/o N preferentemente (Blaser H.U., 2003).

Hasta el día de hoy existen muchos esfuerzos tanto científicos como industriales que dan lugar a una amplia variedad de transformaciones catalíticas, cuyo interés en la epoxidación de alquenos mantiene una creciente tendencia para su aplicación en la industria.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de los catalizadores

Los catalizadores fueron sintetizados conforme el procedimiento ya reportado por Jacobsen y colaboradores (Jay F. & Eric N., 1994). Para la síntesis del catalizador fue utilizando como aldehído salicil aldehído.

Caracterización de los catalizadores

Los análisis de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) se efectuaron en un equipo marca Perkin Elmer, Spectrum One. Los espectros fueron obtenidos a temperatura ambiente, mediante la formación de pastillas de KBr, los espectros se midieron en un rango de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Los análisis de UV-Vis se practicaron en un espectrofotómetro Lambda Bio 20 (Perkin Elmer). Las muestras se diluyeron en $\text{CH}_2 \text{Cl}_2$, el cual fue considerado como estándar.

Ensayos catalíticos

De acuerdo a la literatura [16] las reacciones de epoxidación, se llevan a cabo, con una cantidad estequiométrica de 1-10%mol del compuesto catalítico respecto a la olefina, y 1 o 2 equivalentes de agente oxidante, en algunos casos el intervalo de temperatura también puede ser un factor variable, de temperatura ambiente (aprox. $25 \text{ }^\circ\text{C}$) hasta -20°C , empleando preferentemente como disolvente, iclorometano o acetonitrilo siendo aplicables algunos otros disolventes no polares.

Agentes oxidantes

Como se ha mencionado, los efectos estéricos y electrónicos del catalizador son características importantes que determinan el resultado de la reacción, sin embargo, otra de las particularidades que influye en estas reacciones, se encuentra en la elección del agente oxidante. Dentro de los agentes oxidantes que se han utilizado de manera eficiente en reacciones catalizadas por compuestos Mn-salen se encuentran; Yodosilbenceno (PhIO), Hipoclorito de Sodio (NaOCl), oxígeno molecular (O_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), peroxiácidos, dimetildioxirano y OXONE® (KHSO_5). En el presente trabajo se considera al hipoclorito de sodio, el cual desde 1979 se ha utilizado ampliamente en reacciones catalizadas por metaloporfirinas y compuestos Mn-Salen (III), como un agente oxidante económico y fácilmente disponible, con amplias aplicaciones en la química orgánica.

4. RESULTADOS

FT-IR

A continuación, se muestran los espectros resultantes del análisis por la técnica de FT-IR en la cual se pueden observar las frecuencias de radiación electromagnética, que se relacionan con la vibración de conjuntos específicos de los diversos tipos de enlaces químicos.

Amina

En este (Figura 1.1) se registra la vibración más importante, en la banda cercana a los 1600 cm^{-1} debido a la deformación N-H en aminas primarias, además de las bandas cercanas a 700 cm^{-1} para los enlaces CH_2 del ciclo alquílico en la diamina, en $1000\text{-}1260\text{ cm}^{-1}$ para las vibraciones de estiramiento en los enlaces C-O para el grupo tartrato, estiramientos en $1700\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$ para el grupo $\text{C}=\text{O}$ en ácidos orgánicos.

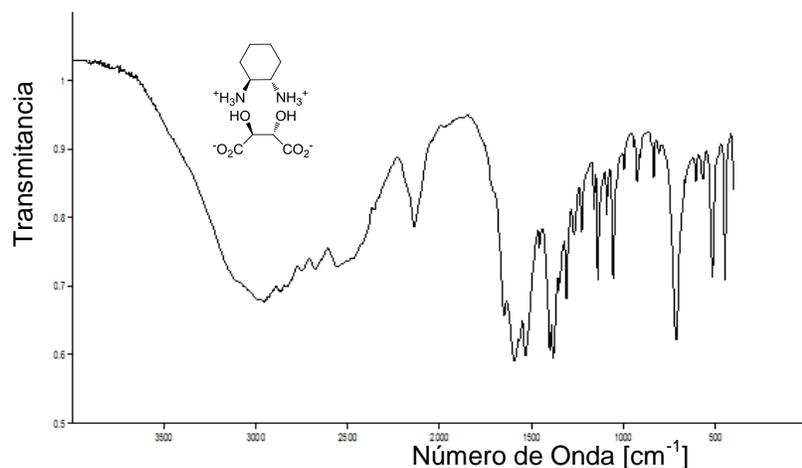


Figura 1.1 Espectro FT-IR (mono-(+)-tartrato de (R,R)-1,2-ciclohexano diamina)

Ligando Salen

El espectro (Figura 1.2) por FT-IR del ligando Salen, registra vibraciones de flexión cercanos a los 755 cm^{-1} para los enlaces entre C-H del ciclo alquílico en la diamina, en 1630 cm^{-1} vibraciones de estiramiento la cual se atribuye a la formación del doble enlace del grupo imino $\text{C}=\text{N}$, así mismo, se presentan vibraciones en la región de $2800\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ atribuibles a los enlaces C-H que se encuentran en los anillos bencénicos y en 3400 cm^{-1} para el estiramiento del enlace O-H que se encuentra como sustituyente en los anillos bencénicos.

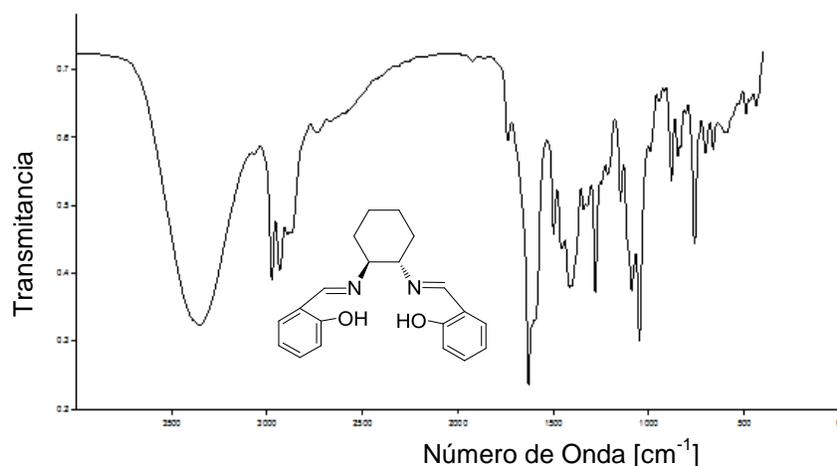


Figura 1.2 Espectro FT-IR del ligando Salen

Complejo Mn(III)-salen

En la Figura 1.3 que corresponde al complejo Mn(III)-salen, se observa la banda que corresponde a la formación del enlace Metal-Oxígeno que se encuentra identificada entre $512-625\text{ cm}^{-1}$, adicionalmente; las bandas localizadas en 575 cm^{-1} (Mn-O) se encuentra asociada con el acomplejamiento del Mn y el ligando salen, la distribución de los sutituyentes en orto de los fenilos se localizan cercanos a los 750 cm^{-1} , las vibraciones de los enlaces C-H del anillo alquílico en la diamina se encuentra localizado entre $862-907\text{ cm}^{-1}$, en 1543 cm^{-1} se identifican los enlaces C-O de los anillos bencénicos identificando otro estiramiento de los aromáticos entre $1700-2000\text{ cm}^{-1}$, el grupo imino C=N mantiene un estiramiento cercano a $1600-1630\text{ cm}^{-1}$ y localizando a $2860-2935\text{ cm}^{-1}$ el estiramiento de los enlaces alquílicos para el ciclo que contiene la diamina.

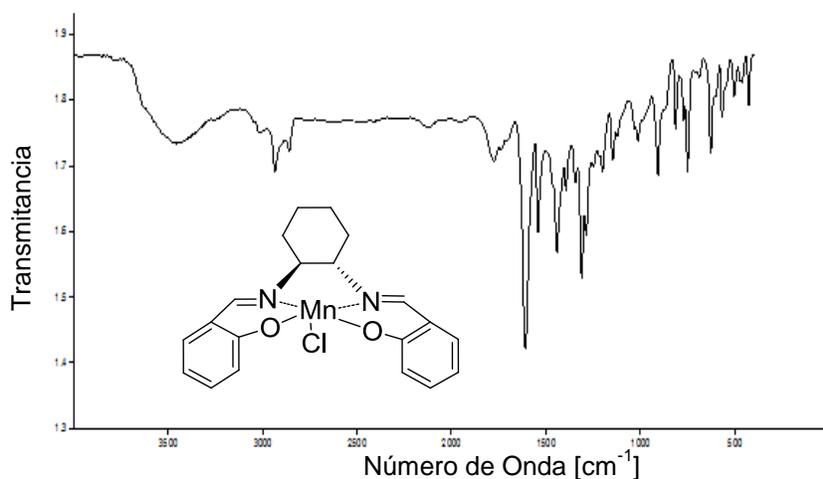


Figura 1.3 Espectro IR del compuesto coordinado Mn(III)-Salen

Ensayos catalíticos

De acuerdo a la literatura, las reacciones de epoxidación, se llevan a cabo, con una cantidad estequiométrica de 1-10 %mol del compuesto catalítico respecto a la olefina, con 1-2 equivalentes de agente oxidante, empleando como disolvente, CH_2Cl_2 y CH_3CN , pese a que pueden ser aplicables algunos otros disolventes no polares. A continuación, en la Tabla 1.1 se ven los resultados concernientes a dicho sistema catalítico propuesto.

Tabla 1.1 Resultados de la actividad catalítica

Entrada	Sustrato	Catalizador	Oxidante	Tiempo (h)	Conversión (%)
1			H_2O_2	6	6
2	Estireno	Mn-Salen (III)	m-CPBA	4	16
3			NaOCl	4	60

5. CONCLUSIONES

Se logró sintetizar y caracterizar la estructura del catalizador Mn-Salen (III) cuyo comportamiento catalítico para la formación del óxido de estireno fue 60% con el uso de NaOCl como agente oxidante, pese a que fueron probados otros agentes oxidantes, estos no lograron las ventajas que el NaOCl mostro, ya que su fácil manipulación y su alta disponibilidad, así como su bajo costo, permitió el trabajo continuo de este.

El presente trabajo comprende un antecedente para el diseño y experimentación con materiales similares, para su posible aplicación en la obtención de compuestos de alto valor agregado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jay F., L., & Eric N., J. (1994). A practical Method for the Large-Scale Preparation of [N,N'-Bis(3,5 di tertbutylsalicilidene)-1,2-ciclohexanediaminato(2-)] manganese (III) Chloride, a Highly Enantioselective Epoxidation Catalyst. *The Journal of Organic Chemistry*, 1939-1942.
2. Blaser, H. U. (2003). enantioselective catalysis in fine chemicals production. *Chem. Comm.*, 293-296.
3. Noyori, R.E. (1994). *Asymmetric Catalysis in inorganic synthesis*. New York :Wiley

MICROENSAYO PARA DETERMINAR EL ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN EN MANTECAS Y MANTEQUILLAS

Juan Antonio Rodríguez Arzave¹, Mario Alberto Hernández Torres¹, Lylia Graciela Miranda Velásquez¹, Martha Patricia Rodríguez Magaña¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

RESUMEN

Un ensayo a microescala basado en la Norma Mexicana NMX-F-174-S-1981 fue adaptado para su aplicación en la determinación del Índice de Saponificación (IS) de grasas animales, las innovaciones introducidas incluyen la reducción en la masa de la muestra y el volumen de KOH etanólico, un sistema de reflujo múltiple con equipo a microescala y el empleo de una microbureta para titulometría en el análisis volumétrico. El microensayo se utilizó para determinar el IS de cinco mantecas y cinco mantequillas comerciales, generando resultados con un alto grado de reproducibilidad. Además, reveló que las mantecas poseen valores de IS que se ubican dentro del rango de normatividad establecido en la legislación mexicana. Sin embargo, los valores de IS detectados para las mantequillas fueron inferiores al marco establecido para dicho producto, aunque muy cercanos al límite inferior. Estas diferencias son atribuibles muy probablemente a la microbureta empleada en la valoración, ya que, al suministrar gotas muy pequeñas, ocurre un consumo menor de agente titulante, lo que se refleja en valores de IS más precisos en comparación a los determinados con el método convencional. Adicionalmente, el método propuesto ofrece un ahorro del 80% en el consumo de reactivos, lo que incide en una reducción en la infraestructura, costos y generación de desechos. Los resultados apoyan la importancia de incorporar micrométodos en las normas oficiales de análisis dado sus ventajas como son rapidez, precisión, exactitud y el valor agregado de ser amigables con el medio ambiente.

1. INTRODUCCIÓN

Las grasas, los carbohidratos y las proteínas son elementos fundamentales en la alimentación humana. Las grasas en la nutrición deben su importancia debido a que son los nutrientes que más energía aportan, aproximadamente 37 kJ por cada gramo (9 kcal/g), pero su valor nutritivo se realza porque aportan ácidos grasos esenciales que el organismo no puede fabricar por sí mismo.

Las grasas y aceites alimentarios son materiales hidrofóbicos, insolubles en agua, distribuidos en el reino animal y vegetal; consisten de un mol de glicerol y tres moles de ácidos grasos, razón por la cual se les llama comúnmente "triglicéridos". Sus ácidos grasos, varían tanto en la longitud de su cadena carbonada, como en el número de dobles ligaduras (Ma and Hanna, 1999); características que condicionan la naturaleza de la grasa y sirven de base para su clasificación, denominándoles mantecas cuando son sólidas a la temperatura ambiente o aceites cuando son líquidas.

Según la normatividad mexicana vigente, se entiende como manteca vegetal "al producto semi-sólido graso, obtenido a partir de aceites de las semillas de las siguientes plantas oleaginosas: ajonjolí, algodón, cacahuate, canola, cártamo, coco, girasol, maíz, nabo o colza, palma, soya y otros permitidos (Norma Oficial Mexicana NMX-F-373-1985). Por otra parte, la mantequilla es un derivado lácteo obtenido exclusivamente a partir de la leche de vaca o la nata, o de ambas; con o

sin sal común y con o sin materia colorante adicional (Bailey, 1984). Según la Norma Mexicana F-010-1982, la mantequilla debe contener un mínimo de 80% de grasa butírica, un máximo de 16% de agua, 2 a 4 % de sólidos no grasos de la leche como proteínas y carbohidratos (lactosa) e incluso contener hasta un 3% de sal, así como, presentar un Índice de saponificación entre 223 y 232. Básicamente, la mantequilla es una emulsión de agua en materia grasa (Trejo González, 2010, Bailey, 1984). El componente esencial y mayoritario de la mantequilla que constituye entre un 80 a 85%, es la grasa; el 62-69% de esa grasa son triglicéridos que contienen ácidos grasos saturados, el 29 – 32% por ácidos grasos monoinsaturados y el 2-4% por ácidos grasos poliinsaturados. Además, en los triglicéridos de la mantequilla un tercio de sus ácidos grasos saturados son de cadena corta, lo que facilita su digestión y la distingue de otras grasas (López García de la Serrana et al, 2010).

La caracterización general de las grasas y aceites comestibles, así como el monitoreo de las alteraciones químicas que sufren durante su procesamiento y almacenamiento, son importantes en relación a su calidad, funcionalidad y valor económico (van de Voort *et al.*, 1992). Dos parámetros analíticos son usados intensivamente para evaluar su calidad, ellos son el índice de saponificación y el índice de yodo (Chira *et al.*, 2009).

El índice de saponificación (IS) es expresado como el número de miligramos de KOH requeridos para saponificar los ácidos grasos libres y combinados, presentes en un gramo de grasa y ofrece una medida del peso molecular promedio de los triglicéridos que constituye la grasa (Chatterjea and Shinde, 2012; Nielsen, 2003). Las grasas que contienen ácidos grasos de cadena corta consumen más KOH en su saponificación mostrando IS más grandes y las que poseen ácidos grasos de cadena larga consumen menos álcali exhibiendo valores pequeños de Índice de saponificación (Chatterjea and Shinde, 2012).

Tomando en consideración que, en la reacción de saponificación, un mol de grasa reacciona con tres moles de KOH, cada mol de grasa consumirá 168,000 mg de KOH, por lo tanto, el IS de una grasa = $168,000/\text{Peso Molecular de la grasa}$. Es decir, el Índice de saponificación de una grasa es inversamente proporcional a su peso molecular (Bahl, 2004). Al dividir por 3 el peso molecular promedio de una grasa se obtiene el peso molecular promedio de los ácidos grasos que contiene (Nielsen, 2003).

Con la finalidad de conocer el estado en el que las mantecas y mantequillas llegan al consumidor, ésta investigación se propuso determinar el Índice Saponificación de cinco mantecas y cinco mantequillas que se comercializan en el área metropolitana de Monterrey, empleando para el análisis químico un método adaptado a nivel microescala basado en la Norma Mexicana NMX-F-174-S-1981 (Saucedo Jasso, 2013).

2. PARTE EXPERIMENTAL

Muestra de trabajo

Las muestras de trabajo se obtuvieron mediante un muestreo aleatorio en establecimientos comerciales ubicados en las ciudades de Monterrey y San Nicolás de los Garza, Nuevo León. Se consiguieron grasas comestibles Inca y Lirio en presentación de 250 gramos, también se obtuvo grasa mixta Sarita en presentación de 500 gramos y grasa comestible Primor en presentación de 1000 gramos; además se adquirió una muestra de manteca de cerdo Armour en recipiente de cartón de 453.6 gramos. Por otra parte, se consiguieron cuatro mantequillas en presentaciones de barra con peso de 90 gramos de las marcas Lala, Gloria, Soriana y Alpura; también se adquirió una muestra de mantequilla en recipiente plástico de 227 gramos. Todas las muestras fueron mantenidas bajo refrigeración a 4°C.

Micrométodo para la Determinación del Índice de Saponificación

En un matraz redondo de fondo plano de 10 mL marca Provitec PVT-MEC-0001 se pesaron 0.5 gramos de la muestra, con precisión de 0.0001 g usando una balanza analítica Velab VE-204. Con una pipeta digital marca Trasferpette S, se agregó 1 mL de Ciclohexano para disolver la muestra y luego 5 mL de la solución alcohólica de Hidróxido de potasio 0.71N, depositando además 3 perlas de vidrio de 5 mm de diámetro. El matraz se acopló a un refrigerante para reflujo marca Provitec PVT-MEC-0015 y se preparó un sistema múltiple ensamblando 8 unidades para reflujo a microescala conectados en serie y dispuestas en forma circular. Se montaron dos de estas unidades y se conectaron apropiadamente con mangueras de látex. El sistema completo se conectó con mangueras a una bomba de reciclaje de agua dispuesta en el interior de un recipiente metálico galvanizado conteniendo agua y hielo. La bomba fue encendida para suministrar agua fría a los refrigerantes. Enseguida, el conjunto de matraces se colocó sobre un par de parrillas eléctricas con disco calefactor marca Taurus modelo Ares y se aplicó calor, manteniendo el reflujo durante 60 minutos. Al término de ese lapso, se apagaron y retiraron las parrillas de calentamiento y se permitió fluir el agua fría durante 5 minutos adicionales para el enfriamiento total del sistema. Una vez transcurrido el tiempo establecido, los matraces fueron retirados y en su interior se colocó una barra magnética de 10 mm x 3 mm marca Spinbar y se añadieron 2 gotas de fenolftaleína al 0.1% p/v. El KOH residual se tituló contra una solución valorada de HCl 0.5 N dispuesta en una microbureta para titulometría (Baeza, 2003). El punto final de la titulación se detectó cuando el color de la solución viró del rosa al color inicial de la muestra en solución. Se realizaron doce ensayos para cada muestra.

Se corrió un ensayo como blanco sometiendo 5 mL de la solución etanólica de Hidróxido de potasio 0.71 N al procedimiento descrito, realizando cuatro repeticiones. Con los datos de ambas titulaciones se calculó el Índice de saponificación, aplicando la siguiente ecuación:

$$(1) \quad \text{Índice de Saponificación} = \frac{(A - B) (N) (56.11)}{(m)}$$

Donde:

A: Volumen de solución de HCl gastados en la titulación del blanco

B: Volumen de solución de HCl gastados en la titulación de la muestra

N: Normalidad de la solución del HCl estandarizado

56.11: equivalentes de KOH

m: masa de la muestra en gramos

3. RESULTADOS

Nuestra salud depende en gran parte de la calidad de los alimentos que consumimos. Las mantecas y grasas alimentarias que forman parte de nuestra dieta habitual deben cumplir con parámetros de calidad incluidos en la normatividad vigente, entre ellos, el Índice de saponificación y el índice de yodo.

El método a microescala utilizado en esta investigación, ha sido adaptado y validado en nuestro laboratorio a partir de la Norma Mexicana NMX-F-174-S-1981, para la determinación del IS en aceites comestibles. Sin embargo, los resultados obtenidos con la aplicación de esta técnica, indican que el procedimiento mostró ser efectivo también para la determinación del Índice de saponificación de las mantecas y mantequillas analizadas.

Los registros obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico y los resultados de la estadística descriptiva se presentan en la Tabla 1.

Se puede observar que los Índices de saponificación determinados para las muestras de manteca variaron entre 189.40 para la manteca de cerdo Armour hasta 201.96 para la grasa mixta Sarita, las desviaciones estándar para todos los registros fueron inferiores a 8.67, en tanto que, los coeficientes de variación mostraron un valor máximo de 4.34, lo que indica una aceptable reproducibilidad del micrométodo utilizado para la determinación analítica.

El estudio estadístico aplicado a los registros incluyó la prueba de Kolmogorov Smirnov la cual indicó que para las cinco muestras de manteca analizadas, los valores de Índice de saponificación determinados en su análisis se distribuyeron normalmente.

Tabla 1. Estadística descriptiva de los registros obtenidos durante la determinación del Índice de Saponificación de mantecas y mantequillas.

Producto y marca	n*	Índice de saponificación promedio	Desviación estándar	Coficiente de variación
Mantecas				
Inca	11	193.98	3.82	1.97
Armour	12	189.40	5.42	2.86
Lirio	12	195.14	1.84	0.94
Sarita	12	201.96	7.85	3.88
Primor	12	199.38	8.67	4.34
Mantequillas				
Lala	12	175.53	4.75	2.71
Gloria	12	197.91	2.80	1.42
Soriana	12	187.05	5.56	2.97
Lyncott	12	162.71	3.06	1.88
Alpura	12	199.50	3.11	1.56

* ,n= número de repeticiones

Al comparar los Índices de saponificación promedio de las cinco mantecas aplicando un análisis de varianza (ANOVA), la prueba indicó que los Índices son significativamente diferentes ($F=7.659$, $p<0.001$). Para establecer cuál de las mantecas marca la diferencia entre ellas, los datos fueron estudiados mediante la Prueba de Tukey, el análisis reveló la existencia de tres grupos, el primero integrado por las mantecas Armour, Inca y Lirio cuyos Índices de saponificación no presentan diferencia significativa entre sí, un segundo grupo está integrado por las mantecas Inca, Lirio y Primor, cuyos Índices de saponificación son diferentes a las mantecas Armour y Sarita; y finalmente un tercer grupo formado por las mantecas Lirio, Primor y Sarita presentan Índices de saponificación similares entre sí, pero distintos a los de las mantecas Armour e Inca.

El índice de saponificación promedio para las cinco mantecas analizadas fue de 196, lo cual revela que el peso molecular promedio de los triglicéridos presentes en las grasas es de 857 g/mol y el peso molecular promedio de los ácidos grasos constituyentes es de 286 g/mol.

Respecto a las mantequillas, como se puede apreciar en la Tabla 1, los Índices de saponificación variaron entre 162.71 para la mantequilla Lyncott hasta 199.50 para la mantequilla Alpura, las desviaciones estándar para todos los registros fueron inferiores a 5.56, en tanto que, los coeficientes de variación mostraron un valor máximo de 2.97, lo que reitera que el micrométodo presenta una aceptable reproducibilidad.

La prueba de Kolmogorov Smirnov señaló que para las cinco muestras de mantequilla procesadas, los Índices de saponificación determinados en su análisis se distribuyeron normalmente. Al comparar los Índices de saponificación promedio de las cinco muestras aplicando un análisis de varianza (ANOVA), la prueba indicó que los Índices son significativamente diferentes ($F=183.234$, $p<0.001$). Para establecer cuál de las mantequillas marca la diferencia entre ellas, los datos fueron estudiados mediante la Prueba de Tukey, el ensayo reveló que no existe diferencia significativa entre los Índices de saponificación de las mantequillas Gloria y Alpura. Adicionalmente, la prueba estadística detectó que existe diferencia significativa entre los Índices de saponificación de las mantequillas Lyncott, Lala, Soriana y Gloria.

Atendiendo a la Norma Mexicana F-010-1982, el Índice de saponificación para las mantequillas debe fluctuar en un rango comprendido entre 223 y 232. Las cinco mantequillas que formaron parte de este estudio mostraron valores inferiores a la escala señalada. Sin embargo, no podemos afirmar que incumplen con la norma, dado que las determinaciones en esta investigación se hicieron empleando un micrométodo que ocupó una menor cantidad de muestra, y por otra parte, para la titulación se utilizó una microbureta especial, integrada por una jeringa desechable para tuberculina de 1 mL con aguja de 25Gx16 mm (25Gx5/8") para la adición del agente titulante, la cual libera gotas con un volumen muy pequeño en comparación a las gotas liberadas por una bureta común; por lo que, el volumen del agente titulante gastado es menor y más preciso, lo cual explicaría los valores de IS que fueron más pequeños a los designados por la norma.

El índice de saponificación promedio para las cinco mantequillas analizadas fue de 185, lo cual revela que el peso molecular promedio de los triglicéridos presentes en tales grasas es de 908 g/mol y el peso molecular promedio de los ácidos grasos integrantes es de 303 g/mol.

4. CONCLUSIONES

El micrométodo empleado mostró ser apropiado para la determinación del Índice de saponificación de mantecas y mantequillas en virtud a que los datos generados exhibieron desviaciones estándar y coeficientes de variación que reflejan una precisión aceptable.

De acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-009-SCFI-2005, las mantecas vegetales y grasas o mantecas mixtas, deben mostrar como mínimo un Índice de saponificación de 175; por lo que las mantecas vegetales estudiadas cumplen con los criterios de calidad establecidos. Por otro lado, la Norma Mexicana NMX-F-110-1999 establece que la manteca de cerdo debe presentar un Índice de saponificación en un rango entre 193 – 203, la manteca de cerdo Armour mostró un valor de IS cuyo intervalo de confianza se ubica dentro de la normatividad. Conforme a los IS obtenidos, el peso molecular promedio de los triglicéridos presentes en las mantecas estudiadas es de 857 g/mol y el peso molecular promedio de los ácidos grasos constituyentes es de 286 g/mol.

Las mantequillas mostraron valores de IS inferiores a los instituidos en la normatividad oficial, sin embargo, el tamaño de la muestra y el equipo utilizado en el procedimiento generaron datos más pequeños, pero más precisos, por lo que no es posible afirmar que los productos incumplen con la legislación vigente.

Los resultados obtenidos contribuyen a reafirmar que las técnicas a nivel microescala son efectivas en la determinación de parámetros de calidad, pues además de mostrar precisión y exactitud, son rápidos, no riesgosos, económicos y poseen el valor agregado de ser amigables con el medio

ambiente. Todas estas cualidades apoyan la recomendación de que en futuro cercano las normas de calidad consideren la inclusión de micrométodos perfectamente validados en la determinación de parámetros químicos en alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Baeza, Microbureta a microescala total para titulometría. *Revista Chilena de Educación Científica*, Vol.1, 2, 2003, pp. 4-7.
2. Bahl, *Organic Chemistry for Competitive Examination*. First Edition. S. Chand & Company LTD, (2004), pp. 382-383.
3. E. Bailey, *Aceites y Grasas Industriales*, Editorial Reverté, S.A, Barcelona. (1984). pp. 207-214.
4. M. N. Chaterjea., R. Shinde *Textbook of Medical Biochemistry*. Eighth Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers, (2012). pp. 54-55.
5. N. Chira, C. Todasca, A. Nicolescu, G. Paunescu, S. Rosca S, Determination of the Technical Quality Indices of Vegetable Oils by Modern Physical Techniques. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*. Vol. 71, 4, 2009. pp. 3-12.
6. H. López García de la Serrana, M. D. Ruiz López, Cabrera Vique. *Grasas y Aceites*. In: *Tratado de Nutrición*. Tomo II. *Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. Editorial Médica Panamericana, S.A. (2010), pp 249 – 279.
7. F. Ma, M. A. Hanna, Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, 1999, Vol.70, pp. 1-15.
8. S. S. Nielsen, *Análisis de los alimentos*. 3ª Edición, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España, (2003), pp. 275-276.
9. NMX-F-010-1982. Alimentos para humanos. Mantequilla de leche o crema pasteurizada. Foods for human pasteurized milk or cream butter. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
10. NMX-F-009-SCFI-2005. Alimentos-Usos Industriales-Mantecas Vegetales y Grasas o Mantecas mixtas o compuestas-Especificaciones. Secretaría de Economía. México.
11. 1NMX-F-110-1999. Manteca de cerdo. Denominación, especificaciones y métodos de prueba. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
12. L. E. Saucedo Jasso. Adaptación a nivel microescala del método para la Determinación del Índice de Saponificación en aceites y grasas comestibles. (2013), Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
13. Trejo González E. 2010. Mantequilla y Margarina. *El Economista*. Disponible en:
14. <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2010/01/25/mantequilla-margarina>
15. F. R. Van de Voort, J. Sedman, G. Emo, A. A. Ismai, Rapid and Direct Iodine Value and Saponification Number Determination of Fats and Oils by Attenuated Total Reflectance/Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *JAACS*, Vol.69, 11, 1992, pp.1118-1123.

PROTEÓMICA DE *Helicobacter pylori* PARA IDENTIFICAR PROTEÍNAS DE MEMBRANA PARA LA UNIÓN DE HEMOGLOBINA HUMANA

Marco Antonio González-López¹, Cristhian Sánchez-Cruz², José de Jesús Olivares-Trejo^{2*}

¹Catedrático CONACyT-Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. ²Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México. *Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, San Lorenzo 290 C.P. 03100, México, D.F.

RESUMEN

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es un patógeno que causa úlcera peptídica y gastritis, esta bacteria puede sobrevivir en varios ambientes dentro del humano haciendo necesaria la obtención de hierro para mantener su crecimiento. Se ha demostrado que *H. pylori* puede obtener hierro a partir de la hemoglobina (Hb) utilizando proteínas de membrana. Sin embargo, se desconoce la identidad de la mayoría de las proteínas que participan en el mecanismo de adquisición de hierro. Hemos identificado mediante un análisis *in silico* que *H. pylori* cuenta con tres proteínas relacionadas con la unión de Hb, dos de ellas FrpB1 y FrpB2, tienen la capacidad de unir Hb y mantener el crecimiento en un sistema heterologo cuando se tiene a la Hb como única fuente de hierro. Estudios en nuestro laboratorio han mostrado que *H. pylori* expresa otras proteínas que pudieran estar involucradas en la adquisición de hierro a partir de Hb, sin embargo se desconocen sus identidades. Por lo que nos dimos a la tarea de identificar a través de espectrometría de masas las proteínas que tienen afinidad por la Hb. Con la estrategia planteada logramos identificar 8 proteínas relacionadas con la unión de hierro y Hb, de manera interesante logramos purificar la proteína FrpB3, con lo cual estamos identificando todas las proteínas de la familia FrpB de *H. pylori*. La gran cantidad de proteínas identificadas nos sugiere que *H. pylori* está preparada para obtener hierro de varias metaloproteínas según el sitio de infección.

1. INTRODUCCIÓN.

Las bacterias que invaden al ser humano requieren de hierro para su crecimiento, este elemento lo pueden obtener del hospedero, sin embargo, no lo encuentran de manera libre, ya que está asociado a proteínas como por ejemplo la hemoglobina (Hb), lactoferrina (Lf), ferritina (Ft) y transferrina (Tf). Por lo tanto, las bacterias patógenas han desarrollado mecanismos para adquirir hierro a partir de la Hb, los cuales consisten en la expresión de proteínas de membrana capaces de captar esta metaloproteína¹. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es un patógeno que causa úlcera peptídica, gastritis y es considerado un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico. Se ha demostrado que *H. pylori* puede obtener hierro a partir de la Hb. A pesar de esta observación se desconoce la identidad de la mayoría de las proteínas que participan en el mecanismo de adquisición de hierro usando como fuente la Hb², por lo que nuestro objetivo fue purificar e identificar proteínas de membrana de *H. pylori* con la capacidad de unir esta meloproteína.

2. PARTE EXPERIMENTAL

La bacteria *H. pylori* J99 fue crecida en medio Casman con sangre de carnero al 7.5%, 37°C y 10% de CO₂. En primer lugar se obtuvieron proteínas totales de esta bacteria y a partir de las proteínas totales se obtuvo una fracción enriquecida de proteínas de membrana mediante ultracentrifugación. La proteínas de membrana fueron pasadas a través de una cromatografía de afinidad cuyo ligando es el grupo hemo con la finalidad de separar aquellas afines a este grupo, las proteínas purificadas fueron resueltas a través de geles SDS-PAGE y teñidas con Coomassie, por otro lado se determinó la capacidad de unión a Hb de estas proteínas purificadas mediante un ensayo de overlay empleando anticuerpos contra la proteína Hb. Las proteínas de interés fueron escindidas del gel para su identificación mediante espectrometría de masas.

3. RESULTADOS

La fracción enriquecida de proteínas de membrana (Figura 1, Carril 1) se pusieron a interactuar con la cromatografía de afinidad, se separaron por centrifugación las proteínas que no son afines al grupo hemo (fracción no unida) (Figura 1, Carril 2), la cromatografía se lavó 5 veces con amortiguador de lavado, con la finalidad de separar aquellas proteínas que se unieron al grupo hemo de manera inespecífica (Figura 1, Carriles 3-7), finalmente las proteínas afines al grupo hemo fueron eluidas con clorhidrato de guanidina 6M (Figura 1, Carril 8).

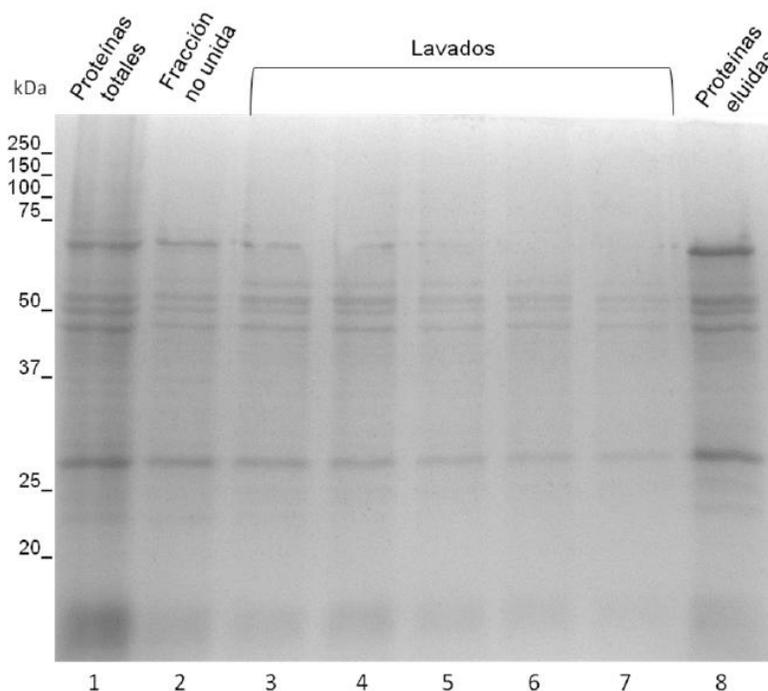


Figura 1. Proteínas de membrana de *H. pylori* afines al grupo hemo. Extractos obtenidos de la cromatografía de afinidad al poner a interactuar las proteínas de membrana de *H. pylori*. Carril 1 Proteínas totales, Carril 2 Fracción no unida, Carriles 3-7 lavados, Carril 8 Proteínas eluidas. A la izquierda se muestran los pesos moleculares de referencia. SDS-PAGE al 12% teñido con azul de Coomassie

Mediante la técnica de cromatografía de afinidad se lograron purificar 8 proteínas de membrana cuyos pesos oscilan entre los 20 y 100 kDa (figura 2, panel A), mediante la técnica de overlay determinamos que 5 de estas proteínas tienen además la capacidad de unir Hb (figura 2, panel B).

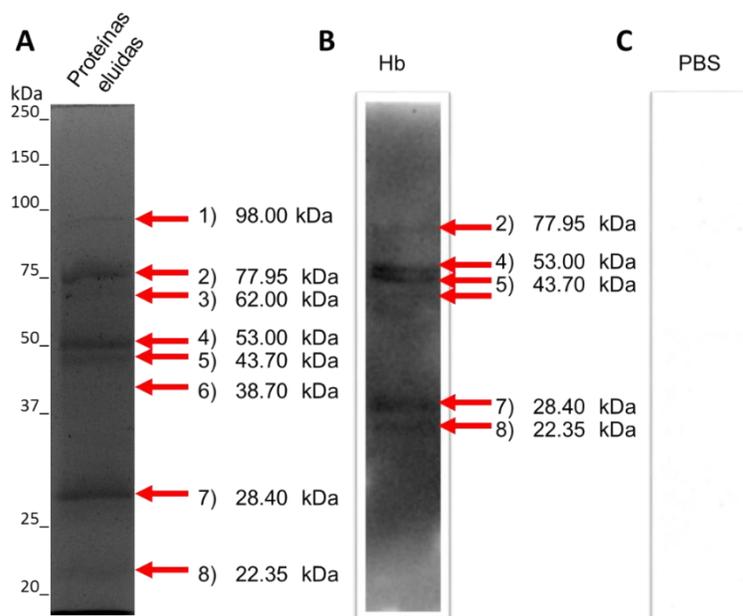


Figura 2. Proteínas de membrana de *H. pylori* que unen hemo y Hb. 8 proteínas de membrana de *H. pylori* son afines al grupo hemo (A) y 5 son afines tanto al grupo hemo como a la Hb (B). Se muestran y señalan con una flecha, las proteínas que fueron eluidas de la cromatografía de afinidad, se etiquetan los pesos moleculares aproximados de cada proteína, a la izquierda están los pesos moleculares de referencia. Se empleó la incubación sólo con PBS como control negativo (C). (A) SDS-PAGE 12% azul de tinte con Coomassie. (B) Las proteínas de membrana de *H. pylori* fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa para realizar la técnica de Overlay, las proteínas fueron evidenciadas por quimioluminiscencia.

Finalmente las 8 proteínas eluidas de la cromatografía de afinidad fueron identificadas por espectrometría de masas (Tabla 1).

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

H. pylori es una bacteria que se ha adaptado al medio ambiente que se encuentra en el estómago, es capaz de sobrevivir generando un ambiente alcalino y obtener los nutrientes necesarios para su sobrevivencia. Durante su proceso invasivo esta bacteria requiere de nutrientes y elementos que le ayudan a llevar a cabo sus funciones vitales, dentro de estos elementos se encuentra el hierro, elemento que por sus características químicas se encuentra a una concentración insuficiente para que la bacteria pueda sobrevivir, por ello *H. pylori* ha desarrollado una serie de mecanismos que le permiten obtener hierro de metaloproteínas como la Hb, el grupo hemo y Lf que son proteínas contenedoras de este elemento.

Tabla 1. Proteínas de *H. pylori* identificadas por espectrometría de masas.

Número de acceso Swiss Prot	Proteína	Cobertura	Masa (kDa/pi)	Mascot score	Péptidos únicos	Función
1) Q9ZJA8	FrpB3	16%	97.49/9.05	694	19	Proteína hipotética de membrana externa regulada por hierro
2) Q9ZN38	Jhp_0021	24%	77.95/9.16	829	20	Proteína hipotética de membrana externa
3) Q9ZK39	Jhp_1103	20%	69.54/9.18	547	11	Proteína hipotética de membrana externa
4) Q9ZM80	Jhp_0342	9%	53.00/9.48	193	4	Proteína hipotética de membrana externa
5) Q9ZK19	Jhp_1128	24%	43.7/5.17	427	10	Factor de elongación Tu
6) Q9ZJF8	Jhp_1354	9%	38.7/9.13	141	9	Hipotética Citocromo C peroxidasa
7) Q9ZJ24	Jhp_1494	18%	28.4/5.32	213	6	Proteína UPF0174
8) P56876	Jhp_1471	19%	22.35/5.98	203	6	Probable peroxiredosina

A través de esta investigación purificamos e identificamos 8 proteínas de membrana pero una resultó ser muy interesante, en trabajos previos habíamos realizado un análisis *in silico* para encontrar proteínas de membrana que unen Hb, usamos la proteína ChuA de *E. coli* como referencia y fue lanzada contra el proteoma de *H. pylori*, el servidor (Expasy Blast) dio como resultado tres proteínas llamadas FrpB1, FrpB2 y FrpB3, de las cuales ya hemos caracterizado FrpB1³ y FrpB2⁴, la tercera estaba en proceso de ser caracterizada pero con la metodología empleada fuimos capaces de purificarla e identificarla. Las proteínas FrpB1, FrpB2 y FrpB3 fueron clasificadas, mediante el análisis *in silico*, como Proteínas de Membrana Externa Reguladas por Hierro tipo FrpB⁵. Sin embargo, hasta la fecha no se había caracterizado o demostrado que alguna de estas proteínas tuvieran la capacidad de unir y obtener hierro a partir de la Hb y el grupo hemo, por lo que, con la investigación realizada estamos identificando las probables proteínas que conforman el mecanismo de adquisición de hierro en *H. pylori*. Una de estas proteínas es FrpB3. FrpB3 fue purificada a través de una cromatografía de afinidad cuyo ligando es el grupo hemo, por

los ensayos realizados no es capaz de unir Hb, resulta interesante observar las características de estas proteínas por un lado FrpB1 tiene la capacidad de unir tanto al grupo hemo como Hb, FrpB2 solo une Hb y por los datos obtenidos FrpB3 solo une el grupo hemo, esto nos habla de la enorme variedad de proteínas con las que cuenta *H. pylori* para poder obtener hierro de cualquier fuente que tenga en frente, esto nos muestra la capacidad de adaptación de esta bacteria a su medio ambiente. Ahora bien, bajo las condiciones de crecimiento de *H. pylori* podemos pensar que la proteína FrpB3 se expresa de manera constitutiva.

Finalmente el resto de las proteínas purificadas necesitan ser analizadas para determinar su papel en el metabolismo del hierro en la bacteria *H. pylori*.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Andrews SC, Robinsón AK, Rodríguez-Quiñónez F. Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiology Reviews*. 2003;27:215-237.
2. Worst DJ, Otto BR, De Graaff J. Iron-repressible outer membrane proteins of *Helicobacter pylori* involved in heme uptake. *Infect Immun*. 1995;63:4161-5.
3. Carrizo-Chávez MA, Cruz-Castañeda A, Olivares-Trejo JJ. The frpB1 gene of *Helicobacter pylori* is regulated by iron and encodes a membrane protein capable of binding haem and haemoglobin. *FEBS Lett*. 2012;586:875-9.
4. González-López MA, Olivares-Trejo JJ. The gene frpB2 of *Helicobacter pylori* encodes an hemoglobin-binding protein involved in iron acquisition. *Biometals*. 2009;22:889-94.
5. Alm RA, Bina J, Andrews BM, Doig P, Hancock RE, Trust TJ.. Comparative genomics of *Helicobacter pylori*: analysis of the outer membrane protein families. *Infect Immun*. 2000;68:4155-68.

SORCIÓN DE METALES PESADOS EN SOLUCIÓN ACUOSA EMPLEANDO LA BIOMASA DEL FRUTO DE LA *Persea americana*

Lizbeth Liliana Díaz-Muñoz¹, Adrián Bonilla-Petriciolet¹, Hilda Elizabeth Reynel-Ávila¹

¹Instituto Tecnológico de Aguascalientes

RESUMEN

Este trabajo estudia el tratamiento químico de la semilla del fruto de la *Persea Americana* con ácidos orgánicos e inorgánicos para su aplicación en la remoción de los iones metálicos Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} . Para las biomásas tratadas con los ácidos, las mejores condiciones de modificación ácida se identificaron mediante el análisis de varianza de un arreglo ortogonal L_{16} de Taguchi. Las biomásas tratadas que mostraron las mejores propiedades de sorción de iones metálicos fueron utilizadas para la realización de estudios cinéticos y de equilibrio. Se realizó la modelación de los datos experimentales y se determinó que el modelo de pseudo-segundo orden y el modelo de Sips describieron apropiadamente los datos cinéticos y de equilibrio, respectivamente. La caracterización fisicoquímica de los sorbentes demostró que los ácidos cítrico y sulfúrico tienen un mayor efecto en la modificación de la superficie de la semilla de la *Persea Americana* en comparación con el ácido tartárico, generando una mayor cantidad de grupos funcionales disponibles para el proceso de sorción. Se estableció que el posible mecanismo de remoción de metales pesados involucra un intercambio iónico y un proceso de complejación del ion metálico con los grupos funcionales presentes en la biomasa. En síntesis, los resultados de este estudio muestran las ventajas y las posibles aplicaciones de la utilización de la biomasa de la *Persea Americana* para procesos de remoción de metales pesados.

1. INTRODUCCIÓN

La rápida industrialización ha contribuido de manera importante en la descarga de metales pesados en el agua debido a las actividades industriales que generan efluentes contaminados de este tipo (Molinari *et al.*, 2008). Desde el punto de vista toxicológico, los metales pesados son considerados contaminantes peligrosos para la vida acuática y el ser humano ya que tienden a acumularse en los organismos vivos causando una diversidad de enfermedades y trastornos fisiológicos (Ge *et al.*, 2012). Por tanto, dichos contaminantes deben ser removidos de los fluidos que los contienen para reducir riesgos ambientales y de salud pública.

Actualmente, existen diversos métodos para la remoción de metales pesados en solución acuosa tales como ultrafiltración, ósmosis inversa, intercambio iónico, entre otros (Wang–Wang *et al.*, 2014). En forma específica, el proceso de adsorción/sorción ofrece diversas ventajas tecnológicas y económicas para la purificación y tratamiento de efluentes acuosos, tales como una alta eficacia de remoción, son económicamente viables, los equipos utilizados para el tratamiento en gran escala son de diseño sencillo, presentan una fácil operación, entre otros parámetros favorables (Liang *et al.*, 2010).

En los últimos años, los materiales lignocelulósicos han logrado un posicionamiento como materias primas para su uso y aplicación en procesos de tratamiento y purificación de agua. Estas biomásas presentan una gran diversidad en cuanto a disposición y fuente de obtención donde se puede mencionar algunos de ellos como el bagazo de azúcar, cáscara de arroz, cáscara de granada y plátano, residuos de cultivos, plantas y árboles (Asberry *et al.*, 2014). La aplicación de materiales

lignocelulósicos en la remoción de contaminantes es atractiva desde el punto de disponibilidad y costo de la materia prima, el cual es prácticamente despreciable. En este contexto, es conveniente indicar que estos materiales pueden emplearse, en su estado natural o modificados químicamente, como sorbentes para la remoción de especies metálicas. Diversos estudios han demostrado que la capacidad de remoción de metales pesados es mayor para una biomasa modificada con agentes químicos en comparación con la obtenida para el material en su forma natural (Velazquez-Jimenez *et al.*, 2013). Sin embargo, las mejores condiciones para la modificación química del sorbente deben identificarse con el objeto de obtener el mayor desempeño del material modificado en la remoción de especies metálicas por lo que deben utilizarse diseños experimentales apropiados para establecer el mejor protocolo de modificación química.

En particular, la biomasa obtenida de los residuos del aguacate ofrece varias ventajas para su aplicación en procesos de remediación ambiental. Esta biomasa tiene características atractivas para su uso directo como sorbente de especies contaminantes en solución acuosa (Bhaumik *et al.*, 2014). Considerando lo anterior, en el presente proyecto se trabajó con la biomasa del fruto de *Persea Americana* (BPA) como sorbente natural de iones metálicos. Se estudiaron las propiedades de remoción para dicha biomasa en su forma natural y se exploró su proceso de modificación química con ácido tartárico, cítrico y sulfúrico. En síntesis, el presente estudio aporta elementos para establecer algunas de las ventajas y limitaciones de la BPA como materia prima para desarrollar procesos de purificación y tratamiento de agua.

2. PARTE EXPERIMENTAL

En primera instancia, se realizó la limpieza y reducción de tamaño de la biomasa. Posteriormente, con la finalidad de incrementar la capacidad de remoción de metales pesados en el agua de la BPA, se realizó su modificación química con ácido tartárico (AT), cítrico (AC) y sulfúrico (AS), para ello, se realizó un diseño de experimentos L_{16} de Taguchi para estudiar el efecto de las variables más relevantes del proceso de impregnación ácida de esta biomasa. La variable de respuesta de este diseño experimental fue la capacidad de remoción de la biomasa tratada para los metales pesados Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} . Es conveniente indicar que se utilizó el mismo diseño experimental para los 3 ácidos estudiados.

Posteriormente a la modificación química de las muestras de biomasa, los materiales fueron lavados y secados y, posteriormente, fueron utilizados para los estudios de remoción de metales pesados en solución acuosa. Con lo anterior, se realizaron estudios cinéticos y de equilibrio de la remoción de metales pesados empleando la BPA sin tratamiento y las biomásas modificadas con cada ácido bajo las mejores condiciones identificadas en el diseño experimental. Adicionalmente, los datos experimentales de la sorción de metales pesados fueron utilizados para obtener los parámetros cinéticos y de equilibrio y, finalmente, se realizó la caracterización fisicoquímica de la biomasa en su forma natural y modificada con los ácidos.

3. RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los resultados de los experimentos de remoción de los iones metálicos usando las biomásas obtenidas con el arreglo ortogonal L_{16} para el proceso de tratamiento ácido de la BPA. En particular, las capacidades de remoción de metales pesados de las biomásas tratadas con los diferentes ácidos se reportan en esta tabla. Adicionalmente, se calculó el cambio porcentual en la remoción de los iones metálicos utilizando las muestras tratadas con los diferentes ácidos, y, se identificaron incrementos superiores al 600 % en sus capacidades de remoción. La variación en las propiedades de sorción de la BPA depende de las condiciones del tratamiento y ácido utilizado. También, es importante comentar que estos resultados muestran que, para algunas condiciones empleadas en el tratamiento químico, la biomasa modificada tiene propiedades de remoción de metales pesados menores que la obtenida para la BPA sin tratamiento. Es decir, las condiciones para el tratamiento ácido se deben seleccionar apropiadamente para mejorar el desempeño de remoción de este sorbente.

Adicionalmente, se realizó un análisis de varianza de los resultados obtenidos en la remoción de los metales Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} y se puede observar que los factores con mayor influencia en el proceso de modificación química son la temperatura y el tiempo del tratamiento térmico, ver Tabla 2. Las condiciones de operación para estas variables son fundamentales para incrementar las propiedades de sorción de las biomásas. La relación biomasa/volumen del sorbente y la solución de ácido también son variables relevantes en el proceso de modificación química. Sin embargo, dependiendo del tipo de ácido utilizado, su peso relativo es distinto. En general, se identifica que las variables estudiadas dentro del proceso de tratamiento ácido de la biomasa BPA tienen un efecto significativo en sus propiedades de sorción de especies metálicas.

Con el análisis estadístico de S/N y los rendimientos de las biomásas tratadas se determinaron las condiciones de modificación ácida de la BPA que tuvieron mejor desempeño en la remoción de metales pesados. La Tabla 3 contiene los valores propuestos para el tratamiento de BPA con cada ácido, así como sus propiedades fisicoquímicas.

Como se indicó, las biomásas modificadas que mostraron el mejor desempeño en la sorción de los metales pesados fueron utilizadas para realizar estudios cinéticos y de equilibrio. En la Figura 1 se muestran las cinéticas de sorción para los iones metálicos Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} para la biomasa BPA con y sin modificación ácida. Se observa que existe un proceso rápido de sorción de los iones metálicos durante las primeras horas de contacto y que el tiempo de equilibrio para todos los casos es de 24 h. Las cinéticas de sorción también indican que la capacidad de remoción de metales pesados aumenta dependiendo del ácido con que fue modificada la BPA. Esta mejora en las propiedades de remoción de los metales pesados de la biomasa BPA se atribuye al incremento de los grupos funcionales en la superficie de ésta y a los cambios en su morfología derivado del tratamiento químico. Adicionalmente, se realizó la modelación de los datos cinéticos utilizando las expresiones de pseudo primer orden y pseudo segundo orden y considerando los valores de los coeficientes de correlación, función objetivo y error porcentual, el modelo de pseudo segundo orden es el más adecuado para la correlación de los resultados obtenidos en este estudio. Las velocidades de sorción varían entre 0.06 y 2.04 g/mg h.

Es conveniente indicar que no se realizaron los estudios para la remoción de Pb^{2+} empleando la BPA en su estado natural debido a que estudios preliminares indicaron que el pH final de la solución incrementaba sustancialmente y era superior a 6. Bajo esas condiciones, se presenta la precipitación del metal y, por tanto, no era factible cuantificar en forma confiable la capacidad de sorción de la biomasa.

Las isotermas de sorción para los iones metálicos utilizando la BPA con y sin modificación ácida se muestran en las Figuras 2 y 3. La capacidad de remoción máxima de la BPA sin tratamiento varía entre 2.50 y 5.60 mg/g. En contraste, se puede observar que las capacidades de remoción máximas para la BPA modificada con los diferentes ácidos varían entre 3.34 y 21.80 mg/g.

Adicionalmente, se realizó el ajuste de datos de equilibrio a los modelos de Langmuir, Freundlich y Sips y de acuerdo al error porcentual promedio y a los coeficientes de correlación se determinó que el modelo de Sips fue el más adecuado para la correlación de las isotermas obtenidas en este estudio. Los estudios cinéticos y de equilibrio indicaron que los materiales modificados con los ácidos sulfúrico y cítrico tuvieron un mejor desempeño en la remoción de metales pesados. Para los iones de Cd^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} , la biomasa de BPA modificada con el ácido sulfúrico mostró la mayor capacidad de remoción, mientras que para los iones de Ni^{2+} y Cu^{2+} la biomasa tratada con el ácido cítrico mostró las mejores propiedades de sorción.

Tabla 1 Capacidad de remoción de los metales Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} y Zn^{2+} utilizando las 16 muestras obtenidas de la modificación de la BPA con los ácidos tartárico, cítrico y sulfúrico.

Muestra	Condiciones del tratamiento ácido				q, mg/g														
	Concentración del ácido, M	Relación biomasa/ácido, g/mL	Temperatura de tratamiento térmico, °C	Tiempo de tratamiento térmico, h	Ácido tartárico					Ácido Cítrico					Ácido Sulfúrico				
					Cd ²⁺	Cu ²⁺	Ni ²⁺	Pb ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Ni ²⁺	Pb ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Ni ²⁺	Pb ²⁺	Zn ²⁺
1	0.5	1/25	60	1	1.61	3.23	6.76	2.81	0.19	1.48	2.00	1.46	3.20	0.83	1.57	2.15	1.77	3.57	1.67
2	0.5	1/10	90	2	1.49	2.82	5.70	2.83	1.37	2.21	2.22	1.79	3.27	0.96	1.13	2.26	2.72	3.26	1.07
3	0.5	1/15	120	4	4.24	5.68	4.63	11.56	2.85	4.75	7.41	3.59	14.04	2.93	1.31	1.24	1.68	5.04	1.36
4	0.5	1/20	150	8	5.98	7.72	7.50	16.76	3.37	6.23	9.15	5.19	19.79	4.21	3.03	2.50	1.96	16.0 ₃	1.79
5	1	1/25	90	4	3.99	3.54	3.19	9.21	2.72	2.97	5.43	4.07	8.95	1.32	1.18	2.25	2.96	4.40	0.85
6	1	1/10	60	8	2.16	3.38	5.04	4.04	0.54	2.53	4.00	2.66	6.89	1.47	0.93	2.75	2.45	4.03	0.79
7	1	1/15	150	1	0.89	2.29	1.50	4.14	0.35	1.05	2.19	1.75	3.27	0.76	1.18	1.79	2.22	4.25	0.79
8	1	1/20	120	2	3.28	3.23	3.39	6.85	2.92	1.16	2.88	1.09	4.16	0.98	1.04	1.93	1.69	4.44	0.76
9	1.5	1/25	120	8	4.24	4.21	4.79	14.43	3.41	5.10	8.69	7.09	16.71	3.92	10.28	8.04	5.72	21.79	4.52
10	1.5	1/10	150	4	5.93	7.11	6.68	16.61	2.82	8.58	10.89	15.02	21.24	4.30	4.68	4.83	3.15	15.12	2.78
11	1.5	1/15	60	2	1.26	0.48	3.38	3.16	0.52	1.55	2.31	1.05	3.48	0.55	1.43	2.63	2.22	3.56	1.41
12	1.5	1/20	90	1	0.68	2.51	4.17	2.98	0.18	0.29	2.18	3.37	3.26	1.13	0.99	3.40	2.64	3.60	0.96
13	2	1/25	150	2	1.85	3.48	3.16	8.89	2.24	2.24	4.36	1.02	8.47	1.21	2.62	2.80	2.51	7.53	1.50
14	2	1/10	120	1	1.60	2.39	1.27	3.88	0.93	1.77	2.49	2.70	3.79	0.77	1.07	1.93	0.97	3.74	0.74
15	2	1/15	90	8	5.89	7.10	4.53	14.68	3.03	3.18	6.88	5.63	12.72	2.34	1.99	3.08	3.13	12.88	1.24
16	2	1/20	60	4	2.08	1.35	1.20	4.32	1.02	1.79	2.82	2.83	4.99	1.01	1.42	2.60	2.25	3.95	0.66
BPA natural	—	—	—	—	5.60	2.50	1.88	ND*	2.59										

* ND: Dato no disponible

Tabla 2 Análisis de varianza del diseño experimental utilizado para mejorar las propiedades de sorción de la biomasa BPA en la remoción de Cd²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺ y Zn²⁺.

	Variable utilizada en el proceso de tratamiento ácido	S/N para el nivel i del factor				Suma de cuadrados (SS)	Varianza
		1	2	3	4		
Ácido cítrico	A: Concentración, M	25.67	22.78	26.79	24.57	34.92	11.64
	B: Relación biomasa/volumen, g/mL	25.82	25.50	24.49	23.98	8.84	2.95
	C: Temperatura, °C	21.38	24.36	26.02	28.05	95.52	31.84
	D: Tiempo, h	19.83	21.09	28.89	29.99	328.20	109.40
Ácido tartárico	A: Concentración, M	26.96	23.87	25.25	24.19	23.35	7.78
	B: Relación biomasa/volumen, g/mL	26.51	24.55	24.57	24.65	11.10	3.70
	C: Temperatura, °C	21.34	25.38	26.24	27.32	81.66	27.22
	D: Tiempo, h	20.74	23.41	27.04	29.09	166.42	55.47
Ácido sulfúrico	A: Concentración, M	22.36	20.54	26.50	22.68	75.20	25.07
	B: Relación biomasa/volumen, g/mL	25.12	22.35	22.15	22.46	23.68	7.89
	C: Temperatura, °C	20.77	22.48	23.22	25.64	49.57	16.52
	D: Tiempo, h	20.13	21.45	23.03	27.46	122.33	40.78

Por otra parte, se realizó la espectroscopía infrarrojo de las biomásas con y sin modificación ácida y se puede observar que en la región 3500 – 3000 cm⁻¹ aparece una banda fuerte con diferentes intensidades que se atribuye al grupo OH de los enlaces de hidrógeno intermolecular de fenoles y alcoholes presentes en la celulosa, lignina y a las antocianinas contenidas en la BPA (Elizalde-González *et al.*, 2007). Las bandas cercanas a 2900 y 1430 cm⁻¹ representan vibraciones de estiramiento y flexión de compuestos alifáticos, respectivamente (Pandey y Negi, 2015). La banda localizada en 1619 cm⁻¹ está asignada a una vibración de estiramiento C=O del grupo carboxílico y a vibraciones estructurales de enlaces aromáticos C=C. La banda de vibración a 1521 cm⁻¹ corresponde al enlace C=C de los anillos aromáticos de la lignina y, probablemente, también corresponda a los antioxidantes flavonoles y antocianinas presentes en la biomasa (Asadieraghi y Daud, 2014). Las bandas de vibración observadas a 1361, 1200, 935 y 860 cm⁻¹ están relacionadas a enlaces glicosídicos de la celulosa y hemicelulosa donde los picos que se encuentran entre 1360 – 1000 cm⁻¹ pueden asignarse a vibraciones de estiramiento C – O que indican la presencia de ácidos, alcoholes, fenoles, éteres y ésteres (Pandey y Negi, 2015). La banda que se encuentra en 1024 cm⁻¹ está relacionada a una vibración de deformación C – N de las aminas alifáticas que pueden ser atribuidas a los aminoácidos de la biomasa (Elizalde-González *et al.*, 2007). Las vibraciones de flexión C – H se pueden atribuir a la banda de 935 cm⁻¹ (Pandey y Negi, 2015). Los picos que se encuentran entre 860 – 750 y 650 cm⁻¹ involucran vibraciones asociadas a estructuras cíclicas (Asadieraghi y Daud, 2014).

Tabla 3 Propiedades físicas de la BPA en su forma natural y modificada con los ácidos tartárico, cítrico y sulfúrico.

Biomasa	Condiciones de modificación química				Rendimiento, %	Punto de carga cero	Grupos ácidos totales, mmol/g	Grupos básicos totales, mmol/g
	Concentración, M	Relación biomasa/ácido, g/mL	Temperatura del tratamiento térmico, °C	Tiempo del tratamiento térmico, h				
AT	0.5	1/20	150	8	96.7	2.35	3.084	1.398
AC	1.5	1/10	150	4	100	2.32	3.213	1.213
AS	1.5	1/25	120	8	57.2	2.32	2.950	1.449
Natural	—	—	—	—	—	5.8	2.361	1.924

Después de la remoción de los iones metálicos, se observaron algunos cambios en los espectros de infrarrojo de las biomásas. En la biomasa sin tratamiento, los picos que se encuentran en 1619 y 1172 cm^{-1} se desplazaron ligeramente. En la biomasa BPA tratada con AT y AC, los picos que se encuentran en el rango 3400 – 3300 cm^{-1} también están desplazados; mientras que las bandas que se encuentran en 1730, 1635 y 1100 cm^{-1} disminuyeron. En la biomasa modificada con AS, las bandas que se encuentran entre 3400 – 3300 cm^{-1} están desplazadas; mientras que las bandas de vibración que se encuentran en 1730, 1350, 1100 y 1050 cm^{-1} disminuyeron. Estas bandas están relacionadas a grupos oxigenados como son alcoholes, éteres, ésteres, fenoles y ácidos carboxílicos (Pandey y Negi, 2015), ver Figura 4.

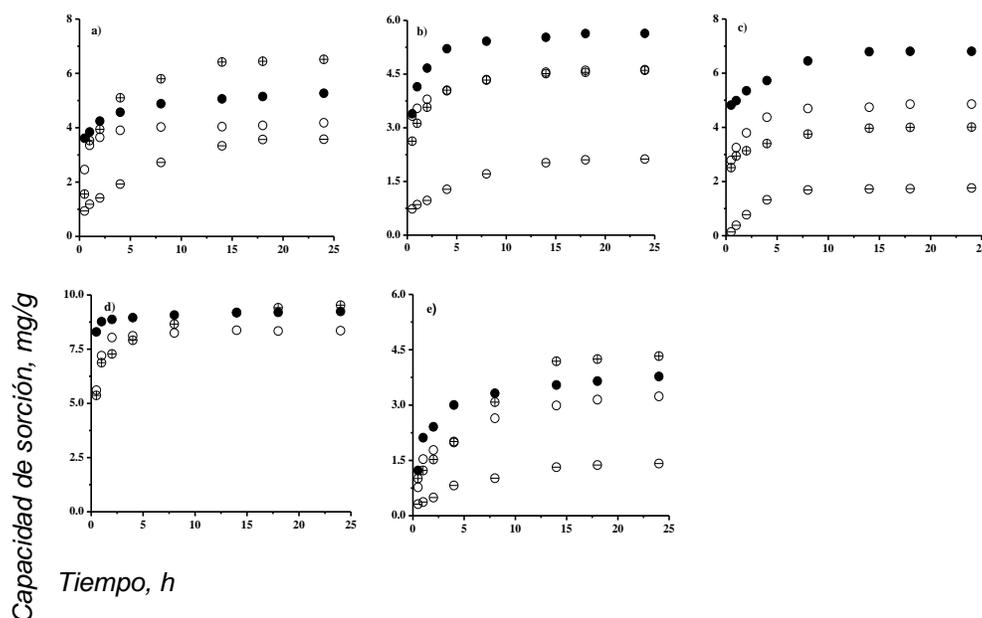


Figura 1: Cinéticas de la sorción de iones metálicos a) Cd^{2+} , b) Cu^{2+} , c) Ni^{2+} , d) Pb^{2+} y e) Zn^{2+} empleando a la BPA en su (○) forma natural y modificada con (○) ácido tartárico, (●) ácido cítrico y

(⊕) ácido sulfúrico. Condiciones de experimentación: 30 °C, pH 5 y concentración inicial del metal de 100 mg/L.

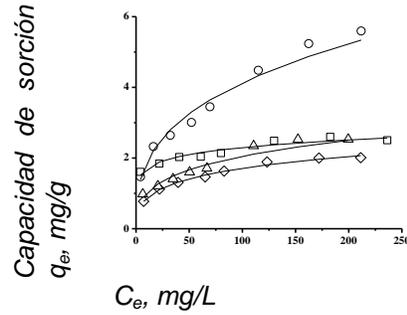


Figura 2: Isotermas de sorción de los iones metálicos (○) Cd^{2+} , (□) Cu^{2+} , (◇) Ni^{2+} y (Δ) Zn^{2+} empleando a la BPA. Condiciones de experimentación: 30 °C y pH 5. La línea de tendencia representa la modelación con la isoterma de Sips.

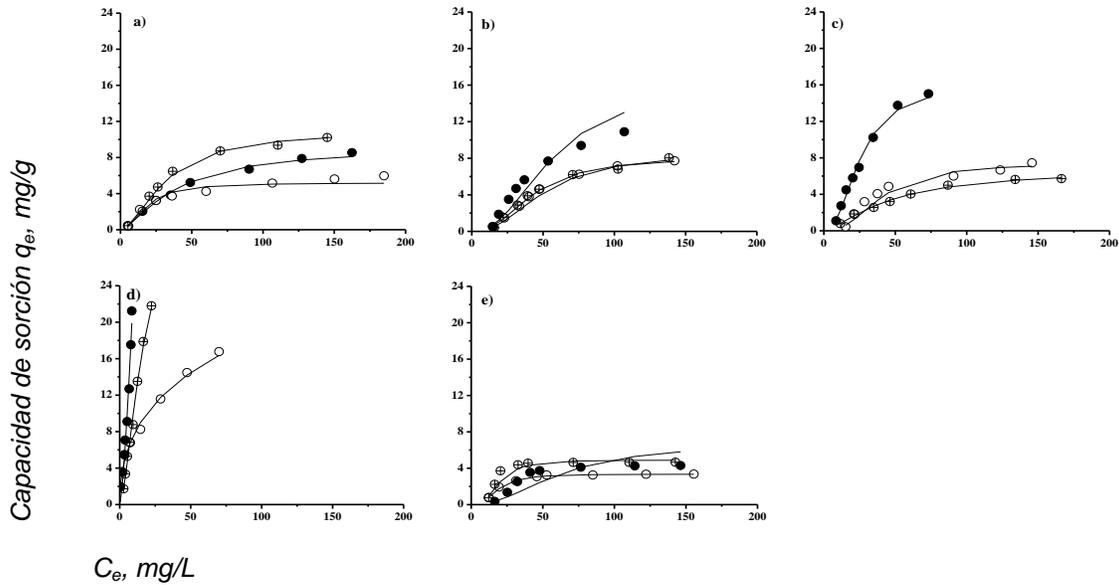
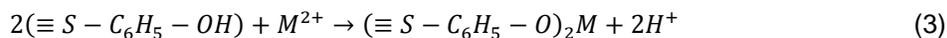
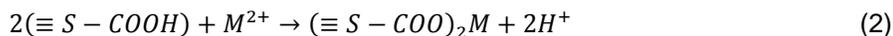
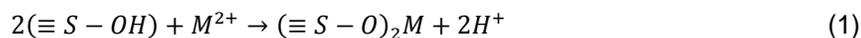


Figura 3: Isotermas de la sorción de a) Cd^{2+} , b) Cu^{2+} , c) Ni^{2+} , d) Pb^{2+} y e) Zn^{2+} empleando a la BPA modificada con (○) ácido tartárico, (●) ácido cítrico y (⊕) ácido sulfúrico. Condiciones de experimentación: 30 °C y pH 5. La línea de tendencia representa la modelación con la isoterma de Sips.

En resumen, los resultados de estos espectros son consistentes con los mecanismos propuestos para la remoción de iones metálicos utilizando biomasa lignocelulósicas (Bhaumik *et al.*, 2014), los cuales pueden involucrar las siguientes reacciones:



Donde M^{2+} corresponde al ion metálico involucrado en el proceso de remoción y S representa la superficie de la biomasa. Por tanto, el posible mecanismo de remoción para la biomasa BPA con y sin tratamiento ácido es un intercambio iónico y probablemente una reacción de complejación entre los metales y los grupos ácidos (grupos fenólicos, carboxílicos e hidroxilos) de la superficie de la biomasa. Las propiedades de sorción de la biomasa tratada con ácidos mejoran por el incremento en los grupos ácidos y los cambios ocasionados en la morfología de su superficie.

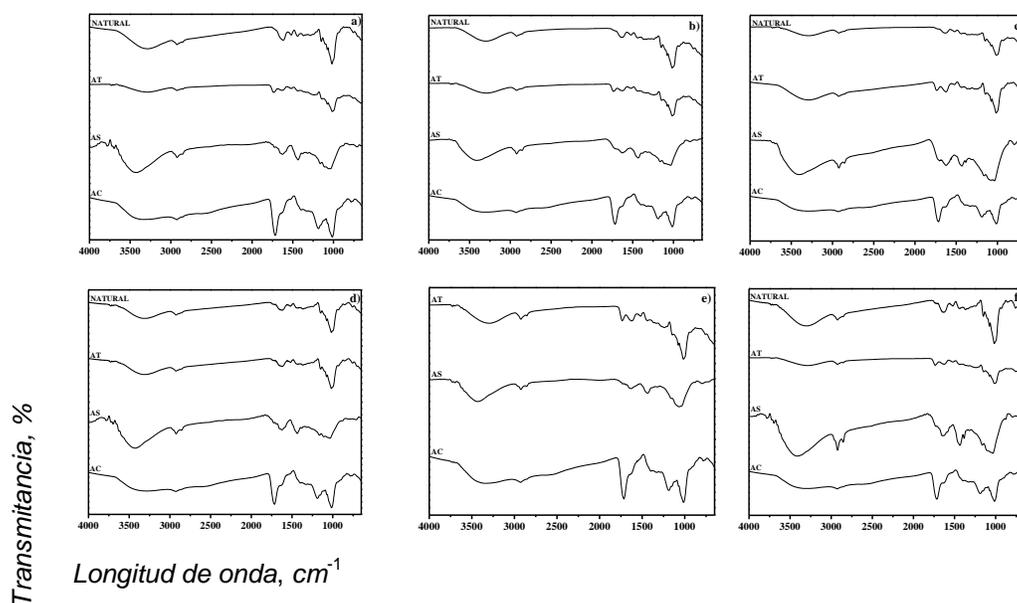


Figura 4: Espectros de espectroscopía infrarroja de las muestras de la BPA a) con y sin tratamiento ácido y b - f) después de su utilización en la remoción de metales pesados. Metal: b) Cd^{2+} , c) Cu^{2+} , d) Ni^{2+} , e) Pb^{2+} y f) Zn^{2+} .

5. CONCLUSIONES

El tratamiento ácido de la BPA usando ácidos orgánicos e inorgánicos es un procedimiento efectivo para el mejoramiento de sus propiedades de sorción de iones metálicos. Sin embargo, para mejorar su capacidad de remoción de metales pesados es importante identificar las mejores

condiciones de tratamiento y el tipo de ácido a utilizar. En particular, la biomasa tratada con los ácidos cítrico y sulfúrico muestra las mejores propiedades de remoción de metales ya que su desempeño incrementa hasta 600 % debido a la modificación de la superficie de la biomasa. Las velocidades de sorción de los metales usando las biomosas tratadas con los ácidos fueron mayores a las obtenidas con el material lignocelulósico en su forma natural. Por otra parte, el rango de capacidades máximas de remoción es de 2.5 a 5.6 mg/g para la BPA natural y de 3.34 a 21.8 mg/g para la BPA tratada con los ácidos. En general, las biomosas tratadas con los ácidos muestran capacidades de remoción más altas para el ion Pb^{2+} y más bajas para el ion Zn^{2+} . La caracterización FTIR de las biomosas mostró que los ácidos cítrico y sulfúrico tienen un efecto mayor en la modificación de la superficie de la BPA en comparación de las biomosas obtenidas en el tratamiento con ácido tartárico. El posible mecanismo de remoción es un intercambio iónico y probablemente un proceso de complejación entre los metales y los grupos fenólicos, carboxílicos e hidroxilos. Finalmente, el tratamiento ácido de la BPA es un proceso viable y atractivo para la obtención de un sorbente con propiedades de remoción mayores para especies metálicas bivalentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. A.K. Pandey, S. Negi, "Impact of surfactant assisted acid and alkali pretreatment on lignocellulosic structure of pine foliage and optimization of its saccharification parameters using response surface methodology", *Bioresource Technology*, Vol. 192, 2015, pp. 115 – 125.
2. F. Ge, M.M. Li, H. Ye, B.X. Zhao, "Effective removal of heavy metal ions Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} from aqueous solution by polymer-modified magnetic nanoparticles", *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 211 – 212, 2012, pp. 366 – 372.
3. H.B. Asberry, C.Y. Kuo, C.H. Gung, E.D. Conte, S.Y. Suen, "Characterization of water bamboo husk biosorbents and their application in heavy metal ion trapping", *Microchemical Journal*, Vol. 113, 2014, pp. 59 – 63.
4. L.H. Velazquez-Jimenez, A. Pavlick, J.R. Rangel-Mendez, "Chemical characterization of raw and treated agave bagasse and its potential as adsorbent of metal cations from water", *Industrial Crops and Products*, Vol. 43, 2013, pp. 200 – 206.
5. M. Asadieraghi, W.M. Daud, "Characterization of lignocellulosic biomass thermal degradation and physiochemical structure: Effects of demineralization by diverse acid solutions", *Energy Conversion and Management*, Vol. 82, 2014, pp. 71 – 82.
6. M. Bhaumik, H.J. Choi, M.P. Seopela, R.I. McCrindle, "Highly effective removal of toxic Cr(VI) from wastewater using sulfuric acid-modified avocado seed", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 53, 2014, pp. 1214 – 1224.
7. M.P. Elizalde-González, J. Mattusch, A.A. Peláez-Cid, R. Wennrich, "Characterization of adsorbent materials prepared from avocado kernel seeds: Natural, activated and carbonized forms", *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, Vol. 78, 2007, pp. 185 – 193.
8. R. Molinari, T. Poerio, P. Argurio, "Selective separation of copper(II) and nickel(II) from aqueous media using the complexation-ultrafiltration process", *Chemosphere*, Vol. 70, 2008, pp. 341 – 348.
9. S. Liang, X. Guo, N. Feng, Q. Tian, "Isotherms, kinetics and thermodynamic studies of adsorption of Cu^{2+} from aqueous solutions by Mg^{2+}/K^{+} type orange peel adsorbents", *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 174, 2010, pp. 756 – 762.
10. T. Wang-Wang, Z. Guang-Ming, G. Ji-Lai, L. Jie, X. Piao, Z. Chang, H. Bin-Bin, "Impact of humic/fulvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: A review", *Science of the Total Environment*, Vol. 468 – 469, 2014, pp. 1014 – 1027.

ANÁLISIS DE LAS INTERACCIONES INTERMOLECULARES DE LA N-(2-BENZOILFENIL) ACETAMIDA Y N-(2-ACETYLPHENYL) ACETAMIDE

Efrén Venancio García Báez, Itzia Irene Padilla Martínez, Raquel Nava Alvarez

Instituto Politécnico Nacional-Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología-Departamento de Ciencias Básicas-Área de Química.

RESUMEN

Se encuentra reportado que los derivados de la acetamida con benzo y acetofenona tienen un uso muy amplio en las industrias de los plásticos y farmacéuticas, es interesante combinar estas dos moléculas bases en una sola y para genera la y N-(2-acetylphenyl)acetamide(1) y N-(2-benzoilfenil)acetamida(2) para poder observar algunas propiedades interacciones intermoleculares presentes en los cristales de estos materiales. En este trabajo de investigación se describe a detalle las diferentes interacciones intermoleculares en la red cristalina de estos dos derivados de acetamida lo cual nos permite observar que las interacciones intermoleculares $C=O \cdots C=O$, $C=O \cdots \pi$ y $N-H \cdots O=C$ están presentes en el derivado (I) y forman cadenas infinitas, mientras que para el derivado (II) las moléculas se agrupan por dímeros por interacciones $C-H(\text{metilo}) \cdots O=C$.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de una molécula, los átomos están unidos mediante fuerzas intramoleculares (enlaces iónicos, metálicos o covalentes, principalmente). Estas son las fuerzas que se deben vencer para que se produzca un cambio químico. Son estas fuerzas, por tanto, las que determinan las propiedades químicas de las sustancias. Sin embargo existen otras fuerzas intermoleculares que actúan sobre distintas moléculas o iones y que hacen que éstos se atraigan o se repelan. Estas fuerzas son las que determinan las propiedades físicas de las sustancias como, por ejemplo, el estado de agregación, el punto de fusión y de ebullición, la solubilidad, la tensión superficial, la densidad, etc.

2. TEORIA

Por lo general son fuerzas débiles pero, al ser muy numerosas, su contribución es importante. Entre las áreas de interés destacan en el estudio de las interacciones intermoleculares destaca la ingeniería de cristales, tanto inorgánica como orgánica, crecimiento de cristales (dirigida especialmente al desarrollo de nuevos materiales con aplicaciones), polimorfismo, politipismo, fases nanoestructuradas, interacciones moleculares, modelado y predicción de estructuras cristalinas, transiciones de fase, disolución y recristalización de cristales y técnicas de purificación.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Los cristales de los compuestos 1 y 2 se analizaron en un Difractómetro de difracción de rayos X-Apex II con CCD Area Detector marca Bruker a temperatura ambiente empleando primeramente el mejor cristal y montado en fibra de vidrio con resina epóxica a la cabeza del goniómetro, estos cristales se alinearon de forma óptica empleando cámaras fotográficas. Se buscaron primeramente la celda unitaria empleando el programa APEX y luego ajustada la celda y sistema

cristalino se realizó la colección de datos correspondientes para cada cristales, la Reducción de datos se realizó por medio del programa SAINT, La solución de la estructura se realizó por métodos directos empleando SHELXTL y el refinamiento de la estructura se realizó por SHELXTL. Tablas y dibujos se realizó por medio del programa PLATON.

4. RESULTADOS

El compuesto **1** cristaliza en un sistema monoclinico P ($a=7.6482(9)$, $b=8.6607(10)$, $c=13.6967(16)$, $\alpha=90$, $\beta=90.122(2)$, $\gamma=90$, con grupo espacial $P 2_1/n$, con una molécula definida en la unidad asimétrica, e gtotal hay 4 moléculas por celda unitaria, ver tabla 1, Para el compuesto **2**, este cristaliza en un sistema monoclinico P ($a=8.3879(9)$, $b=9.1351(10)$, $c=8.9361(16)$, $\alpha=90$, $\beta=115.320(2)$, $\gamma=90$, con grupo espacial $P n$ con una molécula definida en la unidad asimétrica y dos moléculas en la celda unitaria. Ver tabla 1.

Tabla 1. Datos Cristalográficos para 1 y 2

Compuestos	1	2
formula	C ₁₅ H ₁₃ N ₁ O ₂	C ₁₂ H ₁₃ N ₁ O ₄
M (g mol ⁻¹)	252.0	235.2
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic
Space group	P n	P21/n
a (Å)	8.3679 (9)	7.6842 (9)
b (Å)	9.1352 (10)	8.6607 (10)
c (Å)	8.9361 (9)	13.6967 (16)
α (°)	90	90
β (°)	115.320(2)	90.122(2)
γ (°)	90	90
V (Å ³)	618.94(7)	911.52 (2)
Z	2	4
$\rho_{\text{calcd.}}$ (g cm ⁻³)	1.324	1.41
μ (mm ⁻¹)	0.086	0.107
F (0,0,0)	252.0	375.9
Crystal size (mm)	0.20 × 0.20 × 0.10	0.29 × 0.32 × 0.41
Temp. (K)	100 (2)	100 (2)
θ range (°)	2.2–26.0	28–26.0
Reflections collected	6206	9116
Independent reflections	2419	1789
Data/restraints/parameters	2419/0/163	1789/125
Goof	1.139	1.033
R (int)	0.030	0.034
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$], R 1/wR 2	0.035/0.090	0.051/0.123
Largest diff. peak/hole (eÅ)	0.284/-0.222	0.193/-0.196

En la figura 1 y figura 2 se muestran los diagramas ORTEP de las respectivas moléculas, todas las distancias C-C de los sistemas aromáticos coinciden para moléculas ya reportadas, ver tabla2. Las distancias C=O tanto de cetona como de amida coinciden con estructuras similares ya reportadas.

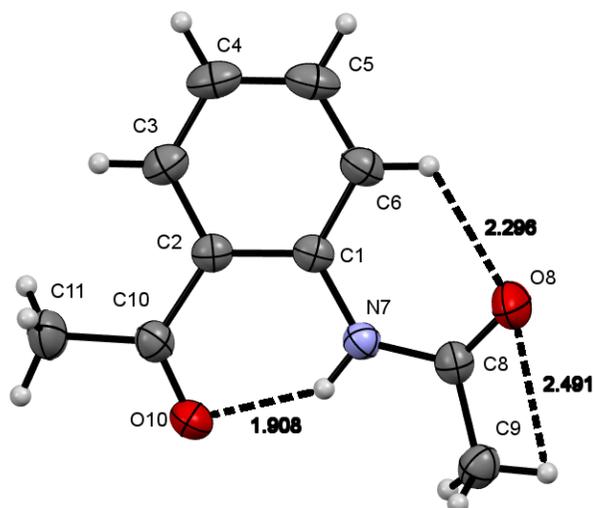


Figura 1. Diagrama Ortep del compuesto 1 con un porcentaje de la elipsoide de 30%. Mostrando tres interacciones intermoleculares N-H...O y C-H...O.

TABLA 1. Distancias de enlace para el compuesto 1	
O(8) - C(8)	1.234(2)
N(7) - C(1)	1.425(2)
C(1) - C(2)	1.398(2)
C(2) - C(3)	1.399(2)
C(3) - C(4)	1.381(2)
C(5) - C(6)	1.388(2)
C(10) - C(11)	1.490(3)
C(11) - C(16)	1.395(2)
C(13) - C(14)	1.392(2)
C(15) - C(16)	1.381(3)
O(10) - C(10)	1.217(2)
N(7) - C(8)	1.338(2)
C(1) - C(6)	1.386(2)
C(2) - C(10)	1.491(2)
C(4) - C(5)	1.383(2)
C(8) - C(9)	1.502(2)
C(11) - C(12)	1.393(2)
C(12) - C(13)	1.377(3)
C(14) - C(15)	1.390(3)

Ángulos de enlace para el compuesto 1	
C(1) - N(7) - C(8)	123.27(14)
N(7) - C(1) - C(2)	121.49(14)
N(7) - C(1) - C(6)	117.98(14)
C(2) - C(1) - C(6)	120.51(15)
C(1) - C(2) - C(3)	118.19(15)
C(1) - C(2) - C(10)	123.85(15)
C(3) - C(2) - C(10)	117.94(14)
C(2) - C(3) - C(4)	120.95(16)
C(3) - C(4) - C(5)	120.30(16)
C(4) - C(5) - C(6)	119.55(15)
C(1) - C(6) - C(5)	120.36(15)
O(8) - C(8) - N(7)	122.10(15)
O(8) - C(8) - C(9)	121.59(14)
N(7) - C(8) - C(9)	116.31(14)
O(10) - C(10) - C(2)	121.13(16)
O(10) - C(10) - C(11)	120.77(15)
C(2) - C(10) - C(11)	118.00(14)
C(10) - C(11) - C(12)	121.10(14)
C(10) - C(11) - C(16)	119.13(15)
C(12) - C(11) - C(16)	119.74(16)
C(11) - C(12) - C(13)	120.11(15)
C(12) - C(13) - C(14)	120.44(16)
C(13) - C(14) - C(15)	119.32(18)
C(14) - C(15) - C(16)	120.61(16)
C(11) - C(16) - C(15)	119.73(16)

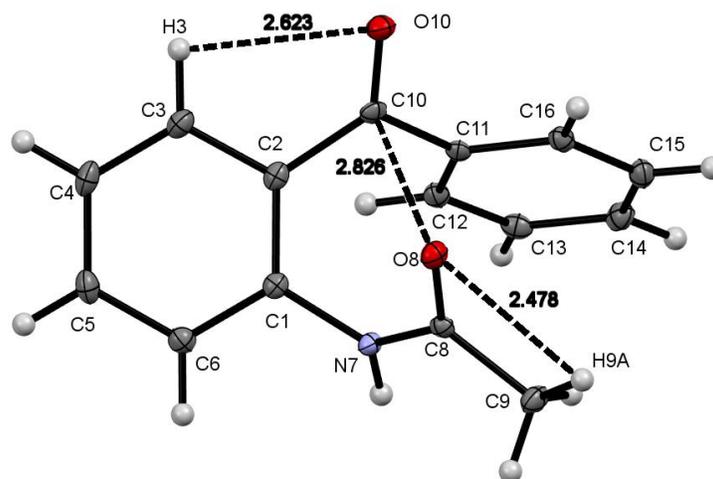


Figura 2. Diagrama Ortep del compuesto 2 con un porcentaje de la elipsoide de 30%. La cual muestra tres interacciones intermoleculares N-H...O, C-H...O, CO...CO.

O(8) - C(8)	1.209(2)
O(10) - C(10)	1.220(2)
N(7) - C(1)	1.396(2)
N(7) - C(8)	1.355(2)
C(1) - C(2)	1.414(2)
C(1) - C(6)	1.390(2)
C(2) - C(3)	1.397(2)
C(2) - C(10)	1.482(2)
C(3) - C(4)	1.365(3)
C(4) - C(5)	1.374(4)
C(5) - C(6)	1.375(3)
C(8) - C(9)	1.496(3)
C(10) - C(11)	1.497(3)

C(1) - N(7) - C(8)	129.67(14)
N(7) - C(1) - C(2)	119.06(14)
N(7) - C(1) - C(6)	121.73(15)
C(2) - C(1) - C(6)	119.19(14)
C(1) - C(2) - C(3)	117.88(14)
C(1) - C(2) - C(10)	122.80(14)
C(3) - C(2) - C(10)	119.31(15)
C(2) - C(3) - C(4)	122.35(18)
C(3) - C(4) - C(5)	118.9(2)
C(4) - C(5) - C(6)	121.14(18)
C(1) - C(6) - C(5)	120.45(17)
O(8) - C(8) - N(7)	123.84(16)
O(8) - C(8) - C(9)	122.17(16)
N(7) - C(8) - C(9)	113.96(15)
O(10) - C(10) - C(2)	122.33(16)
O(10) - C(10) - C(11)	118.55(17)
C(2) - C(10) - C(11)	119.11(16)

Con respecto a las interacciones intramoleculares e intermoleculares, la molécula 1 presenta dos interacciones intramoleculares entre el carbonilo de la metilcetona y el hidrógeno del nitrógeno del grupo amida a una distancia corta de 1.910 Å, ángulo 140.9°, existe una interacción adicional entre el H6 del anillo aromático con el O8 del carbonilo a una distancia de 2.30 Å y 120°. Existe una interacción intramolecular interesante entre el enlace C9-H9B con el centroide (código de simetría -x,-y,-z) del anillo aromático a una distancia de 2.756 Å que forman dímeros moleculares ver figura 3.

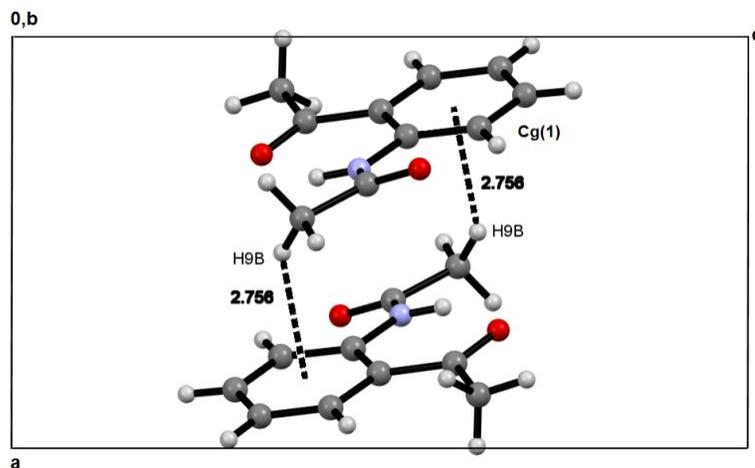


Figura 3. Diagrama de la formación de dímeros moleculares por interacciones intermoleculares C-H... π para el compuesto 2.

Sobre las interacciones intermoleculares para el compuesto 2 muestra una interacción C-H... π de 2.54Å que se muestra en la figura 4, esta interacción se propaga a lo largo de la dirección del eje c.

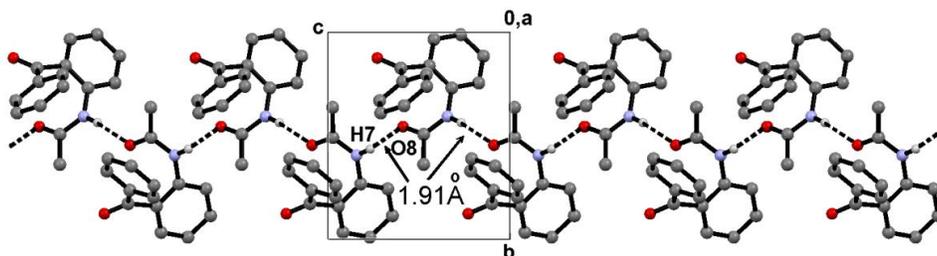


Figura 4. Interacciones intermoleculares para el compuesto 2.

Además existe una interacción por puente de hidrógeno N-H...O de 1.91Å que se prolonga a lo largo del eje c, ver figura 5.

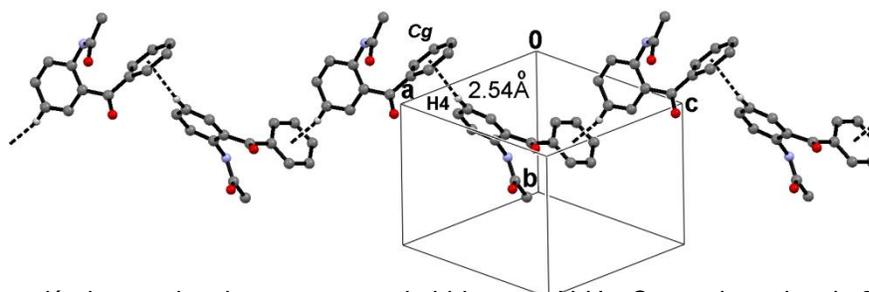


Figura 5. Interacción intermolecular por puente de hidrógeno N-H...O para la molécula 2

5. CONCLUSIONES

La diferencia que existe entre las dos estructuras moleculares estudiadas, nos muestra que la molécula 1 prefiere mantener el arreglo cristalino en base a la formación de dímeros que se estabilizan por interacciones C-H... π de los grupos aromáticos y de los metilos de este tipo de moléculas. Para la molécula 2, las interacciones intermoleculares C-H... π mantiene la formación de listones o cintas supramoleculares, además que la formación del puente de hidrógeno N-H...O=C entre los grupos amidicos ayuda a mantener el empaque cristalino de esta molécula en el sólido.

Los autores agradecen a la SIP-IPN por apoyo económico al proyecto 20150280

BIBLIOGRAFIA

1. H. L. Slater, H. Rozynski, G. Crundwell and N. M. Glagovich *Acta Cryst.* (2006). E62, o1957-o1958.
2. Gómez-Castro, C.Z.; Padilla-Martínez, I.I.; Martínez-Martínez, F.J.; García-Báez, E.V. Thermodynamic characterization of three centered hydrogen bond using *o*-aromatic amides, oxalamates and bis-oxalamides as model compounds. *ARKIVOC* 2008(v), 227- 244.

APLICACIÓN DE LA QUIMICA ANALITICA Y ESTADÍSTICA EN EL ESTUDIO DE METALES PESADOS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Minerva Juárez Juárez¹, Raquel Nava Alvarez¹, Efrén Venancio García Baez¹

¹Instituto Politécnico Nacional-Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.

RESUMEN

Debido a la importancia que tiene conocer la calidad del aire, así como la cantidad y el tipo de contaminantes que se encuentran en él, tales como: plomo, níquel, cromo, cobre y zinc, se realizó el muestreo del aire, el análisis de los metales pesados se llevó a cabo mediante la técnica de absorción atómica. El sistema de muestreo se basó en la norma de muestreo de aire ambiente, emitida por la EPA (Norma UNE 77-230-1998 equivalente a la Norma ISO 9855:1993 Aire Ambiente - *Determinación del contenido de plomo particulado en Aerosoles Captados en Filtros*). Para cada metal a analizar se trazó una curva de calibración; se llevó a cabo la obtención del límite de detección, mediante una serie de estándares preparados a la misma concentración dentro del rango de valores de concentración utilizados para el análisis de metales pesados. Posteriormente para cada serie de muestras leídas se obtiene la desviación estándar, así como la media aritmética. Se obtuvieron concentraciones promedio de cromo de 2.681 ppm y plomo de 1.292 ppm, dichos metales son los que se encuentran en mayor concentración en el aire.

1. INTRODUCCIÓN

Desde la Revolución Industrial la producción de metales pesados tales como el plomo, el cobre y el zinc ha ascendido vertiginosamente. Entre 1850 y 1990 la producción de estos tres metales se elevó considerablemente, con el correspondiente incremento de sus emisiones. Los metales pesados se han usado de diversas formas durante al menos dos mil años. Por ejemplo, el plomo se ha utilizado en las tuberías y el arseniato de plomo se ha usado para combatir los insectos de las manzanas. Los romanos añadían plomo al vino para mejorar el sabor, y el mercurio se utilizaba como bálsamo para aliviar el dolor de muelas en los niños pequeños.

Los avances tecnológicos han sido variados, y desde esta industrialización se han presentado por todo el planeta, la creación cada vez mayor de fuentes de emisión de gases de combustión provenientes de la fabricación de algún producto y de medios de transporte.

En conjunto la mayor parte de los problemas de contaminación del aire son hoy en día resultado de las actividades industriales y de los medios de transporte, en otras palabras, consecuencia del uso de la energía.

En el caso específico de la ciudad de México, el problema de la contaminación atmosférica tuvo su origen en la década de los 40's con el avance en los procesos industriales. En ese tiempo el indicador de la calidad del aire era la visibilidad que de acuerdo a algunos informes, ésta era de 4 a 10 kilómetros, y para los años 50's, disminuyó hasta observarse solamente de 2 a 4 kilómetros a la redonda.

En 1971 el poder legislativo emitió la “Ley para Prevenir y Controlar la Contaminación Ambiental” con el fin de incorporar a la Administración Pública la vigilancia y protección al ambiente.

En 1973 se inicia la transformación del sistema de mediciones manuales por mediciones automáticas, continuas y en tiempo real con recepción de datos dentro de un Centro de Control Central. Las estaciones podían medir “contaminantes criterio” y se realizaban mediciones manuales de partículas suspendidas totales (PST), al igual que los parámetros meteorológicos de dirección y velocidad del viento, temperatura ambiente y humedad relativa.

Se les denomina contaminantes criterio del aire⁽¹⁾, a un conjunto de contaminantes que son muy abundantes, se encuentran en todos los lados y tienen diversos efectos en la salud. Estos son: Ozono (O₃), Dióxido de Azufre (SO₂), Dióxido de Nitrógeno (NO₂), Monóxido de Carbono (CO), Partículas Suspendidas (PS) y Plomo (Pb).

Sin embargo la información generada no fue del todo confiable, por lo que se creó la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA), la cual tiene como propósito vigilar y evaluar el estado de la calidad del aire, respecto de los contaminantes criterio y otros elementos tóxicos, así como variables meteorológicas, con la finalidad de mantener informada a la población y evaluar el impacto de las acciones de prevención y control de la contaminación para la protección de la salud de la población y el mejoramiento del medio ambiente⁽²⁾.

En México existen más de 50 localidades que cuentan con redes o estaciones de monitoreo, operadas por entidades que van desde gobiernos municipales hasta empresas privadas (INE-DGCENICA, 2004b), y funcionan de manera independiente, con diferentes objetivos, diseños, equipos, procedimientos de validación y formatos para el reporte de información. En este tercer almanaque se incluye información de sólo nueve de estas localidades (la ZMVM, la ZMG, la ZMVT, Puebla, Salamanca, la ZMM, Ciudad Juárez, Tijuana y Mexicali), que representan las zonas metropolitanas y ciudades con redes consolidadas, y que cuentan con información suficiente (por lo menos de 5 años) para realizar el análisis de tendencias y comportamiento de los contaminantes

El Sistema de Monitoreo Atmosférico (SIMAT) cuenta con más de 40 sitios de monitoreo distribuidos en el área metropolitana, comprendiendo demarcaciones del Distrito Federal y la zona conurbada del Estado de México. Estos sitios se conocen como estaciones de monitoreo de la calidad del aire, y en la mayoría se utilizan equipos continuos para realizar la medición de los contaminantes criterio requeridos por la normatividad federal: dióxido de azufre, monóxido de carbono, dióxido de nitrógeno, ozono y partículas suspendidas. En algunos de ellos se realizan también mediciones continuas de las principales variables meteorológicas de superficie, incluyendo la radiación solar ultravioleta. En el resto se utilizan equipos manuales para la recolección de muestras de partículas suspendidas y de depósito atmosférico.

Para la medición de metales pesados en la ciudad como el plomo (contaminante criterio), se cuenta con la Red Manual de Monitoreo Atmosférico (REDMA). La información que proporciona la REDMA permite evaluar el estado de la calidad del aire respecto de las partículas en suspensión y los elementos contenidos en estas. La información histórica que ha proporcionado esta red es un elemento valioso para evaluar indirectamente el impacto de acciones específicas de prevención y control de la contaminación. Esta información es complementaria a la que proporcionan la RAMA y la Red de Depósito Atmosférico (REDDA), en la cual se obtiene información de algunos metales pesados.

El problema de la calidad del aire en la Ciudad de México ha alcanzado grandes dimensiones. El acelerado crecimiento de la población y su demanda de servicios ha incrementado significativamente las necesidades de energía y transporte en la gran metrópoli. Esta última necesidad, a su vez, ha incrementado la circulación de taxis, microbuses, camiones de carga y vehículos particulares, además de los provenientes del Estado de México. Estudios sobre

inventarios de emisiones reportan que los vehículos contribuyen con aproximadamente el 85 por ciento de las emisiones de gases y partículas contaminantes de la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM).

Al respecto la OMS ha establecido que los niveles mínimos de plomo en la sangre, a los cuales se observa un efecto sobre la salud de las personas son 15-20 mg/dl en adultos y 10 µg/dl en niños. Esta organización recomienda, en su última revisión, un nivel de concentración de plomo en el aire de 0.5 µg/m³ anual.

Los efectos en salud del plomo inhalado dependen, entre otros, del tamaño de las partículas. Una alta proporción de las partículas pequeñas inhaladas (menor a 2.5 micrones) se deposita en la parte más profunda del sistema respiratorio, desde donde el plomo se difunde casi en un 100% al torrente sanguíneo. Las partículas en un rango de tamaño de 2.5 a 10 micrones (µm) se depositan preferentemente en la región traqueobronquial y nasofaríngea, desde donde se tragan, además de que la absorción del plomo por el tracto gastrointestinal es menos eficiente en los adultos (8 a 10%), pero puede llegar hasta un 50% en los niños. Las partículas mayores a 10 µm penetran por la nariz y no representan un peligro de exposición apreciable a menos que se encuentren presentes en altas concentraciones, debido a su menor capacidad de difusión por las membranas que recubren dicha parte del tracto respiratorio.

En las áreas urbanas, la mayoría de las partículas de plomo tienen un tamaño que varía entre 0.25 a 1.4 µm, pero en áreas cercanas a determinados tipos específicos de fuentes, tales como acopios de metales, podrían presentarse partículas de plomo con un tamaño incluso superior a 10 µm.

2. TEORÍA

Desde hace varias décadas algunos metales tienen actividad biológica, pero solo a pocos de ellos se les ha puesto atención como posibles nutrientes. Cualquier metal encontrado en el hombre y que no se detecta en las plantas, está probablemente presente en el ambiente como un contaminante.

Los elementos se clasifican en *esenciales* y *no esenciales*, para lo cual existen dos criterios⁽³⁾: El primero depende de la respuesta que se tiene durante el crecimiento o de los alimentos que se ingieran, y el segundo depende de la ausencia del metal en la dieta, y además se considera que algunos metales son esenciales, ya que forman parte de enzimas purificadas.

Se ha encontrado que los metales esenciales para algunos animales de menor tamaño que el hombre son hierro, cobre, manganeso, cobalto, molibdeno, selenio y zinc. Pero cabe mencionar que éstos no necesariamente son esenciales para el humano.

Además en tejidos vivos se encuentran otros elementos como el aluminio, plata, plomo, oro, bismuto, estaño, titanio y galio, y los metales que por lo tanto se cree son adquiridos del medio ambiente y que son acumulables son el cadmio, cromo, níquel, vanadio y rubidio.

El plomo es virtualmente ubicuo en el ambiente como resultado de su ocurrencia natural y de su uso industrial. La utilización de cantidades menores de plomo (ej. tetraetilplomo) en la gasolina durante la década pasada, produjo una disminución en la concentración sanguínea de este metal en el hombre. En forma global, la exposición humana al plomo se da principalmente a partir de los alimentos, sin embargo, la mayor parte de la toxicidad manifiesta por el plomo, resulta de la exposición ambiental e industrial.

Las vías principales de absorción del plomo son el tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio. La absorción del metal inhalado varía con la forma y la concentración. Se absorbe alrededor del 90% de las partículas de plomo inhalado del aire ambiente.

Después de la absorción, el plomo inorgánico se distribuye inicialmente en los tejidos blandos, en particular en el epitelio tubular renal y en el hígado. Luego, el plomo es redistribuido y depositado en hueso, dientes y pelo. Con el tiempo, en el hueso se encuentra cerca del 95% de la carga corporal del metal.

Sólo cantidades pequeñas de plomo se depositan en el cerebro, la mayor parte en la sustancia gris y en los ganglios basales.

Casi todo el plomo orgánico circundante está asociado con los eritrocitos; sólo cuando este metal se presenta en concentraciones relativamente altas queda una porción significativa en el plasma.

La vida media del metal en la sangre es de 1 a 2 meses, alcanzándose así un estado de equilibrio en alrededor de 6 meses. La vida media en el hueso, se ha estimado de 20 a 30 años

3. PARTE EXPERIMENTAL

Debido a la importancia que tiene conocer la calidad del aire, así como la cantidad y el tipo de contaminantes que se encuentran en él, tales como: plomo, níquel, cromo, cobre y zinc, se realizó el muestreo del aire, y se analizó mediante la técnica de absorción atómica. Esto, debido a que se sospecha de la presencia de estos contaminantes en las emisiones gaseosas a la atmósfera producidas por las industrias que se encuentran alrededor de la UPIBI, la cual se encuentra colindante a un grupo de industrias pertenecientes a la zona industrial llamada "La Presa" en donde se ubican fábricas de distintos giros.

La Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI-IPN) se encuentra rodeada de cerros, lo cual provoca que las emisiones industriales no sean dispersadas adecuadamente. Por lo cual las condiciones meteorológicas (como viento y temperatura, además de la presión atmosférica), son de suma importancia en la dispersión de los contaminantes.

El análisis se realizó mediante la técnica de absorción atómica, basándose en la alta sensibilidad y límites de cuantificación bajos con los que cuenta la técnica, lo que ayudó a obtener datos de concentraciones de metales en el aire y por consiguiente con un alto grado de confiabilidad.

La medición de la concentración de metales pesados en el aire se llevó a cabo en dos etapas: el *trabajo de campo*, que en este caso fue el muestreo mismo del material particulado presente en la atmósfera, y trabajo de laboratorio donde se lleva a cabo el análisis de la muestra mediante la técnica de absorción atómica para la determinación de metales.

El trabajo de campo se lleva a cabo mediante un sistema de muestreo el cual se basó en la norma de muestreo de aire ambiente, emitida por la EPA (Norma UNE 77-230-1998 equivalente a la Norma ISO 9855:1993 Aire Ambiente - *Determinación del contenido de plomo particulado en Aerosoles Captados en Filtros*), ya que en México no existe alguna norma que explique el método de muestreo en aire ambiente, además se tomaron en cuenta partes de la *Norma de calidad primaria para plomo en el aire*, emitida en Santiago de Chile en el año 2001⁽⁴⁾. En ellas se explica la metodología a seguir mediante un sistema de ultrafiltración y el periodo de muestreo del aire.

Para llevar a cabo la recolección de la muestra se colocó una membrana de nylon de 0.22 μm de tamaño de poro y 47 mm de diámetro (previamente pesada), al sistema de ultrafiltración para que al succionar el aire ambiente, los contaminantes quedaran atrapados en ella.

Mediante la bomba de vacío se succionó el aire atmosférico por 24 horas para obtener un volumen de aire filtrado, calculando el flujo del aire.

Al término de la succión se pesó nuevamente la membrana para conocer la masa total de sólidos recolectados. Se llevó a cabo el tratamiento de la membrana con los depósitos atrapados en ella mediante una digestión ácida.

Por otro lado se preparan las soluciones estándar que se inyectan al espectrofotómetro de absorción atómica; de las cuales se preparan varias diluciones a diferentes concentraciones a partir de una *solución patrón* de concentración conocida (1000 ppm). Estas soluciones patrón se preparan partiendo de una sal correspondiente al metal a analizar, o bien, si se cuenta con la solución estándar preparada a 1000 ppm del metal, solo se hacen diluciones de la misma para obtener concentraciones en el intervalo correspondiente a cada uno.

Se lleva a cabo la determinación de los siguientes parámetros estadísticos como la *sensibilidad* del método en la EAA de llama (o concentración característica), la cual se define como la concentración del metal (en µg/mL) que produce una absorción del 1% (una absorbancia de aproximadamente 0.0044 nm). La sensibilidad (S)⁽⁵⁾ es la pendiente de la curva de calibración que se obtiene para cada metal

$$S = m = \frac{dA}{dc} \dots\dots\dots (Ec.1)$$

Donde:

S= Sensibilidad

dA= diferencial de absorbancia

dC = Diferencial de concentración

m= pendiente de la curva

Una concentración característica baja es usualmente óptima (más alta sensibilidad) y es una herramienta útil para evaluar la actuación del instrumento.

El *Límite de Detección* (L. D.)⁽⁵⁾ del instrumento se puede definir como la concentración que produce una absorción equivalente al doble de la magnitud de la fluctuación del fondo. La IUPAC la define como: el límite de detección (L. D.) del método es la concentración más baja medida (relación señal a ruido) del elemento que se analiza y es estadísticamente diferente del blanco. Se puede definir como:

$$L.D. = \frac{(3 * s * C)}{\bar{X}} \dots\dots\dots (Ec. 2)$$

Donde:

L.D. = Límite de Detección

s = Desviación estándar de la muestra

C = Concentración de la muestra

\bar{X} = Media de las muestras

La sensibilidad y los límites de detección varían con el instrumento, el metal determinado, la complejidad de la matriz y la técnica seleccionada.

El límite de detección es el límite por debajo del cual el espectrofotómetro no puede reportar en forma confiable la presencia o ausencia de un analito en la muestra, La magnitud del límite de detección depende de los factores siguientes:

La identidad del elemento o especie molecular que se va a determinar

Las identidades de los demás componentes de la muestra

La calidad de los reactivos necesarios para preparar la muestra, y

El instrumento de análisis que se emplee

La desviación estándar (s)⁽⁵⁾ de una muestra de datos de tamaño limitado viene dada por la ecuación:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}} \dots\dots\dots (Ec.3)$$

La desviación estándar proporciona una medida estadísticamente significativa de la precisión de una población de datos. En la que X_i es el valor de la i -ésima medición, \bar{X} es la media de la población de muestras. Por último $N - 1$, que se define como el número de grados de libertad (son el número de datos que se mantienen independientes cuando se evalúa "s").

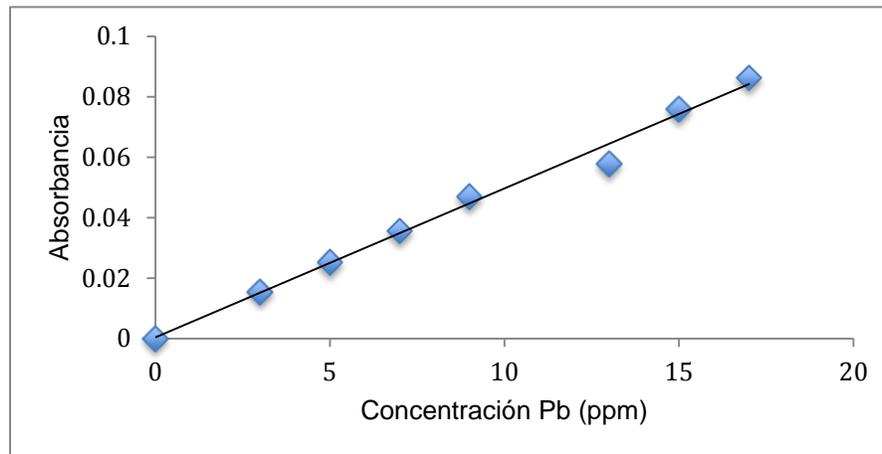
La media de la muestra (\bar{X})⁽⁵⁾ es el valor promedio, de un conjunto finito de datos, se define por;

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{N} \dots\dots\dots (Ec.4)$$

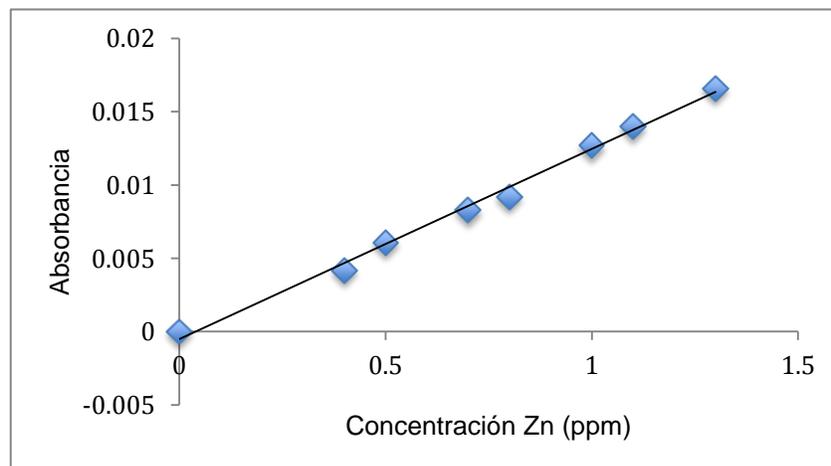
El intervalo de concentración óptimo se extiende normalmente entre la concentración de varias veces la sensibilidad hasta la concentración a la cual la curva de calibración empieza a ser plana. Para conseguir mejores resultados conviene utilizar concentraciones de muestras y patrones dentro del intervalo óptimo de concentraciones del espectrofotómetro. La metodología se basó en Normas extranjeras, como la Norma de Calidad Primaria emitida en Santiago de Chile, así como la ISO 9855:1993 Aire Ambiente, ya que en México actualmente no se cuenta con una red adecuada de ellas que nos den características de muestreo en el caso del aire ambiente.

4. RESULTADOS

Para cada metal a analizar se trazó una curva de calibración, obteniendo las relaciones correspondientes



Gráfica No. 1 Curva tipo para análisis de plomo.



Gráfica No. 2 Curva tipo para analisis de Zinc

Tabla No. 1 Ecuaciones para determinar la concentración de los diferentes metales

Metal	Ecuación	R²	Sensibilidad (mg/L)
Plomo	Abs= 0.013 []+ 0.0005	0.9908	0.013
Zinc	Abs= 0.0049 []+ 0.0004	0.9943	0.0049
Cromo	Abs=0.0009[]+0.0004	0.994	0.0009
Niquel	Abs= 0.0022 []+0.0004	0.9915	0.0022
Cobre	Abs= 0.008 []+0.0018	0.9942	0.008

Tabla 2. Parámetros estadísticos determinados

Metal	Media (\bar{X})	Desviación estándar (s)	Límite de detección ($\mu\text{g/mL}$)
Pb	11.4378	0.8899	2.801
Zn	0.9818	0.04564	0.1255

Tabla 3. Concentraciones obtenidas de metales pesados en muestras de aire

Metal	Pb	Zn	Cr_T	Ni	Cu
PROMEDIO	1.359±0.862	0.605±0.416	2.681±1.545	0.763±0.401	0.640±0.286

5. CONCLUSIONES

Se obtuvieron concentraciones promedio de cromo y plomo, siendo de 2.681 ppm y 1.292 ppm respectivamente. Estos metales son los dos que están en mayor porcentaje de concentración presentes en el aire. Dichas concentraciones pueden resultar dañinas para la salud⁽⁶⁾; se sabe que el plomo es tóxico a concentraciones mayores de 1.5 ppm, y por otro lado este se bioacumula en el organismo, produciendo efectos nocivos en el organismo.

Las concentraciones obtenidas de níquel no representan riesgo para la salud, aunque de igual manera este es tóxico al acumularse en el organismo.

El cobre está en baja concentración, y cabe mencionar que este metal es uno de los cuales se encuentran presentes en el organismo como “esenciales” (junto con el Zn), lo cual no representa a corto o mediano plazo un peligro alguno de intoxicación por estos metales. En bibliografía se encontró que se producen (por empresas dedicadas a la fundición), emisiones de estos metales, lo cual nos llevó a determinar la concentración de estos dos, y basándonos en el hecho de que existe muy cerca de la escuela una industria de fundición. En algunos datos obtenidos, se indica que no es detectable (ND) el metal en algunos casos, lo que no significa que la cantidad sea insignificante de dicho metal, ya que se requiere de un equipo con mayor sensibilidad y límites de detección más bajo para determinar concentraciones del orden de trazas. Los parámetros estadísticos aquí determinados proporcionan resultados confiables en relación a las concentraciones obtenidas de los metales analizados. Es importante llevar a cabo el estudio estadístico para cualquier técnica de análisis, ya que esto indica la fortaleza de la de la técnica empleada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Norma de Calidad Primaria para Plomo en el aire; Santiago de Chile
2. <http://www.ine.gob.mx/dgicurg/calairc>. 30 mayo de 2016

3. Goodman y Gilman, *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, Editorial médica Panamericana, 8ª edición, Argentina 1994, 1751 pp.
4. Norma ISO 9855:1993 Aire Ambiente - Determinación del contenido de plomo particulado en Aerosoles Captados en Filtros
5. Miller J.C. & J.N., *Estadística para química analítica*, Editorial Addison Wesley Iberoamericana, 2ª edición, Estados Unidos 1993 Edición, 211 pp.
6. De Nevers, Noel, *Ingeniería de control de la contaminación del aire*, Editorial Mc Graw-Hill, México 199, 546 pp.

CONVERSIÓN CATALÍTICA DE METANOL USANDO ÓXIDO DE CIRCONIO MODIFICADO CON BORO Y DOPADO CON PRASEODIMIO

María Isabel Arregoitia Quezada¹, Ricardo García-Alamilla¹, Claudia Esmeralda Ramos Galván², José Guillermo Sandoval Robles², Sergio Robles Andrade² y Luz Arcelia Garcia Serrano³

¹Centro de Investigación en Petroquímica Secundaria del ITCM. ²Depto. de Ing. Química y Bioquímica del ITCM. ³CIEMAD-IPN

RESUMEN

El desarrollo de catalizadores que permitan llevar a cabo reacciones de conversión de alcoholes puede abrir nuevas vías para la obtención de productos petroquímicos a partir de una materia prima no derivada del petróleo. En este trabajo se sintetizaron materiales a base de óxido de circonio empleando la metodología sol-gel. El precursor catalítico (hidróxido de circonio) fue modificado en una primera etapa con ácido bórico y, posteriormente, con una fuente orgánica de praseodimio. Las impregnaciones se realizaron aprovechando la vibración generada en un baño de ultrasonido y los hidróxidos modificados fueron calcinados a 650°C. Estos materiales fueron denominados Z (óxido sin modificar), ZB (óxido modificado con boro) y ZBPr (óxido modificado con boro y praseodimio). Los resultados de caracterización indicaron la obtención de sólidos cristalinos con predominante presencia de fase tetragonal, sobre todo en los materiales modificados; las propiedades texturales indicaron la promoción del área específica, por lo menos tres veces al valor correspondiente al material puro; además, se determinó la presencia de boro en la región de 1500 a 900 cm^{-1} mediante espectroscopia FT-IR. La evaluación catalítica de los materiales se realizó en una microplanta que opera a presión atmosférica y flujo continuo. Después de 2 horas de reacción a 350°C, los valores de conversión fueron aproximadamente de 5, 10 y 36%, respectivamente para los materiales Z, ZBPr y ZB, siendo selectivos hacia la formación de dimetil éter.

1. INTRODUCCIÓN

La crisis energética es uno de los problemas más importantes del próximo siglo, consecuencia del rápido agotamiento de las reservas de petróleo. La alta tasa de consumo de este recurso se debe a su uso excesivo en el transporte, alrededor del 57% se consume para ese fin [1]. En este sentido, la conversión de alcoholes puede abrir nuevas vías para la obtención de combustibles a partir de una materia prima no derivada del petróleo.

La conversión de metanol a dimetil éter (DME) es una propuesta tecnológica para los vehículos de motor del futuro. Los números de cetano del DME (55-60) son más altos comparados con el combustible diesel de alta calidad (40-55). Por lo tanto, el DME tiene un excelente potencial para ser utilizado como combustible alternativo para motores de encendido por compresión [2].

La síntesis de DME a partir de metanol es una reacción catalizada por acidez. Sin embargo, debido a la presencia de sitios ácidos fuertes, la mayoría de los catalizadores sólidos ácidos generan productos no deseados. Además, la deshidratación de metanol produce una rápida desactivación de los catalizadores por la deposición de coque. Para evitar este problema e incrementar la selectividad a DME, debe disminuirse la fuerza de los sitios ácidos del catalizador [3].

El óxido de circonio (ZrO_2) modificado con ácidos minerales (sulfúrico, bórico o fosfórico) es uno de los materiales frecuentemente usado en reacciones catalizadas por acidez [4]. Entre estos catalizadores, existe abundante literatura en torno al óxido de circonio sulfatado, siendo este material considerado un súper ácido.

Con base en lo anteriormente expuesto, en este trabajo se deseaba obtener catalizadores con propiedades ácidas moderadas, por lo cual se optó por el ácido bórico para la modificación de los materiales. Además, se adicionó praseodimio como dopante con la finalidad de conocer si presentaba un efecto positivo en las propiedades del material modificado con boro, lo cual en nuestro conocimiento no ha sido estudiado.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Preparación de materiales

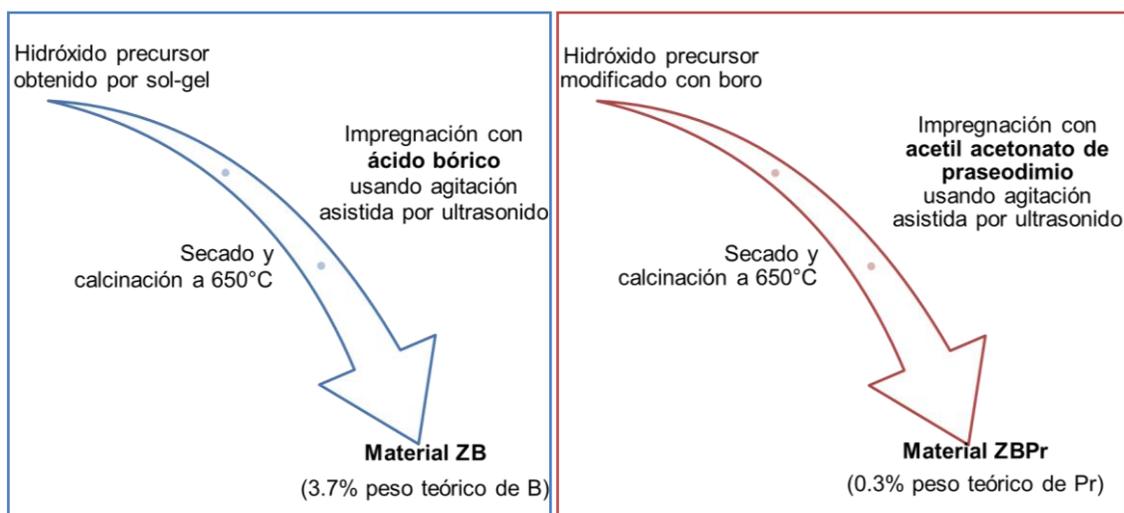
La síntesis del hidróxido de circonio, precursor de los materiales catalíticos, se realizó con base en la metodología sol-gel. El alcóxido empleado fue n-butóxido de circonio IV, usando 1-butanol como solvente. Una vez obtenido el hidróxido precursor, se procedió a su modificación como se describe en el Esquema 1, para lo cual fue utilizado un baño de ultrasonido: Crest Ultrasonics modelo CP1200D. Cabe señalar que se calcinó una porción de hidróxido sin modificar para así obtener al óxido de circonio puro, denominado en este trabajo como Z.

2.2. Caracterización

Los materiales preparados se caracterizaron mediante las técnicas de difracción de rayos X (Bruker Advanced D8), fisisorción de nitrógeno (Quantachrome Autosorb-1) y espectroscopia infrarroja (Perkin Elmer modelo Spectrum 100).

2.3. Actividad catalítica

Las pruebas de deshidratación de metanol se realizaron en una microplanta, a presión atmosférica y flujo continuo. A esta instalación de microactividad se encuentra acoplado un cromatógrafo de gases (Shimadzu17A) para el análisis de los productos de reacción.



Esquema 1. Síntesis de materiales modificados con boro y praseodimio.

3. RESULTADOS

En la Tabla 1 se reportan los resultados obtenidos mediante difracción de rayos X y fisorción de nitrógeno. Todos los materiales presentaron estructuras cristalinas definidas, observándose en el caso del óxido puro la presencia de las fases tetragonal y monoclinica [5]. No obstante, en el caso de los materiales modificados ZB y ZBPr se observó predominantemente la fase tetragonal con sólo trazas de fase monoclinica. Esto permite inferir que las impregnaciones realizadas conllevan a la obtención de materiales con fase preferentemente tetragonal. En relación a las propiedades texturales puede señalarse que el área específica de los materiales modificados incrementó al menos tres veces respecto al óxido puro, siendo entonces los sólidos ZB y ZBPr más resistentes a la sinterización que se produce durante la etapa de calcinación. La promoción del área específica de este tipo de materiales tratados con ácido bórico ha sido reportada en la literatura [6].

Tabla 1. Propiedades cristalinas y texturales de los materiales preparados.

Material	Fase cristalina	Área _{BET} (m ² /g) ^a
Z	Tetragonal, monoclinica	17
ZB	Tetragonal, trazas de monoclinica	65
ZBPr	Tetragonal, trazas de monoclinica	52

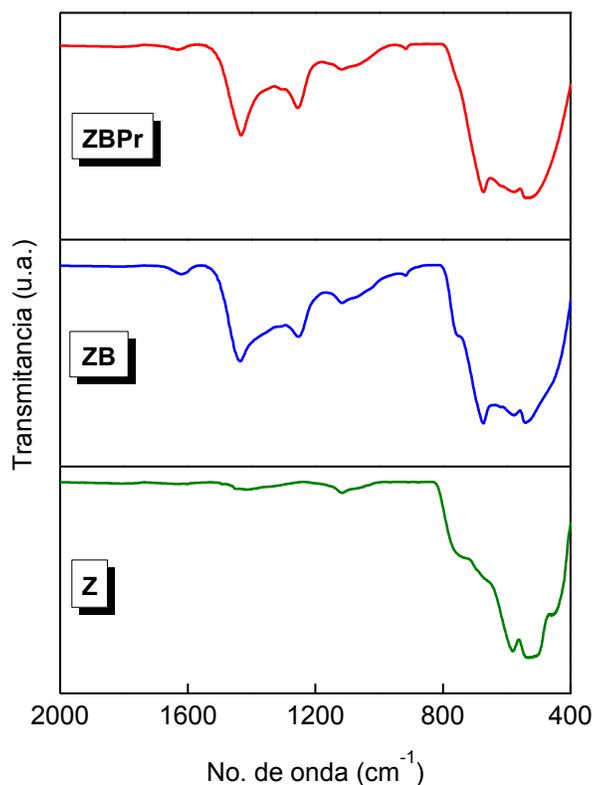


Figura 1. Espectros FT-IR de los materiales preparados.

La Figura 1 muestra los espectros de infrarrojo de los materiales sintetizados. Esta caracterización permitió corroborar la presencia de boro, puesto que se observaron señales en la región de 1500 a 900 cm^{-1} , con mínimos alrededor de 1430 y 1250 cm^{-1} , que corresponden a estiramientos de enlaces B-O [7]. Además, debido a la presencia de boro existe un desplazamiento de las señales observadas en la región de 800-400 cm^{-1} , en donde se presentan los estiramientos característicos de los enlaces Zr-O. Esto se debe a la interacción entre el boro y la matriz del óxido de circonio.

Por otra parte, en la Figura 2 se presentan los resultados de las pruebas de deshidratación de metanol realizada a 350°C. Como puede observarse, el catalizador puro presentó un muy bajo nivel de conversión, puesto que apenas logró alrededor de 4 % durante las 2 horas de reacción en que se efectuó el análisis. Esto refleja que este material posee débil acidez. Un comportamiento notablemente diferente ocurrió cuando se utilizaron los catalizadores modificados, en el caso del material ZBPr se obtuvo alrededor de 18 % de conversión a los 10 minutos de reacción; sin embargo, este valor fue gradualmente disminuyendo durante el transcurso de la reacción hasta el valor de 9%. En el caso del catalizador únicamente modificado con boro, ZB, la conversión se incrementó 10 veces respecto al material puro, siendo este material mucho más estable durante la reacción que el dopado con praseodimio. Puede señalarse que el incremento en la conversión, respecto a su homólogo puro, reside precisamente en un incremento en la acidez relativa del material. Más como pudo observarse, la modificación posterior con praseodimio de alguna manera afectó las propiedades del material, de tal modo que resultó menos activo y con tendencia a la desactivación. En todos los casos los catalizadores fueron selectivos hacia la formación de DME.

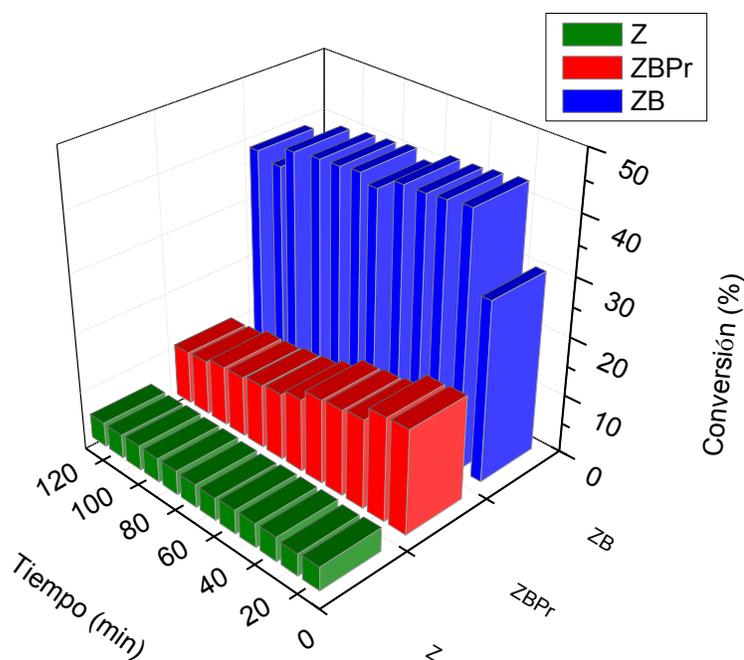


Figura 2. Conversión catalítica de metanol a dimetil éter (DME)

4. CONCLUSIONES

Mediante la metodología sol-gel y el posterior tratamiento con ácido bórico y una fuente de praseodimio, fueron obtenidos materiales a base de óxido de circonio con predominante fase

tetragonal y áreas específicas promovidas, siendo superiores al menos 3 veces a la presentada por el óxido puro. La presencia de boro fue corroborada mediante espectroscopia infrarroja, observándose semejanza entre los espectros de los óxidos modificados. Finalmente, las pruebas de deshidratación de metanol indicaron un incremento en la acidez de los catalizadores modificados, siendo superior y más estable durante la reacción el material modificado únicamente con boro, obteniéndose alrededor de 40 % de conversión y siendo selectivo a DME.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. A. Olah, A. Goepfert, G. K. S. Prakash, *Beyond Oil and Gas: The Methanol Economy*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2006.
2. Doğu T. y Varişli D., *Turk J Chem*, 2007, 31, 551.
3. Bedia García-Matamoros J., Tesis Doctoral, Universidad de Málaga, 2008, 44.
4. J. D'Souza, J. Nagaraju, *Indian J Chem Technol*, 2007, 14, 292-300.
5. Wang J. A., Valenzuela M. A., Salmones J., Vázquez A., García-Ruiz A., Bokhimi X., *Catal. Today*, 2001, 68, 21-30.
6. K. Malshe, P. Patil, S. Umbarkar, M. Dongare, *J Mol Catal A: Chem*, 2004, 212, 337-344.
7. S. Holly, en *Contact Catalysis*. (Elsevier 1976) vol. 2, pp. 263-289.

EVALUACIÓN DEL PESO EN MACHOS DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) EN RELACIÓN AL PERIODO REPRODUCTIVO

Jesús Dámaso Bustamante-González, Martha Rodríguez-Gutiérrez, Araceli Cortes-García y Mariela González Rentería

Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso N°1100, Col. Villa Quietud, C. P. 04960, Coyoacán, Ciudad de México.

RESUMEN

En la acuicultura el crecimiento en peso, es de interés para las granjas acuícolas, ya que el desarrollo óptimo de los organismos reduce los costos de operación. **Objetivo:** Evaluar el incremento en peso con relación al periodo reproductivo **Metodología:** Se seleccionaron 10 machos de tres años de edad pertenecientes al Centro Acuícola “El Zarco”, México-Toluca, Ocoyoacac, Estado de México. Los organismos fueron mantenidos en un estanque rústico de 13.5 m de largo, 6 m de ancho y con profundidad de 75 cm; con flujo promedio de 121.27 L min⁻¹ y fotoperiodo natural, proporcionando alimento balanceado para trucha WINFISH-ZEIGLER® equivalente al 2% del peso corporal día⁻¹. El peso (kg) de los organismos se obtuvo mediante una balanza ADAM CBK70a Max 32 kg d=1.0 g, previo a la medición, los peces fueron anestesiados con esencia de clavo a una concentración de 0.05 mL⁻¹ de agua para facilitar su manipulación. **Resultados:** Los resultados indican que de junio al mes de agosto la ganancia en peso fue de 0.446 kg; mientras que durante el periodo reproductivo que inicia en el mes de agosto y termina en febrero; se observó fluctuación del peso con ligero aumento y ganancia de 0.148 kg al mes de diciembre, posteriormente hubo pérdida de 0.108 kg en enero y ligero incrementó de 0.159 kg al mes de marzo. Se detectaron diferencias significativas (P < 0.05) **Conclusión:** Durante el periodo reproductivo no hay incremento significativo en peso debido a que la energía se utiliza en la formación de gametos.

Palabras clave: peso, machos, trucha arco iris, periodo reproductivo

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento se define como el incremento en peso o tamaño de un organismo, resultado del balance entre los procesos catabólicos y anabólicos (Bertalanffy, 1938). Las especies dulceacuícola de interés comercial por su producción en los países de América Latina, supera las diez mil toneladas métricas por año, con una derrama económica lo que ha determinado su estudio a fin de producir mejoras en la producción FAO, 2012).

La evaluación de esta variable se ve afectada por factores como: la densidad de organismos ya que mientras más saturado este el estanque existe mayor competencia por el alimento. Por otro lado también esta reportado que las condiciones ambientales juegan un papel importante (Kjartansson *et al.*, 1988).

El estudio de crecimiento de los peces, significa básicamente determinar el tamaño corporal e incremento en biomasa en función del tiempo y de la edad siendo un parámetro básico y de gran

importancia en las granjas acuícola y pesquerías, así como también, para generar modelos de dinámica de poblaciones (Gómez, 1994). Por lo cual, el objetivo del presente trabajo es evaluar el peso en machos de trucha arco iris en relación al periodo reproductivo.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Zona de estudio

Los organismos fueron seleccionados del Centro Acuícola “El Zarco”, localizado en el km 32.5 de la carretera libre México-Toluca, Ocoyoacac, Estado de México, a 3 060 msnm, con coordenadas 19°17'85" Latitud Norte y 99°22'15" Longitud Oeste.

Selección de reproductores

Del centro acuícola El Zarco, se seleccionaron 10 machos de la línea LZ11, que corresponden al lote nacido en el Zarco en el año 2011, con base a su morfología y buen estado sanitario.

Los organismos fueron mantenidos en un estanque rustico de 13.5 (m) de largo, 6 (m) de ancho y profundidad de 75 (cm) con flujo de 1.9 litros/segundo, marcados con microchip AVID SYSTEM, que facilitó el seguimiento individual. El microchip se aplicó con el dispensador, formando un ángulo aproximado de 45° para facilitar la penetración en la musculatura anterior–dorsal derecha, y al finalizar se asperjó solución desinfectante (Rodríguez *et al.*, 2012).

Los machos se anestesiaron con esencia de clavo, en dosis de 0.05 mL/L de agua, con el objetivo de evitar el estrés durante la manipulación (Keene *et al.*, 1998; Rodríguez *et al.*, 2012).

El peso (kg) se evaluó una vez al vez durante el periodo reproductivos que comprende los meses de agosto a febrero mediante una balanza ADAM CBK 70a Max 70lb/32kg d=0.002lb/kg, (Rodríguez, 1992).

La alimentación suministrada de acuerdo al centro acuícola fue de 200 gramos al día de alimento comercial en presentación pellet de 5.5 mm marca: WINFISH-ZEIGLER con 40% de proteína.

3. RESULTADOS

Se observó un incremento de 0.449 (kg) al entrar al periodo reproductivo correspondiente al mes de agosto. Posteriormente, durante los meses de agosto a diciembre se detectó ligero incremento, durante estos meses la ganancia fluctuó entre 0.004 y 0.24 (kg). Sin embargo, en diciembre y enero se apreció una pérdida de 1.108 (kg) lo cual, se atribuye a que en estos dos meses el personal que labora en la granja sale de vacaciones, por lo cual es muy probable que los organismos no hayan sido alimentados (Tabla 1). El análisis de varianza detectó diferencias significativas ($p < 0.05$) (Figura 1).

Tabla 1. Comportamiento y ganancia del peso (kg) durante el periodo reproductivo.

n	Mes	Promedio ± DE	Ganancia en peso (kg)
10	Jun-Jul	2.377 ± 0.277	0.004
10	Jul-Ago	2.604 ± 0.400	0.449
10	Ago-Sep	2.831 ± 0.340	0.004
10	Sep-Oct	2.857 ± 0.327	0.049
10	Oct-Nov	2.917 ± 0.292	0.071
10	Nov-Dic	2.964 ± 0.245	0.024
10	Dic-Ene	2.922 ± 0.259	-1.108
10	Ener-Feb	2.667 ± 0.315	0.058

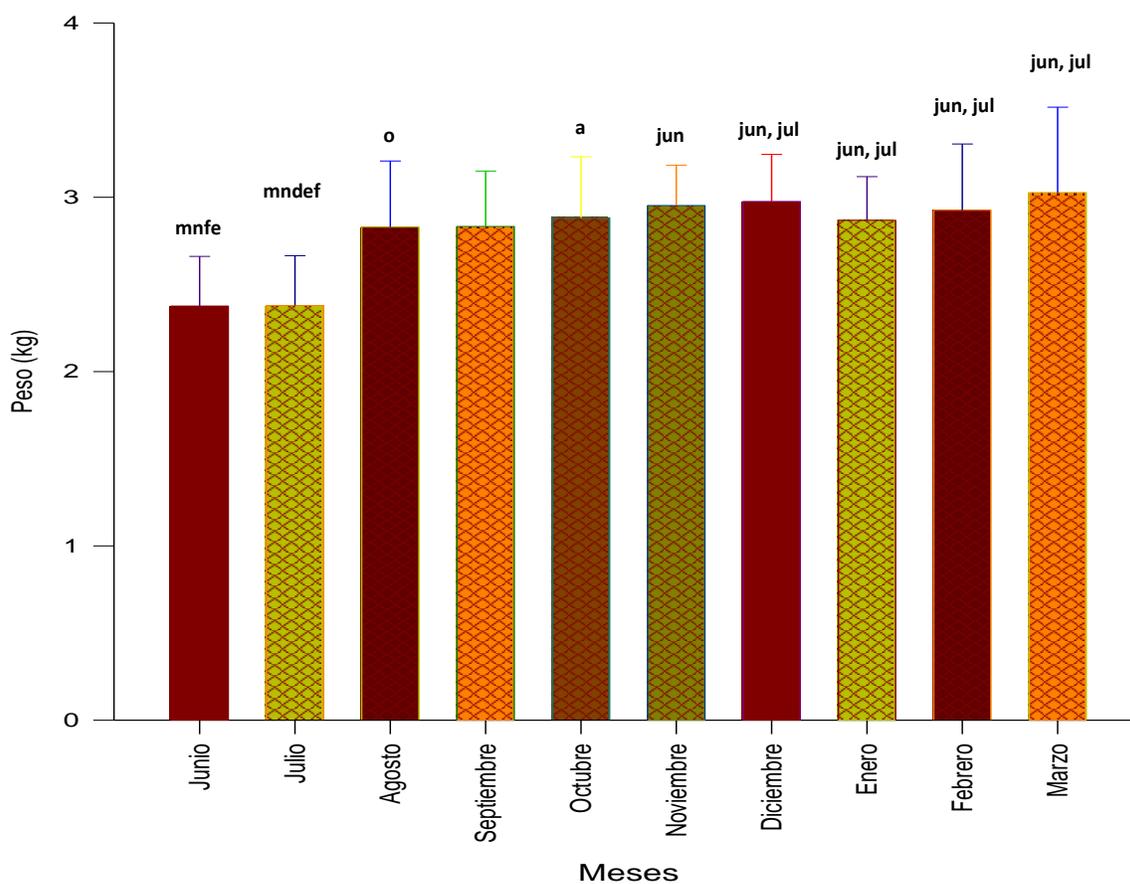


Figura 1. Los superíndices indican la inicial del mes donde se detectó diferencias significativas ($p < 0.05$).

4. DISCUSIÓN

El peso tuvo variación durante el periodo reproductivo. Bastardo (1992) y McMillan *et al.* (2012) mencionan que las variaciones pueden atribuirse a una escasa disponibilidad de alimento, competencia, factores físicos químicos como lo es principalmente la temperatura del agua. Lo cual se observó en los resultados obtenidos de la investigación en donde se denota en la figura 1 la pérdida en peso en el mes de enero.

Por otro lado, Hunter y Leong (1981), reporta que es necesario que un organismo consuma de un 4 a 5 % de su peso por día de alimento para sostener el costo anual de crecimiento, esto explica el ligero crecimiento y la variación del peso en la esta investigación que podría estar relacionado con baja cantidad de alimento suministrado por el centro acuícola 200 gramos al día. Mancini (2002) infiere que cuando el alimento es insuficiente tanto para el mantenimiento como para el crecimiento, este último se inhibe por completo. Por lo cual, se puede lograr un alto crecimiento y/o ganancia de peso con abundante alimento, mientras que la tasa óptima de crecimiento estará determinada por la eficiencia económica, considerando tanto el costo de alimento como el valor de biomasa de los peces.

5. LITERTURA.

1. Bastardo, H. 1992. Semen de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): concentración y volumen durante un periodo reproductivo, en Mérida, Venezuela. *Veterinaria Tropical*. (17): 53-66.
2. Hunter, J.R. y R. Leong. 1981. The spawning energetics of female northerm anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.* 79 (2): 215-229.
3. McMillan, J.R., Dunham, J.B., Reeves, G.H., Mills, J.S. y Jordan, C.E. 2012. Individual condition and stream temperature influence early maturation of rainbow and steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Environ Biol Fish.* 93:343-353.
4. Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.G. y Soto, C.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquac. Res.*, 29, 89-101.
5. FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2012. El estado mundial de la Pesca y Acuicultura. Roma, Italia. 251 p.
6. Kjartansson, H., S. Fivefstad, J, M. Thomassen. y Smith, M.J. 1998. Effects of different stocking densities on physiological parameters and growth of adult atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in circular tanks. *Aquaculture*. 73: 261-274.
7. Bertalanffy, L, V.1938. A quantitative theory of organic growth inquiries on growth laws. II. *Human Biology*. 10 (2): 181-213.
8. Rodríguez, G.M., 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. A.G.T Editor. México, D.F.
9. Mancini, A.M. 2002. Introducción a la biología de los peces. Producción animal I, FAV UNRC. 1-19.
10. Gómez, M.J.L. 1994. Métodos para determinar la edad en los organismos acuáticos. Fes Zaragoza, UNAM, México, D.F. 87p.
11. Rodríguez, G.M., Contreras, G.D. y Cortés, G.A. 2012. Evaluación del semen en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en organismos de primera madurez. Congreso Internacional de las mujeres en las Ciencias las Humanidades y todas las Disciplinas. México 2012.

DETERMINACIÓN DEL ACIDO AMINO CUMARINICO POR CROMATOGRAFIA DE HPLC

Raquel Nava Alvarez¹, Minerva Juarez Juarez¹, Pedro Miranda Reyes¹ y Emma Bolaños Valerio ¹

¹ Instituto Politécnico Nacional- UPIBI

RESUMEN

La úlcera péptica se ha convertido en una enfermedad de salud pública a nivel mundial, se ha reportado que un 15-20% de la población mexicana, de entre 25 y 44 años principalmente, la padece, ubicándose entre las 20 principales causas de mortalidad en México en el año 2013¹. En las últimas décadas se han investigado nuevas moléculas que puedan contrarrestar a esta enfermedad como son los derivados cumarínicos².

Actualmente, existe un interés por la investigación de las cumarinas debido a sus propiedades terapéuticas. En UPIBI, en el año 2015 Avendaño y cols, realizaron un análisis cualitativo de Ácido Salicílico Amido Cumarínico (ASAC) donde se presentó un efecto gastroprotector significativo con respecto a Ranitidina.

En el presente trabajo se analizó el ASAC y la ranitidina por HPLC, ya que servirán de base para cuantificar en diferentes muestras biológicas, debido a que es una técnica rápida, eficiente y reproducible, que cumple un amplio espectro de aplicaciones siendo además un buen método analítico cuantitativo.

Se encontro que la cromatografía es una buena técnica para determinar derivados cumarínicos como el ASAC. El método cromatográfico es preciso y exacto en ambas determinaciones bajo las condiciones utilizadas

1. INTRODUCCIÓN

El tracto gastrointestinal está continuamente expuesto a diversas sustancias y factores agresivos como: pH del estómago, temperatura, fármacos y agentes bacterianos que son capaces de causar reacciones inflamatorias locales y sistémicas que en su conjunto dañan la mucosa⁽³⁾.

El mecanismo protector contra el daño de la capa interna gástrica es la “mucosa gástrica”, compuesta por un revestimiento de moco y la integridad de la membrana mucosa⁽⁴⁾.

La mucosa gástrica responde a la mayoría de los irritantes con una regeneración de la mucosa; el proceso es la mayoría de las veces limitado, pues con la irritación continua, el tejido puede inflamarse y sangrar.

La úlcera péptica es considerada una enfermedad, caracterizada por la presencia de una o más ulceraciones ubicadas en segmentos del tubo digestivo cuya mucosa está expuesta al ácido clorhídrico y a la pepsina.

Los principales factores que provocan úlceras pépticas se pueden agrupar en factores fisiopatológicos y factores genéticos. Donde los factores fisiopatológicos son generados en situaciones donde hay aumento de ácido clorhídrico y pepsina con la consiguiente disminución del

pH duodenal, la colonización de *Helicobacter pylori* y menor síntesis de prostaglandinas; mientras que entre los factores genéticos se encuentra la tendencia familiar al vaciamiento gástrico acelerado ⁽⁵⁾.

Un gastroprotector tiene la función de proteger la mucosa gástrica de agentes agresivos o irritantes. Los gastroprotectores son fármacos de gran utilidad en el tratamiento de varias enfermedades crónicas asociadas a disfunciones gástricas y como protección en pacientes que usan medicamentos ulcerogénicos ⁽⁶⁾.

Hasta el momento, las estrategias para reducir el daño gástrico más utilizadas, son el empleo de agentes como los inhibidores de protones y los antagonistas de receptores de histamina H₂ dentro de este grupo encontramos a cimetidina, famotidina, nizatidina y ranitidina ⁽⁴⁾.

Además de la ranitidina, la gastroprotección la producen muchos extractos vegetales que presentan terpenoides, alcaloides, taninos, glucósidos y esteroides y, en estudios recientes, cumarinas.

Las cumarinas son productos naturales que pertenecen al grupo de compuestos conocidos como benzopironas, consistentes en un anillo bencénico unido a una pirona. La propiedad física más usada para su detección es la fluorescencia generada en luz ultra violeta.

La fluorescencia de las cumarinas es muy sensible a la posición y naturaleza de los sustituyentes sobre el anillo de benzopirona, también al cambio en la polaridad del entorno (disolventes) y al pH, modificándose notablemente tanto la posición de los máximos de adsorción como la intensidad de fluorescencia ⁽⁷⁾.

En la actualidad, las cumarinas son consideradas como principios activos de una serie de medicamentos de gran importancia, pues afectan funciones celulares como son los sistemas enzimáticos mitocondriales, incluyendo la inhibición de enzimas como las ciclooxigenasas; estudios farmacológicos han demostrado que las cumarinas son absorbidas en el tracto gastrointestinal después de la administración oral, luego se metabolizan en el hígado y posteriormente se excreta en la orina, únicamente de un 2 a 6% llega al sistema circulatorio sin alguna transformación fisiológica ⁽²⁾.

La cromatografía es una técnica cuyo campo de aplicación se extiende a todas las áreas de investigación, Química, Bioquímica, Biología, entre otras, aplicándose a escala macro o micro. Es un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una que permanece inmóvil mientras que la otra se mueve en una dirección determinada a través de la primera ⁽⁸⁾.

Si la fase estacionaria es un sólido el proceso se denomina cromatografía de adsorción, mientras que si es un líquido, se llama cromatografía de partición, en la cual un material sólido inerte (fase estacionaria), tal como el gel de sílice, sirve para sostener una capa delgada de líquido, a medida que la fase móvil que contiene los solutos pasa muy cerca de la fase líquida, se produce la retención y separación a causa de la solubilidad relativa de los componentes analizados en los dos líquidos, según lo determinan sus coeficientes de partición ⁽⁹⁾.

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) es una técnica analítica de separación que se produce por interacciones químicas entre el analito, que está en solución, y la columna cromatográfica por el flujo continuo de solvente, utiliza una presión elevada para forzar al disolvente a que pase por una columna que contiene partículas muy finas, consiguiendo así separaciones de gran resolución ⁽⁹⁾.

Si bien, este nuevo compuesto cumarínico aún no está considerado como fármaco, es importante el empleo de métodos analíticos que deben iniciarse desde la etapa de investigación del mismo,

donde se realizan análisis cuantitativos que permitan la determinación de estos compuestos que sirven de base para cuantificar en diferentes muestras biológicas, empleando para ello la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución, ya que es una técnica rápida, eficiente y reproducible, que cumple un amplio espectro de aplicaciones siendo además un buen método analítico cuantitativo, con desviaciones menores a 5% ⁽¹⁰⁾.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Los disolventes fueron filtrados en un equipo de ultrafiltración usando membranas de 0.22 µm diámetro del poro, posteriormente se sonicaron durante 30 minutos para degasificar. Después se purgó el equipo durante algunos minutos.

Se empleó el espectrofotómetro de ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-VIS) marca PERKIN ELMER modelo LAMBDA 25, empleando el software UV WinLab para llevar a cabo la determinación de la longitud de onda característica de la ASAC, la cual fue de 300 nm, igualmente se llevó a cabo un estudio de solubilidad previo al análisis espectroscópico y cromatográfico; en este estudio se proponen las siguientes proporciones de metanol/agua: 100:0, 90:10, 80:20, 70:30 y 60:40; así como una fase móvil de metanol/acetato de amonio también en diferentes proporciones: 100:0, 90:10, 85:15, 70:30, 75:25, 60:40, por lo que se determinó que el mejor disolvente es el metanol/acetato de amonio en una proporción 85:15.

Una vez encontrado el solvente adecuado se lleva a cabo la preparación de la curva tipo de la ASAC. Se preparó una disolución madre de 0.1 mg/mL en una mezcla de Metanol-Acetato de Amonio (85:15) con agitación constante hasta su completa disolución, posteriormente se hicieron diluciones para obtener las concentraciones de 0.005, 0.010, 0.015, 0.020, 0.025 mg/mL y determinar la ecuación que rige el comportamiento lineal del analito.

Se empleó un equipo de HPLC Varian 9010 con un detector de UV-Vis de longitud de onda variable; columna C-18 fase reversa de 25 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro, tamaño de partícula 5 micras, tamaño de poro 80 Angstrom; la separación cromatográfica se realizó a temperatura ambiente con fase móvil isocrática, previamente se filtran las soluciones preparadas anteriormente con membranas de Nylon de 0.45 µm y se inyectan al equipo cromatográfico.

La composición de fase móvil utilizada fue Metanol-Acetato de amonio (85:15) a un flujo de 1.2 mL/min, ya que con esta mezcla de fase móvil se obtuvieron tiempos de retención de 1.85 minutos (fig.1)

3. RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan las concentraciones inyectadas con su respectiva area bajo la curva y la figura 1 muestra el cromatograma del analito.

En la fig 2 se muestra la curva de calibración que se obtiene al graficar los datos de la tabla 1.

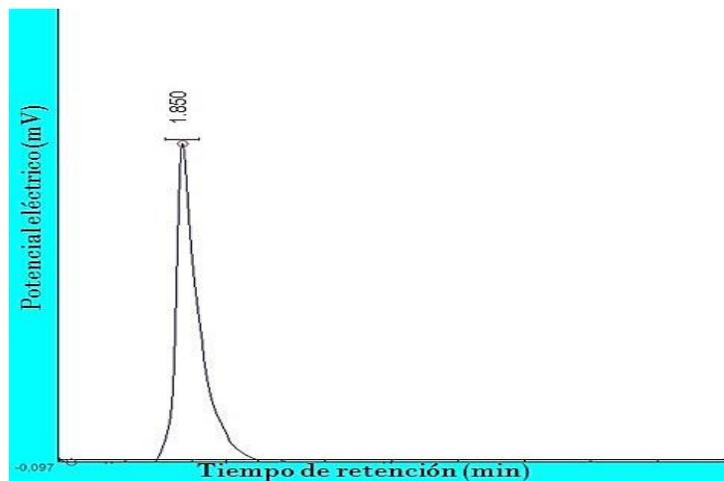


Fig 1. Cromatograma del Ácido Salicílico Amido Cumarínico

Tabla 1. Datos de Area bajo la curva para la construcción de la curva de calibración para análisis de ASAC

Concentración (mg/mL)	Área bajo la curva
0.005	91.3839
0.010	190.2102
0.015	372.9510
0.020	452.4637
0.025	543.6089

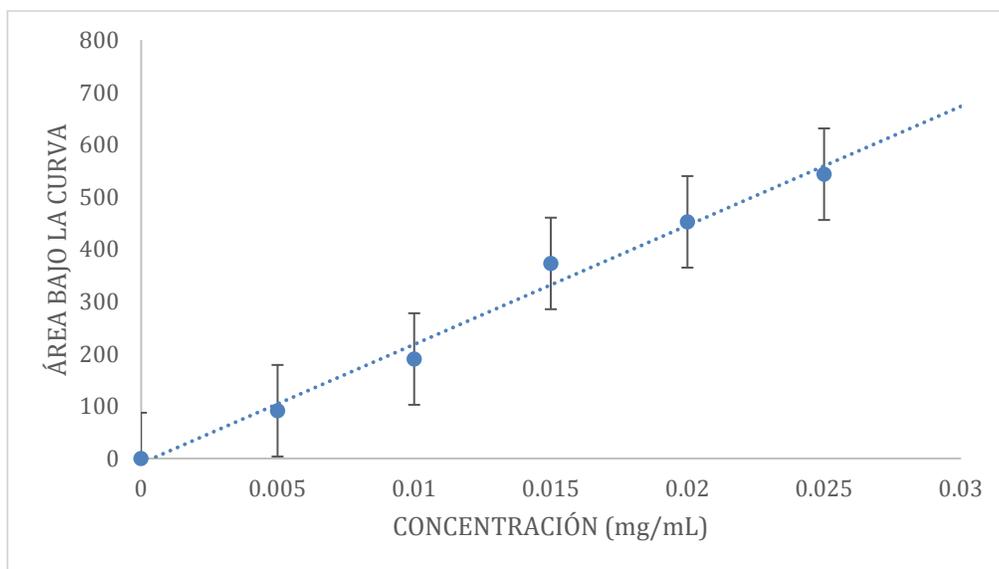


Fig 2. Curva de calibración para análisis de ASAC

La ecuación que se obtuvo fue la siguiente:

Area bajo la curva= 22 766 [**Concentración**] – 9.4702 con un coeficiente $R^2=0.9869$

4. CONCLUSIONES

El estudio cromatográfico del ASAC permitió llevar a cabo un análisis cualitativo y cuantitativo de esta nueva molécula; es importante encontrar las condiciones adecuadas para llevar a cabo la identificación y cuantificación del compuesto, ya que es necesario conocer la fase móvil adecuada, la longitud de onda característica a la que absorbe el ASAC, así como, el tiempo de retención.

Los parámetros cromatográficos que permitieron la identificación y cuantificación del ASAC mediante HPLC fueron la fase móvil de metanol-acetato de amonio (85:15) y el flujo de 1.2 mL/min, a una longitud de onda de 300 nm.

El tiempo de retención del ASAC fue de 1.85 minutos debido a la polaridad de las fases móvil y estacionaria.

La cromatografía es una buena técnica para determinar derivados cumarínicos como el ASAC.

BIBLIOGRAFÍA

1. INEGI, & DGE. (30 de Agosto de 2015). Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
2. Avendaño, Y. A. (2015). Síntesis, caracterización y evaluación del efecto antiinflamatorio y gastroprotector de Ácido 2-Hidroxi-5-(3-Carboxiamido Cumarinil) benzoico. México, Instituto Politécnico Nacional.
3. Jacobson, E. D. (1982). Fundamentos de fisiología gastrointestinal. España: Reverté.
4. Pineda, E. (2013). Evaluación del efecto gastroprotector del DHA (ácido docosahexaenoico) en el daño gástrico inducido por indometacina. México: Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía.
5. Jara, A. (2006). Semisíntesis de Diterpenos del tipo Labdano con efecto gastroprotector. Chile.
6. Quintana, E. (2012). Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea (*Achillea millefolium* L.) y Guadivuca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.) en ratas (*Rattus Novergicus*) con lesiones gástricas inducidas . Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
7. Reija, B. (2007). Estudio Estructural y Dinámico de Sistemas Organizados mediante Sondas Fluorescentes. En B. Reija Otero, Estudio Estructural y Dinámico de Sistemas Organizados mediante sondas fluorescentes (págs. 40-45). España: Universidad de Santiago de Compostela.
8. Sierra, I., Pérez Damian, G. S., & Morante, S. (2010). Fundamentos de cromatografía. En I. Sierra, G. S. Pérez Damian, & S. Morante, Análisis Instrumental (págs. 140-155). España: NETBIBLO.
9. Harris, C. D. (2007). Análisis químico cuantitativo. España: Reverté.
10. Volonté, M. G. (2013). El método analítico en el control de calidad. En M. G. Volonté, & P. Quriroga, Análisis farmacéutico (págs. 45-46). Buenos Aires: Editorial de la Universidad de Plata.

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA UTILIZANDO EXTRACTOS ACUOSOS DE PLANTAS Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Lidia Meléndez Balbuena¹; Dulce María Torres Mentado¹, Marta Lobo-Sánchez¹, Ismael Soto López¹, Ramón Gudiño-Fernández¹, Eduardo Escalante-Hernández¹, Guadalupe López Olivares.

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad Cs. Químicas BUAP

RESUMEN

En los últimos años las nanoestructuras de plata han atraído la atención de muchos investigadores, esto es debido a sus propiedades que dan origen a diferentes aplicaciones biotecnológicas y biomédicas tales como aditivos en la industria textil, embalaje de alimentos, inmovilización de proteínas, y desarrollo de materiales optoelectrónicos, etc., mostrando así un auge investigativo en cuanto a su síntesis e inserción en diferentes tipos de materiales. En este trabajo describe la síntesis de nanopartículas de plata a partir de una solución de nitrato de plata, en concentraciones de 1, 10, y 100 mM, los agentes reductores utilizados fueron los extractos de diversos vegetales acuosos como cilantro, epazote, ruda, hojas del tallo de la flor de rosa, por mencionar algunos de ellos. Las nanopartículas de plata obtenidas se caracterizaron usando espectroscopía UV-vis donde se determinó absorción en el rango de 430 a 455 nm⁻¹, correspondiente a la resonancia de plasmón superficial de las nanopartículas de plata. Se evaluó la actividad antibacteriana de las nanopartículas en presencia de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas del aire en la Ciudad de Puebla. Los ensayos se realizaron por triplicado, por los métodos Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) por dilución en placa. Los resultados de este trabajo muestran que es posible la formación de nanopartículas de plata utilizando un método verde, con las mismas propiedades de actividad antimicrobiana que las que son preparadas utilizando agente reductores químicos.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores logros de la nanotecnología ha sido la producción de nanomateriales metálicos como es el caso de nanopartículas de plata, que han sido sintetizadas utilizando diversos métodos químicos, que han sido ampliamente utilizados, involucrando el uso de agentes reductores de origen sintético (Rodolfo, 2012). Una propiedad importante de las nanopartículas de plata es su capacidad antimicrobiana. Esta propiedad está relacionada con la cantidad de plata disponible en un sustrato o soporte y con su velocidad de liberación al medio circundante. La plata en su estado metálico (Ag⁰) es inerte, pero reacciona con la humedad, ionizándose. La plata ionizada (Ag⁺) es altamente reactiva, ya que puede unirse a proteínas de los tejidos biológicos, puede también provocar cambios estructurales en la membrana celular y en la pared celular de las bacterias, generando la distorsión celular y la muerte. La plata también se une al ADN y ARN bacteriano desnaturizándolo e inhibiendo la replicación bacteriana (Irwin et al., 2010; Shirley y Sreedhar, 2010). Debido al amplio campo de aplicación de las nanopartículas de plata existe un creciente interés en desarrollar procesos de síntesis amigables con el ambiente que eviten el uso de productos químicos tóxicos, siendo los extractos vegetales acuosos una opción promisoriosa dado que contienen entre sus componentes agentes reductores y estabilizadores aptos para la síntesis de las nanopartícula. El objetivo de este trabajo se enfoca en la obtención de nanopartículas de plata empleando el extracto acuoso de *camellia sinensis* (te verde) y el extracto natural obtenido a

partir de las hojas del epazote (*Chenopodium ambrosioides*) como reductores. La elección del bioreductor se basa en la capacidad del extracto de *Camellia sinensis* para la síntesis de nanopartículas de plata y oro. Como se reporta en trabajos previos (Vilchis, 2008), Vilchis, 2009) la efectividad del extracto de te verde en la bioreducción se atribuye a la capacidad antioxidante de los polifenoles, presentes en gran cantidad en el te verde. Además los grupos funcionales, como el carboxilato, de metabolitos como el ácido gálico, ayudan a la estabilización de las nanoestructuras metálicas formadas con este proceso (Rababah, 2004). Se evaluó la actividad antibacteriana de las nanopartículas en presencia de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* aisladas del aire en la Ciudad de Puebla. Los ensayos se realizaron por triplicado, por los métodos Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) por dilución en placa. Los resultados de este trabajo muestran que es posible la formación de nanopartículas de plata utilizando un método verde, con las mismas propiedades de actividad antimicrobiana que las que son preparadas utilizando agente reductores químicos.

2. METODOLOGÍA

a) Extracto vegetal

Se usaron de hojas de la planta epazote y de hojas de la plata te verde. La extracción del solvente natural se hizo de la siguiente manera: Selección y lavado de las hojas, reducción de tamaño utilizando un mortero, se procedió con la extracción de los mismos mediante una metodología tradicional denominada infusión que consiste en una simple extracción sólido líquido. Se tomaron 1.5 g del material vegetal molido y se pusieron en contacto con 100mL de agua destilada a 80°C durante 10 minutos, luego se procedió con el filtrado con papel de poro fino. Por último, se preservó cada uno de los extractos en frascos de color caramelo en heladera hasta su uso.

b) Síntesis de las nanopartículas

Los extractos obtenidos se utilizaron para sintetizar las nanopartículas partiendo de una solución acuosa 10^{-3} M de AgNO_3 . La síntesis se realizó mezclando 20 mL del extracto y 180 mL de la solución de AgNO_3 en un recipiente con agitación constante. Se trabajó a temperatura ambiente (26°C) y a temperatura regulada en 60°C. Se reguló el pH a un valor de 8 empleando solución de NH_4OH y los productos obtenidos fueron conservados en heladera hasta su utilización.

c) Caracterización de las nanopartículas

Las Nps fueron caracterizadas mediante espectrofotometría UV-Vis, técnica que ha probado ser muy útil para el análisis rápido de las soluciones coloidales de las Nps. Se basa en que la reducción de los iones metálicos produce soluciones que en el caso de la plata tienen un color amarillento con una banda intensa entre 400-450 nm atribuida a la excitación colectiva de los electrones en la superficie de las partículas (absorción plasmónica superficial) (Cruz et al., 2012). Por tal motivo, se realizaron los espectros entre 350- 600 nm de cada uno de los productos obtenidos, para determinar la estabilidad de los mismos se repitieron a lo largo del tiempo.

d) Prueba como bactericida

Para realizar los ensayos de actividad antibacteriana de los extracto de nanopartículas se tomaron en cuenta las especificaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), actualmente Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los ensayos se realizaron por triplicado con cada una de las cepas bacterianas.

Se evaluó la actividad antibacteriana de las nanopartículas en presencia de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* aisladas del aire en la Ciudad de Puebla. Los ensayos se realizaron por triplicado, por los métodos Concentración Mínima Inhibitoria

(CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) por dilución en placa. Los resultados de este trabajo muestran que es posible la formación de nanopartículas de plata utilizando un método verde, con las mismas propiedades de actividad antimicrobiana que las que son preparadas utilizando agente reductores químicos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nanopartículas obtenidas utilizando extracto acuoso de té verde (camellia sinensis) y epazote (Chenopodium ambrosioides). El color amarillo de la solución obtenida de la reacción de la solución de nitrato de plata con el extracto de epazote es característico de la presencia de nanopartículas de plata. La figura 1 muestra la fotografía de la solución.



Figura 1. Solución de nanopartículas de plata obtenidas utilizando extracto de epazote y té verde.

Los espectros UV-Vis realizados con las soluciones obtenidas del extracto de epazote y té verde, se observa una banda entre 400-450 nm, confirmando la obtención de la misma. En la Figura 2 se muestra el espectro de las Nps obtenidas como puede observarse en el espectro la banda es ancha, con un máximo de absorción a 437 nm. El ancho de las bandas indica una amplia distribución de tamaño de partículas en ambos casos. Figura 2 y figura 3.

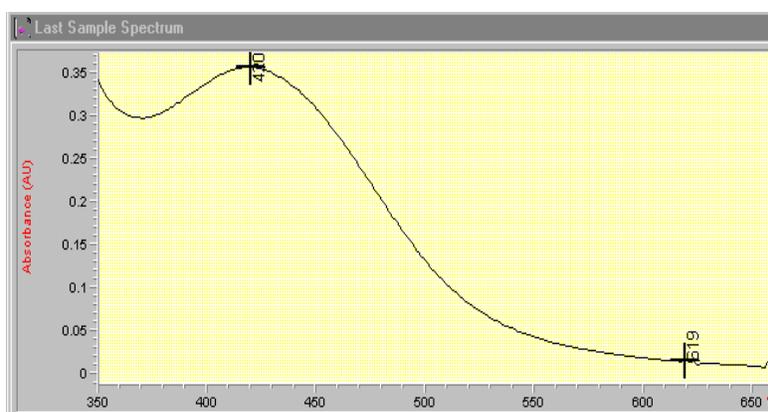


Figura 2. Espectro Uv-Vis de las nanopartículas de plata preparadas con extracto de epazote.

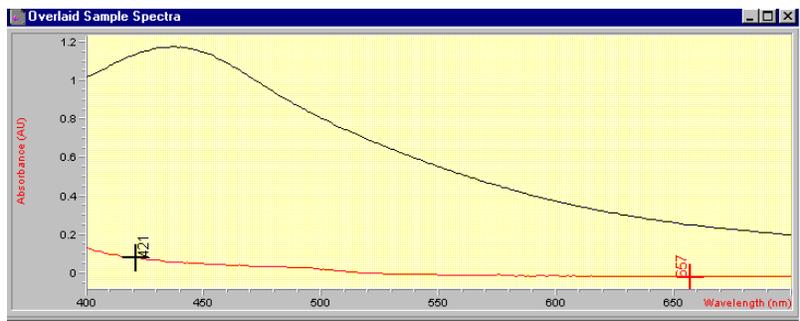


Figura 3. Espectro Uv-Vis de las nanopartículas de plata preparadas utilizando extracto de té verde

Prueba de la actividad antibacteriana de las AgNPs

Se evaluó la actividad antibacteriana de las muestras con nanopartículas de plata obtenidas utilizando como agentes reductores los extractos acuosos del té verde y epazote por el Método de Difusión en Pozo en medio Mueller Hinton Difco TM. En cada placa con cuatro pozos, se sembró en forma masiva una solución bacteriana (*Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus* sp) a una concentración de 1.5×10^6 UFC/mL (tubo 0,5 en la escala de turbidez de Macfarland), posteriormente se adiciono a cada pozo los extractos de las nanopartículas. Se empleó como control negativo Solución Salina Isotónica (SSI) y como control positivo discos impregnados con imipenem (10 μ g) para *Pseudomonas* sp y vancomicina (30 μ g) para *Staphylococcus* sp. Se incubó a 37 °C de 18-24 horas (CLSI, 1015). Cepas bacterianas utilizadas en el ensayo fueron proporcionadas por el Depto. de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas BUAP: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina, donada por el Hospital Ángeles de Puebla (cepa 80299) y *Escherichia coli*. La figura 4, muestra los controles positivo y negativo para cada una de las cepas bacterianas ensayadas; la figura 5, muestra los halos de inhibición observados en el ensayo con las nanopartículas de epazote, donde al incrementar la concentración de nanopartículas se incrementan los halos de inhibición de las bacterias ensayadas; las nanopartículas de Té verde no mostraron ningún efecto bactericida, aun cuando se incrementó la concentración de las nanopartículas.



Figura 4. Muestras control positivo (discos de vancomicina e imipenem) para de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* respectivamente y Solución Salina Isotónica (SSI) como control negativo.

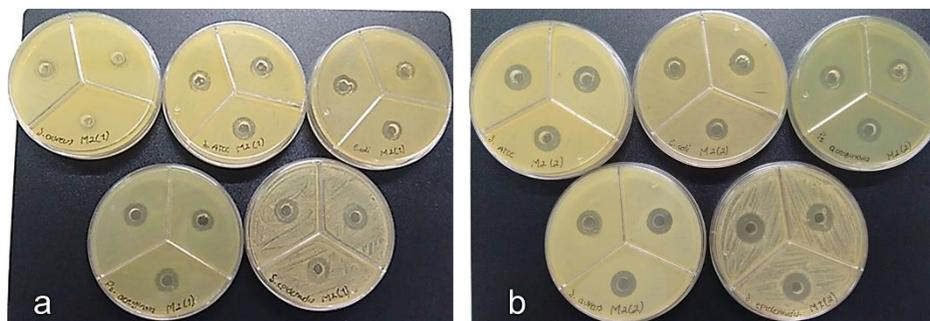


Figura 5. Halo de inhibición con nanoparticulas obtenidas utilizando el extracto acuoso de epazote. **a.** La concentración de nanoparticulas es menor y se observan halos de inhibición en promedio de 1.4 mm para *Staphylococcus sp* y de 1.3 mm para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. **b.** Al incrementar la concentración de nanoparticulas de epazote se incrementan los halos de inhibición en promedio a 1.6 mm para *Staphylococcus sp* y de 1.5 mm para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

De la figura 5 se puede observar un evidente crecimiento del halo de inhibición en ambos casos así como el incremento de este al incrementar la concentración de la muestra de las nanopartículas en ambos casos.

Los resultados de este trabajo muestran que es posible la formación de nanoparticulas de plata utilizando un método verde, con las mismas propiedades de actividad antimicrobiana que las que son preparadas utilizando agente reductores químicos.

4. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran que es posible la formación de nanopartículas de plata utilizando un método “verde” empleando como bio-reductor el extractos acuoso de *Camellia sinensis* (te verde) y (*Chenopodium ambrosioides*) epazote, resultado que fue corroborado mediante espectroscopia Uv visible. Fue posible detectar la presencia del plásmen con absorción alrededor de 420 nm, característico de las nanopartículas de plata.

Se evaluaron cepas bacterianas de bacterias (*Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus sp*) en presencia de diferentes los diferentes extractos, obteniendo como resultado una mayor eficacia de inhibición, en presencia de las nanopartículas con epazote, donde se observó un incremento en el halo e inhibición si se incrementa la concentración de las nanopartículas.

La eficacia de la actividad bactericida de las nanoparticulas preparadas como se estableció en base al crecimiento del halo de inhibición mediante la observación .La evaluación de la actividad antimicrobiana de las AgNPs obtenidas, fue visible con el incremento del halo de inhibición a medida que se incremento la concentración de las muestras utilizadas de nanopartículas. Confirmando que presentan propiedades antimicrobianas, capaces de inhibir las bacterias.

Es importante mencionar que nos encontramos trabajando en la caracterización más profunda de las nanopartículas preparadas utilizando métodos espectroscópicos más potentes que nos proporcionen información sobre la forma y tamaño de ellas. Así como realizar más pruebas sobre el comportamiento de su actividad microbiana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alfredo R. Vilchis-Nestor, Victor Sánchez-Mendieta, Marco A. Camacho-López, Rosa M. Gómez-Espinosa, Miguel A.
2. Camacho-López, Jesús A. Arenas-Alatorre Mater. Lett. **62**, 3103(2008).
3. A.R. Vilchis-Nestor, M. Avalos-Borja, S.A. Gómez, José A. Hernández, A. Olivas, T.A. Zepeda Applied Catalysis B: Environmental. **90**, 64 (2009).
4. Cruz D A, Rodríguez M, López J, Herrera V. (2012). Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda. *Avances en Ciencias e Ingeniería*: 3(2), 67-78.
5. Duncan T.(2011) "Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors" *Journal of colloid and Interface Science* 363:1-24.
6. Irwin N. He G. (2010) "Antimicrobial activity of spherical silver nanoparticles prepared using a biocompatible macromolecular capping agent: evidence for induction of a greatly prolonged bacterial lag phase". *Journal of Nanobiotechnology*, 8: 34.
7. Indira A, Franco Y, Johanna L, Dilcia, Claudia P y Yuleiska M. (2009). Evaluación de la antracnosis (*Colletotrichum* sp.) en guanábana (*Annona muricata* L.) tipo Gigante en el sector Moralito del estado Zulia, Venezuela. *Revista UDO A 148 grícola* 9 (1): 148-157.
8. Rodolfo Z. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo Nano.*, Vol.5, No.1.
9. T.M. Rababah, N.S. Hettiarachchy, R. Horax J. Agric. Food Chem. **52**, 5183 (2004).
10. Shirley D., Sreedhar D. (2010) "Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized from novel *Streptomyces* species". *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.*, Vol. 5, No 2, p. 447 – 451.