

## 2- Biología y Química

## SIMULADOR DE LA CORRIENTE FUNNY DEL NODO SINUSAL

Arturo Reyes Lazalde<sup>a</sup>, Rosa María Reyes Chaperó<sup>a</sup>, Marleni Reyes Monreal<sup>b</sup>, María Eugenia Pérez Bonilla<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Biología-BUAP, Puebla, Pue. [arturoreyeslazalde@gmail.com](mailto:arturoreyeslazalde@gmail.com), [romarec2008@hotmail.com](mailto:romarec2008@hotmail.com), [bonillaeugenia@gmail.com](mailto:bonillaeugenia@gmail.com)

<sup>b</sup>Dirección General de Innovación Educativa-BUAP, Puebla, Pue. [Marleni.reyes@yahoo.com.mx](mailto:Marleni.reyes@yahoo.com.mx)

### RESUMEN:

Las células de los nodos tanto sinusal como aurículoventricular no se contraen a diferencia de los cardiomiocitos que componen las aurículas y los ventrículos. Esta característica se debe a la presencia de la corriente Funny descrita en 1979 por Brown y cols. en el nodo sinusal del conejo. Esta corriente iónica es entrante y tiene la característica de que se activa con la hiperpolarización en rangos de voltaje presentes durante la diástole; contrario a la mayoría de las corrientes iónicas que se activan con la despolarización. La actividad de los canales Funny está involucrada en la generación y modulación de la actividad marcapaso del corazón. El canal Funny es permeable a iones de sodio y potasio. La corriente Funny se propone es la que genera la fase diastólica. En el curso de biofísica a nivel de licenciatura los alumnos conocen algunos canales dependientes de voltaje del tipo de Hodgkin y Huxley que se activan con la despolarización; sin embargo, no se estudia ningún canal que se active con una hiperpolarización. En este trabajo se diseñó y desarrolló un simulador para el estudio y comprensión de la corriente Funny presente en el nodo sinusal del conejo. El simulador fue programado con el lenguaje Visual Basic ver. 5.0 para ambiente Windows® de XP a Windows 8. El usuario puede realizar los experimentos con la técnica de fijación de voltaje. Se recomienda su uso como material didáctico de apoyo durante el curso de biofísica en una sala de cómputo.

### 1. INTRODUCCIÓN

En el comportamiento eléctrico del corazón se hacen presentes diversos tipos de células: (1) Las células automáticas o marcapasos, estas células tienen la capacidad de generar de forma espontánea un potencial de acción. Este tipo de células se encuentran fundamentalmente en: Nodo sinusal, Nodo aurículoventricular y Células de Purkinje. (2) Las células de conducción, quienes son las encargadas de transmitir de forma rápida y ordenada los estímulos generados en las células automáticas, hasta las fibras musculares de las aurículas y los ventrículos.

El conjunto de estos tipos celulares especializadas permiten el inicio y la transmisión de la actividad eléctrica responsable de las contracciones coordinadas de las cámaras cardíacas. Los estímulos eléctricos tienen que ser de una intensidad suficiente para alcanzar un determinado umbral, despolarizando a las células y generar un *potencial de acción* [1].

Así, las células del nodo sinusal presentan la característica de automatismo, es decir presentan la propiedad de originar de manera rítmica y espontánea sus propios impulsos eléctricos. Esta característica, les permiten generar potenciales de acción constantes pero de manera controlada permitiendo mantener una frecuencia cardiaca y buen funcionamiento general del corazón. Son, por lo tanto, origen de la actividad de marcapasos fisiológica del corazón. [2].

Existen posibles mecanismos celulares y moleculares a los que se les atribuyen esta actividad de las células marcapasos, una de ellas es por la presencia de canales iónicos que se expresan en toda la membrana celular de los cardiomiocitos. La presencia de estos canales iónicos selectivos a iones permite, que en función del estado eléctrico de la célula, entren o salgan iones a favor de su gradiente electroquímico entre la concentración interior y exterior del ión en la célula. Estos procesos están mediados por el flujo de iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$ . Sin embargo, el inicio del potencial de acción y con ello la frecuencia cardiaca es el papel principal que corresponde a la corriente  $I_f$  (*funny current*) [3, 4, 2].

En 1979, Brown, Di Francesco y Noble [5] describieron esta corriente en el nódulo sinusal del conejo. La denominación "funny current" se debió a un comportamiento peculiar y distintivo de esta corriente iónica. A diferencia de la mayoría de los canales dependientes de voltaje, estos canales son activados por voltajes hiperpolarizantes (menores a -60 mV), cerca de los potenciales de reposo de la mayoría de las células [6].

La corriente  $I_f$ , es altamente expresada en regiones cardiacas espontáneamente activas, particularmente la corriente  $I_f$  es una mezcla de corrientes sodio-potasio. Esto es porque el canal iónico que utiliza la corriente  $I_f$  tiene la base molecular de los canales HCN. Estos canales permiten el paso de sodio y potasio en el nivel de potencial diastólico máximo del nódulo sinusal (-60 mV a -75 mV), transportando una corriente de entrada despolarizante de sodio, desplazando al potencial transmembrana hacia el nivel de activación de los canales del calcio tipo T y tipo L. Considerándose así, una corriente entrante lenta de sodio activada por la hiperpolarización (-45 mV y -65 mV) y alcanza su expresión máxima cuando el potencial transmembrana llega a -100mV [7].

La presencia de una fase diastólica lentamente ascendente, presente en las células del marcapasos, permite la despolarización de la membrana celular hasta alcanzar el umbral de un nuevo potencial de acción y genera así una actividad espontánea repetitiva [8]. La activación de la corriente  $I_f$  al terminar un potencial de acción es la causa de esta fase diastólica ascendente.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó y se desarrolló un simulador de la corriente *funny* registrada en células del nodo sinusal del conejo [9]. El desarrollo del simulado se realizó con el lenguaje Visual Basic ver. 5.0 para ambiente Windows® de XP a Windows 8.

El modelo matemático usado fue el descrito por Wilders y Verker en 2013 [9] (Figura1), en el que se registran potenciales de acción de células marcapasos del conejo, retoman los modelos matemáticos de Maltsev y Lakatta (2009) [10] y Severi et al. (2012) [11], con la diferencia de que presenta una modificación en el tiempo de la corriente funny.

$$I_f = y^2 \times g_f \times (V_m - E_f), \quad I_f = y \times 0.224 \times (V_m + 34.8),$$

$$y_\infty = 1 / \{ 1 + \exp[ (V_m + 73) / 9 ] \}, \quad \tau = 0.05 + 1 / [ 75.8 \times \exp(0.083 \times V_m) + 0.0233 \times \exp(-0.043 \times V_m) ],$$

Figura 1, Modelo matemático de Wilders y Verker en 2013, para describir la corriente funny en células del nodo sinusal del conejo

### 3. RESULTADOS

El simulador se ejecuta con el nombre (SimuladorPANS.exe). La ventana principal contiene dos recuadros que hacen las veces de osciloscopios donde se registran la corriente  $I_f$  (pA) vs el tiempo (ms) y el pulso de voltaje clamp sostenido (mV) vs tiempo (ms). Del lado derecho de la ventana, se observa un cuadro, en donde se ingresan la amplitud de estímulo (mV). Así mismo se observan cuatro botones, correspondientes a: simular, borrar los trazos fisiológicos, regresar al menú principal y salir del programa (Figura 1).

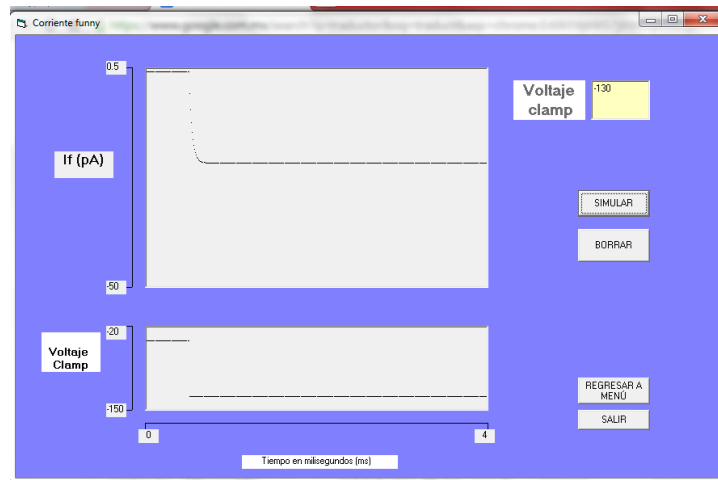


Figura 1. Vista de ejecución para simular la corriente *funny*. El osciloscopio de arriba muestra la corriente entrante producida por el estímulo. En el osciloscopio de abajo se observa el pulso de estímulo. Nótese que el estímulo es hiperpolarizante.

Los datos experimentales originales, muestran que cuando se da un pulso de voltaje a  $-130$  mV, a la corriente funny se activa completamente (Figura 1). Si se modifica el valor del voltaje podemos notar claramente que la amplitud de la corriente cambia respecto de la que se registra con el valor de activación (Figura 2 y 3).

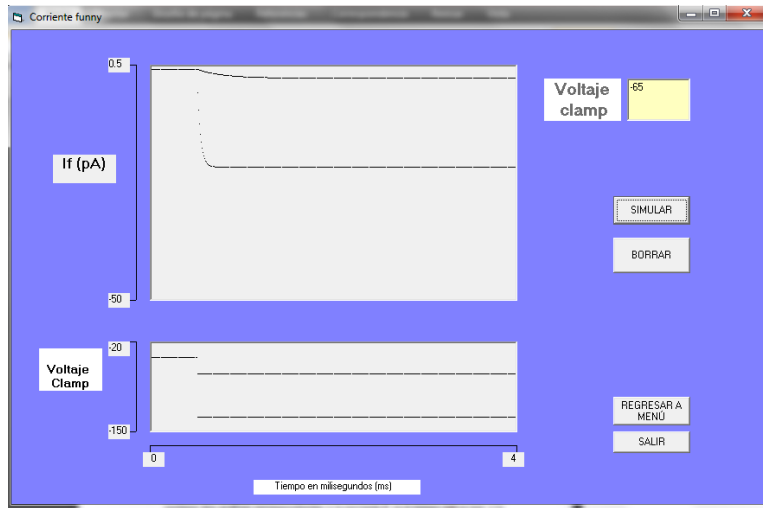


Figura 2. Registro de la corriente funny al dar un pulso de voltaje de  $-60$  mV (registro superior) comparado con la corriente producida con un pulso de  $-100$  mV (línea inferior). En el osciloscopio de abajo se muestran los pulsos de estímulo.

La figura muestra la simulación comparada entre pulsos de estímulo con voltajes fijados en  $-100$  mV y  $-130$  mV. Se puede observar como aumenta la corriente Funny con valores de voltaje de estímulo más negativos.

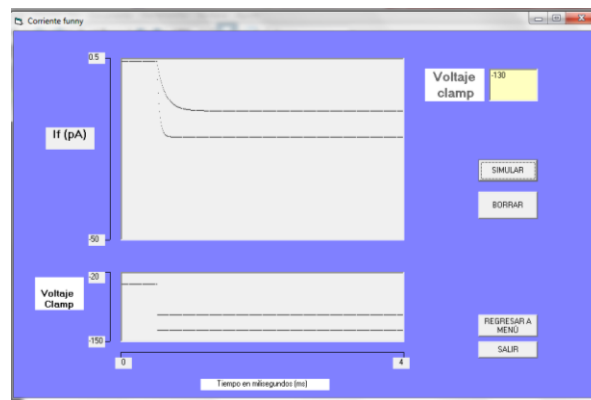


Figura 3. Registro de la corriente Funny. En el osciloscopio superior se muestra la corriente con un pulso de voltaje de  $-100$  mV y con un pulso de  $-130$  mV. En el osciloscopio inferior se muestran los pulsos de estímulo.

#### 4. CONCLUSIONES

El simulador, está basado en datos experimentales para la activación de la corriente Funny y en los modelos matemáticos derivados de estos estudios. El simulador permite conocer más acerca de la cinética de los canales iónicos que se expresan en el nodo sinusal del conejo. El usuario podrá manejar el programa de manera fácil y con ello enriquecer su aprendizaje. Los experimentos virtuales como los presentes en este trabajo permiten en una sala de cómputo los alumnos realicen prácticas de laboratorio que de otra manera son imposibles en licenciatura.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. C. Serrano, A. Sanz, A. Hernández, "Arritmias cardíacas", *Medecine*, Vol. 8, 39, 2001, pp. 2045-2054.
2. J. M. Guerra, J. Cinca, "Ritmo sinusal normal. Nuevos conceptos anatómicos y fisiológicos del nódulo sinusal. Corrientes If. Rev Esp Cardiol Supl.", Vol. 7, 2007, pp. 26D-31-D.
3. M. Baruscotti, A. Bucchi, D. DiFrancesco. "Physiology and pharmacology of the cardiac pacemaker («funny») current", *Pharmacol Ther*, 107, 2005, pp 59-79. D. DiFrancesco, "Funny channels in the control of cardiac rhythm and mode of action of selective blockers", *Pharmacol Res.*, 53, 2006, pp. 399-406.
4. H. F. Brown, D. DiFrancesco, S. J. Noble, "How does  $I_f$  accelerate the heart?", *Nature*, Vol. 6, 1979, pp. 280:235.
5. R. B. Robinson, S. S. Siegelbaum, "Hyperpolarization-activated cation currents: from molecules to physiological function", *Annu. Rev. Physiol.* 65, 2003, pp. 435-480.
6. H. M. Vetulli, "La corriente iónica  $I_f$  ("funny current") y la aplicación de agentes moduladores en aritmología", *Rev Electro y Arritmias*, Vol. 2, 4, 2009, pp. 154-155.
7. D. DiFrancesco, "Pacemaker mechanisms in cardiac tissue". *Ann Rev Physiol.* 55, 1993, pp. 455-7
8. D. DiFrancesco, "The contribution of the 'pacemaker' current ( $I_f$ ) to generation of spontaneous activity in rabbit sino-atrial node myocytes". *J Physiol.* 434, 1991, pp. 23-40.
9. A. O. Verkerk, R. Wilders., "Hyperpolarization- Activated Current,  $I_f$  in Mathematical Models of Rabbit Sinoatrial Node Pacemaker Cells", *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 872454, 2013, pp. 18.
10. V.A. Maltsev, E.G. Lakatta, "Synergism of coupled subsarcolemmal  $Ca^{2+}$  clocks and sarcolemmal voltage clocks confers robust and flexible pacemaker function in a novel pacemaker cell model-", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 296, 2009, pp. H594-615
11. Severi S, Fantini M, Charawi LA, DiFrancesco D. An updated computational model of rabbit sinoatrial action potential to investigate the mechanisms of heart rate modulation. *J Physiol* 2012;590:4483-99.

## USO DE MEDICAMENTOS EXPERIMENTALES EN SITUACIONES DE EMERGENCIA

María Patricia Domínguez Echeverría. <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada de Hueso # 1100 Col. Villa Quietud, C.P. 04960, México, D.F. [mpdomin@correo.xoc.uam.mx](mailto:mpdomin@correo.xoc.uam.mx)

### RESUMEN

**Introducción:** Ningún fármaco es totalmente seguro, es necesario sopesar los riesgos frente a los beneficios de su uso. Si estos últimos son mayores, los organismos reguladores (FDA de los EEUU, la EMEA en la Comunidad Económica Europea y el Ministerio de Salud en Japón) aprobarán su uso. Ante la epidemia del virus del ébola (EVE) recientemente surgida en África occidental, con cinco países infectados al inicio (Guinea, Liberia, Nigeria, Senegal y Sierra Leona), la Organización Mundial de la Salud (OMS), se encuentra analizando el eventual uso de medicamentos aún en fase de estudio.

**Teoría:** Las tragedias con medicamentos utilizados antes de completar las fases de estudio, generaron, desde 1962, el establecimiento de restricciones antes que un medicamento sea vendido en EEUU, donde se evidencie la seguridad del fármaco y su eficacia antes de su comercialización. El proceso de investigación y descubrimiento (I+D) y las fases subsiguientes hasta el lanzamiento del medicamento y su comercialización, abarcan de ocho a doce años, donde, antes de avanzar a la experimentación humana, deberán hacerse más pruebas en animales.

**Metodología:** Análisis de: a) Varios casos trágicos en la historia del desarrollo de los medicamentos (sulfas, dietilenglicol, thalidomida), donde *la presión social* (caso actual de la EVE), *apuró su comercialización, aún y cuando no se habían cubierto todas las fases de estudio necesarias antes de salir al mercado.* b) Literatura científica actual sobre el EVE, la cual pone en evidencia una “emergencia de salud pública” (OMS) internacional, que está presionando a las compañías farmacéuticas con apenas “ensayos clínicos parciales” para agilizar las pruebas.

**Conclusiones:** Los datos reportados muestran que: 1. *Sin drásticas medidas de control*, el número de casos de EVE continuará incrementándose a miles por semana en los próximos meses. 2. Por ello, se incrementará la comercialización de fármacos todavía en fase de estudio.

### 1. INTRODUCCIÓN

La fase moderna del proceso llevado a cabo por los organismos administradores del manejo de fármacos y alimentos (FDA) para aprobar su uso, empezó en 1938, con un *decreto* (inédito en los Estados Unidos), de la ley federal de alimentos, drogas y cosméticos, que requirió la *evidencia de seguridad del fármaco* antes de legalizar su comercialización. Esto se generó a raíz de la intoxicación masiva en los Estados Unidos en 1937, con el *elíxir de sulfanilamida* un preparado de la sulfanilamida, que causó la muerte a 100 personas por insuficiencia renal al haber usado dietilenglicol (anticongelante para automóviles) como solvente de la sulfanilamida sin haber realizado ninguna prueba previa de toxicidad antes de usar el

producto. La respuesta social ante este incidente, llevaron a la aprobación de la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos de 1938 (FDA, 1938).

Posteriormente, para 1962, la ley de 1938 fue modificada bajo la enmienda de fármacos de Kefauver-Harris, la cual estableció que el patrocinador (el laboratorio farmacéutico en cuestión) tenía que demostrar no sólo la eficacia del medicamento, sino además su seguridad, todo esto a raíz de los efectos teratogénicos de la talidomida al ser consumida durante la gestación. Este evento logró la necesidad de reforzar los estudios sobre la seguridad del fármaco, haciéndolos más extensos y severos, antes de avanzar a la última fase de experimentación humana. Para 1967, se estableció, además, la necesidad de que cada paciente diera su consentimiento firmado en una nota hospitalaria, antes de participar en estudios de nuevos medicamentos.

## 2. TEORÍA

En relación a las regulaciones, las tres agencias más relevantes que aprueban el uso de fármacos y medicamentos para uso humano son: la FDA de EEUU, la EMEA de la Comunidad Económica Europea y el Ministerio de Salud en Japón. De estas agencias, la más antigua es la Administradora de Medicinas y Alimentos [Food and Drug Administration (FDA)], que es la encargada de *autorizar* la comercialización de los nuevos medicamentos en los Estados Unidos, una vez que ha revisado todos los resultados de los ensayos realizados en las diferentes fases que conlleva un nuevo medicamento. En sí, la FDA es una agencia verificadora de los ensayos realizados por los expertos y lo que hace es determinar la seguridad del fármaco en cuestión para poder ser comercializado; está encargada también de revisar las indicaciones del uso del fármaco, la pertinencia del folleto de uso, la dosis recomendada, las advertencias, los efectos secundarios, las contraindicaciones. El momento en el cual actúa la FDA, es cuando están listos los ensayos pre-clínicos en animales, y el fármaco está listo para ser ensayado en humanos.

Para 1999, la FDA aprobó, en el transcurso del año, 83 productos farmacéuticos, de los cuales 35 eran nuevas entidades moleculares (NEM). De estos fármacos, 25 fueron considerados de prioridad y recibieron un tratamiento acelerado de revisión de sólo seis meses por ser calificados como un avance terapéutico significativo (Mihm, 2006). En este sentido, cabe comparar que la revisión de los resultados de las pruebas efectuadas a los fármacos, la FDA se tomó al menos seis meses para dar el fallo, tomando en consideración que esos fármacos ya habían concluido las pruebas de la última fase en humanos.

Por otro lado, la Agencia europea para la evaluación de productos medicinales (EMA), con sede en Londres, empezó en funciones en 1995. Opera para la Comunidad Europea, y es la encargada de autorizar productos medicinales para uso humano y veterinario. En su funcionamiento, depende de la cooperación de otras dependencias nacionales de los estados miembros de la Comunidad Europea, y actúa como una interfase entre ellos. Esta organización funciona en dos vías para la aprobación de los medicamentos: el *procedimiento centralizado*, consiste en dirigir las solicitudes directamente a la EMA, la cual genera una sola autorización de comercialización que será válida para toda la Unión Europea, dentro de un plazo máximo de 210 días. Para los productos derivados de la biotecnología, este



procedimiento, es el obligatorio. La otra alternativa, es el *procedimiento descentralizado*, en el cual las solicitudes se presentan a los estados miembros seleccionados por el propio postulante, y el reconocimiento opera, de acuerdo a un mutuo reconocimiento de autorización de las autoridades nacionales. En el caso que no sea posible lo anterior, la EMEA actúa como árbitro. En cuanto a los resultados de las solicitudes, en 1999 la EMEA aprobó 41 solicitudes para nuevos medicamentos y 33 para NEM (Mihm, 2006).

Un punto importante a ser resaltado, es otro papel que desempeña la EMEA, igual a la FDA, que consiste en llevar un registro de las reacciones adversas hacia los medicamentos, ocurridas a nivel mundial. Es alarmante que estas notificaciones hayan ido en aumento en los últimos años. Se tienen datos de que en 1997 se procesaron 1,812 notificaciones de reacciones inesperadas; en 1998, fueron 4,417, y, en 1999, de 8,878.

**La tragedia de la talidomida.** Para nuestro propósito, es importante mencionar un pasaje de este fármaco en 1962, durante la gestión de John F. Kennedy, el cual, junto con la prensa americana, empezó a presionar al inspector de la FDA, el Dr. Frances Oldham Kelsey, PhD., M.D., (originario de Vancouver Island, B.C., que se encontraba, en 1960, practicando la medicina en la facultad de la Universidad de Dakota Sur cuando aceptó la oferta de ser un oficial de la FDA) para que empezara a aplicarse la talidomida. A pesar de la presión, Kelsey no estaba seguro de su aplicación, pues consideró que no tenía los datos suficientes sobre su eficacia y seguridad. Dentro de estas dudas, la principal se refería a la falta de datos sobre si el fármaco atravesaría la placenta. No tenía datos clínicos al respecto; pero, si los hubiera disponibles, tampoco serían enteramente confiables. Para esa fecha, la aprobación de la FDA no requería ensayos clínicos. *Sin embargo, a contrapelo de la negativa de Kelsey para aprobar el medicamento, los “ensayos clínicos” de la talidomida involucraron la distribución de más de dos millones de tabletas de talidomida* a aproximadamente 20,000 pacientes distribuidos a través de la nación; aproximadamente 3,760 mujeres estaban en edad de concebir, y, al menos, 207 entre ellas, estaban embarazadas. Más de mil médicos participaron en este “ensayo”, pero pocos rastrearon a sus pacientes después de haberle administrado medicamento. El resto ya lo sabemos. A partir de este episodio, en 1962 los legisladores comenzaron a poner restricciones a la vigilancia y aprobación antes de que un medicamento sea vendido en los Estados Unidos, requiriendo que los laboratorios prueben que sus medicamentos son efectivos y seguros para ser vendidos en los Estados Unidos. Actualmente, la aprobación de un medicamento puede tomar entre ocho y doce años, involucrando pruebas en animales y pruebas reguladas en humanos.

### 3. METODOLOGÍA

Análisis de: a) Varios casos trágicos en la historia del desarrollo de los medicamentos (sulfas, dietilenglicol, thalidomida), donde *la presión social* (caso actual de la EVE), *apuró su comercialización, aún y cuando no se habían cubierto todas las fases de estudio necesarias antes de salir al mercado.* b) Literatura científica actual sobre el EVE, la cual pone en evidencia una “emergencia de salud pública” (OMS) internacional, que está presionando a las compañías farmacéuticas con apenas “ensayos clínicos parciales” para agilizar las pruebas.

#### 4. CONCLUSIONES

Los datos reportados a la fecha, muestran que:

1. En la actual epidemia del ébola, las prioridades fundamentales deben ser adecuadas por el *staff*, para que lleven a cabo una rigurosa identificación, vigilancia y cuidado de los pacientes y contactos primarios; un estricto aislamiento de los pacientes, buen cuidado clínico.
2. Una disposición rápida, culturalmente sensitiva de los cadáveres infecciosos.
3. Debe haber un control llevado a cabo contra tiempo, convenciendo a los líderes de la comunidad y el *staff* de salud, que *las prácticas de aislamiento y el entierro rápido de los muertos*, son un mandato primordial.
4. Los pacientes pueden ser bien cuidados en improvisadas condiciones locales.
5. Solamente el *staff* entrenado, calificado, y propiamente equipado, debería tener contacto con los pacientes infectados.
6. Los pasos anteriores en la actual epidemia del virus del ébola (EVE), pueden ayudar a controlar la epidemia.
7. Los datos virológicos, clínicos, epidemiológicos y descripciones antropológicas de la epidemia, permitirán la comparación con las otras epidemias del virus del ébola que han ocurrido desde 1976 y ayudarnos a prepararnos para futuras epidemias.
8. Por ello, sin *drásticas medidas de control*, el número de casos de EVE continuará incrementándose a miles por semana en los próximos meses.
9. Y *se incrementará la comercialización de fármacos todavía en fase de estudio*. En este sentido, el proceso de investigación y desarrollo sin duda continuará, pero se acortarán o eliminarán las fases clínicas finales de las pruebas.
10. Asimismo, la *sociedad tendrá que pronunciarse sobre los aspectos éticos y legales de todos estos avances* que, si bien son impresionantes, mantienen vigente el gran desafío actual y que es *garantizar el acceso a medicamentos esenciales* en este caso, contra la EVE, a una gran mayoría de la población mundial que aún no lo tiene.
11. Básicamente, aplicar terapias específicas que afecten sólo a los órganos blancos y con la menor cantidad de efectos adversos posible, ya que en el caso de los sobrevivientes del EVE, varios de sus órganos quedaron dañados. Por ello, se habla de trasplantes de tejidos y células para regenerar aquéllos dañados y que podrían, incluso, extender la duración de la vida.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Bremann, Joel, M.D., and Johnson, Karl, M.D. (2014). "Ebola then and now." *n engl j med* 371;18, october 30, 2014
2. Hamowy, Ronald. (2010). "Medical disasters and the growth of the FDA." Independent Policy Report, FDA.
3. Mihm, Stephen. (26 de Agosto, de 2006). "A tragic lesson" (en inglés). *The Boston Globe*. Consultado el 28 de marzo de 2014.

## SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL GRAFENO, A PARTIR DEL MÉTODO DE HUMMERS Y REDUCCIÓN TÉRMICA CON ÁCIDO ASCÓRBICO

Ismael Soto Lopez<sup>1</sup>, Rubí Patricia Hernández López<sup>1</sup>, Beatriz Palacios González<sup>1</sup>, Abraham Jiménez Hernández<sup>1</sup>, Iraís Guadalupe Yee Gutiérrez<sup>1</sup> y Luis Ángel Aguilar Carrasco<sup>1</sup>

Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Issolo2003@yahoo.com.mx

### RESUMEN

La síntesis de grafeno se lleva a cabo en dos etapas importantes: oxidación y reducción. Cada una de estas etapas conlleva diferentes métodos y reactivos, los cuales le confieren propiedades y características propias a los productos transitorios del grafeno. Estos productos mejor conocidos como Óxido de Grafeno (GO) y Grafeno reducido (rG) han ido tomando relevancia en la investigación.

El óxido de grafeno tiene propiedades interesantes y diversas, algunas de las características de este compuesto es que se comporta como un buen aislante, además se le atribuyen propiedades antibacterianas.

Los métodos de oxidación para el grafito generan cambios en su estructura química y depende de los reactivos utilizados para su elaboración; el método de *Hummers*<sup>6</sup> resulta ser el más eficiente para la oxidación del grafito.

Después del proceso de oxidación el siguiente paso de preparación de grafeno, es la reducción del óxido de grafeno. Los métodos de reducción de GO puede clasificarse en dos grupos: métodos químicos y métodos térmicos, obteniéndose productos que se aproximan al grafeno en diferentes grados estructurales y en consecuencia en sus propiedades eléctricas, térmicas y mecánicas. La ventaja del método térmico es que permite reducir o exfoliar el GO directamente en un solo paso.

A pesar de que el rG presenta menor conductividad eléctrica que el grafeno, se le puede dar un enfoque diferente para aplicaciones que no serían posibles para éste. Actualmente se están desarrollando prototipos innovadores con grafeno, como fotodetectores, microprocesadores, pantallas planas flexibles y ultrafinos para la telefonía móvil, ultracapacitores, fotodetectores, baterías, reductoras de contaminantes y una amplia gama de aplicaciones<sup>5</sup>.

En este trabajo se realizó la síntesis de grafeno por método de *Hummers* y reducción térmica con ácido ascórbico. Hasta ahora se han realizado análisis por U.V.

### 1. INTRODUCCIÓN

#### Grafeno

El carbono es un sólido de color negro brillante y dependiendo de las condiciones se pueden encontrar en la naturaleza en distintas formas alotrópicas; fullerenos, nanotubos de carbono, diamante, grafito y grafeno, este último está constituido por una monocapa de átomos de carbono, en forma hexagonal y empaquetados dando la apariencia de un panal de abejas.

Dicho arreglo hexagonal, le permite a cada átomo de carbono interactuar con una hibridación  $sp^2$  con tres átomos de carbono, generando un enlace  $\pi$  deslocalizando, donde el par electrónico confiere las propiedades extraordinarias al grafeno. La hibridación  $sp^2$  presente en los enlaces de carbono brinda la dureza y rigidez, confirmándonos que se trata de un nuevo material. Otras características son: flexibilidad, maleabilidad, ductibilidad, estas propiedades nos permiten deformarlo y tensarlo, sin que este pierda sus cualidades.

Todas estas propiedades hacen que el grafeno no solo sea el material más importante y prometedor de las últimas décadas, sino que también se hacen combinaciones con otros compuestos, teniendo un campo más amplio y diverso en cuanto a las aplicaciones.

Existen una variedad de métodos para la obtención de grafeno, pero algunos difieren en cuanto al rendimiento obtenido. Sin embargo en la actualidad el mejor método para la obtención de grafeno es a partir de la oxidación del grafito. En donde el grafito se trata con agentes altamente oxidantes como ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) y permanganato de potasio ( $KMnO_4$ ) para tratarlo posteriormente con agentes reductores (ácido ascórbico  $C_6H_8O_6$  o ácido cítrico  $C_6H_8O_7$ ), para obtener el grafeno. El método utilizado para la obtención de grafeno depende de la cantidad que se desee obtener, el tipo de grafito, concentraciones de los reactivos y los costos que genera.

## 2. TEORIA

En 1907 Edward Goodrich A. publicó en el *Journal of the Franklin Institute*<sup>7</sup> por primera vez el descubrimiento de un nuevo material de carbono: el grafeno. Fue hasta el año de 1962 que este término comenzó a utilizarse para referirse al grafito exfoliado.

En 1975 se produjo por primera vez grafeno por un tratamiento térmico con carburo de silicio (SiC) y la técnica de crecimiento epitaxial. Pero no fue hasta 2004 que los científicos Andre Geim y Constántine Novolelov<sup>6</sup> aislaron por primera vez con ayuda de una cinta adhesiva láminas de grafeno detonando el estudio y caracterización de este nuevo material.

El grafito se define como una estructura de capas superpuestas de grafeno. Por lo cual el método de Hummers es el más recomendado para la exfoliación de dichas capas.

El proceso de oxidación genera la separación de las capas de grafito (grafeno) por medio de agentes oxidantes que introducen grupos funcionales a su estructura aumentando la distancia interlamina debido a la disminución de las fuerzas de Van der Waals.

### **Síntesis de óxido de grafeno**

Para la obtención de grafeno se utilizó el método de Hummers<sup>6</sup>, este nos permite tener un mayor rendimiento. Primeramente se tiene que someter al grafito a un proceso de oxidación, para romper las fuerzas intermoleculares (Fuerzas de Van der Waals), por medio de la unión de grupos funcionales (hidroxilos, éteres y epóxidos) en los dominios aromáticos; sin embargo estos pueden variar dependiendo del tipo de grafito y los agentes oxidantes que se utilicen en el proceso, condicionando sus propiedades. Por ejemplo el óxido de grafeno es un buen aislante debido a la integración de grupos funcionales que ocasionan la pérdida de la aromaticidad, adquiriendo dicha propiedad.

El óxido de grafeno tiene la propiedad de ser un material higroscópico e hidrofílico (por los grupos funcionales) por lo tanto se utilizó el baño ultrasónico para evitar el aglutinamiento entre las diferentes capas y de esta manera, evitar la intercalación de moléculas de agua u otros elementos.

Gracias a estas propiedades se puede utilizar como biosensor fluorescente en la detección de ADN.

### **Reducción del óxido de grafeno**

En este proceso la conductividad eléctrica se recupera por la reducción, en la cual hay una eliminación de los grupos funcionales y la restauración de los enlaces de carbono  $sp^2$ . A su vez esta eliminación aumenta la hidrofobicidad del rG presentándose como un sólido negro precipitado.

Existen dos métodos de reducción: química y térmica. El primero implica el uso de agentes reductores que permiten la eliminación de los grupos funcionales agregados en la oxidación; y la térmica permite la exfoliación y reducción directamente por la descomposición por la rápida expansión de los gases que ejercen presión sobre las capas provocando la separación de los grupos funcionales oxigenados.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### SÍNTESIS DE GRAFENO

Para la obtención de grafeno, se utilizó grafito comercial Faber-Castell, un grafito “suave” del número 8B.

#### Preparación del óxido de grafito (GO) por el método de Hummers.

En un matraz redondo se disolvió 2.5g de grafito suave comercial en 34.5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 10%. Se le adicionó 4.5 g de permanganato de potasio ( $KMn_4O$ ), al terminar de agregar se aumentó la temperatura a  $\pm 35^\circ C$  bajo agitación constante a 1000 rpm durante 2 horas.

Posteriormente se le agregó gota a gota 69 ml de agua destilada aumentando la temperatura a  $84^\circ C$ . Enseguida el calentamiento fue finalizado y se mantuvo en agitación durante 15 min.

Se adicionaron 10 ml de una solución de  $H_2O_2$  al 30%, se dejó en reposo durante 40 min. Se lavó y centrifugó a 1500 rpm por 3 min.

La muestra obtenida (3.059 g) se volvió a tratar ahora con 69 mL de ácido sulfúrico concentrado, 9 g de permanganato de potasio, con agitación constante durante 2 horas.

Al terminar 138 mL de agua destilada fueron agregados y se dejó 15 min. En agitación. Pasando ese tiempo, 20 mL de  $H_2O_2$  se agregaron a la muestra y se dejó reposar.

Tras el reposo se realizó el lavado del sólido obtenido, mediante centrifugación con 1L de solución 1:10 de HCl en agua a 1500 rpm durante 5 min.

El precipitado se secó a  $60^\circ C$  en estufa por 24 horas.

Al producto seco obtenido, se le agregó 200 mL de agua destilada y fue sometido a tratamiento con baño ultrasónico a 250 MHz durante 1 hora 15 minutos.

La reducción del óxido de grafeno obtenido se realizó por dos métodos:

#### Reducción de óxido de grafeno (rG) por reacción térmica.

Se tomó una alícuota de 75 ml de la suspensión de óxido de grafeno, se colocó en un matraz y 11.77 g de ácido ascórbico fueron agregados. Posteriormente la reacción se mantuvo en un baño de aceite a  $85^\circ C$  con agitación constante por 1 hora. Terminada la reacción la solución se lavó con agua destilada, se centrifugó y se dejó secar en la estufa.

#### Reducción de óxido de grafeno (rG) por ultrasónico.

El resto de suspensión de óxido de grafeno se centrifugó y seco, para posteriormente pesarlo. Se obtuvieron 1.22 g de óxido grafeno, se adicionó 1.23 g de ácido ascórbico y se disolvió en 410 ml de agua destilada. Posteriormente se metió a baño ultrasónico por 2 horas a 250 MHz. El producto se lavó y centrifugó.

#### Caracterización

Hasta ahora se ha hecho éstas pruebas de caracterización:

- **Espectroscopía Visible-Ultravioleta (Vis-UV)**

Se utilizó UV-Vis como una prueba de caracterización del productos obtenido, con el fin de determinar si las suspensiones contenían los productos transitorios de GO y si había sido parcialmente reducido el rG conforme al tiempo de reacción. Cuanto mayor es el movimiento del espectro de adsorción hacia la región visible más reducido estará el GO.

La muestra de los espectros UV obtenidos mediante el método de reducción térmica a  $95^\circ C$  con ácido ascórbico se aprecia un desplazamiento mayor con respecto al método realizado por reducción por baño ultrasónico.

Por medio de las pruebas de Fisisorción de nitrógeno, Raman y Difracción de Rayos X (DrX) se logra la caracterización de los productos obtenidos, así como las determinaciones de las propiedades físico-químicas del compuesto resultante.

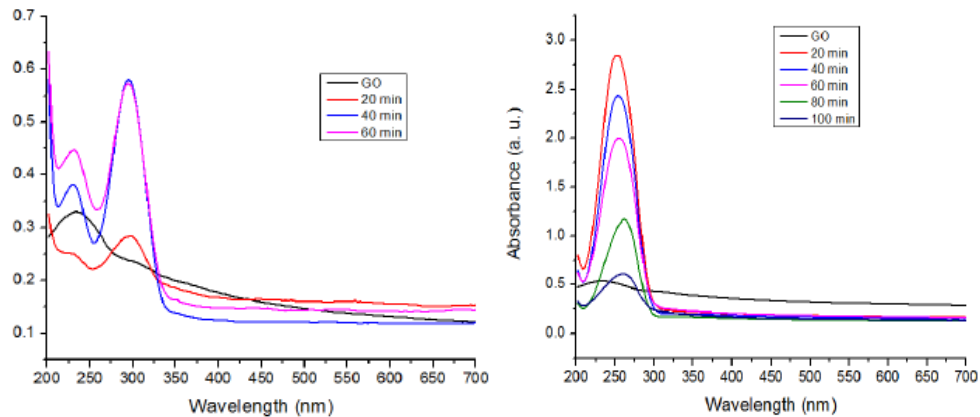


Fig. 1. Espectro de absorción UV-Vis que muestra el cambio de GO a rG con ácido ascórbico por a) reducción térmica y b) reducción por baño ultrasónico

#### 4. CONCLUSIONES

Por medio del método de Hummers se logró obtener óxido de grafeno, comprobando los resultados obtenidos con la bibliografía y se logró por medio de análisis por UV-Vis la caracterización de grafeno obtenido por dos métodos: reducción térmica y reducción por baño ultrasónico, utilizando como agente reductor el ácido ascórbico.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Bautista Flores C, Sato Berru R. Y., Mendoza López D., Observación de capas de grafeno mediante contraste óptico y dispersión Raman. Revista Mundo Nano. 2013, (pp 34-37).
2. Castro-Beltrán A., et. al. Obtención de grafeno mediante la reducción de óxido de grafito. Ingenierías 24, (pp34-42) (2011).
3. Cid H. E., Argüello L. A., Romano A., Flores C., Pérez M., Síntesis y caracterización de grafeno. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM;). 2012, (pp.3-4).
4. García Martínez Vanessa, Estudio de la estabilidad del óxido de grafeno con el tiempo, Universidad de Oviedo. (pp.10-21).
5. Ghosh S., et al. Extremely high thermal conductivity of graphene: Prospects for thermal management applications in nanoelectronic circuits. App. Phys. Lett., 92, 1 (2008).
6. Hummers, W. S.; Offeman, R. E. "Preparation of Graphitic Oxide". Journal of the American Chemical Society 80 (6): 1339, (1958).
7. Mabery, Charles F. (1900). "Notes, On Carborundum". Journal of the American Chemical Society (Johnson Reprint Company Harvard University) XXII (Part II)(pp 706–707). (2007).
8. Novoselov, K. S. et al. Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene. Nature 438, (pp197–200) (2005).).

## Síntesis química de soluciones sólidas de Ca-Mg hidroxiapatita mediante el proceso hidrotérmico asistido por microondas.

K.L. Montoya-Cisneros<sup>a</sup>, J.C. Rendón-Ángeles<sup>a</sup>, Z. Matamoros-Veloza<sup>b</sup>, K. Yanagisawa<sup>c</sup>,  
J. López-Cuevas<sup>a</sup>, M.I Pech-Canul<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del IPN Unidad Saltillo, Ramos Arizpe, Coah., alrak.montoya188@gmail.com, jcarlos.rendon@cinvestav.edu.mx, jorge.lopez@cinvestav.edu.mx, martin.pech@cinvestav.edu.mx

<sup>b</sup>Instituto Tecnológico de Saltillo, Departamento Metal Mecánica, Saltillo, Coah., zullyma@its.mx

<sup>c</sup>Research Laboratory of Hydrothermal Chemistry, Faculty of Science, Kochi, Japón., yanagi@kochi-u.ac.jp

### RESUMEN

La hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) es un compuesto inorgánico con una composición química similar a la fase ósea humana, debido a su propiedad de biocompatibilidad este compuesto puede ser aplicado como un material de reemplazo. El magnesio es un cation importante para el cuerpo humano, este se encuentra hasta en un 6 % molar en la fase ósea humana y activa los procesos de metabolismo. La incorporación del  $\text{Mg}^{2+}$  en la estructura cristalina de la hidroxiapatita es de interés debido a la formación de una amplia gama de soluciones sólidas ( $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), estas son consideradas como sustitutos óseos debido a sus características biológicas. Este trabajo de investigación se enfocó a la síntesis de polvos de soluciones sólidas del tipo  $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  bajo condiciones hidrotérmicas asistidas por microondas. Los tratamientos hidrotérmicos fueron efectuados en el rango de temperaturas de 100 a 170 °C por periodos de reacción de 0.08 hasta 5 h. Con el propósito de evaluar el efecto de los parámetros de procesamiento: temperatura, tiempo de reacción, y el contenido de  $\text{Mg}^{2+}$  sobre la cristalización de las soluciones sólidas de hidroxiapatita. Los productos de reacción se caracterizaron mediante las técnicas de: DRX, FT-IR, MEB, MET, ICP y BET. Los resultados obtenidos mediante las técnicas de caracterización demostraron que fue posible la obtención de polvos de soluciones sólidas. Las variaciones de los parámetros que se evaluaron durante la síntesis mostraron tener un efecto sobre la cristalización de los productos de reacción obtenidos. Los resultados mostraron que la ruta de síntesis empleada es rápida y simple en comparación con otras rutas de procesamiento permitiendo la formación de soluciones sólidas a tiempos tan cortos de 1 h y con una buena reproducibilidad en la preparación de estos materiales.

### 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el material de interés relacionado con los materiales biocerámicos que presentan una gran variedad de aplicaciones medicas es el compuesto de hidroxiapatita cuya fórmula química general corresponde a  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (en adelante referido como HAp) este material es atractivo para aplicarlo como material de sustitución en ortopedia y el área dental debido a que posee excelentes propiedades de biocompatibilidad, bioactividad y osteoconducción. La HAp se caracteriza por presentar deficiencias en su composición química debido a la presencia de otros iones en bajas concentraciones, algunos de estos se incorporan en los sitios A, B y X de la red cristalina de la fase apatita  $\text{A}_{10}(\text{BO}_4)_6\text{X}_2$ . En relación a los elementos dopantes, que se pueden incorporar en la estructura cristalina de la hidroxiapatita se encuentra el  $\text{Mg}^{2+}$  el cual es un elemento de importancia dentro del cuerpo humano debido a que participa en los procesos del metabolismo humano. Al incorporar el  $\text{Mg}^{2+}$  en la estructura cristalina de la hidroxiapatita se producen las soluciones sólidas del tipo  $\text{Ca}_{10-x}\text{Mg}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (en adelante referido como MgHAp) este tipo de soluciones sólidas se caracteriza por presentar propiedades de biodegradabilidad, biocompatibilidad y bioactividad en comparación con la fase pura de hidroxiapatita de calcio y son de interés para el desarrollo de sustitutos artificiales del hueso. Por otra lado, en cuanto a las técnicas de procesamiento de materiales cerámicos mediante rutas químicas, la síntesis hidrotérmica asistida por microondas ha atraído el interés de varios investigadores, debido

principalmente a que ésta es una tecnología de procesamiento que se realiza a una velocidad de calentamiento acelerada, la cual activa a nivel molecular la cristalización y crecimiento de manera controlada de partículas de compuestos inorgánicos, siendo esta la diferencia principal con respecto al procesamiento convencional de reacción en el estado sólido. Por lo tanto, el presente trabajo de investigación se enfocó en la síntesis de polvos de soluciones sólidas del tipo MgHAp mediante el proceso hidrotérmico asistido por microondas.

## 2. TEORÍA

La HAp cuya composición es similar a la de la fase ósea mineral (hueso), está constituida por contenidos teóricos de: 39.68% e.p de Ca y 18.45% e.p de P, lo cual da como resultado una relación molar estequiométrica Ca/P=1.67. Este compuesto pertenece al sistema hexagonal, con un grupo espacial, P63/m [1-2]. La HAp es un mineral inestable estructuralmente, por lo tanto es factible que sustituciones químicas de otros iones se realicen en su estructura [1, 3-4]. Las diferentes incorporaciones que pueden ocurrir en el interior de la estructura cristalina pueden afectar los parámetros de red generando contracciones o expansiones de la estructura cristalina, retardar la cristalinidad, incrementar la solubilidad del compuesto y ocasionar cambios en la morfología de las partículas y la estabilidad química de la estructura. En particular, el magnesio, en su forma iónica  $Mg^{2+}$ , es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano, y puede sustituir al  $Ca^{2+}$  dentro de la red cristalina hexagonal de la hidroxiapatita, causando una contracción de la estructura cristalina debido a que el Mg posee un radio iónico menor (0.64 Å) en comparación al del  $Ca^{2+}$  [5-7]. Dentro de las funciones más importantes que este elemento activa, se encuentra la formación del hueso en los organismos vivos, puesto que se ha encontrado que este elemento está contenido hasta en un 6% mol en la fase ósea, además de que una mínima cantidad de Mg también se aloja en la superficie del hueso y actúa como un sitio de almacenaje de este elemento en el cuerpo, lo que permite balancear el consumo inadecuado de nutrientes que contengan Mg; cabe señalar que con el tiempo esta capacidad de reserva es reducida en los humanos [8-9]. Por otra lado, en cuanto a las técnicas de procesamiento de materiales cerámicos mediante rutas químicas, la síntesis hidrotérmica asistida por microondas involucra un calentamiento acelerado con el objeto de formar partículas cerámicas, siendo esta la diferencia fundamental con respecto al procesamiento convencional mediante una reacción en el estado sólido, en donde el calentamiento se efectúa mediante la transferencia de energía térmica por conducción hacia el cuerpo. El calor es transmitido hacia fuera del cuerpo, por lo tanto existe un perfil de calentamiento inverso, del interior hacia la superficie. La irradiación por microondas esta en función del material, durante el periodo de síntesis ocurre casi un 100% de conversión de absorción de energía electromagnética, a diferencia del calentamiento convencional donde existe una pérdida significativa de energía térmica [10-11]. Adicionalmente, algunas de las ventajas que están asociadas al empleo de esta técnica con respecto a los métodos convencionales de procesamiento radican en el control de la morfología, tamaño de partícula, alto grado de pureza, alto grado de cristalinidad y una aceleración de la cinética de reacción [12-13]. Sin embargo, durante las últimas décadas se han desarrollado varias rutas de síntesis que se han empleado para llevar a cabo la preparación de compuestos de MgHAp; estos métodos incluyen principalmente: la síntesis hidrotérmica [6], el método mecanoquímico hidrotérmico [14] y la precipitación química [15].

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

### Preparación del material.

La obtención de polvos de soluciones sólidas de MgHAp fue realizada mediante el proceso hidrotérmico asistido por microondas empleando los reactivos químicos analíticos de  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  y  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  como precursores de Ca y Mg mientras que los compuestos de tripolifosfato de sodio ( $Na_5P_3O_{10}$ ) y fosfato dibásico de amonio ( $(NH_4)_2HPO_4$ ) fueron seleccionados como precursores del ion fosfato. Las soluciones precursoras fueron realizadas mediante la mezcla de los volúmenes de solución 1 M de los compuestos de  $Ca(NO_3)_2$  y  $Mg(NO_3)_2$  de acuerdo a las relaciones molares de 9.8:0.02, 9.6:0.04 y 9.4:0.06 correspondientes a las cantidades de 2, 4 y 6 %molar  $Mg^{2+}$ , respectivamente. Una vez mezcladas las soluciones, estas se homogenizaron bajo continua agitación durante un intervalo de 5 min, posteriormente fue añadida la solución del precursor  $(NH_4)_2HPO_4$ , la cual originó la formación de un gel, el sistema se mantuvo en agitación por un tiempo de 0.5 h para homogenizarlo. Sin embargo, para el caso de la síntesis de polvos de MgHAp preparados con el compuesto  $Na_5P_3O_{10}$  una cantidad de 15% en volumen de 2 propanol



fue adicionada a la suspensión. Posterior al periodo de homogenización, se agregaron 10 ml de la solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a la mezcla para mantener el medio hidrotérmico en condiciones alcalinas y después se procedió a medir el valor del pH.

#### Procesamiento hidrotérmico asistido por microondas

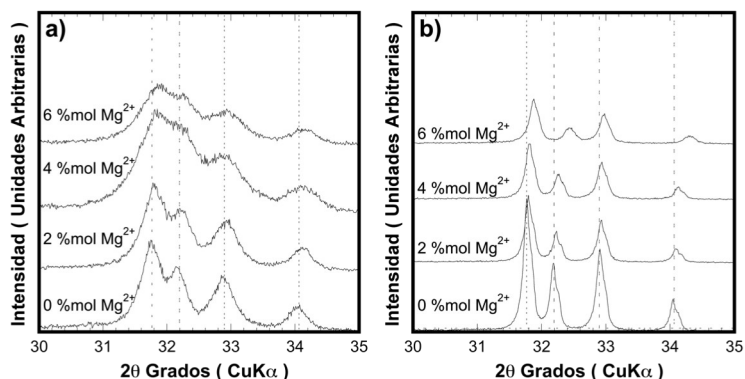
Una vez obtenidas las suspensiones, preparadas con los dos diferentes compuestos precursores del ion fosfato, estas fueron colocadas dentro de las autoclaves de teflón, dichas autoclaves fueron cerradas y calentadas por la irradiación de microondas a una velocidad de  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  y una potencia constante de  $300\text{ W}$  en un horno marca CEM·MARS X hasta llegar a la temperatura seleccionada. La síntesis de los polvos se realizó en el rango de temperatura de  $100$  a  $170\text{ }^\circ\text{C}$  con un intervalo de  $20\text{ }^\circ\text{C}$ ; por tiempos de reacción entre  $0.08$  a  $5\text{ h}$ . Después de los tratamientos, el pH de la solución remanente fue monitoreado, los productos de reacción fueron colectados y lavados con agua destilada. Finalmente los polvos fueron secados a  $80\text{ }^\circ\text{C}$  previo a su caracterización.

#### Caracterización

La caracterización estructural de los polvos obtenidos fue realizada mediante DRX y FT-IR donde se revelaron los aspectos relacionados con la fases cristalinas así como los grupos funcionales que constituyen los productos de reacción. La observación microestructural permitió determinar aspectos relacionados con la morfología, tamaño y distribución de las partículas de los polvos obtenidos. Así mismo, se efectuaron análisis químicos mediante la técnica de espectroscopia de emisión por plasma acoplado inducido, con el objeto de determinar el contenido total promedio de iones  $\text{Mg}^{2+}$  incorporado en los productos de reacción preparados. Finalmente el área superficial específica de las muestras en polvos fue evaluada por las isothermas de adsorción de  $\text{N}_2$  mediante el método BET.

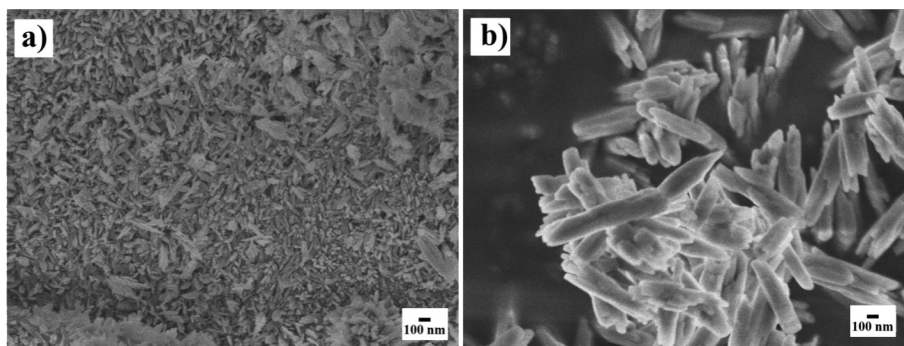
#### 4. CONCLUSIONES

Mediante los análisis estructurales se encontró que fue posible la obtención de polvos de hidroxiapatita pura y de soluciones sólidas de MgHAp con contenidos de  $2 - 6\%$  molar  $\text{Mg}^{2+}$  mediante el proceso hidrotérmico asistido por microondas a partir del empleo de dos compuesto precursores de ion fosfato:  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  y  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Se demostró que la cristalización de este tipo de soluciones sólidas se realizó en una sola etapa sin la formación de subproductos de reacción. Así mismo, se encontró que las variables como la temperatura, el tiempo de reacción, el contenido de iones  $\text{Mg}^{2+}$  y el tipo de precursor de ion fosfato tuvieron una influencia significativa en la cristalización de los productos de reacción obtenidos bajo estas condiciones de síntesis. Se encontró un comportamiento análogo para cada caso de síntesis debido a que con el incremento del contenido de Mg los picos de difracción presentaron un ensanchamiento puesto que las reflexiones se caracterizaron por estar bien definidas en tamaño y forma lo cual esta asociado a la incorporación del Mg lo cual esta relacionado con el tamaño de partícula. (ver Figura 1).



**Figura 1.** Patrones de DRX de polvos de soluciones sólidas de MgHAp preparados bajo condiciones hidrotérmicas asistidas por microondas a  $150\text{ }^\circ\text{C}$  por  $1\text{ h}$  empleando dos compuestos precursores de ion fosfato: (a)  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  y (b)  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ .

Por otro lado, se observó que la síntesis realizada con ambos precursores fue activada mediante el mecanismo de disolución-precipitación. De acuerdo a los análisis microestructurales, se encontró que los productos obtenidos con los dos precursores empleados presentaron una morfología similar del tipo de barras, las diferencias principales que se observaron fueron con respecto al tamaño de las partículas, este fenómeno fue atribuido a la reactividad química y el grado de saturación del tipo de precursor empleado. La síntesis llevada a cabo empleando el  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ , se encontró que la velocidad de disolución del precursor fue muy lenta, de esta manera se activó la formación de pocos núcleos por unidad de volumen para posteriormente crecer de manera acelerada a un tamaño de  $1.5 \mu\text{m}$  para polvos de soluciones sólidas con concentraciones de Mg de 6 %mol, en contraste con los productos de reacción que se obtuvieron empleando el  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a las mismas condiciones presentaron tamaños de partículas en promedio de 18 nm, debido principalmente a la formación de una gran cantidad de núcleos lo cual limitó el crecimiento de las partículas (ver Figura 2). Así mismo, mediante los análisis químicos se corroboró la pureza de los polvos de las soluciones sólidas del tipo MgHAP obtenidos.



**Figura 2.** Micrografías de polvos de soluciones sólidas de MgHAP con un contenido de 6% molar  $\text{Mg}^{2+}$  preparados bajo condiciones hidrotérmicas asistidas por microondas a 150 C por 1h empleando dos compuestos precursores de ion fosfato: (a)  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  y (b)  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Alejandro Sáenz Ramírez, "Biomateriales", Dialnet. Tecnología en marcha., Vol. 17, 1, 2004, pp. 34-45.
2. Sergey V. Dorozhkin, "Bioceramics of Calcium orthophosphates", Biomater., Vol. 31, 2010, pp. 1465-1485.
3. K. By Byrappa, M. Yoshimura, "Hydrothermal Technology Principles and Applications" in "Handbook of Hydrothermal Technology", Gary E. Mc Guire, Stephen M. Rossnagel, (Noyes publications Park Ridge, New Jersey, USA, 2000), Chapter 5, pp 287-295.
4. E. Boanini, M. Gazzano, A. Bigi, "Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature", Acta Biomater., Vol. 6, 2010, pp 1882-1894.
5. Ilaria Cacciotti, Alessandra Bianco, Mariangela Lombardi, Laura Montanaro, "Mg-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sintering behaviour", J. Eur. Ceram. Soc., Vol. 9, 2009, pp. 2969-2978.
6. A. Bigi, G. Falini, E. Foresti, M. Gazzano, A. Ripamonti, and N. Roveri, "Magnesium influence on Hydroxyapatite crystallization", J. Inorg. Biochem., Vol. 49, 1993, pp. 69-78.
7. F. Ren, Y. Leng, R. Xin, X. Ge; "Synthesis, characterization and ab initio simulation of magnesium-substituted hydroxyapatite"; Acta Biomater., Vol. 6, 2010, pp. 2787-2796.
8. Jürgen Vormann; "Magnesium: nutrition and metabolism"; Mol. Aspects Med., Vol. 24, 2003, pp. 27-37.
9. Elena Landi, Giandomenico Logroscino, Luca Proietti, Anna Tampieri, Monica Sandri, Simone Sprio, "Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to in vivo behavior", J Mater Sci: Mater Med., Vol. 19, 2008, pp. 239-247.
10. C. Oliver Kappe, Doris Dallinger and S. Shaun Murphree, "Microwave synthesis – An Introduction", en, "Practical Microwave synthesis for Organic Chemists: Strategies, Instruments and Protocols", editors, Wiley-VCH GmbH & Co. KGA, Weinheim, Alemania, p.p 291, 2009.

11. Yong-Zai Wang, Ying Fu; "Microwave-hydrothermal synthesis and characterization of hydroxyapatite nanocrystallites"; *Mat. Lett.* In press, 2011, pp. 1-3.
12. S. Das, A.K. Mukhopadhyay, S. Datta and D. Basu, "Prospects of microwave: An overview", *Bull Mater. Sci.*, Vol 32, 2009, pp .1-13.
13. Jae-Kil Han, Ho-Yeon Song, Fumio Saito, Byong-Taek Lee; "Synthesis of high purity nano-sized hydroxyapatite powder by microwave-hydrothermal method; *Mater. Chem. and Phys.*, Vol. 99, 2006, pp. 235–239.
14. Wojciech L. Suchanek, Kullaiah Byrappa, Pavel Shuk, Richard E. Riman, Victor F. Janas, Kevor S. TenHuisen "Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical–hydrothermal method", *Biomate.*, Vol. 25, 204, pp. 4647-4657.
15. V. Fadeev, L. I. Shvorneva, S. M. Barinov, and V. P. Orlovskii; "Synthesis and structure of Mg-substituted hydroxyapatite"; *Inor. Mate.*, Vol. 39, 2003, pp. 947–950

## **OBTENCIÓN DE ACEITES ESCENCIALES A PARTIR DE RESIDUOS DE PRODUCTOS CÍTRICOS EN LA ZONA NORTE DE VERACRUZ (Método Experimental)**

Alvarado Delfín L.A.\*, Contreras Verteramo C.A.\*, Aradillas Ponce A.N.\*

\*Instituto Tecnológico Superior de Pánuco, [lilia.alvarado@itspanuco.edu.mx](mailto:lilia.alvarado@itspanuco.edu.mx)

### **Resumen**

La producción de cítricos en el mundo es de gran importancia. Veintitrés países realizan esta actividad agrícola; en 2002 se registró un volumen de producción de 103.4 millones de toneladas. Las especies de mayor importancia son: naranja, tangerinas, limas y limones (AMSDA, 2012).

Los aceites esenciales y extractos de plantas se han utilizado desde hace mucho tiempo para obtener aromas y sabores. Los aceites esenciales son sustancias aromáticas de base lipídica encontradas prácticamente en todas las plantas; son muy numerosos y están ampliamente distribuidos en las distintas partes de la planta: raíces, tallos, hojas, flores, frutos y en las cáscaras, se caracterizan por sus propiedades físicas, como densidad, viscosidad, índice de refracción y actividad óptica. La mayoría de ellos tiene una densidad menor a la del agua, excepto los aceites de almendras amargas, mostaza, canela, perejil o clavo.

Existen diferentes métodos para la extracción de los aceites esenciales, dependiendo el uso final que se pretenda darles. Para este proyecto, se pretende utilizar el método de extracción por medios mecánicos utilizando una prensa a temperatura ambiente.

### **Introducción**

La naranja es la fruta de mayor consumo en México, con una superficie plantada de 348,524 hectáreas, superior a cualquier otro frutal en el país, accesible por su precio, por lo que llega a todos los estratos económicos y genera una gran actividad económica en toda la cadena productiva, desde las actividades de provisión de insumos, mantenimiento y producción de huertos, transportación, comercialización, empaque de fruta, industrialización y servicios (AMSDA, 2012); llega al consumidor final en forma de fruta, gajos, jugos simples o concentrados y naranjadas, además de subproductos como los aceites esenciales, aromas y derivados con aplicación en las industrias alimenticias, farmacéuticas y cosméticas.

A nivel internacional, la producción de cítricos ha evolucionado de 67 mil 695 miles de toneladas anuales promedio en 1993, hasta alcanzar las 104 mil 965 miles de toneladas en 2002, según cifras de la FAO en 2004, destacan en primer y segundo lugar Cuba y Brasil con el 33 % y 20% respectivamente de la producción total mundial, lugar que vienen manteniendo en esta última década, le siguen en orden de importancia, Estados Unidos (14%), China como el tercer productor con el (12%), sin embargo en el periodo 1970-79 solo participaba a nivel internacional con el 1% lo que plantea un crecimiento del 176% en los últimos 10 años como respuesta a un incremento de su superficie México y España en el cuarto lugar con el 6%

México, ubica las zonas más importantes de producción de naranja en las zonas con climas tropicales y subtropicales principalmente en los Estados de Veracruz, San Luís Potosí y Tabasco destinándose para consumo nacional (88.2%) y exportación de jugos (1.4%) y fruta fresca (0.44%); en el caso de Nuevo León y Sonora sus avances tecnológicos y sus condiciones agroclimatológicas y de fitosanidad han propiciado la exportación de fruta fresca gracias a estas ventajas comparativas.

La naranja, es considerada como una de las frutas de mayor importancia en el país, tanto por la superficie destinada para su cultivo, como por la producción y el consumo per cápita, que es cercano a 40 Kg. Sus características nutricionales ayudan al fortalecimiento de las defensas del organismo, debido a su contenido de vitaminas "C", B1, B2, B3, B5, B6 y E; sales minerales, ácidos orgánicos, pectina, componentes que fortalecen a la circulación y propiedades anticancerígenas del estómago.

### **Taxonomía y Morfología**

Familia: Rutaceae

Género: Citrus.

Especie: Citrus sinensis (L.) Osb.

Porte: Reducido (610m). Ramas poco vigorosas (casi tocan el suelo). Tronco corto.

Hojas: Limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas.

Flores: Ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mayor cuajado y mejores frutos dan.

Fruto: Hesperidio. Consta de: exocarpo (flavedo; presenta vesículas que contienen aceites esenciales), mesocarpo (albedo; pomposo y de color blanco) y endocarpo (pulpa; presenta tricomas jugo). La variedad Navel presenta frutos supernumerarios (ombligo), que son pequeños frutos que aparecen dentro del fruto principal por una aberración genética. Tan sólo se produce un cuaje del 1%, debido a la excisión natural de las flores, pequeños frutos y botones cerrados. Para mantener un mayor porcentaje de cuajado es conveniente refrescar la copa mediante riego por aspersión, dando lugar a una ralentización del crecimiento, de forma que la carga de frutos sea mayor y de menor tamaño. El fenómeno de la partenocarpia es bastante frecuente (no es necesaria la polinización como estímulo para el desarrollo del fruto). Existen ensayos que indican que la polinización cruzada incrementaría el cuaje, pero el consumidor no desea las naranjas con semillas. Alguno sufren apomixis celular (se produce un embrión sin que haya fecundación) (Reágueti, 2005; COVECA, 2014).

Pueden considerarse 3 tipos varietales de naranja (COVECA, 2014):

**Navel:** buena presencia, frutos partenocárpicos de gran tamaño, muy precoces. Destacan las variedades: Navelate, Navelina, Newhall, Washington Navel, Lane Late y Thompson. Se caracterizan por tener, en general, buen vigor.

**Blancas:** dentro de este tipo destaca la Salustiana y Valencia Late (presenta frutos de buena calidad con una o muy pocas semillas y de buena conservación). Se caracterizan por ser árboles de gran vigor, frondosos, tamaño medio a grande y hábito de crecimiento abierto, aunque tienen tendencia a producir chupones verticales, muy vigorosos, en el interior de la copa.

**Sanguinas:** variedades muy productivas, en las que la fructificación predomina sobre el desarrollo vegetativo. Son variedades con brotaciones cortas y los impedimentos en la circulación de la savia dan lugar al endurecimiento de ramas. Destaca la variedad Sanguinelli.

En México existen algunas variedades de naranja, sin embargo dentro de la producción nacional la naranja valencia es la más reconocida (SAGARPA, 2007). Algunas de estas variedades son las siguientes:

**Mandarinas:** Naranjas muy fáciles de pelar y cómodas de comer debido a su facilidad para separarla en gajos. Ideales para los niños (Entra la producción durante noviembre).

**Naranjas Navelinas:** sirven tanto para la mesa como para preparar zumos. Es una variedad muy valorada ya que su producción, es Drier, en diciembre es la primera en ser cosechada.

**Naranjas Navel-lane-late:** fruta de mesa muy jugosa y dulce y con el grado justo de acidez. Tienen mucho zumo, una piel muy fina y no tienen semillas. Es una de las variedades de mayor calidad. Su producción entra en febrero).

**Naranjas Valencias:** son naranjas muy jugosas y dulces, de tamaño un poco menor que las navel-lane-late, y están más orientadas al zumo. (Entra en producción en mayo).

La naranja valencia del grupo blancas tiene una doble aptitud, para el consumo en fresco y más aún, para jugo; por eso es la variedad líder en cuanto a distribución a nivel mundial. Sin embargo, su consumo en fresco se reduce a los propios países productores; por la dificultad que presenta al pelarla, se utiliza preferentemente para jugo fresco, que se prepara en casa, o en estancillos de las grandes urbes de dichos países. En cambio a los consumidores de los grandes países industrializados se les dificulta el consumo en fresco por el trabajo que implica exprimir la naranja, por la basura que genera, además de que contiene algunas semillas. Ante la opción de recurrir a un jugo industrializado, listo para tomar y a un precio accesible, el consumo de la naranja valencia en dichos países no tiene oportunidad. No obstante la naranja valencia es una excelente fruta para la industrialización, por sus contenidos de jugo y azúcar. Mientras Brasil y Florida se han especializado en la producción para la industrialización, México produce principalmente para el consumo en fresco de su mercado nacional, y en menor cantidad, para la industrialización.

El aceite esencial extraído del limón es el principal subproducto de la elaboración de jugo concentrado. Se trata de un producto volátil obtenido del epicarpio fresco del fruto (*Citrus limon*, Burmann), por expresión o raspado. Es un líquido de color amarillo pálido a verde amarillento; posee un aroma fresco que recuerda a la cáscara madura del fruto. Su densidad relativa a 20/20°C es de 0,850 a 0,859. Es volátil, soluble en alcohol o éter y poco soluble en agua. El principal constituyente químico es el limoneno, que representa algo más del 60% del total.

La industria de bebidas sin alcohol es la principal consumidora de este aceite, que lo emplea como saborizante en las bebidas carbonatadas, aguas de soda y jugos. La demanda restante corresponde a las industrias de cosméticos y perfumería que lo usan como aromatizante. También es utilizado en tratamientos de aromaterapia y se le atribuyen diversas propiedades terapéuticas.

En el aprovechamiento industrial, existe una diferencia esencial con respecto a otros cítricos. Deben separarse el jugo, la corteza y el aceite esencial de la manera más perfecta posible, excluyendo la trituración total de los frutos, y la obtención de pasta mediante prensado. Por esta razón, se han diseñado extractores especiales, que permiten el tratamiento individual de cada fruto. Independientemente del sistema de extracción, se obtienen tres productos intermedios: jugo – pulpa (45-58%), corteza o cáscara (45-55%) y aceite esencial (0,2-0,5%).

Los aceites esenciales se encuentran en la corteza. Antes del procesamiento de la materia prima, la tecnología seguida en el mundo es prácticamente similar: los frutos frescos, sanos e intactos se almacenan en silos en la planta procesadora. Luego se procede a su lavado y clasificación por tamaño.

En el mundo, el aceite esencial de limón ocupa el segundo lugar luego de la naranja dulce. Entre los mayores productores se encuentran Argentina, Estados Unidos e Italia; otros productores de menor importancia son Brasil, Costa de Marfil, Grecia, España, Israel, Australia, Perú, Guinea, Indonesia, Venezuela y Chile. En nuestro país las zonas productoras son: Tucumán, Corrientes, Entre Ríos, Misiones y Salta. (Bruzzone, 2014)

La mayor producción de aceite esencial de limón se realiza por prensado en frío; de menor calidad y más económicos, son los destilados de aceites esenciales usados para la producción de aceites libres de terpenos. Una pequeña parte de aceite de jugo de limón es producido durante la concentración del jugo.

Existen diferencias que responden al terreno, clima y métodos de producción. En el limón, el tenor de aceite se incrementa con la maduración del mismo y decrece justo después de los períodos de lluvia. Los frutos blandos generalmente dan menores rendimientos que los firmes, esto es debido a que en los blandos, la ruptura de los sacos contenedores de aceite es ineficiente.

Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden tener la siguiente naturaleza química: Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos) (Ceruti 2004)

## **Antecedentes**

En los procesos agroindustriales es inevitable la generación de subproductos que lamentablemente no son utilizados o reciclados apropiadamente convirtiéndose en un grave problema de contaminación, especialmente si estos desechos son vertidos en rellenos sanitarios donde provocan la proliferación de insectos o incinerados produciendo grandes cantidades de CO<sub>2</sub>. Barragán Huerta *et. al.* en su estudio para el aprovechamiento de residuos agroindustriales en el 2008, concluye que la biotecnología es parte primordial para convertir los residuos en productos de interés comercial mediante procesos de extracción directos, siendo la principal razón la búsqueda de materias primas a bajo coste y de fácil adquisición.

De acuerdo a las investigaciones de Saval *et. al.* en el 2012, existen varias instituciones que en México están realizando trabajos relacionados con la producción de bioenergéticos, con énfasis en el aprovechamiento de residuos agroindustriales, entre los cuales se puede mencionar centros de investigación pertenecientes al IPN, UNAM; CONACYT y algunas Universidades Autónomas. Dentro de las aplicaciones que se pueden mencionar son la producción de biocombustibles, bioetanol, composta, sustratos para la fermentación de metabolitos de interés entre otras cosas.

Por otra parte, los desechos producidos por la agroindustria de cítricos en los últimos años ha mostrado un aumento significativo, sin embargo estos residuos tienen la potencialidad como material de partida para la elaboración de productos comerciales con alto valor agregado como: aceites esenciales (AE), aceites fijos y fibras entre otros (Navarrete *et. al.* 2010) Los AE tienen una importante demanda en la industria de alimentos, farmacéutica y de cosméticos. Navarrete describe la extracción y caracterización del AE de mandarina obtenido, mediante arrastre con vapor, a partir de desechos agroindustriales donde se evaluó el efecto de la presión de vapor, el espesor y el número de capas del material vegetal, sobre el rendimiento y calidad del AE.

## **Metodología Experimental**

Para llevar a cabo la obtención de aceite de la cascara de productos cítricos por medio del prensado fue necesario establecer un procedimiento que permitiera la optimización tanto el equipo utilizado como del producto final, con el objetivo de que el proceso sea el más sencillo posible y fácil de llevar a cabo para su futura implementación en la fabricación de materia prima para elaboración de productos con potencial de comercialización.

### **Preparación de la materia prima:**

Para este proceso se utiliza la cascara de los cítricos que ha sido eliminada en la elaboración de jugos, no debe conservarse por más de 24 horas desde que se desechó para evitar su descomposición. Es necesario que se encuentre limpia para lo cual se da un lavado con agua corriente y posteriormente se retira el exceso de agua. Se coloca en el horno durante una hora a 70 °C ± 5°C con la finalidad de eliminar el exceso de humedad de la cascara. Se corta en trozos pequeños para facilitar su manejo durante el prensado, no es necesario un tamaño específico ni homogéneo.

### **Obtención del aceite:**

Se utiliza una prensa para semillas casera de fabricación nacional. Elaborada en acero inoxidable y con un tornillo de 3 cm de diámetro, 20 cm de largo.

Se coloca el material previamente preparado en la parte superior de la presa y se procede a la extracción, en la parte inferior se observa el aceite extraído mezclado con agua y restos de la materia orgánica de la cascara de la fruta utilizada, y en la parte frontal se observa la fibra de la cascara. Toda esta operación se realiza a temperatura ambiente

Como el aceite obtenido es una mezcla, es necesario realizar la separación por medio de filtración vacío para separar la materia orgánica que arrastra como residuo de la cascara, se utiliza un embudo Buchner con papel filtro de poro grueso, se efectúa un lavado con 25 ml de agua destilada. Como el aceite y el agua no se separan fácilmente a temperatura ambiente la mezcla de se coloca en un embudo de separación y se enfría por 24 horas a 4°C, posteriormente se coloca el aceite ya separado en un frasco color ámbar con tapa y se refrigera para su preservación.

### **Conclusiones**

Este proceso se encuentra aun en etapa experimental, sin embargo se pueden enumerar diferentes ventajas y desventajas con otros procedimientos:

No se contamina el aceite con productos químicos tales como alcohol, benceno y otros solventes al realizar el proceso de extracción. Además de que es un procedimiento de relativa facilidad y bajo costo.

El proceso de prensado se efectúa con residuos de cascara de cítricos frescos, por lo cual se limita a frutas de temporada. Durante la extracción existe un desgaste por fricción del tornillo principal de la prensa.

### **Referencias**

1. AMSDA, Asociación Mexicana de Secretarios de Desarrollo Agropecuario, Plan Rector del Sistema Producto Cítricos del Estado de San Luis Potosí, 2014.
2. Barragán Huerta Blanca, Téllez Díaz Yolotli, Laguna Trinidad, Adriana. Utilización de residuos agroindustriales. Revista Sistemas Ambientales, vol. 2 numero 1, 2008 p.p. 44-50
3. Bruzone Iván. Aceite Esencial de Limón. Cadenas Alimentarias p.p. 37-39, 2014
4. Ceruti Mariano, Neumayer Fernando. Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. INVENIO 2004 p.p 149-155
5. COVECA, Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria, *Monografía de la naranja*, 2014
6. Navarrete Carolin, Gil Jesús, Durango Diego, García Carlos. Extracción y caracterización del aceite esencial de mandarina obtenido de residuos agroindustriales. Dyna vol. 77 numero 162 p.p. 85-92, 2010
7. Reátegui Díaz, Limber, Tesis: Hidroextracción y fraccionamiento del aceite esencial de cáscara de naranja, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, 2005.
8. SAGARPA-CONACYT, Procedimientos para la Extracción de Aceites Esenciales dn Plantas Aromáticas, 2012.
9. SAGARPA, *Producción de Naranja en México*, 2007.
10. Saval, Susana. Aprovechamiento de residuos agroindustriales, pasado, presente y futuro. Biotecnología vol. 16 numero 2, 2012 p.p. 14-46



## Determinación cromatográfica (HPLC) de cumarinas con actividad antioxidante

Raquel Nava Álvarez<sup>a</sup>, Minerva Juárez Juárez<sup>a</sup>, Pedro Miranda Reyes <sup>a</sup> y Marbella Morales Jaimes<sup>b</sup>,

<sup>a</sup> Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN. [rnavaa@ipn.mx](mailto:rnavaa@ipn.mx), [mjuarezj@ipn.mx](mailto:mjuarezj@ipn.mx), [pmirandar@ipn.mx](mailto:pmirandar@ipn.mx), <sup>a</sup>Alumna BEIFI [morjaim@hotmail.com](mailto:morjaim@hotmail.com)

### RESUMEN

Las enfermedades crónicas degenerativas, las enfermedades cardíacas y otros padecimientos como la diabetes, cáncer e incluso enfermedades tumorales, han sido la causa de que en los últimos años, se haya incrementado la tasa de mortalidad en México, las causas de estas enfermedades se relacionan con la producción de varios compuestos oxidantes y radicales libres que resultan del metabolismo de ciertos compuestos en el cuerpo humano, así pues, durante las últimas décadas las industrias farmacéuticas han puesto un creciente interés por la producción de sustancias antioxidantes.

Los compuestos derivados de la acetocumarinas que han sido sintetizados en trabajos anteriores mostraron tener una actividad antioxidante significativa en comparación con el 5-asa y el resveratrol, que son compuestos utilizados mayoritariamente en la industria farmacéutica como antioxidantes (Portocarrero, 2013).

Estos compuestos han presentado tener cierta actividad antioxidante y para llevar a cabo la cuantificación de estos, es necesario contar con métodos analíticos que permitan determinar su concentración; para ello se utilizaron las propiedades intrínsecas de la molécula en estudio (polaridad, solubilidad).

En el presente trabajo se utilizó un cromatógrafo de líquidos marca VARIAN 9010, una columna de fase reversa, empleando como fase móvil metanol/agua en una proporción 80:20 y un detector UV-VIS. Las muestras se analizan por triplicado en el cromatógrafo y con la finalidad de determinar la sensibilidad y la linealidad del método para este compuesto se construyen las curvas tipo.

### 1. INTRODUCCIÓN.

En la naturaleza existen metabolitos que cuentan con la propiedad antioxidante como las cumarinas que son metabolitos típicos de plantas superiores y de algunos microorganismos, son lactonas insaturadas poseen un sustituyente oxigenado en posición 7, ya sea hidroxilado como sucede en la umbelifrona (Portocarrero, 2013).

La investigación de las cumarinas como posibles antioxidantes no fue estudiada hasta finales del siglo XX, al observar que la tasa de enfermedades crónicas degenerativas causadas por el impacto de las cumarinas se comenzaba a incrementar considerablemente, sin embargo, en los últimos 5 años, las investigaciones de las cumarinas como posibles antioxidantes es un tema prácticamente poco común, aunque las cumarinas son una de las familias de compuestos más investigadas, se le han atribuido propiedades como antibióticos de amplio espectro, anticancerígenos, entre otras; pero no como antioxidantes. Cabe señalar, que las cumarinas ya han sido utilizadas para obtener compuestos polifenólicos que tienen una alta actividad antioxidante (Portocarrero, 2013).

Un antioxidante es una molécula existente en determinados alimentos, plantas e incluso fármacos cuya principal función es proteger al organismo frente a los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y de algunas otras enfermedades crónicas (Leoney, 2009).

Los antioxidantes como se ha mencionado con anterioridad, son utilizados para inhibir a ciertos radicales libres, los antioxidantes generalmente tienen la propiedad química de ceder un electrón para estabilizar a los radicales libres, los grupos fenólicos, tienden a deslocalizar su sistema aromático por medio de estructuras de resonancia, siendo capaces de donar un electrón para estabilizar los radicales libres y de ésta forma evitar el aumento del estrés oxidativo.

Para llevar a cabo un análisis cualitativo y cuantitativo de estos antioxidantes, es necesario contar con métodos analíticos capaces de detectar bajas concentraciones del analito a analizar, para ello se emplea la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), la cual es una técnica capaz de detectar concentraciones del orden de ppm; en general esta técnica se basa en la separación, identificación y determinación de los componentes químicos de mezclas complejas.

El uso de sistemas cromatográficos ha sido de gran interés, tanto en la industria como en el área de investigación, debido a su alta eficacia a la hora de reproducir datos. Sin embargo se necesita validar estos métodos para cumplir con las normas establecidas y así asegurar la fiabilidad de estos métodos establecidos, ya que la validación no es únicamente un recurso gubernamental, sino que es un aspecto vital en cualquier laboratorio analítico (Skoog, 2000).

En este trabajo se llevó a cabo:

- La determinación de la solubilidad de los compuestos a analizar mediante HPLC
- La obtención del espectro de absorción (UV) de la molécula en estudio
- La identificación y cuantificación de los derivados cumarínicos análogos al resveratrol por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Se empleó un espectrofotómetro lambda 25 para la determinación del espectro de absorción y la longitud de onda máxima a la que se analizarán las muestras en el estudio cromatográfico, así mismo, se determinó la máxima concentración a la que se llevarán a cabo los análisis por cromatografía de líquidos.

Como se puede observar en la tabla 1, la solubilidad es un factor importante para la caracterización de nuevas moléculas y en específico para la cuantificación mediante diversos métodos analíticos. Por lo que, en este trabajo se llevó a cabo un estudio de solubilidad y para ello se utilizaron diferentes proporciones metanol-agua (tabla 1) a las cuales se le agregaron 5 mg de cada molécula en estudio y se aforaron a 5 mL (1mg/mL) se agitan los tubos y se observa si existe o no solubilidad total o parcial.

Para el análisis cromatográfico el equipo utilizado fue un HPLC Varian 9010 con un detector de UV-Vis; columna C-18 fase reversa de 25cm de longitud, 4.6 mm de diam, 5 micras de tamaño de partícula; la separación cromatográfica fue realizada a temperatura ambiente. La elución empleada fue del tipo isocrática, con un caudal para la molécula A de un 1.0 mL/min empleando diferentes fases móviles en proporciones de 70:30, 80:20, 90:10 metanol/agua respectivamente, con la finalidad de encontrar la mejor proporción de fase móvil para llevar a cabo el análisis cromatográfico.

Tabla 1. Estudio de solubilidad

Mezcla disolventes	Solubilidad molécula A
50:50	Soluble
60:40	Soluble
70:30	Soluble
80:20	Soluble
90:10	Poco soluble
100% metanol	Muy soluble
100% agua	Insoluble
pH	4

Longitud de onda max (UV)	300 nm
---------------------------	--------

A partir de una concentración de 1mg/mL se prepararon diluciones hasta obtener concentraciones de: 0.001, 0.0015, 0.0020, 0.0025, 0.0030, 0.01, 0.015, 0.020, 0.025, 0.030 mg/mL empleando como fase móvil metanol/agua en una proporción 80:20, ya que el estudio de solubilidad arroja que dicha mezcla de disolventes es la adecuada para el análisis de las cumarinas en estudio; las soluciones preparadas anteriormente se filtran mediante membranas de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  y se inyectan al cromatografo (50  $\mu\text{L}$ ) y se emplea una longitud de onda 300 nm, obteniéndose un tiempo de elución de 5 minutos. En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos del análisis cromatográfico para la molécula A y en la figura 1, se presenta la curva estándar de dicha molécula.

Tabla 2. Concentraciones inyectadas en el HPLC de la molécula A

Concentración (mg/mL)	Área bajo la curva
0.005	16.0835
0.007	30.278
0.01	39.878
0.013	58.051
0.015	60.912
0.017	63.934
0.02	86.4295

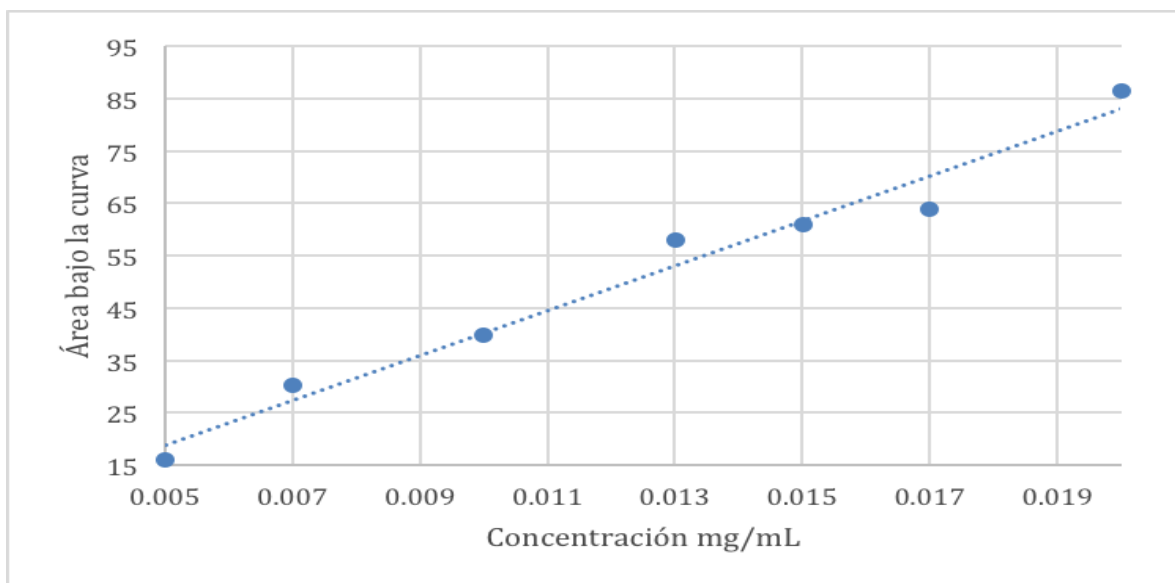


Figura 1. Curva tipo de la molécula A. Área Bajo la curva =  $4301.2 [\text{mg/mL}] + 2.6623$   $R^2 = 0.9725$  (n= 21)

#### 4. CONCLUSIONES

La solubilidad es un factor determinante para el análisis cromatográfico, ya que es necesario para realizar dicho estudio, la mejor mezcla de disolventes que se obtuvo fue de metanol:agua 80:20. La cromatografía es un buen método que permite identificar y cuantificar a las moléculas en estudio.

Una vez obtenida la ecuación lineal se llevara a cabo la cuantificación de la molécula en estudio y servirá para validar el método analítico

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Portocarrero, H. L. (2013). Síntesis, caracterización y evaluación de compuestos antioxidantes derivados de 3-Acetamidocumarinas 6- Sustituidas por hidrólisis ácida e irradiación de microondas.
2. Leoney, K., Sharma P. (2009). The Molecular comparison between a free radical and an antioxidant compound, *Med. Chem.*, 117-119.
3. Skoog D. A, West D.M, Holler F.J, Crouch S.R. (2000). *Fundamentos de Química Analítica*. 8a edición, pag 931-953.

## EL MACHO HÁMSTER SIRIO DORADO PREFERE PARA EL APAREAMIENTO A HEMBRAS JÓVENES

<sup>a</sup>Gutiérrez Ambriz Ariadna, <sup>b</sup>Flores Guillén Nancy, <sup>c</sup>Contreras Montiel José Luis, <sup>c</sup>Navarro Maldonado María del Carmen, <sup>c</sup>Alfredo Trejo Córdoba, <sup>c</sup>Ambriz García Demetrio

<sup>a</sup>Licenciatura en Medicina Veterinaria UAMX. arimvz@hotmail.com

<sup>b</sup>Maestría en Biología de la Reproducción Animal UAMI. g\_n\_nancy@hotmail.com

<sup>c</sup>Departamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. jlcm@xanum.uam.mx, dbr@xanum.uam.mx, atrejo109@hotmail.com  
deme@xanum.uam.mx

**RESUMEN.** El hámster vive aislado la mayor parte del tiempo, solo acompañado para la cópula y amamantamiento. Su ciclo estral dura 4 días con receptividad sexual por la tarde del proestro, sin embargo la secreción vaginal post ovulatoria, que es abundante, visible y altamente aromática (con feromonas) se libera durante y después del estro como señal de atracción para el macho. Las hembras adultas (>7 meses) tienen diferencias corporales y fisiológicas con las hembras jóvenes, para el apareamiento se recomienda que los hámsteres permanezcan juntos toda la noche, sin embargo para programar de manera precisa el desarrollo de los embriones, los apareamientos son restringidos a 15 minutos durante el proestro. El objetivo del presente trabajo fue comparar la receptividad sexual de hembras hámster nulíparas jóvenes y adultas, durante las etapas de proestro tardío y estro, expuestas por vez primera a machos expertos. Los animales permanecieron en condiciones de bioterio estándar. Las hembras nulíparas jóvenes (J) de 2 meses de edad y 140 gr de peso promedio y las adultas (A) de 8 meses y 180 gr. Se colocaron en el proestro (J y A) o en estro con secreción (JS Y AS) en presencia de machos expertos durante 15 minutos. Se registró el tiempo de latencia (inicio de la atención del macho hacia la hembra y la ocurrencia de lordosis). El tiempo de latencia fue mayor para las A y JS que para las J y AS (12, 23 vs 7 y 9seg, respectivamente  $p < 0.05$ ), y además la lordosis fue 3 veces mayor en las JS que en las AS (30 vs 10%  $p < 0.01$ ) en tanto fue mínima en las J y A (<5%). Se concluye que la presencia de secreción (estro) es estimulante para el macho, preferentemente aquella procedente de hembras jóvenes.

**1. INTRODUCCIÓN.** El hámster es un animal originario de Asia, donde aún se encuentran poblaciones silvestres. Vive aislado la mayor parte del tiempo, solo compartiendo con otros congéneres durante el apareamiento y el amamantamiento. Su ciclo estral dura 4 días y la receptividad sexual inicia a partir de la tarde del proestro. Cabe señalar que las etapas del ciclo estral de esta especie han sido correlacionadas con la conducta de la hembra así pues durante la fases diferentes al estro, la hembra tiende a ser altamente agresiva con el macho, pudiendo incluso herirlo de muerte, en cambio durante el estro es dócil, receptiva y accede al coito. En condiciones de bioterio convencionalmente es en la tarde del proestro o estro, cuando la pareja se coloca para que ocurra el apareamiento. Sin embargo la secreción vaginal post ovulatoria, que es abundante, visible y altamente aromática se libera durante y especialmente después del estro. Es probable que esta secreción que contiene altas concentraciones de feromonas, sea la señal de atracción para permitir la proximidad del macho, quien se encuentra, en condiciones de vida libre, en constante tránsito en búsqueda de la ubicación de las hembras, para detectarlas y en su caso acudir a ellas para el apareamiento. Las hembras adultas (>7 meses) tienen una

conformación corporal distinta a las jóvenes, tienen pelo mas grueso y áspero y liberan feromonas de atracción sexual distintas a las de las hembras jóvenes. La literatura especializada relativa al apareamiento de hámster sirio dorado, recomienda colocar la hembra con el macho, cuando ésta se encuentre en la tarde el proestro (proestro tardío), y que permanezcan durante toda la noche (“overnight”) para asegurar la ocurrencia del apareamiento y que el número total de series copulatorias y cantidad de semen depositado, sean los adecuados para lograr la fertilización y un número grande de crías que inicien y terminen su desarrollo. Sin embargo nuestro grupo de trabajo con la finalidad de programar de manera certera el desarrollo de los embriones, ha realizado apareamientos restringidos a 15 minutos en el proestro tardío, lo que permitió tener parámetros adecuados de fertilidad y prolificidad, por lo que se considera que no es indispensable el que la pareja permanezca junta toda la noche. Por lo que es claro que las hembras jóvenes presentan una mayor receptividad al macho que las adultas, cuando estas últimas no han tenido experiencia sexual previa, es decir que han permanecido durante algunos meses (6 a 8) sin actividad sexual. En el presente trabajo presentamos a los machos hámster sexualmente expertos, hembras jóvenes y adultas, sin experiencia sexual previa, con el objetivo de comparar la receptividad sexual de las hembras, durante las etapas de proestro tardío y estro.

**2. MATERIAL Y MÉTODOS.** Los animales permanecieron en condiciones de bioterio con fotoperiodo de 10hrs de oscuridad y 14hrs de Luz, con disponibilidad de alimento (Nutricubos Harlan) y agua *ad libitum*, con temperatura promedio de 23°C, humedad relativa de 60%. Las hembras nulíparas jóvenes tuvieron 140g de peso promedio y de 2 meses de edad. Las adultas con peso de 180gr de peso promedio y de 7 meses de edad. Todas ellas mostraron ciclos estrales regulares a través la revisión de la secreción vaginal postovulatoria. Los machos utilizados presentaron experiencia sexual previa, y tuvieron un peso promedio de 130g y 7 meses de edad.

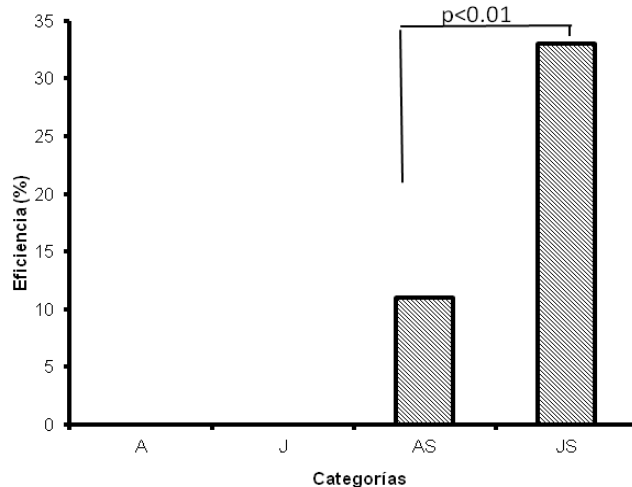
Se formaron cuatro grupos de hembras considerando la presencia o ausencia de la secreción vaginal 1) Adultas sin secreción (proestro tardío), 2) Jóvenes sin secreción (proestro tardío) 3) Adultas con secreción (estro) y 4) Jóvenes con secreción (estro)

Los machos permanecieron en sus cajas de acrílico y las hembras (3 de cada grupo, 12 en total) fueron colocadas individualmente, en su presencia y observadas durante 5 minutos, al cabo de los cuales se hizo un cambio de la hembra correspondiente. Se registró el tiempo de latencia (tiempo desde la introducción de la hembra a la caja del macho y hasta que el éste mostrara interés por la hembra. Se registró además la presencia o ausencia de lordosis (arqueamiento del dorso de la hembra en estímulo del macho y que la prepara para la cópula). No se permitió la consumación de la cópula siendo retiradas las hembras en cuanto presentaron lordosis o en su caso cuando transcurrieron los 5 min de la prueba.

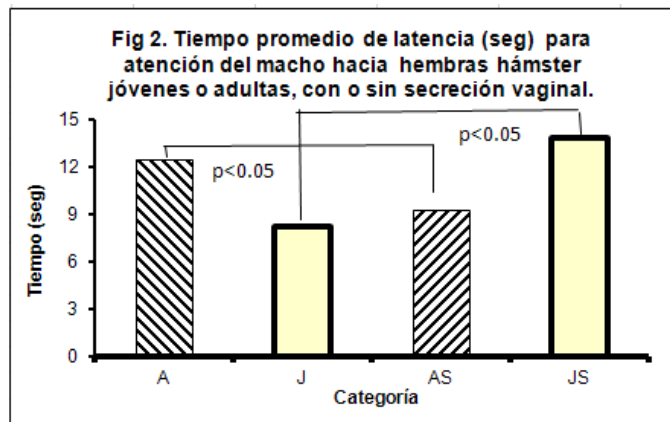
**3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN** Las hembras adultas como las jóvenes, utilizadas en este experimento fueron hembras que no habían tenido contacto previo con algún macho. Se observó que las hembras del grupo A, tuvieron más confianza para la presencia del macho, mostrándose en actitud de búsqueda y tranquilidad, en tanto que las hembras J, querían salir bruscamente de la caja del macho. Por su parte, el macho perdió pronto el interés con las hembras A y J en comparación con las AS y JS, debido a que estas impregnaron la pared de la caja o la cama con la secreción vaginal post ovulatoria, ante lo cual el macho se detenía a olfatearlo e incluso a lamerlo, distrayéndolo de la atracción directa hacia la hembra, durante el tiempo de observación. Se apreció también en estos casos, que los machos sostuvieron excretas frescas de las hembras en el hocico. Es probable que esta actitud del macho le permita percibir más profundamente feromonas de

las hembras para detección de su condición hormonal y por ende de la etapa del ciclo estral, actividad que también lo distrajo de la central. Esto concuerda con lo reportado por Martínez *et al.*, en 2013 quienes han descrito que las hembras hámster sirio dorado participan en una serie de comportamientos precopulatorios incluyendo entre éstos, el marcado vaginal, precisando que este hecho juega un papel importante en la atracción del compañero, incluso aclaran, que las hembras depositan estas marcas para dirigir al macho a la zona de nidificación. Además, en el presente estudio se observó que las hembras AS y JS tendían a buscar y estimular al macho para la interacción sexual. La lordosis solo fue mostrada en las hembras con secreción, y de éstas, fue mayor (3 veces a 1) en las jóvenes, lo que refuerza la preferencia del macho por hembras de esa edad y condición reproductiva.

**Fig 1. Porcentaje de lordosis en hembras hámster sirio dorado Jóvenes y Adultas, con o sin secreción vaginal.**



Con relación al tiempo de latencia, o tiempo transcurrido desde la introducción de la hembra a la caja del macho, el tiempo fue menor, es decir mayor predilección, por las hembras jóvenes sin secreción, seguidas de las adultas con secreción con respecto a los otros grupos ( $p < 0.05$ , Fig. 2). El tiempo de latencia menor para las hembras J, evidencia que las feromonas de las hembras jóvenes resultan ser más atractivas para los machos en comparación con las hembras del grupo A, ya que estas últimas, por la edad, resultan ser menos atractivas. Si bien las secreciones vaginales son el punto principal que ocasiona la llamada de cortejo del macho, es importante considerar que estas marcas vaginales depositadas por las hembras hámster estimulan el comportamiento de apareamiento posterior (Fibra *et al.*, 1993). En vida libre esta atracción de feromonas es suficiente para atraer al macho en distancias cortas (Johnston *et al.*, 1984). El grupo de las hembras JS que mostraron tener un tiempo mayor de latencia, pudiera ser debido al nerviosismo que mostraron ante la presencia novedosa del macho, esto explica que durante el presente experimento quisieron salir precipitadamente de la caja cuando se colocaron junto con el macho para su apareamiento.



**4. CONCLUSIÓN.** El índice de lordosis fue tres veces mayor en las hembras jóvenes que en las adultas, en tanto que el tiempo de latencia fue también mejor para las hembras jóvenes, evidenciando la preferencia del macho por este grupo de hembras. La secreción vaginal postovulatoria de estas hembras, fue un distractor inicial para el macho.

#### **5. BIBLIOGRAFÍA.**

1. Doty, R. L., 1986, Odor guided behavior in mammals, 42 (3): 257-71
2. Fibra, J.M., Adames, P. y Swann J. M., 1993, Pheromones induce c-fos in limbic areas hamster behavior regulate male mating. Neuro report. (7): 871-4.
3. Maras, P. M y Petrulis, A., 2008, Olfactory experience and preference odor development and marked vaginal female Syrian hamsters, Physiol Behav 94 (4): 545-51.
4. Martínez, L., y Petrulis, A., 2013, The medial preoptic area is necessary for sexual odor preference, but not sexual solicitation, in female Syrian hamsters, Hormones and Behavior (63) 606- 614.
5. Johnston, R. E y Kwan, M., 1984, Vaginal odor marks: effects on ultrasonic vocation and the attraction of male golden hamsters. Behav. Neural Biol. 42 (2): 158-68.



## CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA EN HÁMSTER SIRIO DORADO CON ENRIQUECIMIENTO AMBIENTE

Julia Estrella González García<sup>a</sup>, Nancy Flores Guillén<sup>b</sup>, José Luis Contreras Montiel<sup>c</sup>, Arturo Salame Méndez<sup>c</sup>, María del Carmen Navarro Maldonado<sup>c</sup>, Alfredo Trejo Córdova<sup>c</sup>, Demetrio Ambriz García<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Lic en Biología, juliaegog@hotmail.com

<sup>b</sup>Maestría en Biología de la Reproducción Animal. g\_n\_nancy@hotmail.com

<sup>c</sup>Departamento de Biología de la Reproducción Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, jlcm@xanum.uam.mx, asam@xanum.uam.mx, dbr@xanum.aum.mx, atrejo109@hotmail.com, deme@xanum.uam.mx

**RESUMEN.** Las condiciones de bioterio satisfacen sustancialmente las necesidades de los animales. Existe la tendencia para que dichas condiciones mejoren y proporcionen mayor bienestar. Con la finalidad de conocer el efecto del enriquecimiento ambiente sobre la concentración espermática en el hámster Sirio dorado, se realizó el presente trabajo. Se utilizaron 18 machos adultos divididos en tres grupos, uno de ellos permaneció en el bioterio (Gpo. B) en condiciones estándar. Otros dos grupos permanecieron en ambiente natural fuera del bioterio, con el doble de superficie que el gpo B, además, se les proporcionó cama de paja de avena con grano y un carrusel para ejercicio. Uno de estos grupos recibió alimentación en pellet (Gpo. P) y el último grupo pellet+semillas (Gpo. P-S). Al inicio y al final del experiment, se registraron los pesos de los animales. Se sacrificaron y obtuvieron testículos, epidídimos, glándulas suprarrenales y se pesaron. Se obtuvieron los espermatozoides de cola de epidídimo, se contaron en hemocitómetro. Se encontró que los Gpos P y P-S disminuyeron un 20% del peso corporal ( $P < 0.05$ ); en tanto que el Gpo B aumentó un 5%. No hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre grupos con respecto al peso de las glándulas suprarrenales. La cuenta espermática en cola de epidídimo no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre grupos. El índice gonadal (relación entre peso corporal y peso de testículos) tendió a ser menor para el Gpo P-S en comparación con el Gpo B y P, sin alcanzar diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). En los Gpos de enriquecimiento ambiente (P y P-S), fueron frecuentes los episodios de agresión y competencia por los recursos. Se concluye que, el ofrecer recursos para enriquecer el ambiente puede ser ocasión de competencia con presencia de agresión y baja de peso, pero sin ocasionar un efecto negativo en la concentración espermática.

**1. INTRODUCCION.** El Bienestar Animal es un área del conocimiento de vanguardia, preocupada por las condiciones en que los animales son mantenidos, en especial para que dichas condiciones permitan la expresión de conductas saludables. Para ello, se conmina a los responsables de los animales a proveerlos de lo necesario para su correcta alimentación y alojamiento, enfatizando la presencia de espacios y objetos idóneos para el entretenimiento y despliegue conductual que denote una situación plena de confort (Arca 2004). Sin embargo, dichas condiciones de mantenimiento no son brindadas con la calidad requerida en diferentes especies animales, debido a numerosas causas, entre las cuales figuran, convencionalismos, manejo, economía, aspectos sanitarios, espacio requerido, desconocimiento y hasta negligencia (Gil, 2005). Los bioterios, donde se mantienen animales para experimentación, hacen esfuerzos por proveer las mejores condiciones para el bienestar, procurando alimento balanceado en nutrientes y acorde a la especie, edad y sexo, agua potable limpia y fresca, cama confortable, inocua y libre de gérmenes, en un ambiente con temperatura, humedad, fotoperiodo y ventilación estable (Broom, 2004). También es claro que, falta la consideración de otros aspectos puntuales que deben ser brindados tales como aquellos que faciliten la interacción social o, en su caso, el aislamiento voluntario, la incorporación de objetos para la realización de otras actividades, micro ambientes de esparcimiento y seguridad, e incluso, por que no, variedad en la dieta (Galindo 2004). Por su parte, el enriquecimiento ambiente es una temática que ha venido a reforzar el bienestar animal, donde se analizan aspectos

ambientales de espacio y ocupación, donde se elaboran estrategias para facilitar el despliegue de otras conductas propias del animal, así como la inversión de presupuestos de tiempo y energía en la obtención de los recursos vitales y, los destinados para una sana ocupación. Se sabe que dicho enriquecimiento ambiente provee mejoras en la salud del animal y que, la mayor parte de las veces, repercute en beneficio de su desarrollo y el de sus descendientes, incluidos, desde luego, aspectos de la calidad reproductiva (Sepherdson, 1998). En el presente trabajo se evaluó el efecto del enriquecimiento del ambiente sobre la condición corporal y la calidad espermática en hámster sirio dorado.

**2.- PARTE EXPERIMENTAL Grupo Bioterio (B).** Se utilizaron 6 animales con peso promedio de 114gr, mantenidos en cajas de acrílico de 24cm de ancho, 39cm de largo y 20cm de altura, con una superficie por individuo de 156cm<sup>2</sup>. Alimentados con agua y nutricubos (Harlan) *ad libitum*, colocados en la parte superior de la tapa. La cama (5cm de espesor) de viruta libre de gérmenes se cambió dos veces por semana. La temperatura ambiente promedio fue de 23°C, con un fotoperiodo de 14 horas de luz (4am-6pm) por 10 horas de oscuridad y humedad relativa de 60%.

**Enriquecimiento ambiente.** Se formaron dos grupos de 6 animales cada uno, mantenidos en redondeles de acrílico de 50cm de diámetro y 40cm de altura, con una superficie por animal de 327 cm<sup>2</sup> con cama de paja de avena con grano (10cm de espesor). Los redondeles se cubrieron con una tapa de malla. Se les proporcionaron condiciones naturales de fotoperiodo de 13 horas luz (7am-8pm), temperatura (promedio 23°C con una mínima de 8°C y máxima de 32°C) y humedad de 65%. Se colocó en el interior de cada redondel un carrusel para ejercitar. El agua fue limpia y fresca colocada en un depósito en el piso del redondel. El alimento se dispuso en un comedero en el piso. A uno de los grupos se le proporcionó nutricubos Harlan 4gr/día por animal (Grupo Pellet o P, peso promedio 148gr) y al otro grupo nutricubos, 2gr/día por animal y semillas de girasol, avena y alpiste, 2gr/día/animal (Grupo Pellet-Semilla o P-S, peso promedio 165.8 gr). Todos los animales se pesaron cada semana (báscula Ohaus).

**Sacrificio.** A las dos semanas de las condiciones anteriormente descritas, los animales fueron pesados y sacrificados por medio de dislocación cervical.

**Obtención de órganos.** Se recuperaron las glándulas suprarrenales, se liberaron de la grasa adyacente y se pesaron (báscula Mettler) por separado derecha e izquierda. Se recuperaron los testículos y epidídimos. Los testículos fueron pesados y a los epidídimos se les disecó la cola, la cual se pesó y cortó finamente con tijera en una caja de cuatro pozos NUNC, agregando 0.5ml de medio HTF (Human Tubal Fluid) suplementado con 0.03% de albúmina sérica bovina (BSA). Se filtró la masa picada con malla nylon licra para retirar detritos y se recuperó el filtrado (suspensión de espermatozoides). Se evaluó: **Movilidad en masa.** Una gota de espermatozoides (5µl) se colocó en un portaobjetos atemperado y se observó a 10X. **Concentración espermática:** Se colocó 5µl de la suspensión de espermatozoides y 1000µl de agua destilada en un tubo Ependorff (dilución 1:200). Se pasó por vortex durante un minuto y se colocaron 5µl de la dilución en cada una de las dos cámaras Neubauer para el conteo (cinco cuadrantes de los 25 disponibles). Se promedió lo obtenido y se multiplicó por 10, para obtener el número en millones de espermatozoides por ml.

**Análisis estadísticos.** Se analizaron las variables a través de la prueba t de Student y Anova, seguida de Kruskal Wallis con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

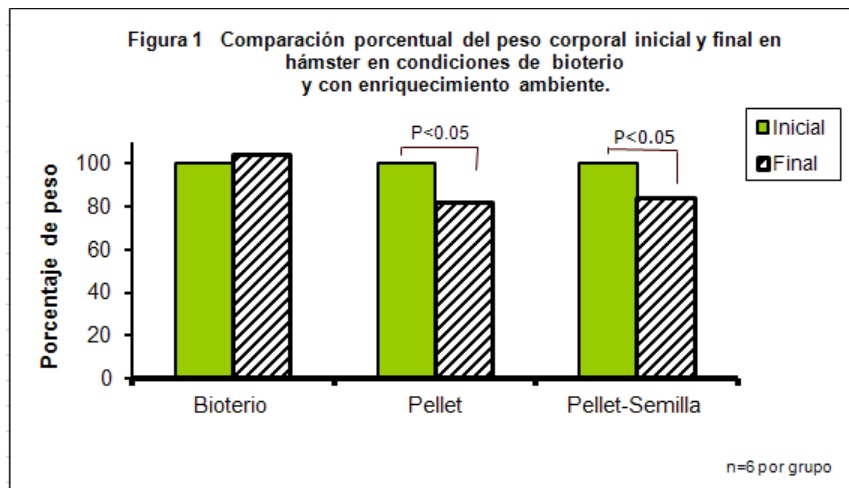
**3. RESULTADOS** Los primeros días del experimento, los grupos con enriquecimiento ambiente se adaptaron fácilmente a las condiciones ofrecidas. En la cama de paja de avena construyeron túneles por los cuales podían esconderse y resguardarse. Por las tardes y noches utilizaron el carrusel. Se observó además que empezaron a crear preferencias por sitios dentro del redondel con lo que apareció lucha por espacios. En los animales que permanecieron en el bioterio no se denotó preferencia por espacio dada la monotonía del mismo y en el periodo de mayor actividad (después de las 6pm) treparon por la tapa de la caja incesantemente, o rascaron con insistencia las paredes de acrílico y en ocasiones dieron brincos procurando alcanzar la tapa.

Los nutricubos en los grupos de ambiente enriquecido fueron acaparados, escondidos y protegidos por algunos individuos, iniciando una lucha por este recurso, especialmente debido a que se proporcionó en cantidad limitada a lo que previamente se había determinado como consumo diario.

Ésto, aunado a la preferencia de espacio dentro de los redondeles, ocasionó conflicto constante llegando a mostrar episodios de agresividad, que fueron exacerbados en el grupo Pellet (P), culminando con la agresión y muerte de uno de los individuos y lesiones a otros dos. En el grupo de Pellet-Semillas (P-S) también hubo indicios de agresión pero en menor grado. En el grupo Bioterio (B), no se encontró manifestación alguna de agresión a pesar del menor espacio por individuo disponible (156 vs 327cm<sup>2</sup>). Esto probablemente debido a la mayor disposición de alimento, agua, monotonía del ambiente y a una conducta permanente de aletargamiento e indiferencia sin presencia de jerarquización ni rivalización.

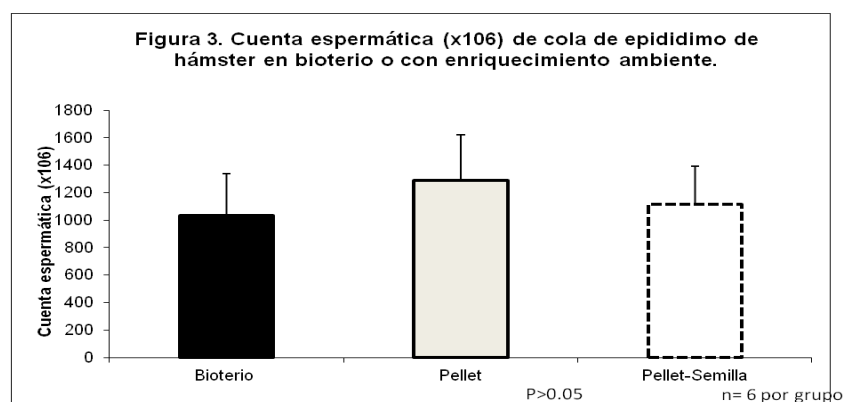
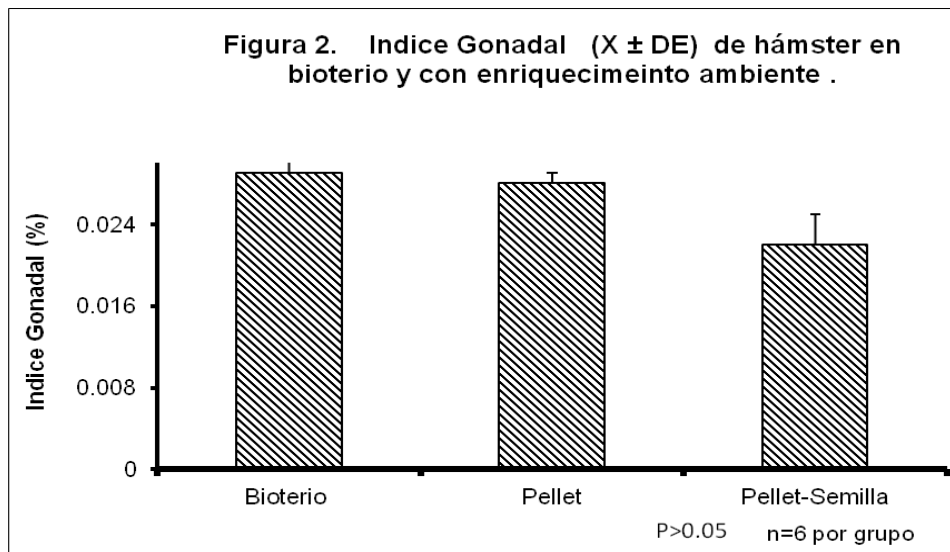
Con respecto al peso corporal, el grupo B mantuvo su peso durante los 15 días del experimento, en tanto que los animales de ambiente enriquecido (P y P-S) disminuyeron en un 20% su peso corporal en el periodo señalado (Figura 1,  $p < 0.05$ ). Es posible que para ello haya influido la mayor jerarquización en los grupos de ambiente enriquecido con respecto al grupo Bioterio, sin embargo, esto no se reflejó en el peso de las glándulas adrenales ( $p > 0.05$ ) donde los tres grupos mostraron valores muy cercanos ( $\pm 0.03$ gr), lo cual correspondió al 0.00024 del peso corporal. Cabe mencionar que, en la cama de los grupos Pellet y Pellet-Semilla, existieron depósitos de alimento que probablemente se encontraban bajo el resguardo de alguno de los individuos. Por otro lado, el índice gonadal refleja el tamaño y probable funcionalidad testicular en relación al peso del individuo. En el presente trabajo dicho índice gonadal fue similar entre el grupo Bioterio y el de Pellet (0.29 y 0.28 respectivamente) y estos fueron mayores al los del grupo de Pellet-Semillas (0.022, Figura 2) aunque no alcanzó significancia ( $p > 0.05$ ). Por su parte Bittman y Zucker en 1981 reportaron que el peso promedio de testículo de los hámster estudiados fue de 1.2 a 1.8g, lo que coincide con lo aquí encontrado. Además, dichos autores consideran que el fotoperiodo es fundamental en el hámster, para la funcionalidad y tamaño testicular. En el presente estudio los grupos de enriquecimiento ambiente estuvieron en fotoperiodo natural en tiempo de insolación abundante (verano).

La cuenta espermática en cola de epidídimo no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre grupos aunque si una tendencia de ser mayor en el grupo de Pellet, seguido del de Pellet-Semilla y finalmente el de Bioterio (1291, 1113 y 1032x10<sup>6</sup>/ml, respectivamente, Figura 3). Estos resultados destacan que, en condiciones de ambiente enriquecido, la producción total de espermatozoides puede mejorar. El grupo de Pellet tuvo un 20% mayor de espermatozoides que el grupo de Bioterio a pesar de que, como se mostró anteriormente, el índice gonadal entre grupos fue semejante (0.29 y 0.28, respectivamente). Además, los resultados aquí mostrados son cercanos a los reportados por Chang y Sheaffer en 1957, con 887x10<sup>6</sup>/ml en cabeza y cola de epidídimo de hámster dorado.



Cabe señalar que, a pesar de que cada uno de los grupos de animales aquí utilizados estaban integrados desde el destete (21 días de edad), la competencia por los recursos disponibles fue

manifiesta en los grupos de enriquecimiento ambiente, en tanto que en condiciones de bioterio es rara la presentación de agresión entre los individuos.



**4. CONCLUSIÓN** El enriquecimiento ambiente ocasionó una sensible disminución del peso corporal, conservó el índice gonadal y el peso de las glándulas adrenales, finalmente hubo un aumento en la concentración espermática de cola de epididimo. Además, de manera notoria, los episodios de agresión fueron constantes en los grupos de enriquecimiento ambiente, con una lucha por los recursos disponibles y jerarquización, a pesar de ser grupos constituidos e integrados desde meses atrás, lo que denota que el ofrecer recursos adicionales, tiene repercusión sobre la jerarquización y condición corporal, pero no disminuye la calidad espermática.

#### BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Arca, J. 2004. Bienestar Animal, ¿Qué es? El consejero Veterinario N° 17. Paraná.
- 2.- Bittman, E y Zucker, I. 1981. Photoperiodic termination of hamster refractoriness participation of the Pineal Gland. *Biology of Reproduction* 24:568-572.
- 2.- Broom DM. 2004. Bienestar animal. En: Galindo FA y Orihuela A (eds.). *Etología aplicada*. México: UNAM, pp 51–87.
- 3.- Chang, M.C. y Sheaffer, D. 1957. Number of spermatozoa ejaculated at copulation transported into female tract and present in the male tract of Golden hamster. *The Journal of Heredity* pp 107-109.
- 4.- Galindo Maldonado y Orihuela Trujillo A, (eds).2004 *Etología Aplicada*. México DF: Ed. UNAM.
- 5.- Gil, F. (2005) *Bienestar Animal y su Impacto Económico*. Asociación Argentina de Criadores de Hereford. Buenos Aires, 637 (71):66-79.

- 6.- Krause S., y Schüler L., 2010, Behavioural and endocrinological changes in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) under domestication, *J. Anim. Breed. Genet.* 452-461.
- 7.- Martin, P. y Bateson, P. (1991) *La medición del comportamiento*. Madrid: Alianza.
- 8.- Mateos, M. (1994) *El bienestar animal. Una evaluación científica del sufrimiento animal*. En: Carranza, J. (ed) *Etología Introducción a la Ciencia del Comportamiento*. Cáceres, España. Universidad de Extremadura, pp 493-527.
- 9.- Shepherdson, D.J. (1998) "Tracing the path of environmental enrichment in zoos" En: Shepherdson, *Second Nature – Environmental Enrichment for Captive Animals*, 1a Edición, Smithsonian Institution Press, Londres, Inglaterra, pp. 1 – 12.
- 10.- Slater, F. (2000) *El comportamiento animal*. Cambridge University Press. pp 39-46.

## OPERACIONES BÁSICAS Y SEGURIDAD EN EL LABORATORIO QUÍMICO-BIOLÓGICO: PAFI NIVELATORIO PARA ESTUDIANTES DE NUEVO INGRESO A LA LICENCIATURA DE Q.F.B. EN LA UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Castro Gerónimo Van Dan <sup>a</sup>, Sánchez Aguilar Ricardo <sup>a</sup>, Ocaña Sánchez Marcos Fernando <sup>a,b</sup>, López Canul Martha Graciela <sup>a,b</sup>, Hernández Lozano Minerva <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Coordinación de Investigación Educativa. Facultad de Q.F.B., campus Xalapa. Universidad Veracruzana. [zorro\\_z\\_zero@hotmail.com](mailto:zorro_z_zero@hotmail.com); [mihernandez@uv.mx](mailto:mihernandez@uv.mx); [ricsanagui@uv.mx](mailto:ricsanagui@uv.mx)

<sup>b</sup> Instituto de Neuroetología. Universidad Veracruzana.

**RESUMEN.** Los PAFI (Programas de Apoyo a la Formación Integral) son cursos-talleres implementados en la Universidad Veracruzana para estudiantes que tengan interés en ampliar saberes específicos de una disciplina. Debido a que los alumnos de nuevo ingreso a la carrera de Química Farmacéutica Biológica (Q.F.B.) poseen diferente formación en el área química, se contempló la implementación de un PAFI nivelatorio de 10 hrs sobre operaciones básicas y seguridad en el laboratorio Químico-Biológico. Para ello, luego de elaborar, registrar e implementar el PAFI se analizó el promedio de bachillerato y se comparó el nivel de conocimientos sobre este tópico mediante la aplicación de un pre-test y un post-test. El estudio se complementó con una apreciación inicial y final sobre contenidos específicos y se aplicó también un instrumento para evaluación del curso. Los resultados indicaron que a pesar de tener un promedio de egreso del bachillerato de 8.6, las competencias de los estudiantes en el área química se situaron en 4 y con la aplicación del PAFI se elevaron a 6. Se apreció una sobrevaloración personal de dichas competencias, las cuales se refirieron con un puntaje inicial de 7 y al final de 9. Las principales recomendaciones expresadas en preguntas abiertas de opinión fueron que esta estrategia didáctica se aplique sólo a estudiantes con bajo puntaje, que incluya más práctica y material de apoyo. En conclusión, la implementación de un PAFI nivelatorio promueve y/o mejora las competencias de ingreso a la licenciatura en Q.F.B., y favorece la detección de estudiantes en riesgo académico.

### 1. INTRODUCCIÓN

El aprendizaje de las ciencias químicas por los estudiantes suele ser complicado debido a factores internos como la capacidad de procesamiento de la información y a factores externos, como la naturaleza de la propia disciplina (Cárdenas, 2006). Aunado a lo anterior, la mayoría de los estudiantes que ingresan a una carrera profesional relacionada con las ciencias químicas provienen de diferentes instituciones de educación media superior, donde su formación puede ser distinta. Aunque pudiera parecer que algunos podrían tener una mejor formación teórica y práctica en un laboratorio químico, la mayoría necesita una formación integral desde el principio de su carrera profesional para consolidar además, valores como el respeto, la disciplina y la responsabilidad hacia sus compañeros, académicos y a la Institución. Asimismo, es importante que adquieran competencias en las operaciones básicas de un laboratorio químico-biológico. Se ha observado de forma anecdótica que la mayoría de estudiantes de nuevo ingreso en la carrera de Química Farmacéutica Biológica de la Universidad Veracruzana carece de una formación integral básica sobre cómo conducirse dentro de un laboratorio Químico-Biológico, lo que podría poner en riesgo la seguridad e integridad tanto de sus demás compañeros y maestros así como a la Institución educativa como tal. En complemento a lo anterior, la mayoría de ellos desconocen el manejo básico de reactivos, materiales y equipos, lo que además de incrementar los riesgos, retrasa el proceso de enseñanza-aprendizaje de las Experiencias Educativas que contemplan partes experimentales en el laboratorio. Debido a que la mayor cantidad de cursos en la licenciatura en Q.F.B. contemplan prácticas, es indispensable que los estudiantes desde el primer semestre reconozcan las características generales de un laboratorio Químico-Biológico, sus

riesgos y las medidas de prevención de accidentes. Diversas investigaciones sugieren que el análisis del nivel de conocimientos que los estudiantes poseen al ingreso de una licenciatura permite determinar sus necesidades particulares y ofertar cursos de nivelación (Cosci, 2006); en el caso de la Universidad Veracruzana se denominan Programas de Apoyo a la Formación Integral (PAFI) del tipo nivelatorios (Celis Fuentes et al., 2008). Así, el objetivo de este trabajo fue el diseño e implementación de un PAFI para los estudiantes de nuevo ingreso a la licenciatura en Q.F.B. como una estrategia para reafirmar sus conocimientos sobre el manejo de reactivos, materiales y equipos de un laboratorio Químico-Biológico, así como de las normas de seguridad y prevención de daños o accidentes.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

Se inició con la búsqueda de referencias propias de la institución sobre las competencias básicas del área de Química, reconocidas en el perfil de ingreso de la Facultad de Q.F.B., además de tomar como referencia la de otras instituciones que imparten cursos nivelatorios (Aparicio et al., 2003; Universidad de Castilla la Mancha, 2005; Cosci et al., 2006; Montoya Guzmán, 2006). Se procedió al diseño del programa de estudio del curso-taller PAFI de acuerdo a los lineamientos institucionales de la Universidad Veracruzana (Celis Fuentes et al., 2008) y posteriormente se realizó una búsqueda exhaustiva de contenido pertinente (Ramos Márquez, 2003; Funes Espinoza et al., 2005; García Jolly, 2012). Además, se realizó un pre-test y un post-test de 40 ítems diversos, previamente validados (con estudiantes de semestres superiores y docentes), así como un instrumento de evaluación del propio curso (en formato de escala autoaplicable y con 4 preguntas abiertas), la lista de estudiantes con espacio para firma autógrafa y el formato de constancia de participación (Figura 1).

El curso-taller se aplicó a 79 alumnos de nuevo ingreso a la licenciatura en Q.F.B. campus Xalapa en periodo de agosto de 2014. Luego del pre-test se dio inicio a la sesión introductoria del curso-taller, en la que se abordó la prevención de daños o accidentes en un laboratorio Químico-Biológico, destacando los 3 valores fundamentales de todo profesionista: Respeto, Responsabilidad y Reflexión. Posteriormente se abordó el tema de organización de un laboratorio Químico-Biológico, en el que se les presentaron los tipos que existen, las principales instalaciones de un laboratorio, los principales servicios y el personal que labora en ellos de manera jerárquica. El siguiente tema mostrado fue sobre riesgos químicos y normas de seguridad e higiene en un laboratorio Químico-Biológico, donde se destacaron las principales normas nacionales e internacionales de prevención de riesgos en el trabajo, puntualizando en casos específicos como las medidas preventivas, las normas personales y generales de trabajo en un laboratorio. En la segunda sesión se continuó con la importancia del manejo pertinente de Residuos Peligrosos Biológicos Infecciosos, riesgo en almacenes, los principales pictogramas de productos químicos y los aspectos básicos informativos en el etiquetado de reactivos y equipos en un laboratorio. Luego se abordaron las medidas correctivas generales a tomar en caso de un accidente en el laboratorio, los primeros auxilios en diferentes tipos de siniestro y se identificaron en imágenes los de riesgos más comunes de accidentes. Para concluir esta sesión teórica, se mostró la clasificación y manejo de materiales, equipos y reactivos usuales de un laboratorio Químico-Biológico de forma visual, destacando también su costo y cuidados. Para la sesión práctica, se dividió a los estudiantes en dos grupos en los que las actividades se desarrollaron de manera simultánea en dos laboratorios con el apoyo de alumnos monitores de 3er. semestre en adelante. Se realizaron diversas dinámicas por equipos donde hubo una interacción por parte de todos los estudiantes las cuales fueron: a) reconocimiento de las instalaciones de un laboratorio Químico-Biológico; b) simulación de riesgos y medidas correctivas en caso de accidentes; c) identificación de material y equipo básico de laboratorio, d) identificación y manejo de reactivos y, e) uso correcto de pipetas (Figura 2). En la última sesión, se realizó la entrega de tareas y el reporte de actividades por parte de los estudiantes y se les aplicó el post-test.

Para comprobar la mejoría o no en los conocimientos de los estudiantes respecto a las operaciones básicas y seguridad en el laboratorio, se investigó primeramente su promedio de bachillerato y se contrastó por un lado, el resultado obtenido en el pre-test y post-test (en escala de 1 a 10) y por otro, el grado de aprehensión sobre temas específicos del curso-taller al inicio y al final (en una escala de 1 a 10), todo ello mediante una t-pareada, considerando como diferencias

significativas cuando  $p \leq 0.05$ . La retroalimentación del curso se analizó mediante estadística descriptiva de una serie de elementos clave, considerando el 100% como puntaje máximo, además de revisar las respuestas a 4 preguntas abiertas de opinión, lo que permitió determinar las fortalezas y debilidades de este PAFI nivelatorio.



Figura 1. Aplicación del pre-test, el cual se respondió en un tiempo de 15min.

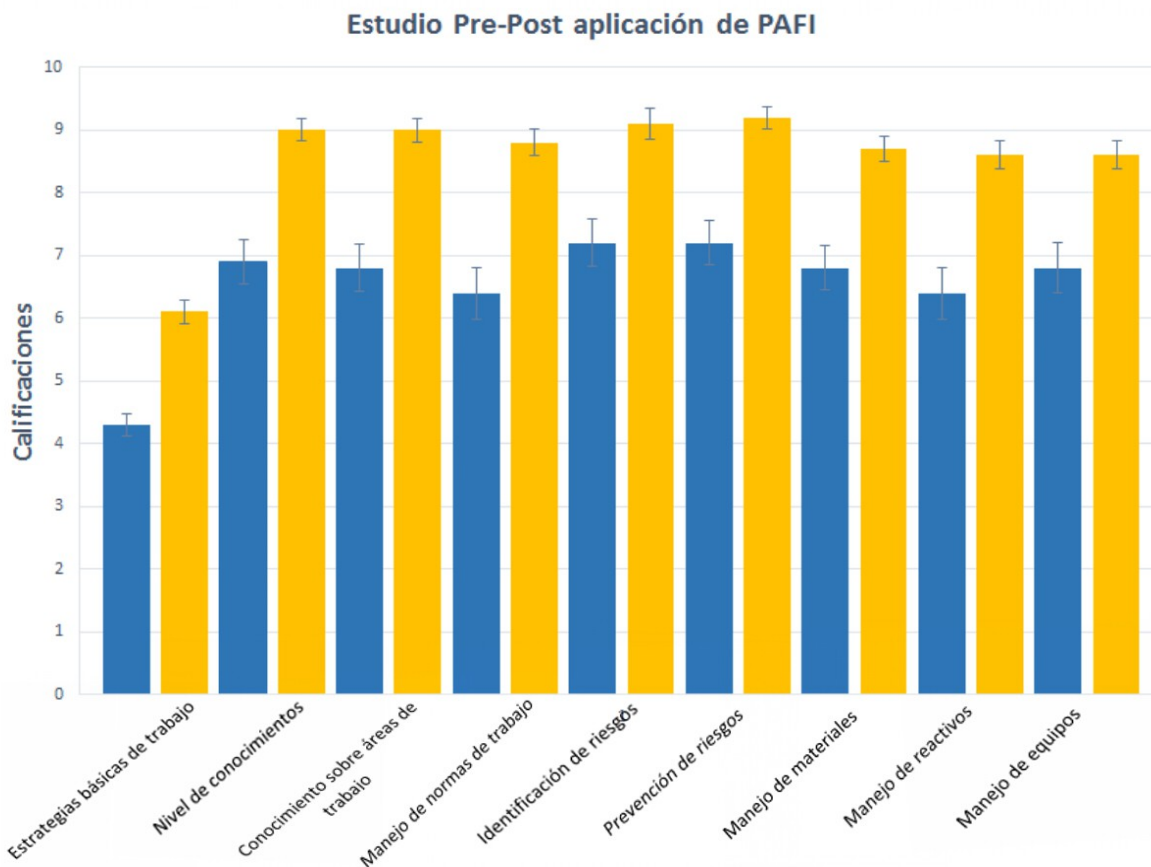


Figura 2. Sesión teórica y práctica del PAFI.

### 3. RESULTADOS

El 44% de los estudiantes de ingreso a la licenciatura en Q.F.B. fueron del género masculino y 55% del femenino. A pesar de que su promedio general de egreso del bachillerato fue de 8.6, el análisis de los resultados del examen sobre nivel de conocimientos sobre las operaciones básicas y seguridad en el laboratorio mostró que no manejaban las estrategias básicas de trabajo en un laboratorio pero que al término del PAFI lograron significativamente adquirir nociones ( $p \leq 0.05$ ). (Figura 3.)





**Figura 3.** Calificaciones obtenidas Pre-test (en azul) y Post-test (amarillo). Se observa un mayor dominio de las operaciones básicas y seguridad en el laboratorio Químico-Biológico al final del PAFI.

Sobre la estimación personal de las fortalezas y debilidades del propio PAFI, los estudiantes expresaron que la justificación y los objetivos fueron planteados pertinentemente (93.7%), al igual que la unidad de competencia y la metodología (89.0%). A propósito de la estructura del examen diagnóstico, lo consideraron bien elaborado (92.0%) y el contenido del curso acorde al perfil de ingreso esperado (95%). Consideraron que la bibliografía brindada fue satisfactoria (86.7%) al igual que el mecanismo de evaluación del curso (84.8%). En cuanto al desempeño de los docentes y la calidad del material didáctico, fue estimado de muy alta calidad (98.1 y 94.8% respectivamente). Como el pase de lista se realizó con las tareas realizadas y no en la forma usual en voz alta, los estudiantes puntuaron más bajo este rubro (70.5%). Finalmente, los resultados de las preguntas de opinión abiertas muestran que es deseable que el PAFI se imparta más de 10hrs en un horario fraccionado para optimizar la atención, que se incrementen el número de horas prácticas y se comparta la totalidad del material didáctico. Con los resultados obtenidos se propone hacer una pre-selección de estudiantes que realmente requieren un curso nivelatorio sobre Operaciones Básicas y Seguridad en el Laboratorio Químico-Biológico, considerando su promedio de bachillerato y la aplicación de un pre-test, lo cual permitirá mejorar la calidad de la atención y optimizar los recursos con los que cuenta la Facultad de Q.F.B. para la impartición de este tipo de cursos PAFI.

#### 4. CONCLUSION

La implementación de un curso nivelatorio PAFI de al menos 10hrs permite reforzar las competencias mínimas sobre las operaciones básicas y seguridad en un laboratorio que todo estudiante de la licenciatura en Q.F.B. debe poseer, además de permitir la detección temprana de estudiantes en riesgo, lo que permitirá canalizarlos oportunamente a otros cursos remediales que complementen los conocimientos de Experiencias Educativas afines.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Aparicio F, Vargas R y Cedillo A. Actividades experimentales para el curso de Química. Curso selectivo para alumnos de la Licenciatura en Química de la UAM-I. UAM. México. 2003.
2. Cárdenas S, FA. Dificultades de aprendizaje en Química: caracterización y búsqueda de Alternativas para superarlas. *Ciência & Educação*; 2006,12(3): 333-346.
3. Celis Fuentes JC, Girón Jiménez E, Labrado Cano LA, Santiago Ponce ML, Valenzuela Vázquez B. Experiencia Educativa: Atención a trayectorias académicas. Estrategias para el diseño y la operación de PAFI nivelatorios, preventivos y remediales. Facultad de Pedagogía. Boca del Río, Ver. Universidad Veracruzana. 2008.
4. Cosci C, May G, Gatica N, Echeverría G, Renaudo J, Miro S. La importancia del curso de nivelación en los ingresantes de la carrera de ingeniería agronómica. I REPEM – Memorias. Santa Rosa, La Pampa, Argentina. 2006.
5. Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Plan de estudios 2012 de la licenciatura en Química Farmacéutica Biológica campus Xalapa. Universidad Veracruzana.
6. Funes Espinoza et al. Bioseguridad y seguridad química en el laboratorio. 1ª. Ed. Cochabamba, Colombia. Capítulo 1. El laboratorio. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo. Capítulo 2. Paseando por el laboratorio de química. 2.1. Estructura física de un laboratorio de Química. 2005.
7. García Jolly R. Material de laboratorio. En: Algarabía, leéme y sabrás. Eureka! La ciencia platicadita. 2012.
8. Laboratorio de fundamentos de Química. Ingeniería Química. Universidad de Castilla la Mancha. Curso 2005-2006.
9. Montoya Guzmán JO. Práctica sobre instrumentos de laboratorio. Química técnica. Centro de Estudios: Universidad Católica de Occidente. Ing. en Sistemas Informáticos. Fac. de Ingeniería y Arquitectura. 2006.
10. Ramos Márquez EC. Manual de laboratorio de instrumentación básica. Facultad de Bioanálisis Veracruz. Universidad Veracruzana. 2003.

## ARCILLAS COMO CATALIZADORES EN DIVERSAS REACCIONES QUÍMICAS

Pedro Rangel Rivera<sup>a</sup>, Gustavo Rangel Porras<sup>a</sup>, María Belén Bachiller Baeza<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, México, [p.rangel.rivera@ugto.mx](mailto:p.rangel.rivera@ugto.mx), [gporras@ugto.mx](mailto:gporras@ugto.mx)

<sup>b</sup>Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), España, [b.bachiller@icp.csic.es](mailto:b.bachiller@icp.csic.es)

### RESUMEN

Diversos tipos de arcillas y arcillas modificadas con compuestos químicos son ampliamente utilizadas como catalizadores sólidos en variados tipos de reacciones, sobre todo en síntesis orgánica. La función de estos materiales es de brindar el tipo específico y cantidad necesaria de sitios activos, en donde se llevarán a cabo las reacciones entre los diferentes reactivos, sobre todo sitios activos que contengan características ácidas o básicas, que son generalmente las requeridas para desarrollar la catálisis de dichas reacciones. Aunado a ello, se le suman las características propias de las arcillas, tales como sus altas áreas específicas que les permiten ser utilizadas como soportes de materiales activos catalíticamente; su relativo bajo coste económico, tanto en su obtención del medio como su purificación y/o modificación en ciertos casos; y su sencillo uso, manipulación y separación del medio de reacción. Estas arcillas se utilizan para catalizar una secuencia de reacciones ácido-base en un solo recipiente. Las arcillas simples como modificadas se han caracterizado con técnicas tales como espectroscopía infrarroja, difracción de rayos X de polvos, adsorción de N<sub>2</sub> a 77 K o espectroscopía Raman. Este trabajo presenta de manera esquemática la relación de las características de las arcillas con la catálisis de algunas reacciones químicas.

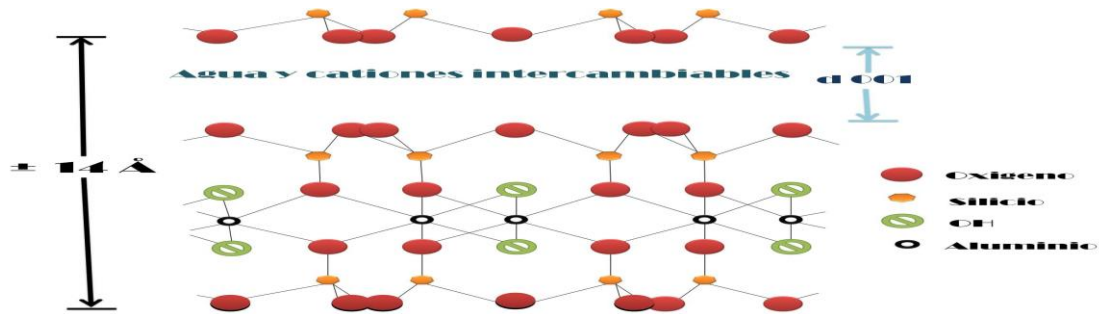
### 1. INTRODUCCIÓN

Las arcillas son materiales disponibles en la naturaleza, de fácil obtención y de un bajo costo de procesamiento. Tanto en su estado nativo o natural así como en numerosas variantes modificadas, las arcillas son catalizadores versátiles que actúan sobre diferentes tipos de reacciones químicas. Las arcillas tienen una capacidad de adaptarse a las necesidades de cada reacción catalizada, debido a la microestructura de la cual están constituidas. En general se puede considerar a las arcillas como nanopartículas con estructura en capas. Dichas capas poseen carga neta negativa que se neutraliza por cationes tales como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Ca<sup>+2</sup>, etcétera, que ocuparán el espacio interlaminar. La capacidad de modificación de las arcillas reside en el hecho de que estos cationes interlaminares pueden ser reemplazados fácilmente por otros cationes o moléculas. Las moléculas pueden ser enlazadas a la superficie por enlaces covalentes mediante procedimientos relativamente simples. Estas acciones ofrecen posibilidades para alterar las propiedades de las arcillas, tales como acidez, tamaño de poro, área superficial o polaridad. Dicha facilidad para manipular estas características han hecho de las arcillas catalizadores de bajo coste y de alta eficiencia en la catálisis de reacciones.

### 2. LAS ARCILLAS COMO CATALIZADORES

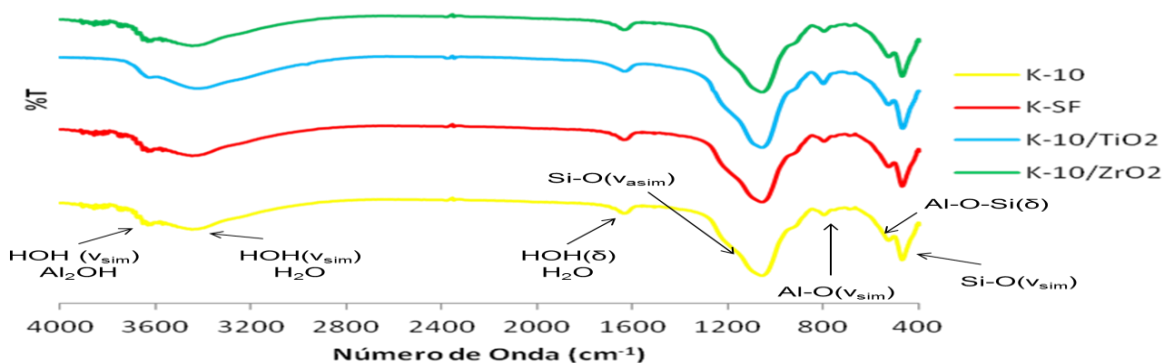
En el presente trabajo, se pone especial atención en arcillas tipo montmorillonita, las cuales además de las características anteriormente descritas, se añade que son clasificadas como arcillas tipo T-O-T o 2:1, ya que su estructura laminar consta de dos capas de tetraedros de óxido de

silicio, y una capa octaédrica de oxi-hidróxidos de aluminio, hierro o magnesio, de tal forma que el octaedro queda en medio de dos tetraedros, y entre tetraedro y tetraedro se encuentra el espacio interlaminar, tal como se muestra en la figura 1.



**Figura 1.** Estructura básica de la arcilla montmorillonita.

Estas arcillas montmorillonita exhiben de manera natural una cantidad importante de sitios ácidos de Brønsted y de Lewis, haciendo que sean utilizadas en reacciones donde se requiera estos sitios activos, además de que su rendimiento catalítico puede verse aumentado incorporando especies con probada eficiencia catalítica, pudiéndose además manipular el tamaño de poro, área superficial y estabilizar o reemplazar los cationes interlaminares para alterar las propiedades ácido-base. Además, puede añadirse a su estructura materiales con probada capacidad catalítica tales como  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$  o  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , para que las arcillas funjan como soporte o como catalizadores mixtos. Las características químicas de las arcillas montmorillonita, sea cuál sea su procedencia o presentación, no se altera sustancialmente con la incorporación de dichos metales o con el método de obtención. Por ejemplo, en la figura 2 se muestran los perfiles de espectroscopia de infrarrojo (FTIR) con sus respectivas bandas asignadas, de cuatro tipos de montmorillonita, tres con base en montmorillonita comercial K10 y una denominada KSF. Según la ruta de obtención, K10 presenta una mayor cantidad de sitios de Lewis que de Brønsted, mientras que KSF presenta una mayor densidad de sitios de Brønsted que de Lewis, mientras que K10 con  $\text{TiO}_2$  y  $\text{ZrO}_2$  se ve incrementada la densidad de sitios totales con respecto a K10 pura, lo que se ve reflejado en la tabla 1.



**Figura 2.** Espectros de infrarrojo (FTIR) de algunas muestras de arcilla montmorillonita.

**Tabla 1.** Valores de parámetros texturales y densidades de sitios ácidos de arcillas montmorillonita

Arcilla	Área Específica BET (m <sup>2</sup> /g)	Densidad de sitios ácidos (meq/g)
K-10	240	1.18
K-SF	5	10.8
TiO <sub>2</sub> /K-10	213	4,6
ZrO <sub>2</sub> /K-10	168	4.7

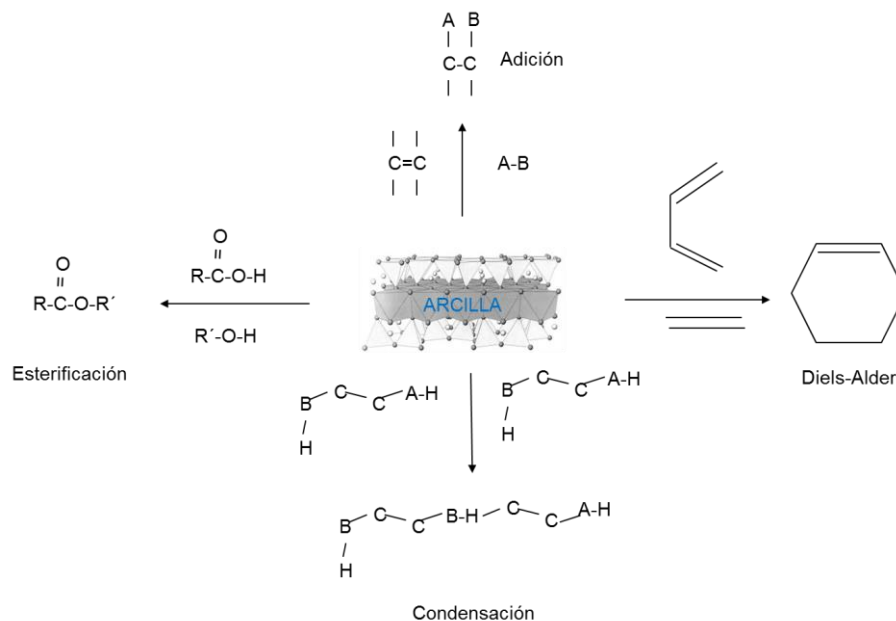
### 3. REACCIONES QUÍMICAS CATALIZADAS POR ARCILLAS

En la figura 3 se resume de forma esquemática algunas reacciones que se han reportado como catalizadas por arcillas. Las reacciones de adición que han sido catalizadas por arcillas son reacciones donde se producen enlaces carbono-carbono o carbono-heteroátomo (cualquier átomo salvo carbono o hidrógeno), donde en especial las arcillas montmorillonita han tenido particular actividad, donde se incluyen la catálisis de formación de compuestos que contengan enlaces C=C y C=O, adición de carbenos, epoxidaciones, adiciones de Michael, entre otras.

Las reacciones de formación de enlaces carbono-carbono son de vital importancia en la síntesis orgánica, y entre los numerosos procesos desarrollados para este fin se encuentran las denominadas condensaciones, las cuales pueden ser catalizadas por ácidos como por bases o por mezclas de sólidos ácido-básicos. De especial relevancia se encuentran arcillas tales como hidrotalcitas (básicas), montmorillonita intercalada con Ti<sup>4+</sup> soportada en hidrotalcita (ácido-base), o montmorillonita K10 (ácida). Entre las reacciones de condensación más importantes que se han reportado el uso de arcillas como catalizadores tenemos las condensaciones aldólicas, condensaciones de enol-éteres, condensaciones de Knoevenagel o condensaciones de aminas.

Una de las vías más importantes para la síntesis de moléculas complejas, son las denominadas reacciones pericíclicas, donde se encuentra presente uno o más moléculas con geometría cíclica. De estas reacciones, una de las más importantes es la reacción de Diels-Alder, que es un proceso de cicloadición para formar anillos de seis eslabones, originándose a partir de un compuesto con dos dobles enlaces conjugados (dienos) y una olefina simple. La mayoría de estas reacciones necesitan catalizadores ácidos, explotándose en forma particular las arcillas montmorillonita, ya que por lo general las reacciones de Diels-Alder necesitan de sólidos con presencia de sitios ácidos de Lewis y de Brønsted, siendo la montmorillonita K10 la más utilizada en estos procesos, aunque se cuentan con reportes de uso de montmorillonita KSF y de montmorillonitas modificadas con grupos ácidos, como sulfónicos o perclóricos.

Los ésteres son compuestos de alto valor agregado, debido a la amplia gama de compuestos que se pueden sintetizar a partir de estas moléculas, así como los usos de estas mismas en la industria como en la investigación científica. La vía más común de síntesis de estos compuestos es mediante la reacción directa de un ácido carboxílico y de un alcohol, catalizado en medio ácido, y que es llamada reacción de esterificación de Fisher, comúnmente llevada a cabo en medio homogéneo usándose un ácido mineral fuerte como fuente de sitios ácidos de Brønsted. En diversos reportes se explica el uso de arcillas como fuente de dichos sitios activos, tales como montmorillonita KSF, montmorillonita K10 y esta misma como soporte de cloruros de metales de transición (InCl<sub>3</sub>, GaCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub> o ZnCl<sub>2</sub>), y arcillas de otras denominaciones y previamente activadas en medio ácido, como vermiculita, atapulgita o bentonita también han sido reportadas como catalizadores eficientes de esta reacción.



**Figura 3.** Esquema de algunas reacciones que son catalizadas por arcillas.

#### 4. SUMARIO

Arcillas naturales como disponibles de manera comercial, y sus diversas presentaciones modificadas, son buenos catalizadores sólidos de varias reacciones químicas. Desde que los procesos empleados en su modificación son procesos químicos generalmente sencillos, existe un gran margen y expectativa para preparar catalizadores a base de soporte en arcillas capaces de realizar las mismas funciones que los catalizadores homogéneos convencionales, alcanzándose rendimientos óptimos e incluso una mayor selectividad en ciertos casos hacia productos en específico, además de ser sólidos que pueden obtenerse de nuevo del medio de reacción para ser reciclados en posteriores procesos, viéndose beneficiado el medio ambiente ya que no se presenta la consecuente eliminación de desechos tóxicos que en procesos homogéneos es constante. Aunque el conocimiento de la aplicación de un catalizador sólido modificado en una particular reacción es todavía empírico, existen ya estudios de correlación estructura-actividad y de mecanismos de reacción sobre la superficie de los sólidos que dará luz en este aspecto en particular, lo que da margen aún en el traslado de estos procesos de escala laboratorio a procedimientos industriales, siendo particularmente importante debido a las ventajas que el uso de arcillas como catalizadores presentan, tales como ser sólidos benignos con el medio ambiente, económicos, reciclables, sencillos de utilizar y de modificar, entre otros beneficios.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. G. Nagendrappa, "Organic synthesis using clay and clay-supported catalysts", Appl. Clay Sci., Vol. 53, 2011, pp. 106-138
2. J. M. Thomas, W. J. Thomas, "Principles and practice of heterogeneous catalysis," (Wiley VCH Inc., Weinheim, Alemania, 1996), Capítulo 8, pp. 624-626

3. R. S. Varma, "Clay and clay-supported reagents in organic synthesis", *Tetrahedron*, Vol. 58, 2002, pp. 1235-1255
4. J. M. Adams, K. Martin, "Clays as selective catalysts in organic synthesis", *J. Inclus. Phenom.*, Vol. 5, 1987, pp 663-674
5. G. Sartori, R. Maggi, "Protection and deprotection of functional groups in organic synthesis by heterogeneous catalysis", *Chem. Rev.*, Vol. 113, 2010, pp. 1-54

## **LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL Y LA RESISTENCIA A LOS METALES PESADOS**

Karina Espinoza García<sup>1</sup>, Leticia Guadalupe Navarro Moreno<sup>1</sup>, Jorge Conde Acevedo<sup>1</sup>, Sadia Joyce Mendez Velasco<sup>1</sup>, Aurelio Ramírez Hernández<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad del Papaloapan Circuito Central #200, Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oax., México C.P. 68301. rubi-aries@hotmail.com, Lgnavarrom@hotmail.com, Jorgeconde@hotmail.com, j.aries.09@gmail.com, chino\_aha@hotmail.com

### **RESUMEN**

A lo largo del tiempo, el hombre se ha dedicado a sobreexplotar los recursos naturales que lo rodean. Este es el caso de la gran variedad de elementos metálicos que se han convertido en uno de los materiales más utilizados por el hombre. Lo anterior ha generado una elevada contaminación con estos elementos. El agua es uno de los principales recursos que ha resultado más contaminada por metales pesados. El río Papaloapan constituye un ejemplo de lo anterior. El objetivo de este trabajo fue detectar contaminantes metálicos en éste río y en algunos otros que llegan al mismo, así como formas microbianas capaces de tolerar ambientes contaminados con metales pesados. Entre los resultados se ha detectado la presencia de metales como plomo, cadmio y mercurio y tres cepas bacterianas resistentes a plomo. De la misma manera, estas bacterias han demostrado resistencia a metales como el cadmio y el cromo. Lo anterior resulta de importancia clínica debido a que las bacterias que muestran resistencia a los metales son enterobacterias de la flora normal del ser humano, lo cual representa un problema futuro dentro del área de la salud.

**PALABRAS CLAVE:** Contaminación ambiental, metales pesados, bacterias resistentes.

### **INTRODUCCIÓN.**

La humanidad siempre ha vivido con la idea de que la naturaleza cuenta con recursos inagotables, gratuitos y eternos. En la actualidad, se descubre que lo anterior no es verdad y debido al abuso que de estos se han hecho, ahora se encuentran en peligro de sufrir daños irreparables.

Uno de los grandes males que la humanidad ha tenido que enfrentar es el hecho de que debido al abuso que se tiene con los recursos naturales se ha originado la contaminación ambiental, la cual puede definirse como el desequilibrio entre los recursos naturales y el uso que se hace de los mismos. (Ponce, 1992).

El hombre ha creado grandes industrias en las cuales hace uso de los recursos naturales y produce una enorme cantidad de desechos tóxicos, entre los cuales se encuentran los metales pesados. Debido a la creciente actividad industrial en la que el hombre fue generando muchas fuentes de contaminación, la exposición de los seres vivos a altas cantidades de metales pesados fue aumentando a medida que el tiempo transcurría.

Así surgieron los primeros casos de intoxicación por metales pesados (incluyendo desde microorganismos hasta seres humanos), mismos que permanecieron ocultos debido al número limitado de conocimientos y estudios sobre la intoxicación con éstos. Hoy en día las consecuencias de la exposición a metales pesados pueden ser detectadas al evaluar las principales funciones celulares (reproducción, crecimiento y desarrollo).

Los estudios bioquímicos realizados a lo largo de varios años por un gran número de investigadores han generado gran número de datos sobre los efectos que la exposición a



diferentes metales tiene en los seres vivos y en algunos casos se han descubierto bio-marcadores para el estudio de los efectos de estos agentes químicos en sistemas biológicos (APHA, 1998; recuperado de Standard American Water Works Association, Water Environment Federation, y Morton *et. al*; 2009).

Se definen como “metales pesados” a aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a  $5 \text{ g cm}^{-3}$  cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre mayor a 0.01%. Existen una serie de elementos químicos que suelen considerarse metales pesados por presentar origen y comportamiento asociado, son los metales ligeros o no metales, como el caso del arsénico (As), selenio (Se) y fósforo (P) (Morton *et. al*, 2009). Se debe tener en cuenta que cualquier elemento que a priori es beneficioso para la célula, en concentraciones excesivas puede llegar a convertirse en tóxico. Muchas de las acciones de estos elementos se deben a sus características fisicoquímicas, las cuales le confieren una particular forma de actuar.

La tabla 1 muestra algunos de los metales que tienen poca o nula actividad en el metabolismo animal y vegetal.

**Tabla 1.** Clasificación de metales en función de su papel biológico. (Tomado de ATSDR, 2012)

Grupos	Definición	Elementos
<b>Oligoelementos</b>	Requeridos en trazas para el metabolismo de microorganismos, animales y plantas.	As, B, Co, Cu, Mo, Mn, Mg, Se, Zn, Cr, etc.
<b>Metales sin función biológica conocida.</b>	Su presencia en determinadas cantidades en seres vivos conlleva disfunciones en el funcionamiento de los organismos. Resultan altamente tóxicos, y presentan la propiedad de acumularse en el organismo.	Cd, Hg, Pb, Ti, Ni, Se y Cr.

### Fenómenos de resistencia a metales pesados en bacterias.

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. De esta manera puede observarse la resistencia desde dos ambientes: el biológico y el bioquímico.

Se conoce como resistencia natural a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionales con el incremento de dosis de algún compuesto contaminante. La resistencia adquirida aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, transposones, integrones).

Las bacterias han desarrollado mecanismos por los cuales puedan tolerar ambientes nocivos. Entre ellos se encuentran los siguientes.

- Componentes celulares que capturan a los iones, neutralizando su toxicidad.
- Enzimas que modifican el estado redox de los metales o metaloides, convirtiéndolos en formas menos tóxicas.

- Transportadores de membrana que realizan el trabajo de expulsión de estos agentes tóxicos de la membrana celular.

Entre los factores que determinan la relación de las bacterias con los metales pesados se pueden citar la carga de la pared celular, su relación superficie-volumen y las proteínas de unión para con el metal ([Ramakrishna, 2011](#)).

La resistencia de las bacterias también se basa en la forma de expulsión de estos metales en ellas. Como sistemas de salida se mencionan dos ejemplos.

- Sistema de expulsión de cationes.
- Sistema de expulsión de aniones ([Cervantes et. al, 2006](#)).

### **Objetivo.**

Identificar bacterias resistentes a metales pesados aisladas de diferentes fuentes acuíferas (zonas contaminadas y zonas no contaminadas) y ensayar el fenómeno de la tolerancia cruzada de cepas resistentes a plomo.

### **METODOLOGÍA.**

Se llevó a cabo la recolección de muestras de agua de diferentes efluentes mediante la toma de la misma en recipientes estériles que fueron sumergidos en las aguas de diferentes afluentes del río Papaloapan a las que se les dio el nombre de Papaloapan, Sumatra, Playa de mono, Arrollo Moctezuma, Plan de Águla, Orquídeas y Naranja.

Se aislaron mediante técnicas de microbiología tres cepas bacterianas con diferente sensibilidad a la exposición a plomo.

Se realizaron pruebas de tolerancia cruzada en las cepas expuestas a plomo.

### **RESULTADOS.**

La tabla 1 muestra las zonas de donde se tomaron las muestras de agua para analizar el contenido de metales pesados en las mismas. Los diferentes lugares fueron etiquetados como a) zona en las que el agua se encuentra cercana a fuentes industriales de contaminación, b) zonas francas de contaminación por residuos residenciales y hospitalarios y c) aguas de zonas rurales.

Los datos de la tabla muestran que en general todas las muestras de agua evaluadas presentan contaminación con uno o varios metales pesados, lo cual puede ser explicado por el hecho de que los pobladores de las diferentes zonas no han tomado las medidas requeridas para evitar que el agua se contamine con desechos metálicos provenientes ya sea de fábricas, talleres o casas-hogar.

La tabla 2 muestra el género y la especie de las bacterias aisladas de las localidades Papaloapan, Playa de mono y Arroyo Moctezuma. En ella se puede observar que se tiene dos cepas, las cuales se sabe pertenecen a la flora normal bacteriana y que en algunos casos pueden llegar a ser patógenas a los humanos. De estas bacterias, *Hafnia alvei* ha resultado ser la bacteria que más se ha adaptado a la exposición a plomo en el medio de cultivo. Lo anterior podría deberse a que este organismo vive de manera normal en un ambiente contaminado con plomo y cromo y que ello haya determinado genéticamente la expresión de sistemas de defensa contra la exposición a metales pesados entre los que se encuentra el plomo. Posteriormente se realizaron ensayos de tolerancia cruzada, en los cuales las bacterias resistentes a plomo mostraron resistencia a concentraciones variadas de mercurio, cadmio y cromo.

Tabla 1. Determinación de metales pesados por espectrofotometría de absorción atómica en aguas de diferentes afluentes del río Papaloapan.

Muestras		Determinación de metales en las muestras de agua (ppm)
a)	Papaloapan 1	<b>Plomo: 1.2 Cromo: 2.3</b>
a)	Papaloapan 2	<b>Cadmio: 0.75</b>
a)	Papaloapan 3	<b>Plomo: 1.2 Cromo: 2.1</b>
a)	Playa de mono 1	-----
a)	Playa de mono 2	-----
a)	Sumatra 1	<b>Mercurio: 0.00072</b>
a)	Sumatra 2	<b>Plomo: trazas Cadmio: trazas</b>
b)	Arroyo Moctezuma (AN)	<b>ND</b>
b)	Arroyo Moctezuma (Eco)	<b>ND</b>
c)	Plan de águila 1	<b>Plomo: Trazas Cadmio: trazas</b>
c)	Plan de águila 2	-----
c)	Orquídeas	-----
c)	Naranjal	<b>Plomo: 0.85</b>

Tabla

2.

Bacterias resistentes a plomo aisladas de diferentes afluentes de agua del río Papaloapan.

Pb (mM)	Colonia			Tiempo (Horas)
	<i>Hafnia alvei</i> (Papaloapan 1)	<i>Bacillus pumillus</i> (Playa de mono)	<i>Bacillus Pumillus</i> (Arroyo Moctezuma (Eco))	
0.32	+	+	+	24
0.629	+	+	+	24
1.95	+	+	+	24
5.66	+	+	+	48
6.59	+	X	X	

## CONCLUSIONES.

Nuestros resultados indican que las bacterias al estar expuestas a metales pesados en su ambiente natural podrían estar desarrollando factores o sistemas de defensa contra los metales pesados, lo cual indica que las cepas podrían estar cambiando y al ser más resistentes formar cepas superresistentes a metales pesados. Se tiene pensado retar a estas cepas a diferentes fármacos con el propósito de estudiar si la multi-resistencia a metales condiciona la resistencia a fármacos, lo cual determinaría cepas más dañinas para la salud humana. Solo hemos encontrado una referencia en la cual podemos basar las conclusiones anteriores y esta se cita a continuación. Se han reportado genes, no asociados a elementos móviles, que pueden codificar determinantes de resistencia a antibióticos y metales pesados. Entre ellos: aminoglicósido osfotransferasas, aminoglicósido N-acetiltransferasas, estreptomycin y espectinomycin-fosfotransferasas, cloranfenicol acetiltransferasas, beta lactamasas, transportadores MDR (dos de tipo MFS, dos de tipo ABC y nueve RND) y proteínas de resistencia a kasugamicina, cobre, arsénico y mercurio. Todo este arsenal cromosómico de elementos de resistencia junto con una membrana de baja permeabilidad se han propuesto como responsables de un fenotipo intrínseco multirresistente que es independiente del medio en el que viven algunas bacterias como *Stenotrophomonas maltophilia* que es un bacilo Gram negativo no fermentador de hábitat ubicuo. Principalmente está asociado a ambientes acuáticos aunque también coloniza suelo, plantas y animales. Su interés clínico radica en que es un patógeno hospitalario emergente y puede producir un amplio espectro de infecciones. En pacientes inmunodeprimidos el tratamiento es muy complicado debido a que esta bacteria presenta altos niveles de resistencia a muchos antibióticos (Hernández, 2010).

## BIBLIOGRAFÍA.

Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR). (Septiembre, 2012).

Cervantes C. AE Espino-Saldaña, F Acevedo-Aguilar, IL León-Rodríguez, ME Rivera-Cano, M Avila-Rodríguez, K Wróbel-Kaczmarczyk, K Wróbel-Zasada, Gutiérrez-Corona, JS Rodríguez-Zavala, R Moreno-Sánchez; Interacciones microbianas con metales pesados; Revista Latinoamericana de Microbiología; No. 2 Abril - Junio. 2006 Vol. 48 pp. 203 – 210

Hernández Milán B; Menéndez-Rivas M. Hafnia alvei en gastroenteritis aguda infantil. An Esp Pediatría (1998); 48:331.

Morton-Bermea a. E. Hernández-Álvarez a, G. González-Hernández a, F. Romero b, R. Lozano b, L.E. Beramendi-Orosco b; Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City; Journal of Geochemical Exploration 101 (2009) 218–224.

Ponce-Velez, G. y Botello, A. V. Aspectos geoquímicos y de contaminación por metales pesados en la laguna de Terminos, Campeche. Instituto de Ciencias del Mar y Liminología. UNAM. Rev. Hidrobiología (1991). 1(2).

Ramakrishna W; Li Kefeng; Effect of multiple metal resistant bacteria from contaminated lake sediments on metal accumulation and plant growth; Journal of Hazardous Materials 189 (2011) 531–539.

## EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE CAUTIVERIO Y EL TIPO DE PRESA SOBRE LA CONDUCTA ALIMENTARIA DE LA MAZACUATA (*Boa constrictor*).

Emmanuel. L. Dzul-Valencia <sup>a</sup>, Emilio. A. Suárez-Domínguez <sup>b</sup>, Jorge. E. Morales-Mávil<sup>c</sup>, Laura. T. Hernández-Salazar <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Maestría en Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. México, dzulito@hotmail.com

<sup>b</sup>Museo de Zoología, Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México, emisuarz@uv.mx

<sup>c</sup>Laboratorio de Biología de la Conducta, Instituto de Neuroetología. Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. México, jmmavil@gmail.com, herlatss@gmail.com

### RESUMEN

Las condiciones en cautiverio pueden provocar una serie de estímulos aversivos que influyen directamente en el bienestar animal. Para hacer frente a estos cambios, los individuos tienden a ajustar sus actividades conductuales y condiciones fisiológicas. Por otro lado, se sabe que el tamaño, peso y forma de la presa pueden modificar la conducta alimentaria y que los depredadores pueden optimizar en la actividad de búsqueda del alimento. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue registrar el efecto del peso de la presa en el comportamiento de alimentación de la *Boa constrictor* bajo condiciones de cautiverio, alimentadas con roedores de laboratorio equivalentes al 10 % y 20 % del peso de la serpiente; registrando tres conductas realizadas por la especie a través del muestreo conductual animal-focal: estática, alerta y alimentación, (en lo que respecta a la conducta de desplazamiento en este trabajo no fue considerada debido a que pocas serpientes la realizaron) dando como resultado que no existe diferencia significativa que apunte que el peso de la presa modifique la conducta de alimentación de la *Boa constrictor*, sin embargo la conducta a la cual se le invirtió más tiempo fue a la de alimentación, esta realizada con mayor duración en la presencia de ambas presas.

### 1. INTRODUCCIÓN

En vida libre, diversas especies se enfrentan a perturbaciones ambientales provocadas por actividades humanas (Wasser et al., 1997), de igual manera las condiciones en cautiverio también pueden provocar una serie de estímulos aversivos que influyen directamente en el bienestar animal, factores como bajo enriquecimiento ambiental y dieta pobre (falta de nutrientes) (Siegler et al., 1995; Carlstead, 1996; Robinson, 1996; Seidensticker y Doherty, 1996); para hacer frente a lo anterior, en ocasiones los individuos tienden a ajustar sus actividades conductuales y condiciones fisiológicas (McEwen y Wingfield, 2003; Romero, 2004; Wikelski y Cooke, 2006). De igual manera, la habilidad de cambiar patrones de comportamiento en respuesta a eventos cambiantes es un aspecto importante en los organismos (Caro y Bateson, 1986; Helfman, 1990; Gordon, 1991; Kieffer y Colgan, 1993; Mercier y Lenoir, 1999). En vertebrados, tales ajustes son a menudo, medidas a través de la secreción de glucocorticoides, que son conocidos por activar y/o inhibir rasgos fisiológicos y de comportamiento específicos (Stratakis y Chrousos, 1995; Romero, 2004). Otros estudios atañen las variables fisiológicas con aspectos conductuales y ecológicos, que colaboran a expresar con mayor claridad el fenómeno (Lacy y Martins, 2003; Martínez-Mota et al., 2007; Suárez-Domínguez et al., 2011). Es por ello que hemos realizados pruebas conductuales en la serpiente *Boa constrictor*, con el objetivo de registrar si el peso de la presa puede modificar la conducta alimentaria, hipotetizando que la serpiente que se alimenta con presas equivalentes al 20% del peso de la serpiente, invertirá más tiempo en las conductas de alimentación.

## 2. TEORÍA

La alimentación es una actividad que consume energía, por lo que un depredador puede optimizar en la actividad de búsqueda de alimento (Schoener, 1971). Para el caso de las serpientes, se sabe que estas consumen presas de diversos tamaños, pero pueden tener preferencias por presas de tallas relativamente grandes, con la finalidad de equilibrar el tiempo de forrajeo perdido (Dugan y Haes, 2012; Clark, 2006). Además, el costo y la ingesta de los animales pequeños pueden ser demasiado altos en relación con su contenido de energía (Arnold, 1993). Asimismo, se sabe que algunos organismos depredadores pueden modificar su comportamiento mientras se están alimentando (Helfman 1990). Otros apuntan que el tipo de presa modifica la intensidad de la constricción (Bealor et al., 2013). Por otro lado, se conoce que el tiempo invertido en la ingestión aumenta con el tamaño de la presa (Cruz-Neto et al., 1999), en los que se refiere a la especie de estudio, esta puede ser depredador tanto de emboscada, como buscadoras activas (Pianka, 1974; Montgomery y Rand, 1978), consumiendo una gran variedad de vertebrados como lagartijas, aves y mamíferos (Álvarez del Toro, 1972; Greene, 1983; Ferrari, 2004; Cisneros-Heredia, 2005) matando a su presa por constricción (Porter, 1972) con un repertorio conductual de alimentación poco flexible (Mehta y Burghardt, 2008).

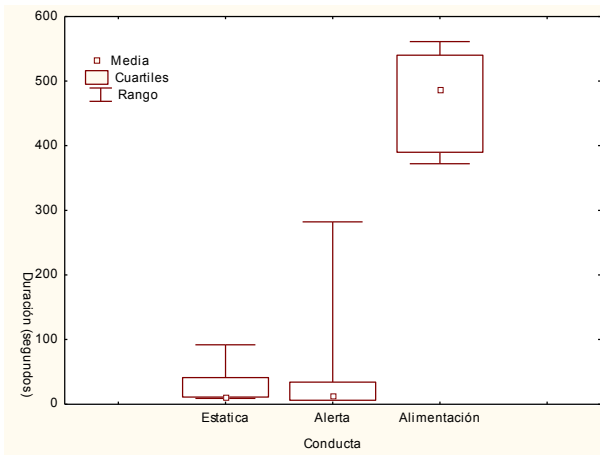
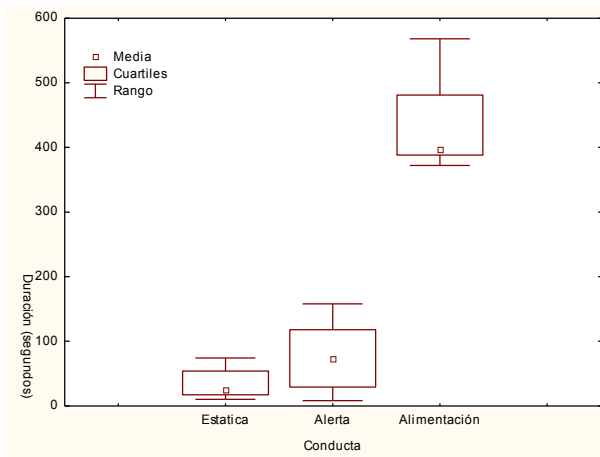
## 3. PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo de investigación se realizó en el museo de Zoología, perteneciente a la facultad de Biología-Xalapa, Universidad Veracruzana, en el periodo de Octubre de 2013 a Febrero 2015, se utilizaron 11 individuos de la especie *Boa constrictor* de dos meses de edad aproximadamente, pertenecientes a la UMA "Herpetario Staku luhua". Cada ejemplar estuvo alojado individualmente en contenedores de poliuretano de 30 x 16 x 10 cm, los cuales estuvieron colocados en un anaquel metálico de 83 x 99 x 60 cm, dividido en tres secciones, cada una presentaba una puerta de vidrio corrediza diseñada para facilitar la manipulación de los ejemplares. Cada espacio se encontraba a una temperatura promedio de 30° C. El protocolo consistió en separar los individuos en dos grupos, el primero estuvo conformado por cinco ejemplares y a cada uno se alimentó con un roedor de un peso equivalente al 20 % del peso de la serpiente, el segundo grupo estuvo representado por seis individuos, los cuales fueron alimentados con un roedor de un peso equivalente al 10 % del peso de la serpiente. Todos los organismos se alimentaron un día posterior de la excreción. Colocando la presa en una esquina contraria al lugar donde se encontraba la serpiente (en el anaquel metálico). La conducta alimentaria fue filmada utilizando una cámara de video digital (Panasonic, SDR-H101), considerando cuatro actividades: a) estática: cuando la serpiente esté inmóvil, puede o no estar realizando oscilaciones con la lengua. La cabeza y parte del cuerpo pueden estar o no, levantados del suelo; b) alerta: cuando la serpiente efectúe únicamente movimientos de cabeza laterales o hacia arriba y abajo, o cuando el cuerpo se mueva sobre su propio eje; c) desplazamiento: cuando la serpiente avance una distancia similar o mayor al diámetro de su tamaño corporal; d) alimentación: tiempo que pasa desde que la serpiente atrapa al roedor y lo ingiere completamente, las cuales fueron registradas en duraciones.

### *Análisis estadísticos*

Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk's (W) para explorar la distribución de los datos en todos los análisis realizados. Se efectuaron pruebas de Kruskal-Wallis (H), comparando las diferentes conductas realizadas por las serpientes alimentadas con presas de 10 % y 20 %. Se realizaron pruebas U de Mann-Whitney, para comparar las duraciones de las actividades: alerta y estática y una *t* de Student para comparar la duración de la actividad: alimentación, realizadas por las serpientes alimentadas con presas de 10 % y 20 %.

### *Comparación de las conductas realizadas con roedores de diferentes pesos*



Los dos grupos de serpientes utilizadas, no registraron diferencias significativas entre las conductas de estática ( $U=12$ ;  $N=6$   $N=5$ ;  $p=0.58$ ), alerta ( $U=9$ ;  $N=6$   $N=5$ ;  $p=0.27$ ) y alimentación ( $t=0.74$ ;  $N=6$   $N=5$ ;  $p=0.47$ ) al ser alimentadas con presas de diferentes pesos (10 y 20%). Sin embargo, si se presentó una diferencia significativa en la duración de las conductas, al ser alimentadas con presas del 10% ( $H_{1,17}=12.03$ ;  $p=0.002$ ) (Figura 1A). Asimismo se presentó diferencia significativa en las duraciones de las conductas realizadas en presencia de presas del 20% ( $H_{1,14}=9.45$ ;  $p=0.008$ ) (Figura 1B).

**Figura 1.** Duración de las conductas de alimentación de *Boa constrictor*, realizadas en presencia de presas del 10 % (A), realizadas en presencia de presas del 20 % (B).

En lo que respecta a la conducta de desplazamiento, esta no fue considerada en este trabajo debido a que pocas serpientes la realizaron durante la alimentación.

#### 4. DISCUSIÓN

Las conductas realizadas por las serpientes alimentadas con roedores equivalentes al 10 y 20 % del peso de la serpiente, no tuvieron diferencia significativa, por lo tanto rechazamos la hipótesis planteada. Por otro parte se sabe que algunos depredadores modifican su comportamiento cuando se están alimentando (Helfman 1990), otros autores mencionan que el tiempo de ingestión de una presa, aumenta con el tamaño de esta (Cruz-Neto et al., 1999) así mismo se conoce que algunas serpientes tienen mucha flexibilidad en el comportamiento de constricción cuando son alimentadas con presas chicas y grandes y en estados vivos y muertos, pero en lo que respecta a la conducta de constricción realizada por *Boa constrictor* con estas mismas presas y condiciones, es evidente que esta muestra poca flexibilidad en su comportamiento (Mehta y Burghardt, 2008).

Las semejanzas en las conductas realizadas por las boas, reflejan equidad con los resultados de los estudios anteriores, sugiriendo que el peso de la presa no es factor importante para que esta especie varíe su comportamiento de alimentación.

#### 5. CONCLUSIÓN

La mazacuata (*Boa constrictor*) muestra similitud en las actividades conductuales al alimentarse con presas de diferentes pesos. Sin embargo, se detectó que emplea más tiempo en la conducta de alimentación en comparación con las otras actividades conductuales.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. A. P. Cruz-Neto, D. V. Andrade & A. S. Abe, "Energetic cost of predation: aerobic metabolism during prey ingestion by juvenile rattlesnakes, *Crotalus durissus*", J. Herpetol., Vol. 33, 2, 1999, pp. 229-234.
2. B. McEwen & J. Wingfield, "The concept of allostasis in biology and biomedicine", Horm. Behav., Vol. 43, 1, 2003, pp. 2-15.
3. C. A. Stratakis & G. P. Chrousos, "Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system", Ann. N.Y. Acad. Sci., Vol. 771, 1, 1995, pp. 1-18.
4. D. F. Cisneros-Heredia, A. León-Reyes & S. Seger, "*Boa constrictor* Predation on a Titi monkey, *Callicebus discolor*", Neotrop. Primates., Vol. 13, 3, 2005, pp. 11-12.
5. D. M. Gordon, "Behavioral flexibility and the foraging ecology of seed-eating ants", Am. Nat., Vol. 138, 2, 1991, pp. 379-411.
6. E. A. Dugan & W. K. Hayes, "Diet and feeding ecology of the red diamond Rattlesnake, *Crotalus ruber* (serpentes: viperidae)", J. Herpetol., Vol. 68, 2, 2012, pp. 203-217.
7. E. A. Suárez-Domínguez, J. E. Morales-Mávil, R. Chavira & L. Boeck, "Effects of habitat perturbation on the daily activity pattern and physiological stress of the spiny tailed iguana (*Ctenosaura acanthura*)", Amphibia-Reptilia., Vol. 32, 3, 2011, pp. 315-322.
8. E. R. Pianka, "Evolutionary Ecology" (Harper & Row eds, New York, First Edition, University of Texas, Austin, TX, 1974), pp. 356.
9. G. G. Montgomery & A. S. Rand, "Movements, body temperature and hunting strategy of a *Boa constrictor*", Copeia., 1978, pp. 532-533.



10. G. S. Helfman, "Mode selection and mode switching in foraging animals", *Adv. Study Behav.*, Vol. 19, 1990, pp. 249-298.
11. H. S. Siegel, "Stress, strains and resistance", *Br. Poult. Sci.*, Vol. 36, 1, 1995, pp. 3-22.
12. H. W. Greene, "*Boa constrictor* (boa, bequer, boa constrictor)", In *Costa Rican Natural History* (D. H. Janzen ed, The University of Chicago Press, Chicago, 1983), pp. 380–382.
13. J. D. Kieffer & P. W. Colgan, "Foraging flexibility in pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*): influence of habitat structure and prey type", *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Vol. 50, 8, 1993, pp. 1699-1705.
14. J. L. Mercier & A. Lenoir, "Individual flexibility and choice of foraging strategy in *Polyrachis laboriosa* F. Smith (Hymenoptera, Formicidae)", *Insectes. Soc.*, Vol. 46, 3, 1999, pp. 267-272.
15. J. Seidensticker & J. G. Doherty, "Integrating animal behavior and exhibit design", in *Wild mammals in captivity* (D. G. Kleiman, M.E. Allen, K. V. Thompson & S. Lumpkin eds, Chicago Press, Chicago, USA, 1996), pp. 180-190.
16. K. Carlstead, "Effect of captivity on the behavior of wild mammals" In *Wild Mammals in Captivity: Principles and Techniques* (D. Kleiman, M .E. Allen, K. V. Thompson & S. Lumpkin eds, University of Chicago Press, Chicago, USA, 1996), pp. 317-333.
17. K. E. Lacy & E. P. Martins, "The effect of anthropogenic habitat usage on the social behaviour of a vulnerable species, *Cyclura nubile*", *Anim. Conserv.*, Vol. 6, 1, 2003, pp. 3-9.
18. K. Porter, "Boa constrictor" in *Herpetology* (W. B. Saunders Company, First Edition, Toronto, Canada, 1972), pp. 404-409.
19. L. M. Romero, "Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research", *Trends. Ecol. Evol.*, Vol. 19, 5, 2004, pp. 249-255.
20. M. Álvarez del Toro, "Los reptiles de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez" Instituto de Historia Natural de Chiapas, 1972.
21. M. H. Robinson, "The BioPark concept and the exhibition of mammals", In *Wild mammals in captivity* (D. G. Kleiman, M. E. Allen, K. V. Thompson & S. Lumpkin eds, Chicago Press, Chicago, USA, 1996), pp. 161-166.
22. M. T. Bealor, J. L. Miller, A. de Queiroz & D. A. Chiszar, "The evolution of the stimulus control of constricting behaviour: inferences from North American gartersnakes (*Thamnophis*)", *Behaviour.*, Vol. 150, 2013, pp. 225-253.
23. M. Wikelski & S. J. Cooke, "Conservation physiology", *Trends. Ecol. Evol.*, Vol. 21, 1, 2006, pp. 38–46.
24. R. Martínez-Mota, C. Valdespino, M. A. Sánchez-Ramos & J. C. Serio-Silva, "Effects of forest fragmentation on the physiological stress response of black howler monkeys", *Anim. Conserv.*, Vol. 10, 3, 2007, pp. 374-379.
25. R. S. Mehta & G. M. Burghardt, "Contextual flexibility: reassessing the effect of prey size and status on prey restraint behavior of macrostomate snakes", *Ethology.*, Vol. 114, 2, 2008, pp. 133- 145.
26. R. W. Clark, "Feeding experience modifies the assessment of ambush sites by the timber rattlesnake, a sit-and-wait predator", *Ethology.*, Vol. 110, 6, 2004, pp. 471-483.
27. S. F. Ferrari, W. L. A. Pereira, R. R. Santos & L. M. Veiga, "Fatal attack of a *Boa constrictor* on a bearded saki (*Chiropotes satanas utahicki* )", *Folia Primatol.*, Vol. 75, 2, 2004, pp. 111-113.
28. S. J. Arnold, "Foraging theory and prey-size-predator-size relations in snakes", In *Snakes-Ecology and Behavior* (R. A. Siegel & J. T Collins eds, McGraw-Hill, New York, 1993), chapter 3, pp. 87-115.
29. S. K. Wasser, K. Bevis, G. King, & E. Hanson, "Noninvasive physiological measures of disturbance in the northern spotted owl", *Conserv. Biol.*, Vol. 11, 4, 199, pp. 1019–1022.

30. T. M. Caro & P. Bateson, "Organization and ontogeny of alternative tactics". *Anim. Behav.*, Vol. 34, 5, 1986, 1483-1499.
31. T. W. Schoener, "Theory of feeding strategies", *Annu. Rev. Ecol. Sys.*, Vol. 2, 1971, pp. 369-404.

## **APLICACIÓN DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA PARA LA DEGRADACION DE LA MATERIA ORGÁNICA MEDIANTE UN REACTOR ANAERÓBICO DE FLUJO ASCENDENTE Y MANTO DE LODOS, ALIMENTADO CON LIXIVIADOS**

Guadalupe Cruz Pauseno<sup>1</sup>, Isabel Rodríguez Pimentel<sup>2</sup>, Florina Ramírez Vives <sup>2</sup> y María Teresa Núñez Cardona<sup>1</sup>

1 UAM Xochimilco. biologa1129@hotmail.com, mtnunez@correo.xoc.uam.mx

2 UAM Iztapalapa. isabelropi@hotmail.com, frav@xanum.uam.mx

### **RESUMEN**

Uno de los grandes problemas en las grandes ciudades es la generación alta de residuos sólidos urbanos, los cuales podrían aprovecharse para generar energía. En el presente trabajo de investigación, se aplicó la digestión anaerobia como tecnología experimental, utilizando un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos (UASB), a escala de laboratorio con la finalidad de evaluar el proceso de degradación de la materia orgánica presente en lixiviados generados por la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos y agua residual y, con ello obtener metano. Se utilizó un reactor UASB de vidrio de 0.670 litros. Este fue monitoreado en continuo durante 131 días con un tiempo de retención hidráulico de 12 horas a 30 °C. Se evaluaron la DQO (entrada y salida), la producción de biogás, el pH, alcalinidad y  $\text{NH}_4^+$  tanto del afluente como del efluente, cada 24 horas, por medio de los métodos estándares. El reactor se alimentó con agua residual y lixiviado proveniente de un reactor hidrolítico-acidogénico (FORSU). El biogás se obtuvo mediante el uso de una columna invertida con salmuera (250 g/L NaCl) y su composición ( $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ) se determinó por medio de un cromatógrafo de gases (GOW MAC) con un detector de conductividad térmica. Los resultados mostraron la eficiencia del reactor UASB para tratar afluentes con alto contenido de materia orgánica como son los lixiviados, alcanzándose altas eficiencias de remoción (90%) y un alto contenido de metano en el biogás (80%). El tratamiento de materia orgánica y aguas residuales en la producción de metano es una excelente alternativa para generar energía considerándose una solución rentable para los problemas ambientales que se tienen actualmente en los ecosistemas.

Palabras clave: reactor UASB, lixiviado, biogás, metano.

### **1. INTRODUCCIÓN**

En el Distrito Federal, con una población estimada de 8,851080 millones de habitantes (INEGI, 2010), se recolectan en promedio 17,043 toneladas de residuos sólidos urbanos al día, que representan la quinta parte de la recolección nacional (20%) de basura. Actualmente, para la disposición final de los residuos sólidos existen desde tiraderos a cielo abierto, hasta rellenos altamente tecnificados. Desafortunadamente en la Ciudad de México, no se tiene control de las emisiones líquidas (lixiviados) producidas en estos sistemas. El lixiviado es el líquido resultante de la degradación de la materia orgánica que se contamina por los componentes de los residuos cuando se infiltra y contiene desechos solubles que no son retenidos por el suelo ni se degradan química o bioquímicamente (Manahan, 2006). Investigaciones realizadas para el tratamiento de los RSU, han demostrado que los métodos utilizados con organismos anaerobios, frente a tecnologías convencionales (rellenos sanitarios) y métodos biológicos (compostaje) ofrecen ventajas económicas atractivas (Miranda *et al.*, 2001), además de ser los más adecuados ya que permiten

reducir la materia orgánica, también es posible generar biogás y materiales que pueden ser aprovechados como mejoradores de suelos. Por otro lado, con la recirculación de los lixiviados formados, es posible acelerar la degradación de los RSU. En el presente trabajo de investigación, se aplicó la digestión anaerobia como tecnología experimental, utilizando un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos (UASB), a escala de laboratorio con el fin de evaluar la degradación de la materia orgánica presente en lixiviados tratados en el gestor anaerobio y cuantificar la producción de metano generado durante este proceso.

## 2. TEORÍA

Al inicio del proyecto se utilizó un reactor UASB de vidrio con capacidad de 950 ml con un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 12 horas, se evaluó la DQO de la entrada y salida del reactor y se cuantificó la concentración de biogás. Fue operado con inóculo de lodos granulares y alimentado con una mezcla de lodo residual y lixiviado en condiciones anaerobias. A partir del día 56 se cambió el reactor, utilizado uno de 670 ml de capacidad (figura 1) el cual se operó en continuo, durante 131 días, con un TRH de 12 horas a una temperatura de 30 °C; fue operado y alimentado de la misma forma que el anterior.

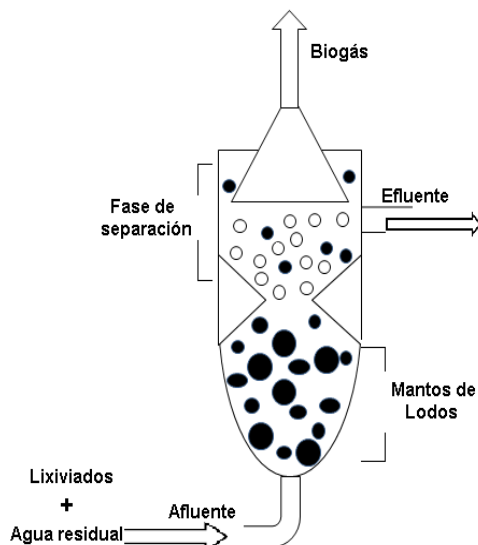


Figura 1. Reactor UASB (Up Flow Anaerobic Sludge Blanket) con capacidad de 670 ml (modificado de Noeggerath y Salinas, 2011).

Para la alimentación del reactor UASB se utilizó el lixiviado proveniente de un reactor acidogénico, que fue operado en el laboratorio de Aguas Residuales y Biotecnología de la UAM-I, donde se tratan residuos orgánicos provenientes de la cafetería de esta institución. Posteriormente se preparó una mezcla del lixiviado con el agua residual a partir de esta mezcla se hicieron registros, cada 24 horas del pH, demanda química de oxígeno (DQO), alcalinidad y amonio, tanto del afluente como del efluente. Se cuantificó además, la producción de metano.

Para determinar la DQO se utilizó el método colorimétrico de reflujos cerrados (APHA, 1995), mezclando 2.0 ml de muestra con: solución digestora y solución de ácido sulfúrico puro con sulfato de plata. La valoración de la alcalinidad se realizó en dos pasos, primero a 5.75 y posteriormente a 4.3. Tomando estos dos puntos finales de pH se definieron los parámetros de medida de la alcalinidad: alcalinidad total (AT= 4.3); alcalinidad parcial (AP=5.75), asociada a la alcalinidad al bicarbonato. La valoración se realizó con ácido sulfúrico de normalidad exacta conocida (0.1 N y 0.2 N) con medida continua del pH, hasta los dos puntos indicados.

Para cuantificar la concentración de amonio, se utilizó la técnica del electrodo selectivo de amoniaco (Phoenix electro de CO) por el método del electrodo de amonio (APHA, 1992), se utilizó una solución de hidróxido de sodio 10 N, para desprotonar el ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y formar amoniaco ( $\text{NH}_3$ ). Esto se realizó bajo agitación constante, tomando la lectura inicial y final del potencial (mV) y del pH con un potenciómetro Cole-parmer, DigiSense.

La medición de biogás, se efectuó por medio de una columna invertida en un recipiente con solución salina (pH=2), donde el volumen de la solución desplazada, corresponde al volumen de biogás producido y posteriormente su composición se determinó por cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo de gases (GOW MAC) con Detector de Conductividad Térmica (TCD).

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Durante la operación del reactor metanogénico el afluente siempre fue ajustado a pH=7, operando en condiciones favorables para la producción de metano. En cambio, en el efluente se observaron variaciones de pH con valores mayores o iguales a 8.

Determinación de DQO. Desde el arranque del reactor, previamente se había realizado una ecuación de la curva estándar de glucosa. Esta curva elaborada a partir de una solución madre con glucosa obtuvo una buena linealidad ( $R^2 \geq 0.99$ ). La remoción de materia orgánica expresada como DQO se evaluó en un TRH de 12 horas. Las variaciones de la DQO ( $\text{mg/L}$ )<sub>total</sub> en el UASB de 950 ml y la concentración tuvieron una variación en el afluente con un promedio de 7069  $\text{mg/L}$  de DQO en comparación con el efluente el cual registró un promedio de 776  $\text{mg/L}$  en base a la cantidad de materia orgánica contenida. También hubo un aumento significativo a partir del día 13. El comportamiento del UASB de 670 ml se alimentaba con lixiviados con un promedio de 7301  $\text{mg/L}$ , en cambio el efluente disminuyó con un promedio de 637  $\text{mg/L}$  (figura 2).

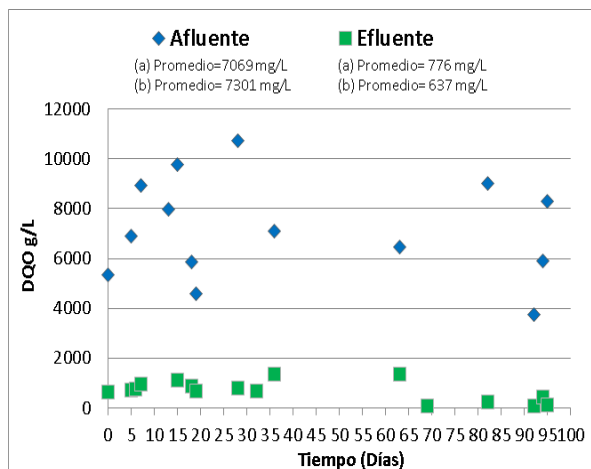


Figura 2. Variaciones del afluente y efluente de la DQO ( $\text{mg/L}$ ) en los dos reactores (a) UASB de 950 ml y (b) UASB de 670 ml.

Alcalinidad y determinación de Amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Se realizó tomando dos puntos finales de pH: AP y AT. Así mismo, se utilizó una curva estándar para la determinación de  $\text{NH}_4^+$  y se calculó mediante la aplicación de la ecuación:  $\text{Log } X = (Y - 46.954) / (-0.543)$  para el reactor UASB de 950 ml y la ecuación  $\text{Log } X = (Y - 95.155) / (-5.556)$ , para el reactor UASB de 670 ml. En la tabla 1 se muestran los resultados promedio de los parámetros medidos, en donde es evidente el aumento de pH (8.7) en el efluente con la consecuente, producción de metano. Mientras que los valores obtenidos de la

alcalinidad fueron favorables para la estabilidad del sistema ya que se mantuvo por arriba de 2500 mg/L con un ligero aumento en la producción de amonio a concentraciones no inhibitorias, tal y como lo indica Mehu (2011).

Tabla1. Resultados de los análisis del afluente y efluente del reactor UASB durante la operación.

Parámetro	Afluente del reactor UASB	Efluente del reactor UASB
pH	7.0	8.7 ± 0.35
Alcalinidad (mg de CO <sub>3</sub> )	8700 ± 610	5900 ± 203
Amonio(mg/L)	207.9 ± 186.83	273.7 ± 184.60

Medición y composición del biogas. Para la primera carga de alimentación, la DQO se mantuvo entre 16 y 18 g/L/día y se alcanzaron eficiencias altas de remoción de la materia orgánica (89-90%). La producción de metano fue de 10.5 y 11 L/Ld, observándose una disminución en la producción de éste para la segunda carga (figura 3).

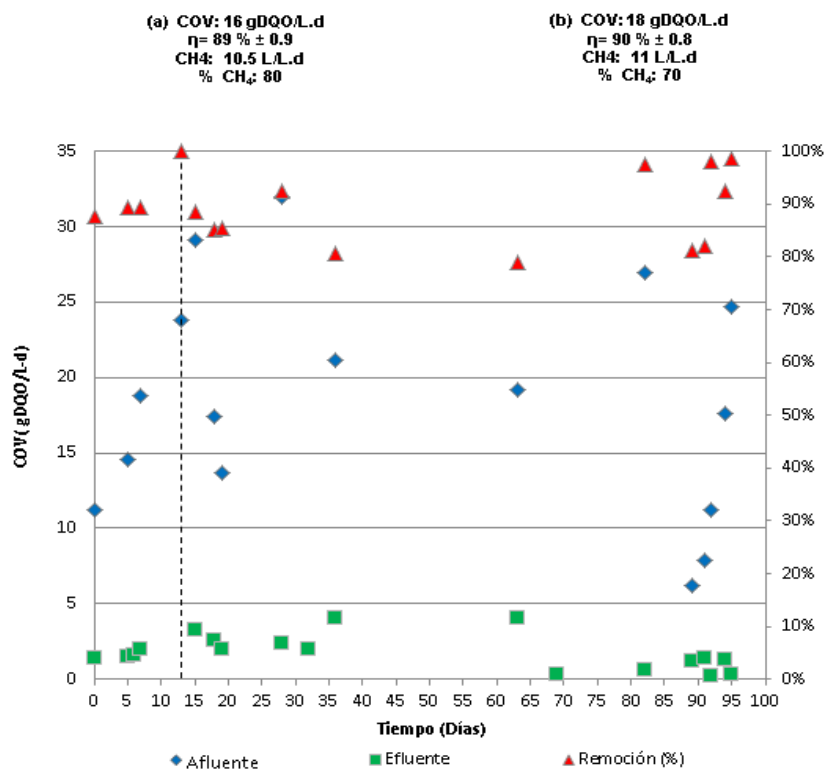


Figura 3. Funcionamiento del reactor UASB: (a) Reactor de 0.950 ml y (b) Reactor de 0.670 ml. COV: Carga orgánica volumétrica (gDQO/Ld).  $\eta$ =Eficiencia de remoción (%).  $\pm \delta$ . Tasa de producción de biogás (L/Ld) y tasa de producción de metano (%).

#### 4. CONCLUSIONES

Con la aplicación de la digestión anaerobia como tecnología experimental, se alcanzaron valores altos en la eficiencia de remoción de la DQO<sub>total</sub> y producción de metano significativa. Así mismo los valores altos de amonio registrados, se deben principalmente a la concentración de sales disueltas y metales pesados en la alimentación, permitiendo que el nitrógeno no presentara un efecto tóxico inhibitorio durante el proceso de la digestión anaerobia. Además, las altas cargas orgánicas de lixiviados y aguas residuales, con los cuales fue alimentado el reactor UASB dieron rendimientos altos de metano. Igualmente al aumentar las cargas orgánicas y reducir el tamaño del reactor se logró un aumento en la producción de biogás, corroborando que el sistema puede resistir incrementos mayores de carga orgánica, porque la biomasa inoculada es mucho mayor que en otro tipo de reactores.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. APHA, AWWA, WPCF. 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. The Public Health Association, Washington, D. C. p 67-69.
2. APHA. 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington, D. C. p 58.
3. INEGI. 2010. Disponible en [www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx) número de habitantes que viven en el Distrito Federal.
4. Manahan SE. 2006. Introducción a la química ambiental [Internet]. Reverté. Disponible en: <https://books.google.es/books?id=5NR8DIk1>
5. Mehu J. 2011. Digestión anaerobia de lixiviados de residuos sólidos urbanos en dos reactores en serie [Tesis de Especialidad]. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México. 41 p.
6. Miranda G, Poirrier P, Chamy R. 2001. Evaluación técnico-económica de la implementación de un sistema de tratamiento anaerobio de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU). XIV Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (AIDIS). Escuela de Ingeniería Bioquímica. Chile. p 9.
7. Noeggerath FIM y Salinas CMA. 2011. Análisis comparativo de tecnologías para el tratamiento de lixiviados en rellenos sanitarios [Tesis]. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana. 57 p.

## ESTUDIO COMPARATIVO DE SUSTRATOS CONVENCIONALES Y RESIDUALES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES CON APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DEL PETRÓLEO

Teresa Roldán-Carrillo<sup>a</sup>, Juan Leobardo Santiago-Rosales<sup>a</sup>, Lucero Vargas-Neri<sup>a</sup>, Gladys Castorena-Cortés<sup>a</sup> y Patricia Olguín-Lora<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas, Norte 152, San Bartolo Atepehuacán. Del. Gustavo A. Madero. 07730, México, D.F. Tel: 91756901; \*E-mail: troltan@imp.mx, leobardo\_santiago@hotmail.com

### RESUMEN

Los biosurfactantes (BS) son moléculas anfipáticas producidas por bacterias, levaduras y hongos, que incluyen péptidos, glicolípidos, lipopéptidos, ácidos grasos y fosfolípidos, con capacidad de reducir la tensión superficial (TS) e interfacial (TI) entre fluidos. Estos compuestos pueden tener aplicación en la industria del petróleo, en la recuperación mejorada de hidrocarburos vía microbiana, que utiliza microorganismos y sus bioproductos, entre ellos los biosurfactantes. Para competir con los surfactantes químicos, los BS deben tener un costo de producción bajo y ser efectivos en actividad tensoactiva; por lo que para disminuir sus costos se puede utilizar sustratos económicos, como residuos agro-industriales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de producción de biosurfactante con un microorganismo, utilizando dos tipos de sustratos, uno convencional “aceite de soya (AS)” y otro residual “aceite gastado de cocina (AGC)”. El microorganismo utilizado fue la cepa IMP-12, que corresponde a *Pseudomonas*. La producción de biosurfactante con la cepa IMP-12, se evaluó con los dos sustratos (AS y AGC) a nivel matraz, mediante la determinación de TS y la prueba de dispersión de aceite (DA). La cepa IMP-12 mostró capacidad para producir BS con ambos sustratos, mostrando un comportamiento similar en cuanto a la disminución de TS (27 mN/m). En cambio, la DA fue mejor con el AGC, produciendo halos de 9 cm, mientras que el AS produjo halos de 7 cm.

El aceite gastado de cocina es una fuente alternativa viable para la producción de biosurfactante. Al emplearse un residuo contaminante se tiene un beneficio económico y ambiental. Además el biosurfactante tiene potencial aplicación en la industria del petróleo.

### 1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de aceites vegetales se ha ido incrementando en la última década, alcanzando una producción de 168 millones de toneladas en 2014 (Oil World, 2014). Esta producción representa una cantidad semejante de residuos obtenidos después del uso de estos aceites, cuyo tratamiento implica un alto costo (Rosillo-Calle *et al.*, 2009). Estos residuos generalmente no se disponen de forma correcta y se estima que 1 L de aceite contamina 1000 L de agua (Guerrero *et al.*, 2011). Por lo anterior, la posibilidad de reutilizar estos residuos resulta interesante desde el punto de vista ambiental y económico.



Una de las aplicaciones de estos residuos puede ser en la producción de biosurfactantes (BS), la cual se ha realizado con diferentes sustratos (De Lima *et al.*, 2009; Abbasi *et al.*, 2012; Ahmed y Hassan, 2012). Los BS son moléculas biológicas (orgánicas) con propiedades surfactantes o tensoactivas producidas principalmente por microorganismos y excretados al medio extracelular. Algunas de las ventajas de los BS sobre los surfactantes químicos, son su biodegradabilidad, baja toxicidad, biocompatibilidad, especificidad y la amplia variedad de estructuras químicas disponibles (Bordoloi y Konwar 2009). Los BS tienen aplicación en varias industrias, entre ellas, la petrolera, donde existe la necesidad de contar con tecnologías eficaces, competitivas, de menor costo y que generen el mínimo impacto al medio ambiente. Dentro de estas tecnologías está la recuperación mejorada de hidrocarburos vía microbiana y los procesos de biorremediación, que utilizan microorganismos y sus bioproductos, entre ellos los biosurfactantes (Xia *et al.*, 2013).

## **2. TEORÍA**

Diversos estudios con microorganismos para la producción de biosurfactantes, indican que la cantidad y calidad de biosurfactantes producidos por este microorganismo, se encuentran influenciados por diversos factores, como la concentración de nitrógeno y de iones, el pH, la temperatura y la aireación; sin embargo, uno de los principales factores es la naturaleza de la fuente de carbono. Los surfactantes se han utilizado ampliamente para diversos fines dentro de las industrias, pero la mayoría son sintetizados de forma química. En los últimos años los biosurfactantes han adquirido una gran importancia y una gran demanda de usos debido a sus ventajas de biodegradabilidad, a que pueden ser producidos a partir de recursos renovables y su funcionalidad en condiciones extremas (Banat, 1995). Los biosurfactantes pueden ser producidos a partir de fuentes de carbono miscibles e inmiscibles, es por ello que se plantea la posibilidad de utilizar sustratos inmiscibles en agua de bajo costo, como los aceites vegetales y aceites gastados (Medina *et al.*, 2011).

El uso de fuentes de carbono residuales amplía el panorama de los biosurfactantes, ya que de ser posible el uso de estos sustratos se estaría atacando el problema de la reducción de costos de producción de biosurfactantes, además de la disminución de la contaminación por desechos de diversas industrias.

## **3. PARTE EXPERIMENTAL**

El microorganismo utilizado en este trabajo fue la cepa IMP-12, que corresponde a *Pseudomonas*. Se llevó a cabo la producción de BS con la cepa IMP-12 cultivada en diferentes sustratos miscibles (dextrosa y melaza) e inmiscibles (aceite de soya, glicerol y hexadecano) donde se evaluó la producción de biosurfactante mediante la TS. Con el mejor sustrato de la evaluación preliminar y con un sustrato residual, se hizo un estudio comparativo a nivel matraz. Se realizó una cinética en la cual se evaluó un sustrato de tipo comercial como es el AS contra un sustrato residual (AGC), para determinar la posibilidad de implementar un material de desecho como una fuente de carbono viable para la producción de BS. La cinética tuvo una duración de 72 h, con muestreos a las 0, 3, 9, 15, 18, 21, 24, 48 y 72 h, donde se evaluó la TS mediante el método de Wilhelmy con un Tensiómetro Krüss K-100 y la DA con el método de Youssef *et al.* (2004). Todos los sistemas y mediciones se realizaron por duplicado y con su respectivo control.

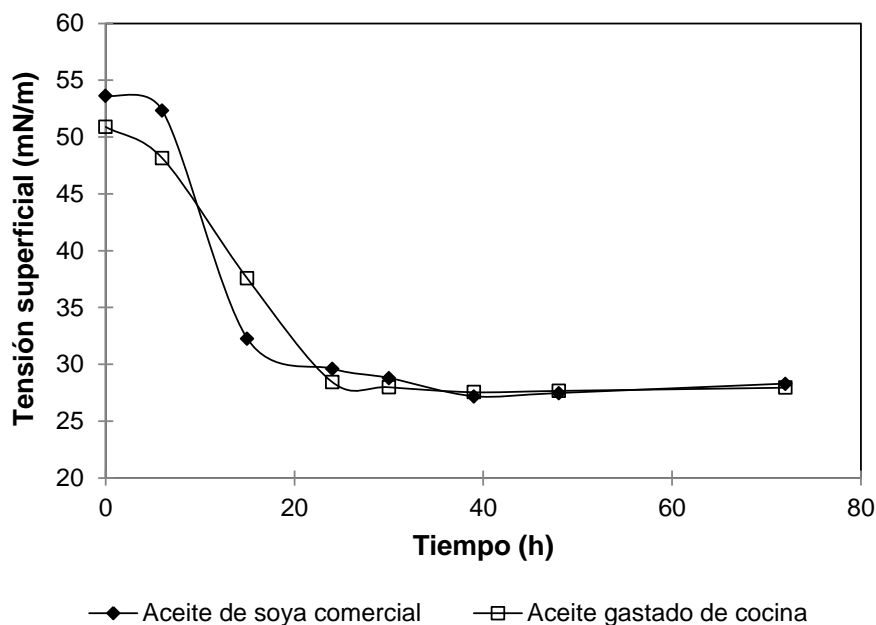
#### 4. RESULTADOS

La evaluación preliminar de la cepa IMP-12, indicó que es un microorganismo capaz de producir biosurfactantes, ya que al cultivarla con diferentes sustratos disminuye la tensión superficial (Tabla 1), con preferencia hacia las fuentes de carbono de tipo inmisible, como el aceite de soya (AS), produciendo una disminución de la tensión superficial (TS) hasta de 30 mN/m con este sustrato. Sin embargo, para disminuir el costo de producción, se evaluó la posibilidad de utilizar aceite gastado de cocina (AGC) como fuente de carbono.

**Tabla 1.** Evaluación de la producción de biosurfactante mediante tensión superficial, con la cepa IMP-12, cuando es cultivada con diferentes sustratos.

Sustrato	Tensión superficial (mN/m)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Dextrosa	66.20	58.6	54.15	42.05
Melaza	57.37	66.35	60.75	59.85
Glicerol	69.10	65.03	49.05	42.5
Aceite de soya	52.07	30.45	29.95	30.2
Hexadecano	72.59	56.2	59.84	53

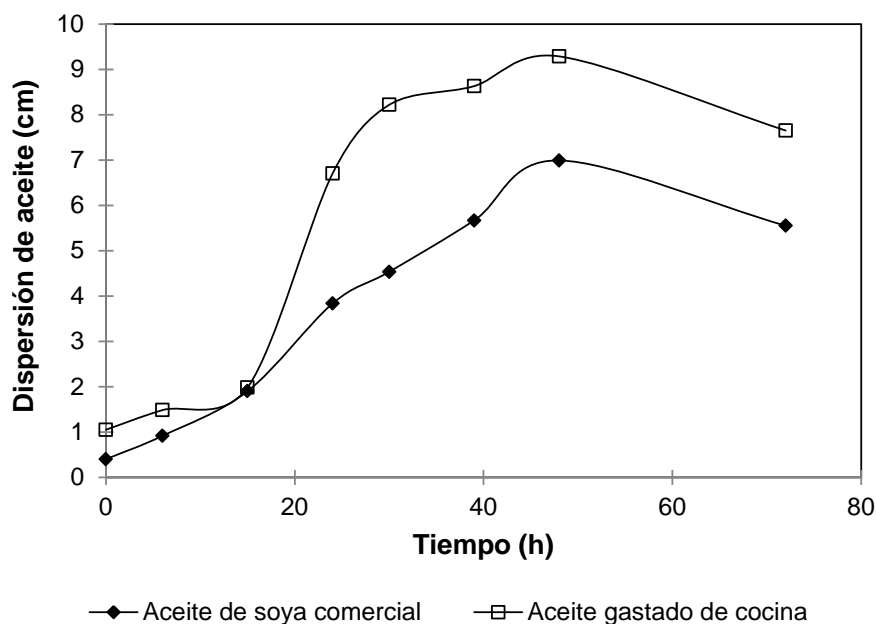
La comparación de la producción de biosurfactante con aceite de soya (AS) y con aceite gastado de cocina (AGC), se realizó mediante la evaluación de la tensión superficial (TS) como se muestra en la Figura 1, mientras que la Figura 2 muestra la dispersión de aceite (DA) que provoca el bioproducto de la cepa IMP-12. Se observó que con ambos sustratos se tiene un comportamiento similar, provocando una disminución de la TS cercana a los 30 mN/m a las 24 h y la máxima disminución de la TS (27 mN/m) se alcanzó a las 48 h. Este último valor se mantuvo estable hasta las 72 h del cultivo del microorganismo.



**Figura 1.** Evaluación de la producción de biosurfactante mediante la determinación de tensión superficial (TS), en el cultivo de la cepa IMP-12, a 30 °C con dos sustratos.

Por otro lado, al evaluar el efecto que tuvieron estas dos fuentes de carbono sobre la DA respecto al tiempo, se observó que los halos de dispersión obtenidos cuando se usa el AGC, son mayores a los obtenidos con AS comercial. Ambas cinéticas mostraron un comportamiento similar, alcanzando el halo máximo de dispersión a las 48 horas de incubación, con valores de aproximadamente 7 y 9 cm para el AS comercial y el AGC respectivamente. Esta variación en los halos de dispersión puede deberse a que el aceite gastado de cocina presenta una mayor variabilidad en la cantidad de componentes, en comparación con el aceite de soya comercial, que siempre está conformado por los mismos ácidos grasos.

Estos resultados muestran que el sustrato es determinante e importante para la producción de biosurfactantes, como ha sido reportado en otros trabajos (Akhavan *et al.*, 2005). También muestran la factibilidad de producir el biosurfactante con un residual (AGC), obteniendo valores de actividad tensoactiva similares a lo reportado para los mejores biosurfactantes con  $TS < 30$  mN/m y  $DA > 5$  cm (Youssef *et al.*, 2004). Además, utilizando sustratos de tipo residual (como el AGC), se puede disminuir el costo de producción de BS, haciendo más competitivas estas biomoléculas para su aplicación.



**Figura 2.** Evaluación de la producción de biosurfactante mediante la determinación de la dispersión de aceite (DA) en el cultivo de la cepa IMP-12, a 30 °C con dos sustratos.

## 5. CONCLUSIONES

La cepa IMP-12 mostró capacidad para producir BS con todos los sustratos evaluados, sin embargo el mejor fue AS que es un sustrato inmiscible. La comparación de la producción de BS cuando se utiliza AS y AGC como sustratos, indicó que no hay diferencia significativa cuando se determina mediante la TS, siendo similares de 27 mN/m. Pero cuando se determina mediante la DA, se observó

que el AGC tuvo mejor actividad tensoactiva, con halos de dispersión de aproximadamente el 30% más grandes.

El uso de fuentes de carbono residuales como el aceite gastado de cocina (AGC) amplía el panorama de los biosurfactantes, ya que es una fuente alternativa viable para la producción de éstos. Al ser un residual contaminante, se elimina un problema ambiental como la disminución de la contaminación por desechos de diversas industrias, con un beneficio técnico, ecológico y económico. Además, se estaría atacando el problema de costos de producción de biosurfactantes, reduciendo los mismos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abbasi H., Hamed M. M., Lotfabad T. B., Zahiri H. S., Sharafi H., Masoomi F., Moosavi-Movahedi A. A., Ortiz A., Amanlou M., Noghabi K. A. (2012). Biosurfactant-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MA01 isolated from spoiled apples: Physicochemical and structural characteristics of isolated biosurfactant, *J. Biosci. Bioeng.* 113 (2): 211-219.
2. Ahmed E. F., Hassan S. S. (2012). Effect of media composition (carbon and nitrogen sources) on the production of bioemulsifier from *Serratia marcescens* S10. *J. Biotechnol. Research Center*, 6(2): 9-14.
3. Akhavan Sepahy A., Mazaheri Assadi M., Saggadian V., Noohi A. (2005). Production of biosurfactant from Iranian oil fields by isolated *Bacilli*. *Int. J. Environ. Sci. & Technol.* 1 (4): 287-293.
4. Banat I.M. (1995). Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review. *Bioresource Technol.* 51 (1): 1-12.
5. Bordoloi, N.K. Konwar, B.K. (2009). Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons. *J. of Hazardous Materials*: 170(1):495-505.
6. De Lima C.J.B., Contiero J. (2009). Use of soybean oil fry waste for economical biosurfactant production by isolated *Pseudomonas aeruginosa* using response surface methodology. *Current Trends in Biotechnol. and Pharmacy* 3(2): 162-171.
7. Guerrero C.A., Guerrero R.A., Sierra F.E. (2011). Biodiesel Production from Waste Cooking Oil. In *Biodiesel-Feedstocks and Processing Technologies*, Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-713-0. Ch. 2, 23-44.
8. Medina, S., Jiménez, D., Gracida, J., Gutiérrez, M., Díaz, I., (2011). Modeling rhamnolipids production by *Pseudomonas aeruginosa* from immiscible carbon source in a batch system. *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 8: 471-482.
9. Oil World (2014).  
<http://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/infoboletinsemanal.aspx?IdArticulo=1084>
10. Rosillo-Calle F., Pelkmans L., Walter A. (2009). A Global overview of vegetable oils, with reference to Biodiesel.  
<http://www.bioenergytrade.org/downloads/vegetableoilstudyfinaljune18.pdf>
11. Xia W.J., Luo Z.B., Dong H.P., Yu L. (2013). Studies of biosurfactant for microbial enhanced oil recovery by using bacteria isolated from the formation water of petroleum reservoir. *Petrol. Sci. Technol.* 31: 2311-2317.
12. Youssef N. H., Duncan K. E., Nagle D.P., Savage K. N., Knapp R.M., McInerney M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactante production by diverse microorganisms. *J. Microbiol. Methods*, 56: 339-347.

## Tratamiento fotocatalítico para la decoloración de aguas residuales porcinas y su aprovechamiento para el crecimiento de microalgas

Carolina Orona-Návar<sup>a</sup>, Raúl García-Morales<sup>a</sup>, Roberto Parra<sup>a</sup>, Orily Depraetere<sup>b</sup>, Koenraad Muylaert<sup>b</sup>, Nancy Ornelas-Soto<sup>\*,a</sup>

<sup>a</sup>Centro del Agua para América Latina y el Caribe, Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey, NL 64849, México. \*e-mail: ornel@itesm.mx

<sup>b</sup>KU Leuven-Kulak, Laboratory Aquatic Biology, E. Sabbelaan 53, 8500 Kortrijk, Belgium.

### RESUMEN

El crecimiento de microalgas utilizando aguas residuales como un medio nutritivo ha sido estudiado ampliamente. Sin embargo, la relación entre la cantidad de nutrientes con la coloración de las aguas ha representado un serio problema debido a la poca penetrabilidad de luz. Varias metodologías se han ensayado para decolorar aguas residuales pero en la mayoría de los casos los tratamientos también eliminan a los nutrientes que las microalgas necesitan. En el presente trabajo, aguas residuales porcinas con y sin previo tratamiento biológico han sido empleadas en procesos de oxidación avanzada empleando luz ultra-violeta (TiO<sub>2</sub>/UV) durante 6 horas. Como resultado de la decoloración, las aguas residuales tratadas son empleadas para el posterior cultivo de *Arthrospira*. En el ensayo experimental se emplearon 1, 3 y 5 gL<sup>-1</sup> de TiO<sub>2</sub>, obteniéndose el mayor porcentaje de decoloración con 3 gL<sup>-1</sup> del catalizador, para ambas muestras. Mediciones de absorbancia UV-Vis demuestran un porcentaje decoloración de 61% – 63%. La reutilización del mismo catalizador en un subsecuente ensayo logra una decoloración del 54.5% y 59.7% para muestras con y sin tratamiento biológico, respectivamente. El método propuesto no sólo logra reducir la carga orgánica en el tratamiento de aguas residuales porcinas sino que también permite el aprovechamiento de las mismas para la producción de microalgas. Por lo anterior, el presente método permite añadir un valor agregado a las aguas residuales a través de un sencillo, económico y sustentable procedimiento que no requiere adicionar nutrientes.

### 1. INTRODUCCIÓN

El agua residual proveniente de las granjas porcinas es considerada como una de las principales fuentes de contaminación para los ecosistemas aledaños a las granjas. Tratamientos aeróbicos y anaeróbicos han demostrado ser ineficaces en la remoción de especies químicas como NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N y P. No obstante, el empleo de microalgas ha demostrado una eficiencia superior, alcanzando niveles de remoción del 95.9% y 92.9% para NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N y P, respectivamente (Ji et al., 2014).

El impacto negativo de la coloración en el medio de cultivo para microalgas ha sido estudiado por varios autores (Marcilhac et al., 2014). En particular las aguas residuales porcinas presentan altos niveles de turbidez, un hecho que dificulta una adecuada manifestación de los procesos bioquímicos en las microalgas presentes. Ozonación, coagulación, absorción, oxidación mediada por UV, entre otros, han sido utilizados con diferentes porcentajes de éxito; sin embargo, dichos métodos usualmente remueven el fósforo que las microalgas emplean como nutriente para crecer adecuadamente (Depraetere et al., 2013). Bajo tales circunstancias, métodos físico químicos han sido estudiados con la finalidad de eliminar la turbidez sin reducir la carga de nutrientes. En el presente trabajo, procesos fotocatalíticos a base de TiO<sub>2</sub>/UV fueron empleados para decolorar aguas residuales porcinas con la finalidad de conservar los nutrientes necesarios

para el crecimiento de microalgas. La metodología propuesta permite la reutilización del agua residual como medio de cultivo de *Arthrospira*.

## 2. TEORÍA

Los procesos de oxidación avanzada (POA) consisten básicamente en la formación de radicales OH altamente oxidantes, los cuales contribuyen a la mineralización de contaminantes presentes en aguas residuales. Entre los métodos POA más utilizados se encuentra la fotocatalisis con el empleo de semiconductores inorgánicos mediados por luz ultra-violeta. En particular, los métodos fotocatalíticos TiO<sub>2</sub>/UV son reconocidos debido a su bajo costo y eco-toxicidad, así como a su alta eficiencia en la remoción de sustancias húmicas en varios medios acuosos (Saggiaro et al., 2011).

El mecanismo fotocatalítico de TiO<sub>2</sub>/UV en la degradación de varios compuestos químicos es muy conocido. Brevemente, cuando una suspensión de TiO<sub>2</sub> es irradiada a longitudes de onda menores a 380 nm se generan pares electrón-hueco debido a la formación de una vacante en la banda de valencia y una ocupación en la banda de conducción. Los huecos cargados positivamente son los encargados de reaccionar con oxígeno y agua para formar a los radicales OH. Simultáneamente superóxidos y radicales OH se forman a partir de la reacción de electrones excitados con las moléculas de oxígeno. Así, las especies reactivas reaccionan con los contaminantes orgánicos provocando su oxidación. Por lo anterior, POA es una alternativa efectiva para lograr la degradación de sustancias húmicas que por lo general son las responsables de dar la coloración oscura al agua residual tratada biológicamente (Kornboonraksa et al., 2009).

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

El agua residual utilizada en este estudio fue recolectada en una granja porcina en Bélgica. Muestras representativas se tomaron en dos puntos diferentes: una antes del tratamiento biológico (AB) y otra después del tratamiento biológico (DB). Diluciones 1:5, 1:10 y 1:20 para la muestra AB y 1:10 para la muestra DB fueron preparadas para posterior filtración y remoción de sobrenadantes. 50 ml de cada una de las muestra con sus respectivas diluciones fueron colocadas en vasos de precipitado de 100 ml para posterior adición de TiO<sub>2</sub> (1, 3 y 5 gL<sup>-1</sup>). Cada reactor se colocó 15 cm debajo de una lámpara UV-C por 6 horas, manteniendo agitación constante. Cada experimento se realizó por triplicado y con sus respectivos blancos. La densidad óptica se midió a 360 nm en un espectrofotómetro, empleando 2 ml de muestra sistemáticamente tomada a lo largo del experimento; previamente a la medición, cada muestra se centrifugó (4000 rpm) por 15 min. Finalmente, la remoción de color (RC%) fue calculada de acuerdo a la ecuación 1:

$$RC = \frac{(DO_i - DO_f)}{DO_i} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

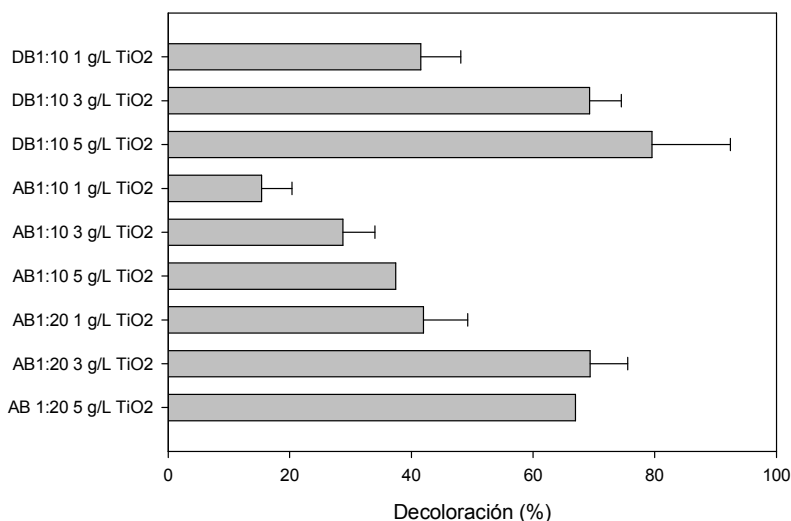
Donde DO<sub>i</sub> y DO<sub>f</sub> son las densidades ópticas medidas antes y después de la decoloración, respectivamente.

Posterior al primer tratamiento fotocatalítico, las muestras con TiO<sub>2</sub> fueron centrifugadas (4000 rpm) por 15 minutos para remover el catalizador, el cual fue posteriormente separado mediante filtración, lavado con agua destilada y secado en un horno a 60°C durante 2 horas. *Arthrospira* fue cultivada en matraces utilizando un volumen de 50 ml de medio de cultivo en agitación constante y aireación a un flujo de 5 Lmin<sup>-1</sup>. Los cultivos estuvieron sometidos a un fotoperiodo de 16:8 (luz-oscuridad) y a una temperatura constante de 20 ± 2 °C. El crecimiento de la microalga fue monitoreado midiendo la densidad óptica a 750 nm. Finalmente, dos blancos y dos medios de cultivo fueron empleados para relacionar el efecto de la penetración de la luz en el crecimiento de las algas. A

saber, (i) blancos: AB 1:20 (sin decolorar) y DB diluida 1:10 (sin decolorar), y (ii) medios: AB diluida 1:20 (decolorada con 3 gL<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub>) y DB 1:10 (decolorada con 3 g.L<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub>).

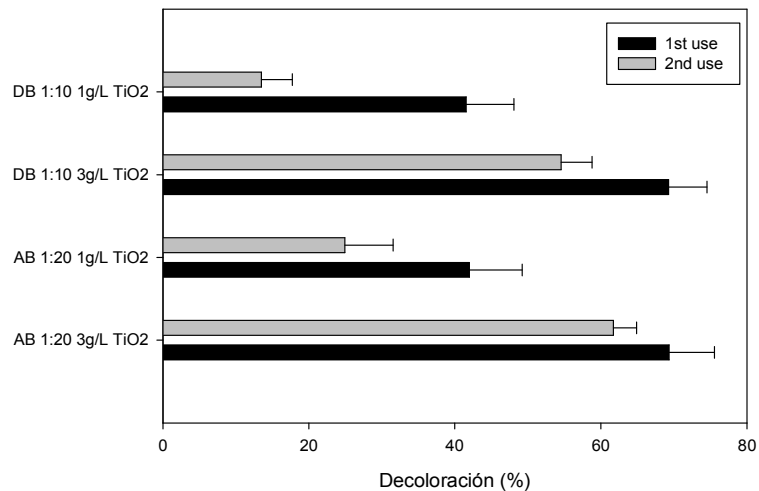
#### 4. RESULTADOS

La figura 1 muestra los resultados del tratamiento fotocatalítico (TiO<sub>2</sub>/ UV-C) aplicado al agua residual proveniente de granjas porcinas. Se observa que las muestras DB diluidas 1:10 y AB diluidas 1:20 así como las muestras tratadas con 3 gL<sup>-1</sup> fueron mayormente decoloradas (> 60 %). El porcentaje de remoción más bajo se observó en la muestra AB diluida 1:10 (aprox. 25 %); este bajo porcentaje puede atribuirse a la presencia de otras sustancias en el agua que pudieran competir por los radicales hidroxilo (Epling and Lin, 2002). En un sentido general, todas las muestras presentaron altos rendimientos en la decoloración a través del incremento de la concentración de TiO<sub>2</sub> (particularmente desde 1 a 3 gL<sup>-1</sup>); concentraciones superiores de TiO<sub>2</sub> (i.e., 5 gL<sup>-1</sup>) no mejoran los rendimientos para la decoloración y cuyos resultados son similarmente efectivos a los alcanzados con 3 gL<sup>-1</sup>. Lo anterior se ha relacionado con la saturación del medio (Assabane et al., 2000).



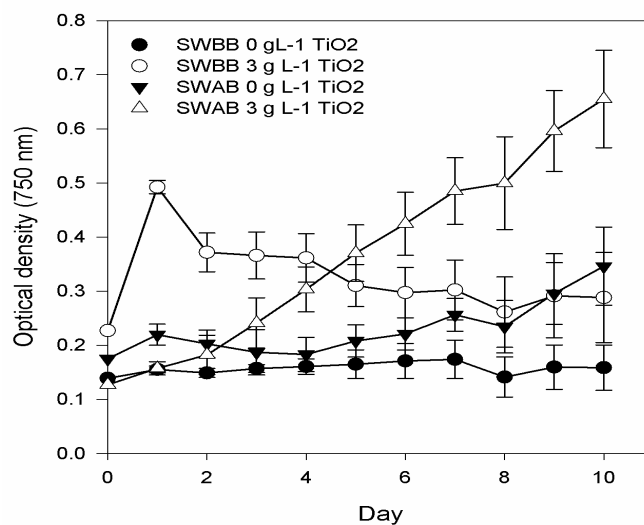
**Figura 1.** Porcentaje de decoloración de tres diferentes muestras de agua residual en función de la concentración de TiO<sub>2</sub>.

Posteriormente, las muestras DB diluidas 1:10 y AB diluidas 1:20 fueron tratadas con TiO<sub>2</sub> reusado con el fin de re-evaluar la eficiencia catalítica (en la mayoría de los experimentos se logró recuperar más del 90% de catalizador). La figura 2 muestra que los máximos porcentajes de decoloración se obtuvieron utilizando 3 gL<sup>-1</sup> de TiO<sub>2</sub> reusado para las muestras AB y DB con un 61% y 54% de eficiencia, respectivamente. La comparación entre los dos experimentos demuestra que el porcentaje de decoloración para DB y AB disminuyó 17% y 6% respectivamente. Los resultados más bajos se obtuvieron usando 1 gL<sup>-1</sup> (31% y 15% para DB y AB, respectivamente). Se ha observado que en la competencia por sitios activos, a bajas concentraciones de TiO<sub>2</sub> las impurezas pueden desactivar al catalizador, lo que conduce a la disminución en la remoción del color (Epling and Lin, 2002).



**Figura 2.** Decoloración (%) DB 1:10 y AB 1:20 con 1 y 3 g L<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> reusado.

En la figura 3 se presenta el crecimiento de *Arthrospira* en dos diferentes muestras de agua tratada, en particular AB diluida 1:20 (decolorada con 3 gL<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub>) y DB 1:10 (decolorada con 3 g.L<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub>), así como una comparación con los blancos AB 1:20 (sin decolorar) y DB diluida 1:10 (sin decolorar). Se observa que no existe crecimiento en el agua AB (sin decolorar), esto es debido a las concentraciones inhibitorias de amoníaco; por otro lado, en el agua AB (decolorada) el crecimiento notablemente aumento el primer día aunque después se redujo probablemente al agotamiento de amoniaco. En el agua DB (sin decolorar) hay un crecimiento muy lento debido al color oscuro de la muestra. La muestra AB (decolorada) mostró el mejor crecimiento, debido a la ausencia de amoniaco en grandes cantidades y a la previa decoloración (aprox. 75%).



**Figura 3:** Crecimiento de *Arthrospira* en diferentes muestras de agua tratada.



## 5. CONCLUSIONES

La fotodegradación catalítica mediante  $\text{TiO}_2/\text{UV-C}$  ha sido empleada para la remoción de la carga orgánica en el tratamiento de aguas residuales porcinas. Los estudios de degradación demuestran el alto grado de eficiencia del catalizador en la degradación de sustancias húmicas. Además, dichas aguas tratadas permiten el posterior aprovechamiento para la producción de *Arthrospira*. Por lo anterior, el presente método representa un método viable y sustentable que permite añadir un valor agregado a las aguas residuales a través de un sencillo y económico proceso. No obstante, estudios futuros deben concentrarse en el uso de catalizadores activados por luz visible a fin de ser eficientemente empleados en procesos industriales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Assabane, A., Ait, Y., Tahiri, H., Guillard, C., Herrmann, J., 2000. Photocatalytic degradation of polycarboxylic benzoic acids in UV-irradiated aqueous suspensions of titania . Identification of intermediates and reaction pathway of the photomineralization of trimellitic acid ( 1, 2, 4-benzene tricarboxylic acid ). Appl. Catal. B Environ. 24, 71–87.
- Depraetere, O., Foubert, I., Muylaert, K., 2013. Decolorisation of piggery wastewater to stimulate the production of *Arthrospira platensis*. Bioresour. Technol. 148, 366–72. doi:10.1016/j.biortech.2013.08.165
- Epling, G. a, Lin, C., 2002. Investigation of retardation effects on the titanium dioxide photodegradation system. Chemosphere 46, 937–44.
- Ji, F., Liu, Y., Hao, R., Li, G., Zhou, Y., Dong, R., 2014. Biomass production and nutrients removal by a new microalgae strain *Desmodesmus* sp. in anaerobic digestion wastewater. Bioresour. Technol. 161, 200–7. doi:10.1016/j.biortech.2014.03.034
- Kornboonraksa, T., Lee, H.S., Lee, S.H., Chiemchaisri, C., 2009. Application of chemical precipitation and membrane bioreactor hybrid process for piggery wastewater treatment. Bioresour. Technol. 100, 1963–1968. doi:10.1016/j.biortech.2008.10.033
- Marcilhac, C., Sialve, B., Pourcher, A.-M., Ziebal, C., Bernet, N., Béline, F., 2014. Digestate color and light intensity affect nutrient removal and competition phenomena in a microalgal-bacterial ecosystem. Water Res. 64, 278–87. doi:10.1016/j.watres.2014.07.012
- Saggiaro, E.M., Oliveira, A.S., Pavesi, T., Maia, C.G., Ferreira, L.F.V., Moreira, J.C., 2011. Use of titanium dioxide photocatalysis on the remediation of model textile wastewaters containing azo dyes. Molecules 16. doi:10.3390/molecules161210370

## OBTENCIÓN DE MONOLITOS A BASE DE DIÓXIDO DE SILICIO MEDIANTE EL PROCESO SOL-GEL

M.A. Jaimes-Ojeda<sup>a</sup>, O. Gutiérrez-Arriaga<sup>a</sup>, R. Huirache-Acuña<sup>b</sup>, L.A. Madrigal-Pérez<sup>a</sup>, W.I. Cortés-Cruz<sup>a</sup>, L.Y. Soria-Leal<sup>a</sup>, N. Ortega-Sánchez<sup>a</sup>, C.G. Gutiérrez-Arriaga<sup>c</sup>, J.J. Guillén-Arroyo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Hidalgo, Cd. Hidalgo; Mich., any\_18790@hotmail.com, omar\_ga\_79@hotmail.com, luis-madrigal1@hotmail.com, wal\_ace@hotmail.com, liz.soria@hotmail.com, ortegasanchez01@hotmail.com, jguillen@itsch.edu.mx

<sup>b</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich., rafael\_huirache@yahoo.it

<sup>c</sup>Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Mich., cesargiovani7@hotmail.com

### RESUMEN

El presente trabajo de investigación se enfoca en la preparación de monolitos a base de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) a partir del proceso sol-gel, empleando como precursor tetraetil ortosilicato (TEOS). La solución inorgánica se establece a  $20^\circ\text{C}$ , 300 rpm, con relación molar de reactivos determinada, concentración de catalizador fija; y posteriormente se realiza el proceso de secado y densificado a la solución inorgánica gelada. Se usará un diseño factorial  $2^4$  para encontrar los parámetros de relación molar de reactivos, así como secado y densificado, en la solución inorgánica precursora, que optimicen química y físicamente al monolito obtenido. Se determinará la viscosidad y pH, en la solución inorgánica en función del tiempo. Por Espectroscopia IR/ATR, se identificará la estructura molecular y absorbancia de luz infrarroja en los monolitos de  $\text{SiO}_2$ . Por SEM, se determinará cuantitativamente los elementos presentes en los monolitos inorgánicos, mediante microanálisis.

### 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen diversos tipos de monolitos inorgánicos como: El monolito de sílice, borosilicato, plomo y sódico; que son fabricados para ser empleados en aplicaciones ópticas, energéticas, electrónicas o biotecnológicas. El monolito de sílice que contiene 97 y 3% en peso de dióxido de silicio y trióxido de boro ( $\text{SiO}_2$  y  $\text{B}_2\text{O}_3$ ), en su composición química, respectivamente; se emplea en crisoles y revestimientos para hornos de alta temperatura por su bajo coeficiente de dilatación térmico de  $2 \times 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$  (punto de fusión a  $1500^\circ\text{C}$ ). Tiene una transmitancia de luz visible de 82% a través de este material. El monolito de borosilicato que contiene principalmente 86 y 6% en peso de  $\text{SiO}_2$  y  $\text{B}_2\text{O}_3$ , en su composición química, respectivamente; se emplea en material de laboratorio por su bajo coeficiente de dilatación térmico de  $5 \times 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$  (se funde a  $1350^\circ\text{C}$ ) y su alta transmitancia de luz visible de 90% [1]. El monolito de plomo que contiene 64 y 28% en peso de  $\text{SiO}_2$  y dióxido de plomo ( $\text{PbO}_2$ ), respectivamente; se emplea en lentes prismáticos por su alta transmitancia de luz visible de 93% y, por lo tanto, una alta dispersión de esta luz a través de este material. Tiene un alto coeficiente de dilatación térmico de  $12 \times 10^{-5} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$  (se funde a  $500^\circ\text{C}$ ). El monolito sódico que contiene 74 y 18% en peso de  $\text{SiO}_2$  y monóxido de sodio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ), respectivamente; se emplea en ventanas para casas o parabrisas para automóviles por su alta transmitancia de luz visible de 92%. Tiene un alto coeficiente de dilatación térmico de  $9 \times 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$  (se funde a  $800^\circ\text{C}$ ) [2]. Sin embargo, estos tipos de monolitos, a excepción del monolito de sílice, contienen además potasio y calcio en forma de óxidos, en su composición. Asimismo; el  $\text{SiO}_2$ , que es la materia prima básica, incrementa la resistencia a la fractura, en mayor grado que el  $\text{B}_2\text{O}_3$ , y por tanto la resistencia al choque térmico en el material. El  $\text{PbO}_2$ , incrementa la densidad. El  $\text{Na}_2\text{O}$ , decremente la resistencia a la fractura, en menor grado que el monóxido de potasio ( $\text{K}_2\text{O}$ ). El monóxido de calcio ( $\text{CaO}$ ), incrementa la resistencia a solventes. Cuando el  $\text{Na}_2\text{O}$  está presente en la composición química del monolito, este tiende a debilitar los enlaces de la molécula Si-O-Si (donde el átomo de oxígeno se mueve transversalmente), rompiéndolos y promoviendo las vibraciones longitudinales de estos. En cambio; el  $\text{B}_2\text{O}_3$ , que se incorpora a la estructura como Si-O-B, permite un mayor movimiento transversal del átomo de oxígeno en esta. Generalmente, las

técnicas de procesamiento de monolitos inorgánicos (como manufactura mecanizada, fusión, prensado o recocido) son bastantes caras, complicadas y generadoras de impurezas en la obtención del material resultante.

El SiO<sub>2</sub> es un compuesto inorgánico que se encuentra ordenado tridimensionalmente, en forma de red, y que presenta bajo coeficiente de dilatación térmico de  $1 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$  (punto de fusión a 1650°C), alta densidad (2.63 g/cm<sup>3</sup>), buenas propiedades mecánicas, buena estabilidad química (resistencia a inertes) y características totalmente amorfas [3].

La tecnología sol-gel es generalmente usada para producir nuevos nanomateriales con estructuras bien definidas y formas complejas a partir de la síntesis de redes inorgánicas u orgánicas-inorgánicas. El proceso permite el control de la distribución de los componentes en moléculas, a través de una pre-orientación de la red; involucrando la formación de fases minerales a partir de precursores moleculares solubles, seguida de la reacción de polimerización inorgánica, a temperatura ambiente, en presencia de agua y/o solventes orgánicos, en un amplio rango de condiciones pH/fuerza iónica [4]. Se usa para sintetizar fibras, recubrimientos y monolitos. La síntesis de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> se puede llevar a cabo a partir de la condensación. Las nanopartículas crecen y producen soles que pueden depositarse sobre un sustrato para generar un recubrimiento por *spin coating*, formar monolitos por moldeo u obtener fibras por síntesis de nanoesferas. El proceso sol-gel reduce los costos, produce materiales homogéneos con alto grado de pureza y bajo consumo de energía, permite la incorporación de grupos orgánicos para la obtención de materiales híbridos orgánicos-inorgánicos. Asimismo, tiene aplicaciones mecánicas y biomédicas, entre otras por mencionar [5].

La naturaleza del precursor, relación molar entre los reactantes, concentración del catalizador, temperatura y agitado en la síntesis, y el proceso de secado y densificado, son parámetros que influyen en las propiedades estructurales y texturales del material resultante [6].

El precursor es tetraetil ortosilicato (TEOS). Las formulaciones para las soluciones de TEOS-agua-etanol, en relación molar, en la formación de monolitos [7], se describen en la Tabla 1. Las soluciones se mezclaron a temperatura baja (20°C), con la cantidad de catalizador ácido de 0.01 M de HCl por mol de TEOS.

**Tabla 1** Formulaciones, en relación molar, para las soluciones TEOS-agua-etanol, en la formación de monolitos

Formulación	Moles por mol de TEOS		
	TEOS	Agua	Etanol
7	1	10	3
8	1	16	4
9	1	20	1

Los diseños factoriales se usan ampliamente en experimentos que incluyen varios factores cuando es necesario estudiar el efecto conjunto de los factores sobre una respuesta. Sin embargo, existen diversos casos especiales del diseño factorial general que son importantes debido a su uso generalizado en el trabajo de investigación y porque constituyen las bases de otros diseños de considerable valor práctico. El más importante de los casos especiales es el de k factores, cada uno con sólo dos niveles. Los niveles pueden ser cuantitativos, como dos valores de temperatura, presión o tiempo, o bien cualitativos, como dos máquinas, dos operadores, los niveles “alto” y “bajo” de un factor, o quizá la presencia o ausencia de un factor. Una réplica completa de este diseño requiere  $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$  observaciones y se le llama diseño factorial  $2^k$ . El diseño  $2^k$  es de particular utilidad en las etapas iniciales del trabajo experimental, cuando probablemente se estén investigando varios factores; además que proporciona el menor número de corridas para estudiar k factores en un diseño factorial completo. Por consiguiente, estos diseños se usan ampliamente en los experimentos de tamizado o selección de factores. La respuesta es aproximadamente lineal en el rango elegido para los niveles de los factores, debido a que sólo existen dos niveles para cada factor [8].

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

En el presente subcapítulo se describen los reactivos y solvente, que se emplearán experimentalmente. Posteriormente se menciona el procedimiento para la síntesis del monolito inorgánico a base de SiO<sub>2</sub> mediante el proceso sol-gel.

### 2.1. Reactivos y solvente

Tetraetil ortosilicato (tetraethyl orthosilicate, Reagent Grade; TEOS, 98%, Sigma-Aldrich, 78-10-4). Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Líquido incoloro, con consistencia ligeramente viscosa, e inflamable químicamente. Mediante contacto directo en piel, ojos, por inhalación o ingestión; causa piel seca, enrojecimiento, vértigo y confusión; respectivamente. Se almacena en áreas con temperatura baja. Agua (agua destilada, 99+%, Comeli, 7732-18-5). Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Líquido incoloro e inodoro. Sin riesgos especiales. Se almacena en áreas con temperatura ambiente. Etanol (alcohol etílico absoluto, 99%, J.T. Baker, 64-17-5). Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Líquido incoloro e inflamable químicamente. Mediante contacto directo en piel, ojos, por inhalación o ingestión; causa irritación, enrojecimiento, náuseas e intoxicación; respectivamente. Se almacena en áreas con temperatura baja. Ácido clorhídrico (hydrogen chloride, ReagentPlus; HCl, 99+%, Sigma-Aldrich, 7647-01-0). Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Líquido ligeramente amarillo, con consistencia ligeramente viscosa y olor penetrante. Mediante contacto directo en piel, ojos, por inhalación o ingestión; causa dermatitis, irritación, inflamación y corrosión; respectivamente. Se almacena en áreas con temperatura ambiente.

En la Tabla 2, se indican las propiedades químicas de los reactivos y solvente que se emplearán experimentalmente en el trabajo de investigación.

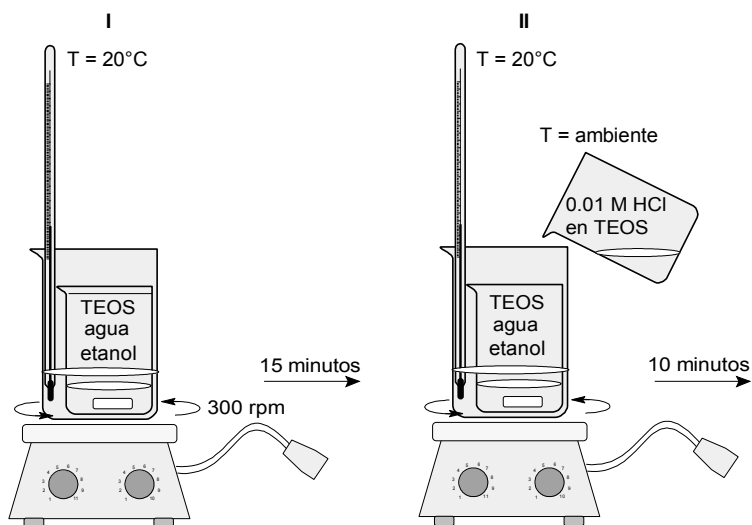
**Tabla 2** Propiedades químicas y compañías proveedoras de los reactivos y solventes

Reactivos y solvente	Formula	d (g/cm <sup>3</sup> )	FW (g/mol)	b.p. (°C)	m.p. (°C)
TEOS	C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> SiO <sub>4</sub>	0.9330	208.33	168	-77
Agua	H <sub>2</sub> O	1.0000	18.02	100	0
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	0.7890	46.06	78	-114
HCl	HCl	1.2000	36.46	85	-114

*d*=densidad; *FW*=peso formula; *b.p.*=punto de ebullición; *m.p.*=punto de fusión.

### 2.2. Monolito de SiO<sub>2</sub> por sol-gel

El SiO<sub>2</sub> se prepara, inicialmente, mezclando TEOS, agua y etanol a 20°C y 300 rpm, durante 15 minutos aproximadamente, para abrir paso a la reacción de hidrólisis durante el proceso sol-gel. La reacción de hidrólisis permite la formación de los grupos silanoles, Si(OH)<sub>4</sub>, en el sistema. Posteriormente, se prepara una solución con 0.01 M de HCl por mol de TEOS, a condiciones ambientales, para adicionarla a la mezcla anterior al término de los 15 minutos y abrir paso al proceso rápido en la reacción de hidrólisis en esta solución inorgánica. La solución se deja agitando durante 10 minutos aproximadamente a 20°C (Figura 1). El HCl tiene la función de agilizar la ruptura de enlaces de las moléculas de agua para permitir su reacción instantánea con la molécula del TEOS. Además de la reacción de hidrólisis se lleva a cabo simultáneamente la reacción de condensación, donde los grupos Si(OH)<sub>4</sub> reaccionan entre sí para formar la red de O-Si-O o polímero inorgánico (SiO<sub>2</sub>).



**Figura 1** Preparación de la solución inorgánica por el proceso sol-gel

La solución inorgánica, después de 10 minutos de agitación, se introduce a una estufa programable, a una temperatura por debajo de la temperatura de ebullición del etanol, para realizar su proceso de secado y, posteriormente, a un horno, a una temperatura por debajo del punto de fusión del  $\text{SiO}_2$ , para efectuar su proceso de densificado.

### 2.3. Matriz de diseño

Con base a lo descrito anteriormente, los parámetros o factores a considerar en el diseño factorial  $2^k$  son: La relación molar de reactivos (agua y etanol), proceso de secado y densificado, en la solución inorgánica. Por lo tanto, se suponen cuatro factores de interés: A, B, C y D; cada uno con dos niveles; denominando al diseño experimental como diseño factorial  $2^4$ , y utilizando la notación “+” y “-” para representar los niveles alto y bajo de los factores. A las dieciséis corridas del diseño  $2^4$ , se le conoce como matriz de diseño (Tabla 3).

**Tabla 3** Matriz de diseño, en el diseño factorial  $2^4$

Corrida	Factor			
	A	B	C	D
1	+	-	-	-
2	-	-	-	-
3	+	-	-	+
4	-	-	-	+
5	+	-	+	-
6	-	-	+	-
7	+	-	+	+
8	-	-	+	+
9	+	+	-	-
10	-	+	-	-
11	+	+	-	+
12	-	+	-	+
13	+	+	+	-
14	-	+	+	-
15	+	+	+	+
16	-	+	+	+

Realizando la ampliación de notación de las etiquetas, las combinaciones de los tratamientos en el orden estándar se escriben como: (1), a, b, ab, c, ac, bc, d, ad, bd, cd, abc, acd, bcd, abd, y abcd. Los símbolos representan también el total de las n observaciones efectuadas con la particular combinación de tratamientos.

### 3. CONCLUSIONES

Como conclusiones esperadas se pretende establecer las formulaciones químicas que permitan y promuevan la buena presencia química (contenido) y física (aparición) del monolito, a partir de un diseño y análisis experimental. Asimismo, obtener un monolito de SiO<sub>2</sub> con alto grado de pureza, alto rendimiento y fácil reproducibilidad mediante el proceso sol-gel. Sin embargo, se espera que la viscosidad, a 20°C, presente dos niveles de comportamiento; donde en el primero permanece constante, mientras que en el segundo nivel se incrementa considerablemente debido a la interacción molecular instantánea de los grupos Si(OH)<sub>4</sub> que son originados en la reacción de condensación. Mientras tanto, se pretende que el pH manifieste incrementos no considerables debido a la posible asociación de los protones H<sup>+</sup>, proveniente del catalizador, con las moléculas de TEOS. También, por espectroscopia IR/ATR, se pretende verificar principalmente la existencia de los grupos silanol, etoxi, y siloxanos, en el monolito inorgánico de SiO<sub>2</sub>, así como su absorbancia de luz infrarroja. Finalmente, por SEM, se espera verificar la posible ausencia de porosidad en la morfología superficial del monolito; asimismo determinar cuantitativamente los elementos presentes en el material obtenido.

### BIBLIOGRAFÍA

1. D. Ehr, R. Keding, "Electrical conductivity and viscosity of borosilicate glasses and melts", *Physics and Chemistry of Glasses: European Journal of Glass Science and Technology Part B*, Vol. 50, 2009, 3, pp. 165-171.
2. S.F. McClure, C.P. Smith, W. Wang, M. Hall, "Identification and durability of lead glass-filled rubies", *Gems and Gemology*, Vol. 42, 1, 2006, pp. 22-34.
3. W.H. Azmid, K.V. Sharma, P.K. Sarma, R. Mamat, S. Anuar, L.C. Sundar L.C., "Numerical validation of experimental heat transfer coefficient with SiO<sub>2</sub> nanofluid flowing in a tube with twisted tape inserts", *Applied Thermal Engineering*, Vol. 73, 2, 2014, pp. 296-306.
4. G. Pozo, A.M. Condó, S.E. Urreta, S.P. Silvetti, M.C. Aguirre, "Ni<sub>0.5</sub>Zn<sub>0.5</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles dispersed in a SiO<sub>2</sub> matrix synthesized by sol-gel processing", *Materials Characterization*, Vol. 74, 2012, pp. 17-27.
5. A. Dima, F.G. Della, C.J. Williams, K.G. Watkins, G. Dearden, N. O'Hare, M. Casalino, I. Rendina, M. Dima, "Silicon nano-particles in SiO<sub>2</sub> sol-gel film for nano-crystal memory device applications", *Microelectronics Journal*, Vol. 39, 2, 2008, pp. 768-770.
6. C. Hu, P. Liu, "Preparation and microwave dielectric properties of SiO<sub>2</sub> ceramics by aqueous sol-gel technique", *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 559, 2013, pp. 129-133.
7. L.C. Klein, "Sol-gel processing of silicates", *Ann. Rev. Mater. Sci.*, Vol. 15, 1985, pp. 227-248.
8. D.C. Montgomery, "Diseño y análisis de experimentos" (Limusa Wiley, segunda edición, México, D.F., 2004), Capítulo 10, pp. 304-320.

## **POLÍTICAS PÚBLICAS AMBIENTALES METROPOLITANAS: VULNERABILIDAD PARA LOS ECOSISTEMAS Y LOS AGROECOSISTEMAS.**

Pedro Ángeles Juárez<sup>a</sup>, M. González-Ibarra<sup>b</sup>, A. Malpica Sánchez<sup>b</sup>, M.P. Domínguez-Echeverría<sup>b</sup>,

<sup>a</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México., [peteangelesj@hotmail.com](mailto:peteangelesj@hotmail.com)

<sup>b</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco Calzada del Hueso 1110, [mjibarra@correo.xoc.uam.mx](mailto:mjibarra@correo.xoc.uam.mx)

### **RESUMEN**

Introducción: Aunque en los planes y programas gubernamentales para la conservación y el manejo de los recursos bióticos, subyace el paradigma del desarrollo sustentable, lo cierto es que predomina el dominio de la política económica sobre la política social. Siendo el medio ambiente parte de la segunda política, empero, aquellas actividades de corte urbano e industrial generan mayor valor tanto social como económico, que las rústicas actividades del sector primario. En su forma oculta relacional El Capital, mediante el aparato de Estado genera políticas tales como la energética, tierra, hídrica, que encierran en sí políticas que se traducen en políticas ambientales. Como instrumento teórico- metodológico de análisis exploramos el concepto de *renta de la tierra* que Marx describe en el capítulo del Capital *La Acumulación Originaria*, Marx (1999). En la búsqueda de evidencias empíricas, como estudio de caso, analizamos los efectos que las políticas urbanas tienen en una región adyacente a la Ciudad de México, esto es el Valle del Mezquital en Hidalgo; entre los resultados encontrados observamos que sus impactos se traducen a conflictos socio- ambientales, así como mecanismos de resistencia por parte de quienes ahí viven. Adelantamos entre las conclusiones que sin una visión integral y holística, que integre la relación campo-ciudad, lo rural-urbano, lo agrícola-industrial como partes complementarias, se seguirán emitiendo políticas gubernamentales y no públicas, pues lejos de solucionar problemas públicos acotados, lo que se hace es arrojar a otros espacios los problemas en una relación de subalternidad, lo cual pone en riesgo y vulnerabilidad las culturas campesinas, su agrobiodiversidad y sus ecosistemas naturales.

**FUNDAMENTOS TEÓRICOS:** Dentro de las actuales estrategias de acumulación del Capital para la obtención de mayores ganancias, los territorios-región son sometidos a su lógica, para ello, utiliza el aparato de Estado, que dicho sea de paso, en nuestro país transitó de un estado social a un estado de capital o competencia (Hirsch, 2001). Edifica en su forma oculta (relacional) una maquinaria integrada donde entran materias primas, medios de producción, trabajo, vías de comunicación, infraestructura y naturaleza, mismas que se expresan a través de diversas políticas gubernamentales tales como energética, de la tierra, hídrica, alimentaria, industrial, urbana, desarrollo rural, etc., las cuales encierran en sí políticas ambientales integradas en sistemas complejos. Las actuales políticas públicas ambientales metropolitanas giran en torno a la reproducción del Capital, se concentran en actividades de tipo urbano-industrial, así través del mercado ambiental favorecen un modelo económico dominante basado en la depredación caracterizado por el abuso de consumo de combustibles fósiles que lejos de su reducción lo incrementa, el fácil cambio del uso del suelo (land use-land cover), la agenda ambiental metropolitana del uso del agua, su abasto y su desecho, impactan a regiones adyacentes a la megaurbe. En esta dinámica los espacios región atrapados en la zona megalopolitana de la Ciudad de México se encuentran un alto grado de vulnerabilidad tanto económica por el aumento

de la pobreza (rural y urbana) social, por el rompimiento de redes de sociabilidad, cultural, por la pérdida de identidades (anomia) y ambiental que se expresa en la degradación del espacio biofísico, donde ecosistemas y agroecosistemas son substituidos por la siembra de varillas y concreto.

**OBJETIVO:** Describir y analizar el papel de las regiones campesinas en la zona megalopolitana, analizar el efecto de las políticas neoliberales en el campo mexicano, observar las transformaciones de los sistemas productivos, la redefinición de los territorios y señalar las alternativas en el manejo, conservación y rehabilitación de ecosistemas y agroecosistemas como propuesta endógena viable, pues el papel de los campesinos es estratégico para lograr un desarrollo compatible y sustentable, sin ellos los protagonistas principales dichos planes y programas quedan desdibujados.

**METODOLOGÍA:** Nuestro instrumento teórico – metodológico de análisis se sustenta en torno al concepto *renta de la tierra* expuesto por Marx (1999). En la búsqueda de evidencias empíricas como estudio de caso analizamos la región conocida como Valle del Mezquital en su porción industrial correspondiente al corredor industrial Tula-Tepeji o Región Tula.

Utilizamos un enfoque metodológico con base en información cualitativa, de corte etnográfico centrado en el actor rural o campesinado, los instrumentos de recopilación de información fueron entrevistas con informantes clave, observación participante y revisión documental en periódicos regionales.

**RESULTADOS.** En el imaginario social prevalecía la idea de que en el Valle del Mezquital, región otomí, habría que llevarles el desarrollo, entendido como crecimiento económico, con capital inglés a finales del siglo XIX se edificaron cementeras para aprovechar la piedra caliza, posteriormente el Estado mexicano impulsó que sus tierras secas fueron inundadas con aguas negras, en el último tercio del siglo XX, la vocación industrial se consolidó con la apertura de la Refinería Miguel Hidalgo y la Termoeléctrica y la edificación del corredor industrial. Hoy se presenta como una zona altamente contaminada, carente de agua potable para los pobladores, pero no para las empresas, lugar donde se tiene lugar dos tipos de agricultura una comercial y otra de subsistencia, de semillas criollas y campesinos pobres.

La interrelación entre los sistemas industriales, el medio social comunitario y los ecosistemas agrícolas y ecosistemas naturales se viven como un todo integrado, un espacio región donde para algunos campesinos, las fábricas representan integración al mercado laboral, de orgullo y pertenencia a una empresa, el abandono a una vida rural pobre, pero con algo de nostalgia por los territorios cedidos a medio industrial, así, se habla de una adaptación consistente en ser obrero-campesino, manifiestan una resistencia cotidiana consistente en hablar la lengua de la comunidad, sabotear el trabajo, el robo hormiga (segetas, clavos, artículos de consumo), perder el tiempo, hacer chistes y chismes de los jefes, pero no la confrontación directa. Sin embargo, a nivel comunitario ha habido conflictos socioambientales, algunos con larga duración y lucha por un medio ambiente limpio con confrontación directa como se observa en la tabla 1.

La incorporación de tierras ejidales al mercado inmobiliario transformó pastizales en unidades habitacionales. Observamos cómo a nivel regional no solamente hay transformaciones físicas - espaciales, sino también culturales, pues el campesino que había sido dotado de tierra ejidal en la época cardenista, para finalizar el siglo XXI buscaba afanosamente vender sus predios. Encontramos que hay una vulnerabilidad campesina se presenta en forma cuádruple: económica, social, cultural y ambiental, materializada en la pérdida de suelos y espacios productivos y ecológicos: se registran mayores índices de urbanización misma que aumenta la resequedad regional, y afecta la resiliencia del suelo como sistema vivo. La disminución en la cubierta vegetal abona el alto grado de susceptibilidad de erosión hídrica y eólica. La política agropecuaria en



contra del campesino significa más asentamientos irregulares, modificación de cubierta vegetal, modificación del ciclo hidrológico, disminución de la calidad del agua de consumo humano, pérdida de resiliencia de ecosistemas naturales, pérdida de especies animales y vegetales.

Tabla 1. Problemáticas Socio-ambientales de la Región Tula-Tepeji.

Sitio	Contaminante	Agente causal	Respuesta campesina
Presa Requena 1	Boro, Fierro, Manganeso, Salmonella, Ascaris	Desconocido	No hubo
Rio Tepeji – Presa Requena	Plomo, zinc, cobre, bacterias coliformes, exceso de materia orgánica en descomposición	Desconocido	No hubo
Presa Requena 2	Pigmentos tóxicos, grasa, plumas, sangre, vísceras,	Empresas Tepeji: Franel, Pligrims Pride, Acabados Vivian, Rubíes de México, Promotora textil, La Josefina, Eurotextil, acamex,	Denuncias
Canal Presa Endhó	Tuloendiamino 30 mil litros derramados	Ferrocarriles Mexicanos	Denuncias
Rio Coxcomate Santiago Tlautla	Desechos de pollo Blanqueadores, colorantes, amonio, azul iñigo	Pilgrims Pride Franel, Zaga, Salmitex, Hadamex, Pilgrims Pride	Denuncias Bloqueo autopista, denuncias
Tierras agrícolas de Tlamaco y Progreso	Aguas residuales	Koch, Milpa Real, Bimbo, Cargill Foods	Denuncias, bloqueos, pintas
Canteras desocupadas en Conejos Atotonilco de Tula	Lodos tóxicos desactivados	Refinería Miguel Hidalgo	Quejas por mal olores

**DISCUSIÓN.** La concentración del poder económico-político de las actividades urbano e industrial sobre las de origen rural ha desmantelado la base productiva de las regiones cercanas a la megalópolis. El diseño e implementación de instrumentos jurídicos ambientales lejos de favorecer la conservación de espacios verdes ya sean ecológicos y agroecosistemas son afectados por la entropía que generan la actividad urbano-industrial: la política hidráulica de desecho de aguas negras a otras regiones actúa como un agente de vital importancia en las actividades agropecuarias, si bien consolida los distritos de riego mediante la producción de alfalfa, chile, maíz, afecta la salud de los ecosistemas y de las personas; La política de descentralización industrial al Valle de México afecta mediante contaminación atmosférica, desafortunadamente estos índices de contaminación no son monitoreados por autoridades ambientales, a esta contaminación se une la generada por el tráfico vehicular. Actualmente desde las diversas instancias de gobierno, en la construcción de políticas públicas ambientales se sigue un patrón fragmentado, no hay integración de una política megalopolitana, no hay una visión integral ni de totalidad de un territorio amplio que abarque estados, municipios, localidades, los diversos ecosistemas y agroecosistemas que ahí se encuentran, la diversidad y presencia de grupos étnicos, formas de propiedad de la tierra y formas de cosmovisión. La gestión ambiental se aplica al “buen” criterio del gobernante en turno, no hay acuerdo en la construcción de una agenda ambiental común, por otro lado, las diversas instituciones del gobierno en su nivel federal, estatal o municipal se subsumen a la lógica de la

ganancia donde el ambiente se incorpora como mercado ambiental. Aunque los instrumentos legales afirman buscar la sustentabilidad económica, social y ecológica, prevalece la racionalidad económica, bajo el criterio de rentabilidad y eficiencia. Así que para cada dependencia hay una interpretación de la ley bajo distinta óptica, así mientras para la SEMARNAT la sustentabilidad equivale a conservación o restauración y no la prevención o disminución de delitos ambientales, sus acciones en realidad promueven la resiliencia de los sistemas ecológicos pero sin personas, para la SAGARPA, significa productividad en kilos de biomasa ya sea carne, madera, lana, pescado, etc; para la SEDESOL asistencialismo en dinero fresco, invertir en pobres que aseguren votos. Si bien, las políticas públicas ambientales se caracterizan por estar consensuadas entre gobierno y población (forman parte de una agenda) son reconocidos como problemas públicos (que afectan a muchos y requieren solución), sin embargo, actualmente la participación de la población en general es nula o por lo mucho se le considera únicamente para asuntos de consulta e información, por consiguiente la mayoría de los ciudadanos considera los asuntos ambientales globales ajenos, tal es el caso del calentamiento global.

**CONCLUSIONES:** La conversión de elementos ecológicos a instrumentos económicos prevalece en la política ambiental mexicana, el mercado ambiental incorpora bosques, agua, aire, sistemas productivos, más allá de los servicios ambientales y los recursos primarios que proporcionan como moneda de cambio, no en su valor ecológico relacional sino en su valor de uso. El no hacer, la omisión sigue siendo la pauta dentro de la política ambiental. De este modo el tránsito a la sustentabilidad es casi imposible. Menospreciados, los intentos de conservación por parte de campesinos e indígenas que rodean la metrópoli no son visibilizados y no son rescatados como parte de una agenda que permita incidir en la construcción de políticas públicas con los ciudadanos, la verticalidad en la hechura de las políticas ambientales seguirá depredando el ambiente y generando los círculos viciosos de pobreza. La construcción de políticas incluyentes deben considerar que los sistemas ecológicos no están aislados, constituyen el territorio donde viven los grupos vulnerables, incidir en la resiliencia de espacios ocupados es una tarea impostergable.

#### **BIBLIOGRAFIA**

1. C. Marx, "La llamada acumulación originaria, El Capital, Crítica a la Economía Política", (Fondo de Cultura Económica, México, 1999), pp. 607-658.
2. E. Bardach, "Ocho pasos para el análisis de políticas públicas". (CIDE-Porrúa, México, 1998), pp 13-46
3. M. Canto, "Introducción a las políticas públicas" (MCD, México, 1999), pp 59-77
4. J. Hirsch, "El Estado Nacional de Competencia. Estado, democracia, y política en el capitalismo global" (UAM-X, México, 2001), 1-60

## POLISILOXANOS: MATERIALES PARA APLICACIONES DE ALTA TECNOLOGIA

M. A. Meléndez Zamudio<sup>a</sup>, J. A. Villegas Gasca<sup>a</sup>, J. Cervantes Jáuregui<sup>a</sup>, R. Meléndrez Amavizca<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química, Campus Guanajuato, [ma.melendezzamudio@ugto.mx](mailto:ma.melendezzamudio@ugto.mx), [vigaja@ugto.mx](mailto:vigaja@ugto.mx), [jauregi@ugto.mx](mailto:jauregi@ugto.mx)

<sup>b</sup>Universidad de Sonora, Departamento de Física, Cuerpo Académico de Física de Irradiaciones, [rodrigo@ciencias.uson.mx](mailto:rodrigo@ciencias.uson.mx)

### RESUMEN

Los polímeros inorgánicos son materiales que han adquirido gran importancia debido a las propiedades que presentan, a comparación de sus homólogos orgánicos. En su cadena contienen átomos diferentes al carbono, siendo sus principales exponentes los polisilanos, polisiloxanos y polifosfacenos. El presente proyecto está basado en polidimetilsiloxano (PDMS), el cual es el polisiloxano más conocido que presenta propiedades de gran interés como por ejemplo alta flexibilidad, alta estabilidad química, hidrofobicidad, resistencia a la radiación UV y biocompatibilidad. En este estudio se busca obtener un compuesto integrado por una matriz de PDMS entrecruzado con una carga de polianilina, el cual pueda ser utilizado como un potencial biosensor. Una parte importante del compuesto es la matriz la cual estará integrada por un elastómero de PDMS, obtenida por métodos químicos y fotoquímicos. El método químico consiste en una reacción de condensación entre PDMS hidroxilo terminado (PDMS-OH) con un agente entrecruzante (tetraetilortosilicato, TEOS). Se realizaron pruebas de solubilidad para calcular la densidad de entrecruzamiento logrando alcanzar hasta un 90%. El método fotoquímico consistió en irradiar con radiación  $\gamma$  muestras de PDMS para obtener un elastómero. La irradiación de las muestras se realizó en un equipo Gammacell 220 Excel de MDS Nordian a diferentes dosis (25, 50, 75 y 100 kGy) para cuantificar el efecto de la irradiación. Se observó un cambio en la viscosidad por lo que se cuantificó el cambio en el peso molecular mediante cromatografía de permeación en gel (GPC). Los resultados obtenidos del estudio de GPC demuestran que existe un aumento en el peso molecular (35,000 hasta ~250,000 Da) de las muestras conforme se aumenta la dosis a la que son expuestas, permitiendo sugerir que existe la formación de puntos de entrecruzamiento.

### 1. INTRODUCCION

Los polímeros son materiales que se encuentran integrados por unidades más pequeñas denominadas monómeros, siendo la concatenación de estos la base principal de sus estructuras. Dentro de estas macromoléculas se pueden encontrar dos grandes familias, polímeros orgánicos e inorgánicos. Los primeros siendo de mayor desarrollo y uso, se obtienen en general a partir del petróleo, por ejemplo el polipropileno el cual es utilizado para empaques para alimentos. Debido a que el petróleo es un recurso no renovable se buscan alternativas que permitan obtener materiales con propiedades similares o superiores a las mostradas por los polímeros orgánicos. La respuesta a esto es el desarrollo de polímeros inorgánicos, en general estos materiales se diferencian de sus homólogos orgánicos debido a que en su cadena principal presentan átomos diferentes al carbono, siendo sus principales exponentes los polisilanos, polisiloxanos y polifosfacenos.

### 2. TEORIA

El presente proyecto está basado en un polisiloxano, el polidimetilsiloxano (PDMS), que es uno de los sistemas macromoleculares inorgánicos con mayor desarrollo tanto tecnológico como industrial. El PDMS presenta propiedades de gran interés como por ejemplo alta flexibilidad, alta estabilidad térmica y química, hidrofobicidad, resistencia a la radiación UV y biocompatibilidad [1]. Debido a las propiedades tan interesantes que presenta este polímero se puede encontrar en diversas aplicaciones que pueden ser tan simples como bloqueadores solares, hasta de alta tecnología

como materiales aeroespaciales. En este caso lo que se busca generar es un compuesto, el cual es un material que se encuentra integrado por una matriz y un refuerzo, carga o dopante, con el fin de obtener un efecto sinérgico. Nuestro compuesto estará integrado por una matriz de PDMS entrecruzado obtenida mediante métodos químicos y fotoquímicos, y como carga estará constituido por Polianilina (PANI), el cual es un polímero conductor de fácil obtención y que posee características ópticas, electrónicas y electroquímica interesantes. La obtención de la matriz elastomérica de PDMS se realiza mediante método químico, el cual consiste en realizar una reacción de condensación entre un PDMS hidroxilo terminado y un agente entrecruzante (tetraetilortosilicato, TEOS). Otra forma obtener elastómeros de PDMS sin la necesidad de agregar agentes entrecruzantes y catalizadores es mediante el uso de radiación gamma ( $\gamma$ ), al ser una radiación altamente energética, esta provoca rupturas aleatorias en la cadena principal, generando radicales libres capaces de reaccionar y formar así puntos de entrecruzamiento, generando una red elastomérica [2]. Se sabe que la densidad de entrecruzamiento que presenta un elastómero es proporcional a la dosis a la que se expone el polímero [3], por ello es de interés cuantificar esta densidad de entrecruzamiento mediante el cálculo de los rendimientos cuánticos de entrecruzamiento, realizando esto mediante cromatografía de permeación en gel (GPC) y la utilización de modelos matemáticos en función de los pesos moleculares promedio pesados ( $M_w$ ) y las dosis irradiadas (D). Con respecto a la medida del grado de entrecruzamiento en las muestras obtenidas por métodos químicos, la cuantificación se realiza mediante medidas de solubilidad mediante el procedimiento que se describe en la sección experimental.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Los materiales utilizados para llevar a cabo la síntesis fueron: Polidimetilsiloxano hidroxilo terminado (18,000 – 22,000 cSt, Aldrich), tetraetil ortosilicato (98,0%, Fukka), y di-nbutil dilaurato de estaño (Gelest), todos ellos utilizados tal cual se recibieron. El PDMS-OH posee un peso molecular promedio pesado de 35 kDa, el cual es calculado en base a la viscosidad intrínseca mediante la ecuación 1 (Ec. 1), la cual es una ecuación específica para el sistema polidimetilsiloxano:

#### *Síntesis Química del Elastómero de PDMS*

Para la preparación del elastómero del PDMS se emplearon: 4 g de PDMS hidroxilo terminado, 0,04 g de catalizador de DBTL (equivalente al 1% del peso total del PDMS-OH), 0,2 g de TEOS (equivalente al 5% del peso total del PDMS-OH); una vez pesados los diferentes componentes, utilizando una varilla de vidrio, fueron mezclados en un vaso de precipitado. Realizada la operación anterior, los componentes se transfirieron a una caja de petri para que se lleve a cabo el curado o gelación del PDMS. Este proceso se genera debido a que los grupos etóxi del TEOS al hidrolizarse a silanoles (Si-OH), estos se condensan con los grupos silanoles terminales de la cadena de PDMS formando así puntos de entrecruzamiento (Fig. 1).

#### **Fig 1. Reacción de formación de elastómeros (Método químico)**

El producto obtenido mostró la morfología de una goma incolora, observándose a simple vista un aumento importante en la viscosidad, además de ser flexible y de fácil deformación.

#### *Cálculo del rendimiento de entrecruzamiento mediante pruebas de solubilidad.*

Este procedimiento permite mediante la cuantificación de pérdida de peso en el material elastomérico, conocer la densidad de entrecruzamiento. La prueba consiste en sumergir el elastómero obtenido mediante vía química en un buen disolvente, en este caso benceno, durante 24 h para extraer las cadenas que no participaron en el proceso de entrecruzamiento. Para realizar los cálculos se pesa en diferentes etapas el elastómero: 1) antes de ser sumergido en el disolvente ( $P_i$ =Peso del polímero antes de sumergirse y extraerse); 2) después de ser sumergido en el disolvente ( $P_h$ =Peso del polímero en gel sumergido); 3) después de ser eliminado el disolvente ( $P_s$ =Peso del polímero en gel seco); las expresiones utilizadas para el cálculo de la densidad de entrecruzamiento son las siguientes:

La ecuación 2 (Ec. 2) es la expresión utilizada para el cálculo de la absorción ( $A$ ) de disolvente dentro del elastómero. La ecuación 3 (Ec. 3) es utilizada para calcular el rendimiento de entrecruzamiento ( $X_y$ ) el cual nos da un resultado aproximado de la eficiencia del procedimiento. De la ecuación 4 (Ec. 4) se obtiene la pérdida de peso ( $L_w$ ) que se puede entender como la cantidad de cadenas que no participaron dentro del proceso de entrecruzamiento [4].

#### *Radiolisis del PDMS (Irradiación con Gamma)*

Se realizó la irradiación del de PDMS con radiación gamma a diferentes dosis, las cuales fueron divididas en dosis bajas (25, 50, 75 y 100 kGy) y en dosis altas (250, 300, 350 y 400 kGy). La irradiación se llevó a cabo en un equipo Gammacell 220 Excel de MDS Nordian con una rapidez de dosis de 3.132 kGy/h. Las muestras de PDMS de baja dosis se irradiaron en viales de vidrio con 1 g de muestra. Las muestras de PDMS de alta dosis se irradiaron en contenedores de vidrio con forma de prisma rectangular con 1 g de muestra. La radiación gamma al ser una radiación ionizante, al interactuar con el PDMS ocasiona rupturas aleatorias de la cadena principal y en los grupos laterales de la cadena principal, los fragmentos forman radicales libres los cuales están integrados por especies de silicio radicalarias y metilenos radicalarios, los cuales reaccionaran formando enlaces siloxano (entrecruzamiento tipo Y) y enlaces metilénicos (entrecruzamiento tipo H) [5], formando así puntos de entrecruzamiento y por ello aumentando la densidad de entrecruzamiento. Como se indicó, el PDMS-OH posee una viscosidad intrínseca de 1,800-2,200 cSt y un peso molecular de 35 kDa, el cual es calculado en base a la viscosidad intrínseca con la Ec. 1.

### **Fig 2. Tipos de entrecruzamientos formados mediante irradiación y**

Posterior a la irradiación con rayos gamma, las muestras irradiadas a dosis bajas fueron estudiadas mediante Cromatografía de Permeación en Gel (GPC), con el fin de determinar si ocurrió alguna modificación en el peso molecular de las muestras. Para realizar el estudio se utilizó un equipo GPC/LS acoplado con los siguientes componentes: un dispersor de luz multiángulo de Wyatt Technology ( $k=632.8$  nm), un detector de índice de refracción Waters-2410, y una bomba Varian 9012Q, la velocidad de flujo utilizada es de 1 mL/min. Como fase móvil es utilizado tolueno grado HPLC obtenido de Karal. Las muestras inyectadas (30  $\mu$ L) en el equipo tienen una concentración de  $6 \times 10^{-3}$  g/mL.

Con respecto a las pruebas de solubilidad y utilizando las ecuaciones anteriores (Ec. 2, 3 y 4), se obtuvieron los resultados que se muestran en la siguiente tabla (Tabla 1).

**Tabla 1. Resultados de las pruebas de absorción de disolvente**

Prueba	Absorción de Disolvente ( $A$ )	Rendimiento de Entrecruzamiento ( $X_y$ )	Pérdida de Peso ( $L_w$ )
1	2.3347	0.8153	0.1846
2	2.2805	0.9504	0.04959
3	2.3372	0.9527	0.04737
4	2.3626	0.9482	0.05176
		0.9167	0.08333

Como se puede observar de la tabla anterior, el rendimiento de entrecruzamiento promedio corresponde a 0.9167 es decir hay una densidad de entrecruzamiento del 91.67%, lo cual indica que el proceso químico de entrecruzamiento genera gran cantidad de puntos de entrecruzamiento, lo cual dependiendo de la aplicación que se sugiera para el elastómero puede ser beneficioso o no. El hecho de tener gran cantidad de puntos de entrecruzamiento puede generar una estructura demasiado rígida que para la aplicación que se busca en este proyecto, puede resultar contraproducente, ya que puede volver dicha estructura quebradiza o poco sensible a perturbaciones mecánicas. Con respecto al resultado obtenido para la pérdida de peso, resulta que entre mayor rendimiento de entrecruzamiento exista menor será la pérdida de peso, ya que esto indica que se están extrayendo una menor cantidad de cadenas no entrecruzadas cuando se

sumerge el elastómero en el disolvente, siendo indicación de que el proceso de entrecruzamiento es eficiente.

Con respecto a las muestras irradiadas con radiación gamma, al momento se obtuvieron las muestras de dosis de irradiación baja. Para las muestras de dosis de irradiación alta aún no se obtienen ya que los contenedores no fueron adecuados. Las dosis bajas fueron 25, 50, 75 y 100 kGy. El tiempo de irradiación total para obtener este set de muestras fue de 3.3 días (25 kGy=8 h, 50 kGy=16 h, 75 kGy=24 h, 100 kGy=32 h dando un total de 80 h=3.3 días). Al finalizar la irradiación se observó una coloración de los contenedores que pasaron de ser traslucidos a una pigmentación oscura, conservando las mismas características mecánicas. Las muestras de PDMS-OH muestran cambios estructurales, ya que la muestra sin irradiar presenta características de fluido, mientras que conforme se va aumentando la dosis de irradiación esta va perdiendo fluidez y tiende a comportarse como una goma, ya que al manipular la muestra que fue irradiada a 100 kGy esta no fluye y al intentar tomarla con una espátula esta se queda adherida a ella y se comienza a deformar. Lo anterior es indicativo de que conforme se aumenta la dosis de irradiación gamma existe un cambio en la estructura de la muestra, es decir un aumento en el grado de entrecruzamiento, presentando las muestras con menor dosis de irradiación (25, 50 kGy) una gelación incipiente, es decir principios de formación de puntos de entrecruzamiento los cuales aún son dominados por especies no entrecruzada y no presentan modificación estructural importante, mientras que las muestras con dosis más altas (75, 100 kGy) ya presentan un dominio de estructuras entrecruzadas y modificaciones estructurales importantes. La técnica de GPC permite cuantificar de manera precisa los cambios en el peso molecular de los polímeros, es por ello que se utilizó para la caracterización de las muestras irradiadas, esperando un aumento del peso molecular debido al entrecruzamiento. Esto efectivamente se pudo observar en los cromatogramas (los cuales no se muestran por falta de espacio) ya que hay una disminución del volumen de elución de la muestra dato que se presenta en la siguiente tabla (Tabla 2).

**Tabla 2. Resultados obtenidos a partir de GPC**

Dosis (kGy)	Volumen Maximo de Elucion (mL)	Peso Molecular Promedio Pesado ( )
0	5.302	38 307
25	5.163	84 452
50	5.116	110 332
75	5.000	213 414
100	4.977	250 255

Los resultados mostrados en la tabla anterior (Tabla 2) aún son preliminares, pero se observa el comportamiento esperado, ya que el peso molecular promedio pesado ( ) de la muestra va aumentando conforme incrementa la dosis de irradiación, desde 38 307 kDa a ~250 000 kDa y el volumen máximo de elución disminuye conforme va aumentando el . El cambio tanto en el volumen máximo de elución como en el se debe al proceso de entrecruzamiento por la exposición a la radiación gamma. Los resultados anteriores serán muy útiles para calcular los rendimientos cuánticos de entrecruzamiento y los rendimientos químicos de entrecruzamiento tipo Y y tipo H para el PDMS irradiado mediante modelos matemáticos ya establecidos y que están en función de la dosis de irradiación, del peso molecular promedio pesado y del peso molecular promedio numeral [6]. Ello permitirá tener un control del grado de entrecruzamiento que presentan los elastómeros obtenidos y el cual puede jugar un papel importante en el desempeño del composito y dirigirlo hacia las aplicaciones deseadas.

#### 4. CONCLUSIONES

El proceso de entrecruzamiento químico del PDMS es eficiente, pero dependiendo de las aplicaciones para las cuales se tenga pensado el composito, el alto grado de entrecruzamiento puede resultar contraproducente, ya que puede producir estructuras rígidas y probablemente quebradizas, así como poco sensibles a modificaciones mecánicas las cuales son vitales para la

posible aplicación de biosensor que se tiene pensado para el composito de este proyecto. En cambio la irradiación con gamma da la posibilidad de controlar el rendimiento de entrecruzamiento y obtener estructuras con diferentes grados de entrecruzamiento fácilmente, con la posibilidad de seleccionar la densidad de entrecruzamiento adecuada para obtener un material con las mejores propiedades. Las muestras irradiadas muestran cambios en el peso molecular de acuerdo a los datos obtenidos por GPC, resultando en un aumento en el peso molecular debido a la formación de estructuras entrecruzadas conforme se aumenta la dosis de irradiación gamma. Las pruebas de solubilidad es una forma sencilla aunque poco precisa de conocer el rendimiento de entrecruzamiento. Otras pruebas como el Análisis Diferencial Mecánico (DMA) puede ser una forma de corroborar dichos resultados, estando considerado en el proyecto.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. J. E. Mark, "Inorganic Polymers", 2da ed.; Oxford University Press: USA, 2005
2. S. Palsule, "Gamma irradiation of silicones", *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, Vol. 18, 2008, pp. 207-221.
3. A. Charlesby, "Changes in silicone polymeric fluids due to high energy radiation", *Proc. Roy. Soc.*, Vol. 120, 1955, pp. A230(1180).
4. R. Vera, "Study of crosslinking density in polydimethylsiloxane networks by DSC", *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 55, 1995, pp. 1317 – 1327.
5. D. J. T. Hill, "Molecular weight changes and scission and crosslinking in poly(dimethylsiloxane) on gamma radiolysis", *Rad. Phys. Chem.*, Vol. 62, 2001, pp. 11-17.
6. A. Villegas et al, "UV-Radiation-induced degradation of Poly(n-Propylmethylsilano-Co-Isopropylmethylsilane) in solution", *J. Inorg. Organomet. Polymer*, Vol. 8, 2006, pp. 135-156.

## DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN EN VIDRIO CONVENCIONAL RECUBIERTO CON POLÍMERO/CERÁMICO MEDIANTE INDENTACIÓN

O. Gutiérrez-Arriaga<sup>a</sup>, R. Huirache-Acuña<sup>b</sup>, L.A. Madrigal-Pérez<sup>a</sup>, W.I. Cortés-Cruz<sup>a</sup>, C.G. Gutiérrez-Arriaga<sup>c</sup>, J.J. Guillén-Arroyo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Hidalgo, Cd. Hidalgo; Mich., [omar\\_ga\\_79@hotmail.com](mailto:omar_ga_79@hotmail.com), [luis-madrigal1@hotmail.com](mailto:luis-madrigal1@hotmail.com), [wal\\_ace@hotmail.com](mailto:wal_ace@hotmail.com), [jguillen@itsch.edu.mx](mailto:jguillen@itsch.edu.mx)

<sup>b</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich., [rafael\\_huirache@yahoo.it](mailto:rafael_huirache@yahoo.it)

<sup>c</sup>Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Mich., [cesargiovani7@hotmail.com](mailto:cesargiovani7@hotmail.com)

### RESUMEN

Las cadenas del polímero, poliestireno con terminación hidroxilo, se sintetizaron empleando 2-mercaptano etanol como agente de transferencia de cadena funcional. Esta síntesis se efectuó vía radicales libres. El poliestireno se secó y posteriormente se pulverizó finamente en forma de polvo. Las partículas del cerámico, de alfa-alúmina, se sintetizaron a partir de la pseudoboehmita calcinada a 1200°C, a 10°C/min, durante 2 horas. La pseudoboehmita se sintetizó a partir de la desulfatación del sulfato de aluminio [Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>], grado industrial, ocasionada por el hidróxido de amonio mediante el proceso sol-gel. La torta de pseudoboehmita se secó y se trituro finamente. Suspensiones híbridas de poliestireno con terminación hidroxilo/alfa-alúmina se prepararon para recubrir sustratos de vidrio convencional, vía inmersión. Se varió el contenido de alfa-alúmina en el recubrimiento. Por FTIR se identificó una banda con vibración de tensión ( $\nu$ ) del grupo OH a 3465 cm<sup>-1</sup>, un pico con tensión simétrica ( $\nu_s$ ) del grupo C-O-Al a 1025 cm<sup>-1</sup> y un cuasi-pico con tensión asimétrica ( $\nu_a$ ) del grupo Si-O y Al-O a 875 cm<sup>-1</sup>, corroborando la unión química polímero/cerámico en el recubrimiento adherido al sustrato de vidrio. Por indentación Vickers se determinó una resistencia a la penetración (Hv) de 10.97 GPa en el sustrato de vidrio sin recubrimiento; mientras que una Hv de 44.47 GPa en el sustrato de vidrio con recubrimiento polímero/cerámico, clasificación C; identificando a este último como un material super-duro, por arriba de los 40 GPa.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los materiales orgánicos e inorgánicos suelen ser empleados, como películas o recubrimientos sobre vidrio, para una amplia variedad de aplicaciones. En trabajos anteriores [1]; el dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), que es un material inorgánico, ha sido preparado por sol-gel y depositado, como recubrimiento, sobre vidrio convencional mediante el método sping-coating, para bloquear las bandas de la luz ultravioleta y proteger microorganismos vivos, como *E. coli*, *S. aureus* y *Bacillus sp*, de estas. En investigaciones anteriores [2,3], se han preparado materiales híbridos abrasivos alfa-alúmina/ácido sulfónico-poliestireno mediante polimerización de inserción en superficie y fueron adheridos, en forma de coraza, sobre sustratos de vidrio de sílice. Posteriormente, los materiales soportados en vidrio, se sometieron al proceso de pulido mecánico-químico para reducir los considerables defectos de superficie en las partículas de alfa-alúmina, a consecuencia de su alta resistencia a la penetración y baja estabilidad de dispersión. La rugosidad promedio, en la superficie del sustrato de vidrio pulido preparada con materiales híbridos abrasivos alfa-alúmina/ácido sulfónico-poliestireno, fue menor (0.583 nm) que esta en la superficie del sustrato de vidrio pulido preparada con alfa-alúmina pura (0.835 nm), debido a la buena dispersibilidad del polímero insertado sobre la superficie del cerámico. Mientras que los materiales adheridos al vidrio de sílice, mejoraron la superficie planar y la resistencia al rayado en la superficie de este último, debido al efecto de amortiguamiento de la estructura tipo coraza y a las bajas cantidades de aglomeración de las partículas de alfa-alúmina.

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

En el presente subcapítulo se describen los reactivos y solventes, que se emplearán experimentalmente. Posteriormente se menciona el procedimiento para la síntesis del polímero vía



radicales libres y síntesis de la pseudoboehmita por sol-gel (para obtener el cerámico a partir de su sinterización).

### **2.1. Reactivos y solventes**

El gas nitrógeno y amoníaco de alta pureza fueron adquiridos por la Compañía Infra y se utilizan tal y como se reciben. El 2-2' azobisisobutironitrilo, 2-mercaptano etanol, tolueno, estireno y metanol; fueron adquiridos por la Compañía SIGMA ALDRICH y se utilizan tal y como se reciben. El sulfato de aluminio  $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3]$  grado industrial, fue adquirido por la Corporación Química Omega S.A. de C.V. y tratado mediante la separación de insolubles.

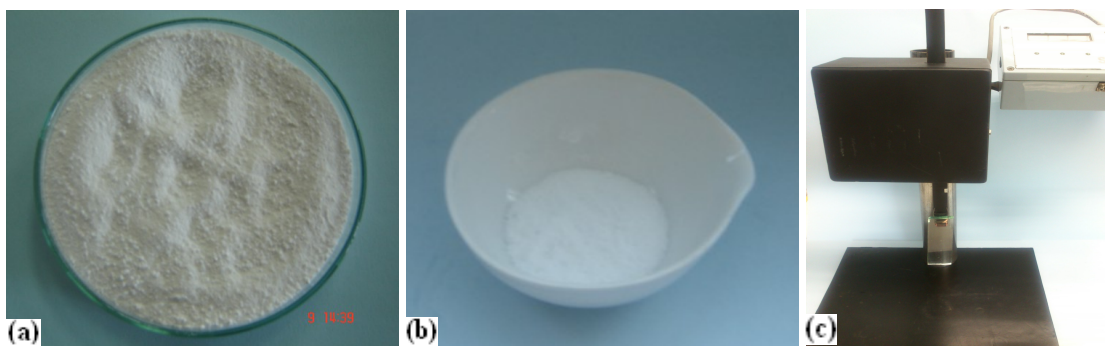
### **2.2. Síntesis del polímero vía radicales libres y cerámico por sinterización**

La síntesis del poliestireno con terminación hidroxilo se efectúa adicionando el inhibidor de polimerización gas nitrógeno, iniciador de polimerización 2-2' azobisisobutironitrilo, el agente de transferencia de cadena funcional 2-mercaptano etanol, el solvente tolueno y monómero estireno; dentro de un reactor de vidrio con capacidad en volumen de 1 L, y con suministración y recirculación de agua como medio de calentamiento exterior. El nitrógeno se suministró por una boquilla, que tiene la tapa del reactor, y se expulsó por otra, situada en la misma zona. El estireno se adicionó al último (establecida la temperatura y con la adición previa de inhibidor, reactivos y solvente, en el reactor) para permitir, adecuada y consecutivamente, la etapa de iniciación, propagación y terminación, en la síntesis del polímero. Esta síntesis duró 5 horas. La temperatura y velocidad de agitación, en el reactor, fue  $70^\circ\text{C}$  y 300 rpm; que permanecieron constantes durante la síntesis polimérica. La relación molar de iniciador/agente/monómero fue  $2 \times 10^{-4}/5 \times 10^{-3}/1 \times 10^{-1}$ , respectivamente [4,5]. El solvente es independiente de esta relación.

La síntesis de la pseudoboehmita se efectuó por el proceso sol-gel adicionando gota a gota la solución de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  hidratado soluble al hidróxido de amonio producido previamente mediante burbujeo de gas amoníaco en agua destilada. La solución de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  hidratado soluble, se preparó previamente a partir de la solvatación del  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ , grado industrial, en agua destilada a  $70^\circ\text{C}$  y 500 rpm, durante 3 horas, donde esta solución de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  hidratado soluble se separó y extrajo cuidadosamente del  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  hidratado insoluble. Se adicionaron 1000 mL de la solución de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  hidratado soluble por cada 250 mL de hidróxido de amonio, y 200 gr de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  grado industrial por cada 1000 mL de agua destilada. El sistema se dejó calentar y agitar vigorosamente a  $70^\circ\text{C}$  y 400 rpm, para asegurar una reacción substancialmente uniforme a través de la hidrólisis, que, a su vez, abre paso a la formación del sol de pseudoboehmita durante la condensación. La torta, de pseudoboehmita, lavada se secó hasta peso constante, y se trituró, finamente en forma de polvo, con un mortero y pistilo. Una porción del polvo de pseudoboehmita, de peso desconocido, se introdujo al horno de calcinado a  $1200^\circ\text{C}$ , a  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ , durante 2 horas; para sintetizar la alfa-alúmina, en polvo, a partir de este [6].

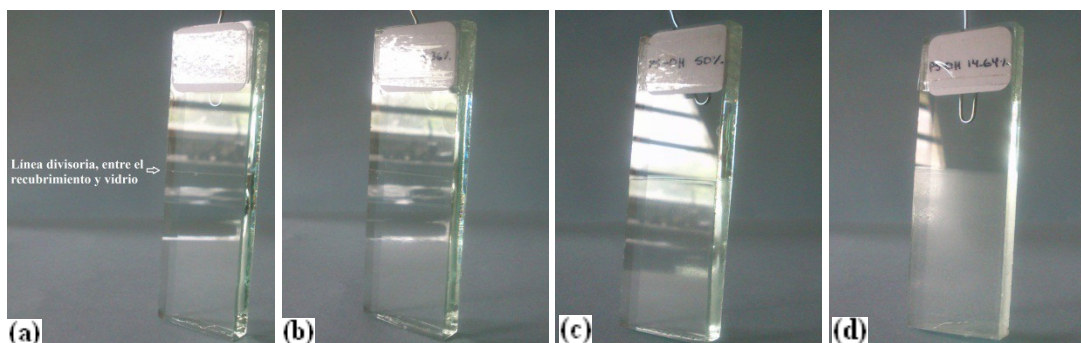
Sobre una parrilla de calentamiento y agitación, se colocó un vaso de precipitados, de 1000 mL, y, en este, se adicionó polvo de alfa-alúmina y agua destilada, con una relación en peso de 1:50, respectivamente. La suspensión se ajustó a un pH de 2.5, con ácido nítrico, para cargar positivamente la superficie de las partículas cerámicas [7]. Una vez ajustada la suspensión, esta se calentó a  $90^\circ\text{C}$  y se mantuvo en agitación vigorosa para retirar el agua, mayormente, de las partículas cargadas. Asimismo, sobre otra parrilla de calentamiento y agitación, se colocó un vaso de precipitados, de 25 mL, y, en este, se adicionó, previamente, el tolueno y, posteriormente, polvo de poliestireno con terminación hidroxilo. La relación molar de polímero/disolvente fue 1/3, respectivamente [5]. Una vez que el polímero se disolvió, totalmente, se adicionaron las partículas cerámicas para abrir paso a la inserción del polímero sobre la superficie de estas, mediante condensación, y, por tanto, estabilizar la suspensión híbrida.

Al término de los 5 minutos, la suspensión híbrida se colocó en un inmersor digital programado y controlado (E-ANT1; SK-UV) para sumergir los sustratos de vidrio en esta. La velocidad de inmersión y el tiempo de residencia, del sustrato en la suspensión, fueron 10 cm/min y 5 segundos, respectivamente; con un ciclo de inmersión [5] (Figura 1).



**Figura 1** (a) polvo del polímero, (b) polvo del cerámico y (c) inmersor digital E-ANT1

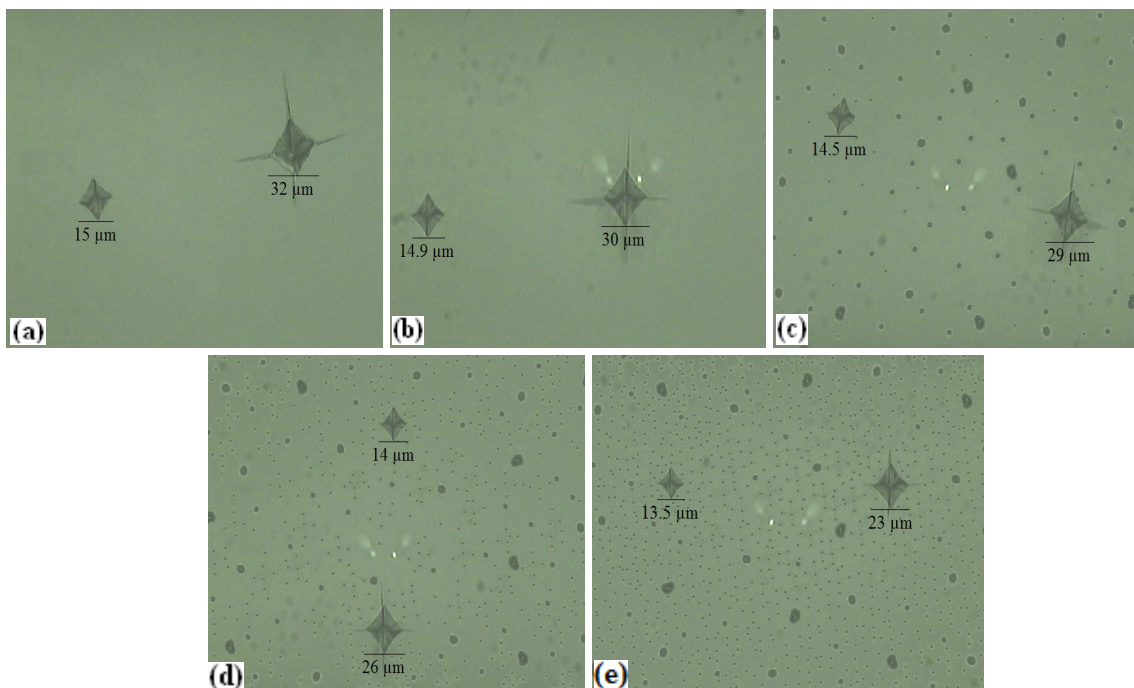
Se obtuvieron cuatro diferentes recubrimientos (Figura 2), adheridas al sustrato, cambiando el contenido de alfa-alúmina en estas; lo anterior, basándose en la *adición de puntos centrales en el diseño 2<sup>k</sup>* [8].



**Figura 2** Sustrato de vidrio: (a) con recubrimiento orgánico, (b) con recubrimiento híbrido A, (c) con recubrimiento híbrido B y (d) con recubrimiento híbrido C

### 3. CONCLUSIONES

La dimensión de la huella de indentación con la carga aplicada (P) de 0.2 Kgf es mayor que esta con P de 0.1 Kgf, en el sustrato de vidrio sin recubrimiento [Figura 1(a)], además de exhibir fisuras en las esquinas de esta huella. En el método de indentación, es conocido que al incrementar la P, en un material, también se incrementa la dimensión de la huella (d y su profundidad), de la impresión resultante. La dimensión de la huella de indentación con P de 0.2 Kgf [Figura 1(a)] es mayor también que esta con la misma P, en el sustrato de vidrio con recubrimiento orgánico [Figura 1(b)], además de exhibir fisuras más prolongadas en las esquinas de su huella. Esto se atribuye al efecto plastificante de las cadenas de poliestireno con terminación hidroxilo, sobre la superficie del vidrio, que absorbe energía mínima proveniente del indentador, destinada a la formación de una huella de indentación mayor. El reflejo de luz visualiza el plastificante en el material. La dimensión de la huella de indentación con P de 0.2 Kgf [Figura 1(b)] es mayor que esta con la misma P, en el sustrato de vidrio con recubrimiento híbrido A [Figura 1(c)], además de exhibir fisuras más prolongadas en las esquinas de su huella. Esto es consecuencia de la resistencia a la penetración mayor de los aglomerados de partículas de alfa-alúmina comparada con la resistencia a la penetración de las cadenas de poliestireno con terminación hidroxilo y del vidrio convencional, en escala de Mohs, que absorbe energía del indentador, destinada a la formación de una huella mayor. Sin embargo; con el incremento del contenido de alfa-alúmina en el recubrimiento híbrido [Figura 1(d) y (e)], se observaron dimensiones de huellas de indentación menores y fisuras menos prolongadas en las esquinas de sus huellas, con la P de 0.2 Kgf; asimismo mayor cantidad de aglomerados de partículas de alfa-alúmina en la superficies de los materiales. Las dimensiones de las huellas de indentación, en los materiales, se observaron con un acercamiento de 50x.



**Figura 3** Micrografías de las huellas de indentación, con P de 0.1 y 0.2 Kgf, en el sustrato de vidrio: **(a)** sin recubrimiento, **(b)** con recubrimiento orgánico, **(c)** con recubrimiento híbrido A, **(d)** con recubrimiento híbrido B y **(e)** con recubrimiento híbrido C

En la Tabla 1, se indican los valores de resistencia a la penetración verdadera, de los materiales obtenidos, con P de 0.025, 0.05 y 0.1 Kgf. Los valores de  $H_v$  son mayores que los valores de resistencia a la penetración calculados, en cada material, a consecuencia de esta resistencia a la penetración considerada independiente de la P, que ocasiona la deformación plástica del material, por unidad de volumen, mediante el consumo de la componente de energía de tensión. Esta componente de energía, que asume el modelo del balance de energía, es proporcionada por el trabajo externo realizado por el indentador. La resistencia a la penetración verdadera, calculada con una P de 0.1 Kgf, en base al ejemplo anterior, se consideró como la representativa de cada material.

**Tabla 1** Resistencia a la penetración verdadera de los materiales obtenidos con P de 0.025, 0.05 y 0.1 Kgf  
Sustrato de vidrio

P (Kgf)	sin recubrimiento	con recub. orgánico	con recub. híbrido A	con recub. híbrido B	con recub. híbrido C
0.025	16.5908	33.1408	50.8678	92.6709	185.2569
0.05	15.6152	24.0051	32.4052	49.2340	79.7658
0.1	10.9670	14.6186	18.0465	24.2931	34.4646

Con el incremento del porcentaje en peso de alfa-álumina se generaron recubrimientos híbridos de resistencia a la penetración mayor, hasta llegar a 34.47 GPa con el 85.36% en peso de alúmina, en comparación con el recubrimiento orgánico generado con 100% en peso de poliestireno con terminación hidroxilo. Esto se atribuye principalmente a la mayor energía absorbida del indentador por las partículas alfa-álumina que suelen ser más duras, en escala Mohs, que las cadenas poliestireno con terminación hidroxilo (a pesar de que estas cadenas incrementaron sus propiedades mecánicas al ser soportadas en dióxido de silicio y, por tanto, en la superficie del vidrio), así como a la mayor cantidad de estas partículas en los recubrimientos. Sin embargo, estos recubrimientos soportados en vidrio, son clasificados como duros por debajo de los 40 GPa. Asimismo, los recubrimientos híbridos, donde la matriz fue oligómero con 50% en peso de este y

matriz cerámico con 85.36% en peso de este, reforzaron las propiedades mecánicas en la superficie del sustrato de vidrio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. R. Min Zhi, J. Qiu Long, Z. Ming Qiu, F. Klaus, "Graft polymerization of vinyl monomers onto nanosized alumina particles", *European Polymer Journal*, Vol. 38, 2002, pp. 1573-1582.
2. M.Z. Rong, M.Q. Zhang, Y.X. Zheng, H.M. Zeng, R. Walter, K. Friedrich, "Structure-property relationships of irradiation grafted nano-inorganic particle filled polypropylene composites", *Polymer*, Vol. 42, 2001, pp. 67-83.
3. P. Espiard, A. Guyot, "Poly(ethyl acrylate) latexes encapsulating nanoparticles of silica: Grafting process onto silica", *Polymer*, Vol. 23, 1995, pp. 1-5.
4. S.R. Vásquez-García, R. Salgado-Delgado, J.A. Trejo-O'Reilly, E. Martínez, V.M. Castaño, "Síntesis and caracterización of ethyl acrylate-methyl acrylate oligomers with a hydroxyl end group", *Internacional Journal of Polymer Materials*, Vol. 53, 2004, pp. 735-748.
5. O. Gutiérrez-Arriaga, S.R. Vásquez-García, N. Flores-Ramírez, G. Luna-Bárceñas, G. Barrera-Cardiel, C.A. León-Patiño, "A film of polystyrene hydroxyl end group supported on SiO<sub>2</sub> monoliths: Thermal conductivity and micro-indentation", *Global Journal of Science Frontier Research: B Chemistry*, Vol. 12, 6, 2012, pp. 1-9.
6. J. Zárate, G. Rosas, R. Pérez, "Structural transformations of the pseudoboehmite to  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>", *Adv. In Tech. of Mat. and Mat. Proc. J. (ATM)*, Vol. 7, 2, 2005, pp. 181-186.
7. Z.X. Wang Xina, T. Jing Chengbin, J. Haizheng Han, "Effects of nitric acid concentration on the stability of alumina sols", *Journal of Wuhan University of Technology Mater. Sci. Ed.*, Vol. 21, 2005, pp. 102-105.
8. D.C. Montgomery, "Diseño y análisis de experimentos" (Limusa Wiley, segunda edición, México, D.F., 2004), Capítulo 10, pp. 304-320.

## EVALUACIÓN DE LA CEPA *RHODOCOCCUS* SP. COMO PRODUCTORA DE BIOSURFACTANTE

Castorena-Cortés Gladys<sup>1</sup>, Valdiviezo Méndez Miguel; Roldán-Carrillo Teresa<sup>1</sup> y Olgúin-Lora Patricia<sup>1</sup> Santiago- Rosales Leobardo

Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas, Norte 152, San Bartolo Atepehuacán. Del. Gustavo A. Madero. 07730, México, D.F. Tel: 91756911 \* [gcastore@imp.mx](mailto:gcastore@imp.mx)

### RESUMEN

Los biosurfactantes, son moléculas anfifílicas que consisten en una parte hidrofóbica y otra hidrofílica logrando disminuir la tensión superficial del agua y soluciones acuosas. La producción de biosurfactante se ve influenciada por diversos factores, como el tipo de microorganismo, salinidad, pH, temperatura, fuente de carbono, etc. El presente trabajo consistió en evaluar a la cepa *Rhodococcus* sp. para la producción de biosurfactante. Se realizó un diseño experimental Taguchi L<sup>9</sup> donde fueron probadas diferentes concentraciones de fuente de carbono, nitrógeno, sulfato de magnesio y cloruro de hierro en el medio de cultivo. El mejor sistema presentó una disminución de la tensión superficial de 64 mN/m hasta 36.67 mN/m a las 72 horas de incubación, siendo la mejor combinación con 2% de glicerol, 0.55 g/L de nitrógeno, 0.1 g/L de sulfato de magnesio y 7.5 mg/L de cloruro de hierro. Las pruebas de estabilidad del biosurfactante, demostraron su capacidad para mantener su actividad a pH neutro, concentraciones de NaCl hasta de 200 gL<sup>-1</sup>, y temperaturas de hasta 120°C. La medición de la tensión interfacial, mostró la capacidad del biosurfactante para modificar las fuerzas interfaciales, en sistemas con diferentes solventes. Los resultados de la evaluación de la cepa *Rhodococcus* sp. como productora de biosurfactante, establece que es interesante continuar con su estudio para posibles aplicaciones en la biorremediación y recuperación de hidrocarburos.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Rhodococcus* son microorganismos aerobios, inmóviles y presentan un crecimiento fragmentado entre elementos cocoides y baciloides (Jones y Goodfellow, 2010). La capacidad de este género para degradar hidrocarburos y otros contaminantes químicos hace que juegue un papel importante en la degradación natural de estos compuestos y en la biorremediación. Esta propiedad es acompañada por la capacidad de producir biosurfactantes (Sadouk *et al.*, 2008). Estas moléculas son predominantemente glicolípidos, pero se han reportado también polisacáridos asociados a la pared celular (Christofi y Ivshina, 2002). En específico, los biosurfactantes, reducen la tensión interfacial ente los sistemas aceite/agua. La aplicación de los biosurfactantes en la biorremediación de sitios contaminados con compuestos orgánicos, como los hidrocarburos, sirven para aumentar la biodegradación y remoción de contaminantes. Los mecanismos involucrados son la solubilización o la emulsificación del aceite (Banat *et al.*, 2010). La formulación del medio de cultivo y los factores ambientales, como el pH, temperatura, agitación y disponibilidad de oxígeno, pueden afectar la producción del biosurfactante (Jardim *et al.*, 2010; Pal *et al.*, 2009). El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes componentes del medio de cultivo en la producción de biosurfactante por la cepa *Rhodococcus* sp.

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó un medio mineral modificado indicado por Philp y colaboradores (2002). Se elaboró un diseño Taguchi L<sup>9</sup> a tres niveles con cuatro variables correspondientes a diferentes concentraciones de nutrientes (Tabla 1). Los valores de cada uno de los niveles se muestran en la tabla 2. Los tratamientos se inocularon con la cepa de *Rhodococcus* y se incubaron a 30 °C a 100 rpm por 100 h. La presencia de biosurfactante fue evaluado mediante la medición de tensión superficial al

sobrenadante de los cultivos, usando un tensiómetro (Salager, 2005). Los tratamientos se realizaron por triplicado.

**Tabla 1.** Diseño experimental Taguchi L<sup>9</sup>

No. de tratamiento	Concentración de glicerol	Concentración de KNO <sub>3</sub>	Concentración de Mg SO <sub>4</sub>	Concentración de FeCl <sub>3</sub>
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

**Tabla 2.** Concentración de los niveles estudiados en el diseño experimental Taguchi

Nivel	Glicerol (%)	KNO <sub>3</sub> (gL <sup>-1</sup> )	MgSO <sub>4</sub> (gL <sup>-1</sup> )	FeCl <sub>3</sub> (gL <sup>-1</sup> )
1	1.5%	0.40	0.1	0.005
2	2%	0.55	0.15	0.0075
3	2.5%	0.75	0.2	0.01

Los resultados del diseño experimental Taguchi, fueron analizados empleando el software Statistica v.6, considerando como variable de respuesta la disminución de la tensión superficial (TS).

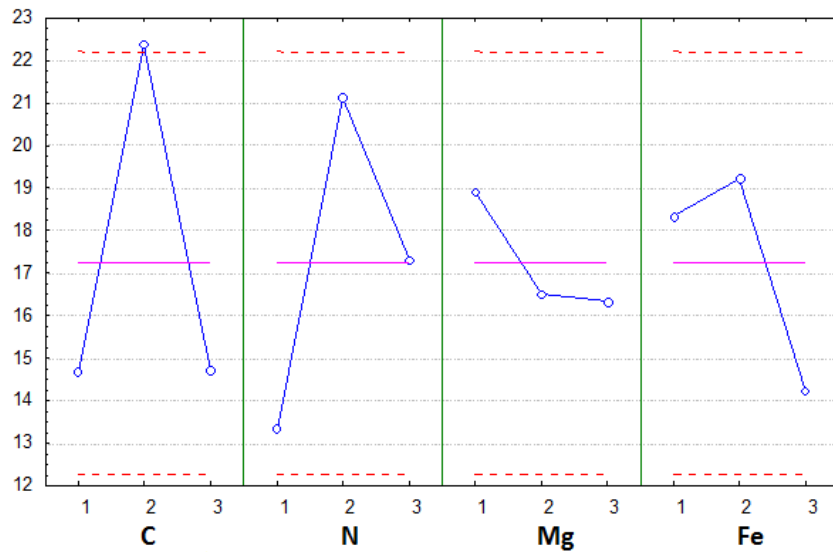
### 3. PARTE EXPERIMENTAL (RESULTADOS Y DISCUSIÓN)

Los resultados del diseño experimental Taguchi se observan en la tabla 3

**Tabla 3.** Resultados de los 9 tratamientos probados en el diseño experimental Taguchi a las 96 h

Tratamiento	Tensión superficial control (mN/m)	Tensión superficial tratamiento (mN/m)
1	62.14	48.69
2	52.58	42.57
3	51.51	50.48
4	68.37	53.77
5	65.37	39.26
6	64.14	36.64
7	70.72	54.37
8	68.88	48.98
9	68.76	51.01

Los tratamientos 5 y 6 mostraron los mejores resultados de tensión superficial a las 72 horas de incubación. El tratamiento 5 mostró una disminución de la tensión superficial de 26 unidades y el tratamiento 6 de 27 unidades, en el mismo periodo. Este tratamiento es un sistema con concentración alta de KNO<sub>3</sub> (0.75 g/L), baja de sulfato de magnesio (0.1 g/L) y concentración media de cloruro de hierro. Los resultados sugieren que para la producción de biosurfactante la mejor concentración de glicerol fue 2%. El análisis estadístico del diseño muestra que el mayor efecto sobre la disminución de la tensión superficial es ocasionado por la concentración de la fuente de carbono (figura 1). Siendo la concentración de nitrógeno el segundo factor más importante, y presentando el mejor resultado a 0.75 g/L. La concentración de sulfato de magnesio óptima para la producción de agente tensoactivo de *Rhodococcus* se encontró a 0.1 g/L, es decir, la concentración más bajas del intervalo evaluado. El nivel óptimo de la concentración de cloruro de hierro, fue en la concentración de 7.5 mg/L, correspondiente al nivel medio.



**Figura 1.** Efecto de los 4 factores en el análisis estadístico Taguchi en la tensión superficial

En la Tabla 4 se muestra la combinación óptima resultante del análisis estadístico del software (combinación estadística o teórica) y la mejor combinación experimental (tratamiento 6).

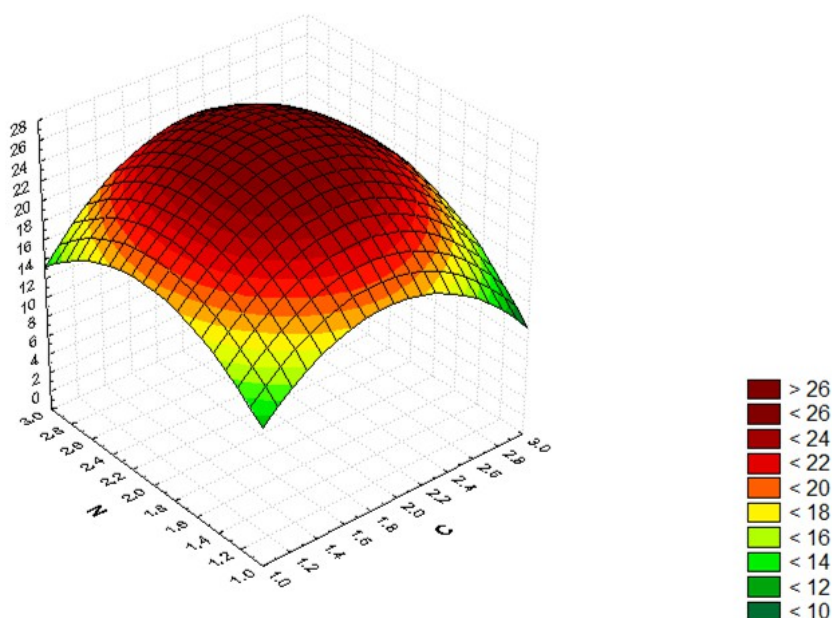
**Tabla 4.** Combinación estadística vs. Combinación experimental

<b>Factor (concentraciones)</b>	<b>Combinación Estadística</b>	<b>Combinación experimental</b>
Glicerol	2	2
	2	3
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	1	1
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	2	2

En este tratamiento la TS disminuyó casi 30 unidades a las 96 horas de incubación con respecto al control. Este resultado es comparable con el reportado por Najafi *et al.* (2010) para *Bacillus mycoides* usando una fuente de carbono soluble en agua y por Kim (1990) para *Rhodococcus erythropolis* y *Nocardia corynebateroides*, con una disminución de la tensión superficial de 30 unidades aproximadamente, para cada uno de los organismos creciendo en sustratos inmiscibles en agua.

Los estudios indican que la composición del medio, incluida la fuente de carbono, y nitrógeno, juegan un papel crítico en la concentración de biosurfactante producido (Wu, 2008). Ciapina *et al.* (2006), reportaron una disminución de la tensión superficial en el cultivo de *Rhodococcus erythropolis*, usando glicerol como sustrato, de 28 unidades. Por su parte Jardim *et al.*, (2010) probaron la influencia del glicerol a 3 diferentes concentraciones, para la producción de biosurfactantes por *Rhodococcus erythropolis* ATCC 4277. Este trabajo demostró que la producción óptima del biosurfactante por *Rhodococcus sp.* se presenta con glicerol al 2%. Respecto a los metales, se ha reportado la importancia del Fe y Mg como factores coenzimáticos en concentraciones menores a 0.2 g/L y 0.01 g/L respectivamente, para la producción de biosurfactante por *P. aeruginosa* (Sabasioglu, 2008). El análisis de los resultados mostró que la cepa *Rhodococcus sp.* tiene potencial para la producción de biosurfactante y estos resultados son comparables a los reportados en la literatura. La figura 2 muestra el efecto los factores evaluados (concentración de fuente de carbono y la concentración de nitrógeno) sobre la disminución de la

tensión superficial. En este caso se observa que un cambio en la concentración de estos componentes, afecta drásticamente la reducción de la tensión superficial. El valor óptimo de nitrógeno y carbono se encontró en el nivel 2, correspondiente a la concentración de 0.55 y 2 g/L respectivamente.



**Figura 2.** Superficie de respuesta en la disminución de la TS por la concentración de C y N.

(Tabla 5). Efecto de factores ambientales en la estabilidad del biosurfactante producido por *Rhodococcus* sp.

Temperatura (°C)	TS (mN/m)	Salinidad	TS (mN/m)
22	31.1	0	31.8
38	32.6	50	31.6
50	34.3	100	34.05
70	34	150	34.4
100	33.3	200	34.7

Las pruebas de estabilidad del biosurfactante, demostraron su capacidad para mantener su actividad a pH neutro, concentraciones de NaCl hasta de 200 gL<sup>-1</sup>, y temperaturas de hasta 120°C (tabla 5).

La medición de la tensión interfacial, mostró la capacidad del biosurfactante para modificar las fuerzas interfaciales, en sistemas modelo. Con hexano, el biosurfactante producido por *Rhodococcus* sp. disminuyó la tensión interfacial de 47.18 a 17.98 mN/m, con queroseno de 28.79 a 5.86 mN/m, con diesel de 29.98 a 5.42 mN/m, con hexano de 45.61 a 9.71 mN/m y con heptano, de 45.15 a 7.64 mN/m.

#### 4. CONCLUSIONES

Mediante un diseño experimental Taguchi se logró optimizar el medio de cultivo, para la producción más eficiente de biosurfactante producido por *Rhodococcus* sp. EL sistema con mejores resultados tiene la siguiente formulación: nitrógeno 0.75 g/L; sulfato de magnesio 0.1 g/L; cloruro de hierro fue de 7.5 mg/L y glicerol al 2%. El análisis estadístico del diseño experimental Taguchi L<sup>9</sup> de los factores estudiados, indica que la concentración de la fuente de carbono y nitrógeno son las variables con mayor efecto en la producción de biosurfactante. El biosurfactante se mantuvo



estable a diferentes condiciones ambientales, y fue capaz de disminuir la tensión interfacial de diferentes solventes orgánicos.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. I. M. Banat, A. Franzetti, I. Gandolfi, G. Bestetti, M. Martinotti, L. Fracchia, T. Smyth, R. Marchant, "Microbial biosurfactants production, applications and future potential", *Applied Microbiology Biotechnology.*, Vol. 87, 2010, pp. 427-444.
2. N. Christofi, I. B. Ivshina, "Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation", *Journal of Applied Microbiology.*, Vol. 93, 2002, pp. 915-929.
3. E. M. Ciapina, W. C. Melo, L. M. Santa Anna, A. S. Santos, D. M. Freire, N. Pereira, "Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* grown on glycerol as sole carbon source", *Applied Biochemistry and Biotechnology.*, Vol. 06, 2006, pp. 129-132.
4. G. Jardim, E. Prioli, E. de Barros, N. Pereira, "Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* and its application to oil removal", *Brazilian Journal of Microbiology.*, Vol. 41, 2010, pp. 685-693.
5. A. Jones, M. Goodfellow, "Genus II. *Rhodococcus*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", Vol., 4, (2a. ed. Springer, Berlin 2010), pp 1-65.
6. J. Kim, M. Powalla, S. Lang, F. Wagner, H. Lunsdorf, V. Wray, "Microbial glycolipid production under nitrogen limitation and resting cell conditions", *Journal of Biotechnology.*, Vol. 13, 1990, pp. 257-266.
7. A. R. Najafi, M. R. Rahimpour, A. H. Jahanmiri, R. Roostaazad, D. Arabian, Z. Ghobadi, "Enhancing biosurfactant production from an indigenous strain of *Bacillus mycoides* by optimizing the growth conditions using a response surface methodology", *Chemical Engineering Journal.*, Vol. 163, 2010, pp. 188-194.
8. M.P. Pal, B.K. Vaidya, K.M. Desai, R.M. Joshi, S.N., Nene, B.D. Kulkarni, "Media optimization for biosurfactante production by *Rhodococcus erythropolis* MTCC 2794: artificial intelligence versus a statistical approach", *Journal Industrial Microbiology Biotechnology.*, Vol. 36, 2009, pp. 747-756.
9. J.C., Philp, M.S, Kuyukina, I.B., Ivshina, S.A., Dunbar, N., Christofi, S., Lang, V. Wray, "Alkanotrophic *Rhodococcus ruber* as a biosurfactante producer", *Applied Microbiology Biotechnology.*, Vol. 59, 2002, 318-324.
10. T., Sabasioglu, E. Cansunar, "Effects Fe-Mg limitations and physiological factors on *P. aeruginosa* rhamnolipid", *Journal of Applied Biological Sciences.*, Vol. 3, 2008, pp. 31-33.
11. Z., Sadouk, H., Hacene, A. Tazerouti, "Biosurfactants production from low cost substrate and degradation of diesel oil by a *Rhodococcus* strain", *Oil and gas Science and Technology.*, Vol. 63, 2008, pp. 747-753.
12. R. E. Salager, "Tensión Interfacial" Cuaderno FIRP No.203B. Escuela de Ingeniería Química, (Universidad de los Andes. Venezuela 2005).
13. J.Y., Wu, K.L., Yeh, W.B., Lu, C.L., Lin, J.S. Chang, "Rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* EM1 isolated from oil-contaminated site", *Bioresource Technology.*, Vol. 99, 2008, pp. 1157-1164.

## SIMULADOR DE LA CORRIENTE IÓNICA LENTA DE CALCIO EN MIOCITO MARCAPASO

Rosa María Reyes Chaperó<sup>a</sup>, María Eugenia Pérez Bonilla<sup>a</sup>, Erika Alarcón Ponce<sup>a</sup>,  
Marleni Reyes Monreal<sup>b</sup>, Arturo Reyes Lazalde<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Biología-BUAP, Puebla, Pue. [romarec2008@hotmail.com](mailto:romarec2008@hotmail.com), [bonillaeugenia@gmail.com](mailto:bonillaeugenia@gmail.com),  
[erikaalarcon@gmail.com](mailto:erikaalarcon@gmail.com), [arturoreyeslazalde@gmail.com](mailto:arturoreyeslazalde@gmail.com)

<sup>b</sup>Dirección General de Innovación Educativa-BUAP, Puebla, Pue. [marleni.reyes@yahoo.com.mx](mailto:marleni.reyes@yahoo.com.mx)

### RESUMEN:

La actividad eléctrica de las células excitables se explica por la presencia de corrientes iónicas que producen potenciales de acción. El estudio de las corrientes iónicas en las células excitables se ha estudiado ya por varias décadas. La técnica experimental para su estudio consiste en la fijación de voltaje. Cada corriente iónica presenta propiedades específicas que son determinadas por medio de esta técnica. Dentro de las propiedades que se encuentran en las corrientes iónicas están su activación, su inactivación, su duración y amplitud. El estudio por separado de cada una de las corrientes presentes en una célula excitable se logra gracias al bloqueo específico de las demás corrientes. En algunas ocasiones no existe un bloqueador específico y entonces se tiene que restar de un trazo que es la suma de al menos dos corrientes. Los modelos matemáticos derivados de los experimentos son capaces de reproducir aproximadamente bien las características de cada corriente iónica. En este trabajo se diseñó y desarrolló un simulador de la corriente iónica lenta de calcio por medio del lenguaje de programación Visual Basic® ver. 5.0 para ambiente Windows® desde XP a Windows 8. El simulador reproduce las características electrofisiológicas de los canales de calcio involucrados. El usuario puede usar el simulador sin tener un conocimiento especial de computación.

### 1. INTRODUCCION

Para conocer acerca de las propiedades electrofisiológicas de las células cardiacas han sido llevadas a cabo diversas técnicas en las últimas décadas, tales como: *voltage clamp*, *patch clamp*, etc. [1, 2], los resultados obtenidos de estas técnicas permiten la obtención de medidas aproximadas de las corrientes que se registran en la membrana celular, permitiendo conocer el funcionamiento del músculo cardiaco [3].

Un potencial de acción se genera por la diferencia de potencial electroquímico en el medio intracelular y el extracelular. La membrana celular además de cumplir la función de separar el medio intracelular y extracelular, cuenta con canales iónicos y bombas que permiten el intercambio de iones entre ambos medios, todo esto gracias a la diferencia de concentraciones iónicas, a las fuerzas de difusión y de campo eléctrico. Este flujo de iones son los responsables de generar corrientes de iones ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , entre otros,) y a su vez son el mecanismo responsable de la generación de un potencial de acción.

En las células cardiacas del nodo sinusal se registra un potencial de acción cardiaco con fase 4 de lenta despolarización, este se desplaza progresivamente del potencial de membrana hacia el valor de potencial umbral y con ello dispara un nuevo potencial de acción. Esta fase de lenta despolarización diastólica es consecuencia de una corriente neta de entrada de cargas positivas al interior celular. Esta parte del registro del potencial de acción se asocia a una corriente lenta interna generada por el flujo de iones calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

En condiciones normales, el nódulo sinusal posee un potencial de membrana en reposo de aproximadamente  $-60\text{mV}$ . La actividad conjunta de diversas corrientes da lugar a un flujo de entrada neto de sodio ( $\text{Na}^+$ ) y, por lo tanto, a un aumento del potencial de membrana. Cuando este alcanza  $-40\text{mV}$ , se activan las corrientes de calcio tipo T ( $I_{\text{Ca,T}}$ ) y tipo L ( $I_{\text{Ca,L}}$ ), que son las

corrientes iónicas predominantes durante la fase de ascenso del potencial de acción de las células marcapasos [4]. Estas corrientes son resistente a los efectos de: TTX, ion manganeso y del D-600 [5] lo que hace posible la facilitación de su estudio.

El disparo del potencial de acción genera la contracción celular poniendo en marcha una serie de mecanismos intracelulares que comienzan con la entrada de calcio y desembocan en la interacción de los miofilamentos de actina y miosina produciendo finalmente la contracción cardiaca. Esto es posible gracias a la apertura de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  que son sensibles a voltaje, y en consecuencia permiten la entrada de una pequeña cantidad de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el medio externo al citoplasma estimulando, así, la salida de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el retículo sarcoplasmico al citoplasma a través del receptor de rianodina [6]. Tras la contracción muscular se produce la relajación. Para que ésta tenga lugar debe disminuir la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el citoplasma, para que esto suceda es de vital importancia la participación de la  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa de retículo sarcoplasmico.

Las células que presentan la corriente interna lenta tienen muchas funciones fisiológicas diferentes que no solo sean de excitación de la membrana. La corriente interna lenta de  $\text{Ca}^{2+}$  juega un papel importante en: el inicio de la contracción del miocardio, en la actividad del marcapaso de las células del nodo sinusal, en la secreción de las células glandulares, así como en la actividad post-sináptica de la membrana del musculo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODO

Se logró desarrollar un simulador computacional interactivo en el cual se refuerza la enseñanza aprendizaje sobre la corriente lenta de  $\text{Ca}^{2+}$ , registrada en nodo sinusal de conejo mediante la técnica de fijación de voltaje. Se utilizó el software de programación Visual Basic versión 5.0 para ambiente Windows. La ecuaciones (Figura 1) utilizadas para describir esta corriente fueron las propuestas por Yanagihara, Noma e Irisawa en 1980 [6]

$$i_s = (0.95d + 0.05) \cdot (0.95f + 0.05) \cdot \bar{i}_s$$

$$\alpha_d = \frac{1.045 \times 10^{-2}(E+35)}{1 - \exp(-(E+35)/2.5)} + \frac{3.125 \times 10^{-2}E}{1 - \exp(-E/4.8)}$$

$$\beta_d = \frac{4.21 \times 10^{-3}(E-5)}{\exp((E-5)/2.5) - 1}$$

$$\alpha_f = \frac{3.55 \times 10^{-4}(E+20)}{\exp((E+20)/5.633) - 1}$$

$$\beta_f = \frac{9.44 \times 10^{-4}|E+60|}{1 + \exp(-(E+29.5)/4.16)}$$

$$\bar{i}_s = 12.5(\exp(E-30)/15) - 1$$

Figura 1. Ecuaciones para describir la corriente lenta de  $\text{Ca}^{2+}$  del modelo matemático de Yanagihara, Noma e Irisawa en 1980.

## 3. DESCRIPCIÓN Y USO DEL PROGRAMA

El simulador de la corriente lenta de calcio, se ejecuta directamente en la ventana principal, cuenta con un recuadro en la parte superior derecha en la que el usuario puede ingresar el voltaje de fijación (Se necesario el ingreso de voltajes negativos), cuenta con dos graficas: una gráfica corresponde a la corriente registrada (pA) vs tiempo (ms) y la otra corresponde al voltaje clamp: voltaje de fijación (mV) vs tiempo (ms), cuenta también con el botón de simular para que una vez que ingresemos el voltaje se registre la corriente. El botón de borrar se utiliza para borrar el registro, y en cualquier momento se puede regresar a menú principal o salir del programa.

En los datos experimentales reportados por Ynagihara, Noma e Irisiwa (1980) [7], en fijación de voltaje se observó una corriente entrante con un estímulo de voltaje de -40 mV. La figura 2, muestra la simulación correspondiente. En las figuras 3 y 4 se muestran las corrientes de calcio cuando se disminuye o se aumenta el voltaje (-20 y -80 mV, respectivamente).

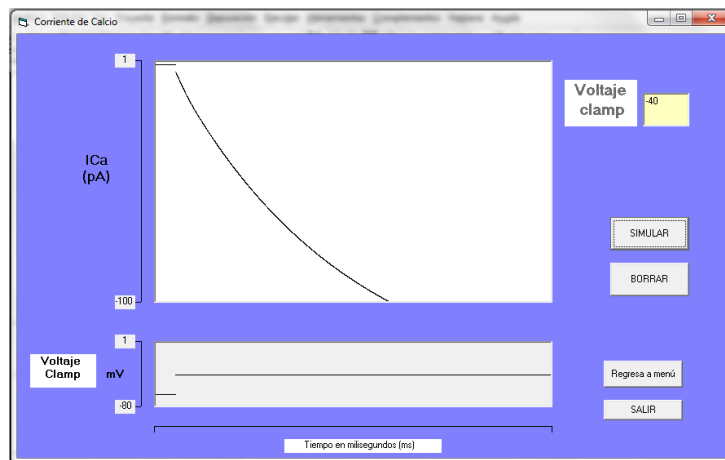


Figura 2. Trazo de la corriente lenta de  $\text{Ca}^{2+}$  registrada en el nodo sinusal de conejo con un pulso de voltaje de -40 mV.

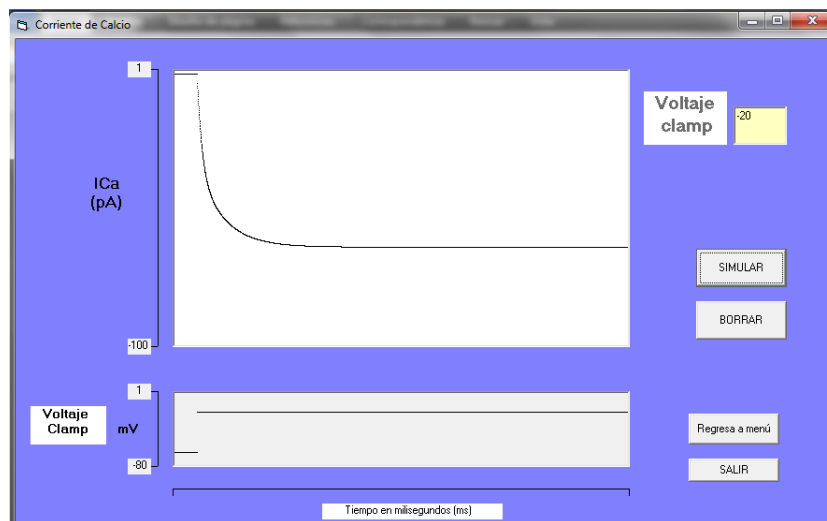


Figura 3. Registro de la corriente lenta de  $\text{Ca}^{2+}$  con un estímulo de voltaje de -20 mV.

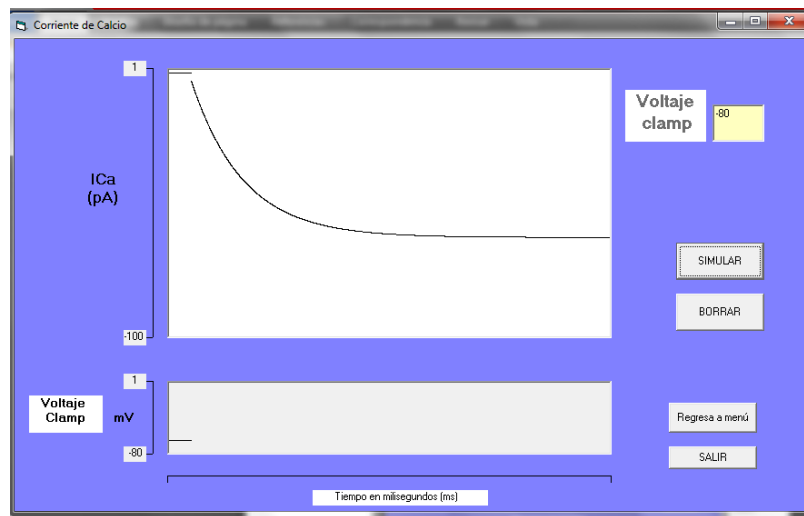


Figura 3. Simulación de la corriente lenta de  $\text{Ca}^{2+}$  con un estímulo de voltaje de -80 mV.

Esta corriente se reporta como una de las más importantes para la generación del potencial de acción cardiaco en el nodo sinusal. Por lo que el voltaje es importante para poder activar los canales de  $\text{Ca}^{2+}$ .

#### 4. CONCLUSIONES

El simulador reproduce las corrientes de calcio en el nodo sinusal de acuerdo a lo reportado por Ynagihara, Noma e Irijiwa en 1980. El simulador es de fácil manejo para los usuarios y es recomendable su uso para poder explicar la importancia que juegan las corrientes iónicas en el potencial de acción cardiaco registrado en el nodo sinusal. El simulador es ejecutable y no requiere de ningún otro programa para que corra, ni de algún conocimiento especializado de cómputo.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. W. C. Cole, C. D. McPherson, D. Sontag. "ATP-regulated  $\text{K}^+$  channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage". *Circ. Res.* 69, 1991, pp. 571-581.
2. O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, F. J. Sigworth. "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches". *Pflugers Arch.* 391, 1981, pp. 85-100.
3. K. Cardona., J. Saiz, J.M. De Loma, G. Puerto, C. Suárez. "Modelado y Simulación de la Actividad Eléctrica de Células Ventriculares: Electric Activity Model of Cardiac Cells". *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia* N° 46. 2008. pp. 80-89.
4. A. Barbuti, M. Baruscotti, D. DiFrancesco. "The pacemaker current". *J Cardiovasc Electrophysiol.* 18, 2007, pp.342-347.
5. Zipes, P. Douglas, J. C. Bailey, V. Elharrar. "The slow inward current of the Rabbit Sino-Atrial Nodal Cells", in *The slow inward current and cardiac arrhythmias*. Springer, Netherlands, 1980, Chapter 3, pp. 265-284.

6. A. Fabiato, "Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum", *Am J Physiol*, 14, 1983, pp. C1-C14.
7. K. Yanagihara, A. Noma, H. Irisawa. "Reconstruction of sino-atrial node pacemaker potential based on the voltage clamp experiments". *Japanese Journal of Physiology*, 1980, pp. 841-857.

## DETERIORO DE LA CUENCA LERMA-CHAPALA: AUSENCIA DE MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS

Ximena Barrientos Domínguez,<sup>a</sup> María Patricia Domínguez Echeverría <sup>b</sup> y Ulises Guzmán Dorantes.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, *campus* C.U., Posgrado de la Facultad de Arquitectura. [arq.barrientos@gmail.com](mailto:arq.barrientos@gmail.com)

<sup>b</sup> Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada de Hueso # 1100 Col. Villa Quietud, C.P. 04960, México, D.F. [mpdomin@correo.xoc.uam.mx](mailto:mpdomin@correo.xoc.uam.mx)

<sup>c</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, *campus* C.U., Facultad de Ingeniería, PAE. [uxguzman@gmail.com](mailto:uxguzman@gmail.com).

### RESUMEN

**Introducción:** de acuerdo a los datos disponibles más recientes, durante el período comprendido entre 2007 y 2010, las instituciones ambientales dispusieron para la cuenca Lerma-Chapala, un monto de 3 mil 475 millones de pesos con el objeto de emprender más de 6,500 acciones para resolver el impacto al medio ambiente que han originado los problemas derivados de la degradación de la región. En este sentido, el rubro del agua potable y alcantarillado acaparó más recursos (43%). Mientras tanto, *han quedado pendientes los rubros relativos al manejo de las descargas industriales, así como el manejo adecuado de los residuos peligrosos vertidos.*

**Teoría:** un estudio conducido por el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), ha puesto en evidencia los vacíos encontrados en la asignación de presupuesto para llevar a cabo las acciones en las sub cuencas del estado de México, que es donde nace el río Lerma, mientras que el mayor número de acciones han sido dirigidas a la sub cuenca de Chapala.

**Metodología:** a partir de la evaluación del INECC, y, *con el objeto de evaluar la calidad del agua de la sub cuenca de Lerma*, dado el vacío de las últimas acciones de las autoridades de la zona (2010), nuestro equipo realizó análisis fisicoquímicos del agua (conductividad, pH, oxígeno), en 5 estaciones.

**Conclusiones:** las acciones realizadas han sido parciales y dispersas, ya que: 1) Lejos de resolver las problemáticas generadas por la industria, éstas se han agravado. 2) Se han permitido además, cambios de uso de suelo en la zona, con la consiguiente proliferación de asentamientos urbanos con mayor aglomeración y contaminación de la zona. 3) Los datos fisicoquímicos obtenidos en nuestro estudio, muestran altos niveles de mineralización, un pH fuera del rango permitido por la NOM y valores de oxígeno debajo de los valores mínimos permitidos.

### 1. INTRODUCCIÓN

Para garantizar el acceso al agua potable, así como un medio ambiente sano a las presentes y futuras generaciones, Greenpeace se encuentra trabajando de manera global en la *Campaña de Tóxicos (Detox)* desde 2011. Para tal efecto, la organización monitorea y denuncia la contaminación de ecosistemas en el hemisferio sur donde no existen marcos legales regulatorios rigurosos para

monitorear y prevenir la contaminación. La campaña Detox de Greenpeace ha documentado la contaminación que produce fundamentalmente la industria textil en ríos de Argentina, México, China, Indonesia, Filipinas (Greenpeace, 2013). Sin embargo, ante las denuncias y la corrupción en cadena a nivel global, poco ha podido hacerse al respecto para detener el problema.

## 2. TEORÍA

En México, la descarga de aguas residuales (tanto residenciales como industriales) sin análisis ni previo tratamiento a los ríos, es un problema añejo. A este respecto, las normas de descarga, -NOM001 y -NOM002, carecen de criterios de contaminación para regular. Tanto la demanda química de oxígeno (DQO) como la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), que son criterios internacionales, no identifican sustancias específicas en el agua. Aunada a esta problemática, las plantas tratadoras de aguas residuales no consideran las descargas industriales. Según datos oficiales, apenas cubren un 19.3 por ciento, ya que no cuentan con un proceso terciario. De esta manera, las aguas residuales de origen industrial continúan contaminadas. Tenemos datos del 2013, documentados por Greenpeace en las cuencas de Lerma, en el estado de México y del Atoyac en Puebla.

**La cuenca Lerma-Chapala** es una región emblemática. La parte conocida como la Cuenca Alta del Lerma es una zona profundamente contaminada: más de 500 mil habitantes, con más de 500 industrias contaminantes instaladas en el corredor Lerma-Toluca, provenientes de las variedades química, textil, curtiduría, textil, plásticos, alimenticia, farmacéutica, metal mecánica (IMTA, 2009).

Abundan, en las aguas residuales, metales pesados altamente tóxicos tales como mercurio, cadmio y plomo, regulados por la NOM-001 y otros disolventes como el benceno y el tolueno, carentes de regulación ambiental (CONAGUA, 2011). Para contender con la contaminación de las aguas residuales en el corredor industrial Lerma-Toluca, fue creada por el gobierno del Estado de México, la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales, Reciclagua, la cual tiene una capacidad anual de tratamiento de 0.4 m<sup>3</sup>/s, y recibe las aguas residuales de 165 industrias del corredor industrial (MTA, 2009).

**En el tratamiento primario** de las aguas residuales, se separan los residuos sólidos que llegan a las PTAR mediante procedimientos manuales tales como rejillas, microfiltros, canales de desarenado. También se retira la grasa del agua y se ajusta el pH para permitir la posterior degradación de la materia por microorganismos.

**En el tratamiento secundario** la acción de las bacterias degrada el alimento. Ante esta oxidación biológica, no se puede hacer nada para eliminar los clorobencenos (que se acumulan en los tejidos humanos, afectando diversos órganos como hígado, tiroides y sistema nervioso central), los cuales se quedarán como residuo persistente en los lodos, que podrán ser usados como fertilizantes, p incinerarse para que se liberen al aire.

**En el tratamiento terciario** se eliminan los compuestos tóxicos o no biodegradables. Sin embargo, hay diversos químicos como el nonilfenol y sus etoxilados, que actúan como disruptores hormonales que afectan la reproducción de peces y otros son cancerígenos como los colorantes azoicos.

Para contender con la contaminación de los ríos mexicanos, debe establecerse un compromiso político que debe tener como eje central la sustitución e incluir la responsabilidad del productor para promover la eliminación del uso de tóxicos.



### 3. PARTE EXPERIMENTAL / METODOLOGÍA

A partir de la evaluación del Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), y, *con el objeto de evaluar la calidad del agua de la sub cuenca de Lerma*, dado el vacío de las últimas acciones de las autoridades de la zona (2010), nuestro equipo realizó análisis fisicoquímicos del agua (conductividad, pH y oxígeno), en 5 estaciones.

#### *pH*

Considerando el requisito para aguas de riego (NOM 001 y 002), éstas deben tener un pH entre 5,5 y 9,0, por lo cual las aguas de estos ríos son aptas para ese uso. El requisito para la vida acuática, es de 6 a 9 unidades de pH.

#### *Oxígeno disuelto*

El oxígeno disuelto de acuerdo a la norma vigente es de 5 ppm.

#### *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).

#### *Conductividad*

La conductividad es una medida del grado de mineralización de las aguas, como también de la carga iónica presente.

### 4. CONCLUSIONES

Las acciones realizadas han sido parciales y dispersas, ya que, lejos de resolver las problemáticas generadas por la industria, éstas se han agravado. Se han permitido además, cambios de uso de suelo en la zona, con la consiguiente proliferación de asentamientos urbanos con mayor aglomeración y contaminación de la zona.

1. El gobierno federal y regional debe cumplir con las metas del Convenio de Basilea sobre desechos peligrosos de 1989.
2. De manera simultánea, el gobierno federal debe establecer una lista dinámica de sustancias químicas peligrosas prioritarias para su prohibición acorde con los convenios internacionales sobre sustancias químicas peligrosas y plaguicidas comerciales.
3. Las normas de descarga actuales (NOM 001 y 002) deben ser reforzadas con la inclusión de esta lista dinámica de sustancias en la regulación; la reducción de los límites para metales pesados. y el establecimiento de objetivos intermedios para
4. Los datos fisicoquímicos obtenidos en nuestro estudio, muestran altos niveles de mineralización, un pH fuera del rango permitido por la NOM y valores de oxígeno debajo de los valores mínimos permitidos.
5. Los valores de *conductividad* encontrados fueron de 32 a 186 Ms/cm, que están dentro de lo estipulado por las Normas Mexicanas para las aguas de riego.

6. El oxígeno disuelto se presentó en un rango de 6.5 a 11.4 ppm estando sobre los valores mínimos que permiten sustentar la vida acuática, que, de acuerdo a la norma vigente es de 5 ppm.
7. Conjuntamente con el establecimiento de plantas de tratamiento, es necesario que como primer paso se controle a la industria en el uso de las sustancias más tóxicas y persistentes. Más adelante, prohibir su uso.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. CONAGUA, Informe Estadísticas del agua en México, Comisión Nacional del Agua (Conagua), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), ed. 2011, p 48.
2. (2013). Ríos Tóxicos, Lerma y Atoyac: la historia de la negligencia continúa. México, Greenpeace.
3. Rivera Pulgar N. y Muñoz – Pedreros A. (1999). Parámetros químicos relevantes para un estudio de impacto ambiental en un río del sur de Chile. *Revista Información Tecnológica (CIT) Vol. 10 No. 5, 1999.*
4. IMTA Instituto Mexicano de la Tecnología del Agua, Estrategia general para el rescate ambiental y sustentabilidad de la Cuenca Lerma-Chapala. Informe final, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2009. Obtenido del sitio *web*: <http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/publicaciones/Publicaciones/EGRASCLCH.pdf>.

## Determinación de las condiciones de reacción para la electrosíntesis orgánica de azocompuestos

R. Enríquez-Reyna<sup>a</sup>, P.A.Nieto-Clemente<sup>a</sup>, R.A. Rivera-Zarazúa<sup>a</sup>, C. L. Terrones-Campos<sup>a</sup>, M. González-Leal<sup>a</sup>, A. Rodríguez-Ontiveros<sup>a</sup>, G. Pedraza-Aboytes<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, Qro., robenrey@hotmail.com, ivonn0308@hotmail.com, luvan\_93@hotmail.com, claudia.terrones2290@gmail.com, maricelagl@hotmail.com, paare27@hotmail.com, peag@uaq.mx

### RESUMEN:

La electroquímica orgánica siendo esta una ciencia encargada de llevar a cabo reacciones mediante interacciones de energía eléctrica a compuestos orgánicos, presenta características de mejora ante reacciones convencionales de azocompuestos aromáticos que son sustancias fuertemente coloreadas, en cuanto a disminución de productos no deseables y ahorro en costos de síntesis al usar el electrón como reactivo.

Este trabajo establece las condiciones de electrosíntesis para la obtención de compuestos azoicos, mediante la reducción de los grupos nitro del ácido pícrico. Durante la electrosíntesis, el potencial de electrodo se puede regular externamente a través de un potencióstato, siendo este instrumento el que permita determinar la ventana de electroactividad mediante la técnica de voltamperometría cíclica y así obtener el intervalo de potencial en el que se va a llevar a cabo la electrosíntesis. Al poder seleccionar por electroquímica el valor del potencial, se puede transformar solo el grupo deseado o bien alcanzar el estado de oxidación requerido. El voltamperograma arroja la evidencia de una reacción favorable y la electrosíntesis se lleva a cabo, usando como electrodo de referencia un electrodo de calomel saturado (SCE). Posteriormente el producto de reacción se somete a las técnicas analíticas instrumentales de espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS), para la identificación del producto deseado, es decir, grupos azo (R-N=N-R).

La caracterización del producto de reacción electro-orgánica se realiza con la técnica de GC/MS, dando ésta resultados no favorables sobre la presencia de los compuestos azoicos esperados, así como también la ausencia evidente de ácido pícrico remanente; por otro lado la identificación del grupo azoico por FTIR arrojó respuestas analíticas más favorables, indicando así la presencia del enlace azoico esperado.

En cada una de las pruebas por instrumentación analítica, se sometieron controles donde se encuentra la presencia de compuestos azoicos, para de esta manera asegurar resultados confiables. Se permite entonces observar, ante los resultados, que la técnica de cromatografía de Gases acoplado a espectrometría de masas no es favorable, ya que descompone el producto de reacción a elevadas temperaturas, a diferencia de espectroscopia de infrarrojo, que no involucra la temperatura, y permite observar los resultados.

### 1. INTRODUCCIÓN

En vista de la necesidad de la industria química por encontrar metodologías más ecológicas que cumplan con la legislación ambiental para la transformación de moléculas, ésta se obliga a afrontar nuevas rutas de síntesis.

Los azocompuestos (R-N=N-R) no poseen propiedades básicas apreciables. Los azocompuestos aromáticos (R=arilo) son sustancias estables, fuertemente coloreadas, que se han utilizado mucho como colorantes económicos a lo largo de más de un siglo, sin embargo, en la síntesis industrial actualmente utilizada, genera costos por su purificación además de productos indeseables.

La electrosíntesis orgánica al emplear el electrón como reactivo en reacciones de oxidación-reducción, resulta en una mezcla de reacción con menos productos por separar debido a que no contiene residuos de oxidantes o reductores, se pueden eliminar o reducir cantidades catalíticas

oxidantes o reductores tóxicos, peligrosos y costosos ( $\text{OsO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{AcO})_4$ ,  $\text{NaH}$ ,  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ , etc.), por esta razón la electrosíntesis es considerada una técnica ecológica.

## 2. TEORÍA

Una reacción electroquímica consiste en una transferencia electrónica, por medio de la corriente eléctrica entre el sustrato y un electrodo metálico normalmente inerte (Harris, 2007). El potencial de electrodo se puede regular externamente a través de un potencióstato, de forma que sea más oxidante o más reductor (el potencióstato mantiene el potencial del electrodo de trabajo a un valor constante respecto a un electrodo de referencia. En general, con el potencióstato se puede conferir al electrodo la presión electrónica de cualquier metal. Debido a que en general los sustratos orgánicos son poco conductores, y a que a escala de laboratorio interesa suprimir la migración para la sustancia electroactiva, se añade una sal altamente disociable a una concentración cien veces superior a la de ésta y que es la que sufre el fenómeno de la migración. Esta sal recibe el nombre de electrolito soporte (Torii, 2006).

La electroquímica orgánica es una ciencia reciente que se encarga del estudio de todas las reacciones que se pueden llevar en un marco de ingreso o generación de energía eléctrica, es decir, los mismos principios de la electroquímica convencional aplicado a compuestos orgánicos por tanto es *el estudio de celdas electroquímicas, reacciones químicas aplicadas a los compuestos orgánicos para procesos de síntesis o descomposición* (Siggia, 1963).

El equipo para la electrosíntesis debe tener al menos una fuente de poder, en la que se da una reacción electroquímica a potencial controlado o a corriente controlada. Los electrodos más usados en reducciones son mercurio, plomo, estaño, titanio, cobre, hierro, aluminio, platino, níquel y carbón, mientras que el uso de metales de oxidación está restringido aquellos que son químicamente estables como el platino, oro, carbón vidriado y recientemente electrodo de diamante dopado con boro (BDDE).

La solución de electrolisis debe ser conductora, por lo que el disolvente debe ser polar para ionizar la sal electrolito que permitirá la conductividad de la solución. Este solvente debe permitir la buena solubilidad del compuesto y el electrolito para poder tener una electrolisis exitosa (Fontana-Urbe, 2010).

Al elegir los disolventes es necesario emplear mezclas hidro- orgánicas o bien un medio totalmente orgánico. El disolvente escogido para disolver el compuesto a transformar tiene que ser capaz además, de disociar el electrolito soporte en concentraciones mayores a 0.1 M, permitir transportar la carga en solución y tener buena conductividad eléctrica (Paddon et al, 2006).

Esta mezcla disolvente – electrolito soporte, es la responsable junto con el material de electrodo, de los valores de potencial que son posibles de alcanzar dentro de la celda electroquímica. A este rango de potencial se le denomina “ventana de electroactividad del medio” (Fontana-Urbe, 2013).

Es de suma importancia la elección atinada del disolvente, ya que este va a influir en la transformación química de las especies electrogeneradas, ya sea aceptando o donando protones, que se pueden añadir a los intermediarios o pueden favorecer reacciones con otros compuestos adicionados a la celda de electrolisis para atrapar estos intermediarios (Couper, 1990).

El desarrollo de esta técnica de electrosíntesis orgánica puede ser aplicado para los compuestos de azobencenos a partir de nitrobenenos, es necesario un medio electrolítico de  $\text{LiClO}_4$  en THF y el uso de electrodos de magnesio (Soonki W, 2006). Estos compuestos generalmente no se encuentran en la naturaleza de modo que se tienen que sintetizar por medios químicos ya que son de alto interés industrial-científico y con gran valor agregado.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

**a. Construcción de celda electroquímica para voltamperometría y electrosíntesis:** Se construyó en un vaso de precipitado de 100 mL con un electrodo de trabajo y contraelectrodo de Mg, además de un SCE. Para administrar energía eléctrica se usó un potencióstato Gamry modelo Reference 3000 (el cual fue facilitado por el CIDETEQ).

**b. Determinación de la ventana de electroactividad y potencial de reacción del medio mediante voltamperometría cíclica:** Se usó un barrido de potencial a intensidad constante en el

rango de -2.5 a 2.5 V a una velocidad de barrido de 20mV/s iniciando a potencial de 0V y terminando en -2.5 V en un volumen de 50 mL. Se trabajó con diferentes mezclas de solventes para encontrar las mejores condiciones de trabajo, los cuales se reportan en la Tabla 1

Tabla1. Solventes, electrolitos y reactivos para pruebas de voltamperometría cíclica

Solventes	Etanol Hexano	Metanol Acetona	Agua <i>n</i> -propanol	Tetrahidrofurano	Agua
Electrolito / reactivo	NaCl Ac. Pícrico	NaCl Ac. Pícrico	NaCl Ac. Pícrico	NaCl Ac. Pícrico	NaCl Ac. Pícrico
	KCl Ac. Pícrico	KCl Ac. Pícrico	KCl Ac. Pícrico	KCl Ac. Pícrico	KCl Ac. Pícrico
	KI Ac. Pícrico	KI Ac. Pícrico	KI Ac. Pícrico	KI Ac. Pícrico	KI Ac. Pícrico
	Ac. Acético Ac. Pícrico	Ac. Acético Ac. Pícrico	Ac. Acético Ac. Pícrico	Ac. Acético Ac. Pícrico	Ac. Acético Ac. Pícrico
Nota: - La concentración del ácido pícrico es de 10mM en todas las soluciones. - La concentración de los electrolitos es de 1mM en todas las soluciones.					

**c. Reacción de síntesis de azocompuestos:** El reactor para la reacción de electrosíntesis consistió en: fuentes de poder, voltímetros y amperímetros, matraces de reacción, electrodos, sistema de refrigeración y sistema de agitación. Las síntesis se llevaron a cabo a: 15, 30 y 45 minutos de reacción bajo agitación constante a T ambiente y conectadas a sistemas de refrigeración, usando como disolvente THF puro, electrolito de ácido acético 1mM, ambos electrodos de Mg y como reactivo ácido pícrico 10mM. A un voltaje de 2.5 V contra SCE.

**d. Separación de componentes de reacción por extracción líquido-líquido:** Una vez terminadas las reacciones de síntesis se procedió a la separación de la mezcla de reacción de síntesis de 30 minutos de duración, obteniendo como resultado dos fases orgánicas inmiscibles, ambas muestras se centrifugaron.

**e. Caracterización de productos de reacción por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC/MS):** Las fases anteriores fueron diluidas en sus respectivos disolventes tomando 75 uL de la muestra y añadiendo 925 uL (3:40) de disolvente para ser posteriormente introducidas en un cromatógrafo de gases Agilent modelo 6850 acoplado a un espectrómetro de masas Agilent modelo 5973 *Network*, usando una columna DB-Wax.

**f. Caracterización de productos de reacción por FTIR:** Igualmente las fases separadas, una muestra de naranja de metilo y ácido pícrico puro se sometieron a una espectroscopia de infrarrojo en un espectrómetro Perkin-Elmer modelo *Spectrum 400* realizando un barrido de 4000 a 650 cm<sup>-1</sup>

**g. Medición de temperatura de descomposición del naranja de metilo:** Debido a los resultados obtenidos en el GC/MS se realizaron pruebas para determinar si se aprecia algún cambio físico en el naranja de metilo usando un aparato para medir puntos de fusión Fisher-Jones.

#### 4.RESULTADOS

Se construyó una celda electroquímica que consistió de un vaso de precipitado de 100 mL con un electrodo de trabajo y contraelectrodo de magnesio además de un electrodo de referencia de calomel saturado (SCE). En esta celda se llevó a cabo la determinación de la ventana de electroactividad y potencial de reacción del medio mediante voltamperometría cíclica. Se realizaron las pruebas de voltamperometría cíclica a las mezclas de disolventes y electrolitos reportadas en la Tabla 1, se usó un barrido de potencial de -2.5 a 2.5 V a intensidad constante, a una velocidad de barrido de 20mV/s, obteniendo el voltamperograma de la figura 1.

Figura 1. Voltamperograma del medio de reacción escogido.

Las condiciones de reacción con que se obtuvo un cambio de coloración en la mezcla y por lo tanto la aparición de los productos se reporta en la tabla 2.

Tabla 2. Condiciones para la obtención de productos de reacción

Voltaje (vs. SCE)	2.5 V
Tiempo	30 minutos
Disolvente	Tetrahidrofurano
Electrolito-soporte	Ácido acético (10 mM)
Electrodos	Mg // Mg

Bajo las condiciones anteriores aplicadas se obtuvo una mezcla de reacción turbia, que además contenía ácido acético, por lo que se procedió a eliminarlo mediante una neutralización con solución acuosa de bicarbonato de sodio; la mezcla continuaba turbia, por lo que se hizo una extracción líquido-líquido con hexano, y se formaron dos fases una amarilla no polar (hexano), y otra marrón polar (THF); estas fases fueron sometidas a análisis por espectroscopia infrarroja y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

El análisis infrarrojo se llevó a cabo usando como controles anaranjado de metilo donde se identifica la banda correspondiente al grupo  $-N=N-$  en  $1607.3\text{ cm}^{-1}$ , el cual es representativo de los azocompuestos y ácido pícrico donde fue encontrada a  $1525.32\text{ cm}^{-1}$  la banda para el grupo nitro. En la fase superior se encontró la banda en  $1647.16\text{ cm}^{-1}$  que indica el grupo azo ( $-N=N-$ ), en el análisis de la fase inferior aparecen dos bandas importantes una a  $1632.35\text{ cm}^{-1}$  que indica el grupo azo ( $-N=N-$ ), y otra en  $1549.32\text{ cm}^{-1}$  que pertenece al grupo nitro. El análisis de ambas fases en CG/EM solo presento probabilidades de moléculas similares a THF, que fue usado como disolvente, por lo que los resultados de este análisis no fueron relevantes.

#### 4. CONCLUSIONES

En este trabajo, aunque se logró identificar el grupo funcional azo ( $-N=N-$ ) por espectroscopia de infrarrojo, es necesario destacar que convendría añadir más pruebas cualitativas y cuantitativas que arrojen más evidencias acerca de la presencia de los compuestos esperados con la síntesis, entre tales pruebas se podría incluir la cromatografía de alta eficiencia acoplada espectrometría de masas (HPLC/MS) y pruebas de análisis químico cualitativo del grupo funcional. Además durante el análisis en GC/MS se apreciaron compuestos de origen desconocido que hasta el momento adjudicamos a la descomposición del compuesto de interés y el disolvente por lo cual conviene estudiar este fenómeno más a profundidad para poder determinar con absoluta certeza de donde provienen dichos compuestos y que factores provocan su aparición. También es conveniente investigar la ausencia de los compuestos azoicos en el análisis por GC/MS para determinar si este hecho se debe efectivamente a su descomposición y posterior reacción con otros componentes de la mezcla o simplemente a que no se encuentra en la base de datos del software del instrumento utilizado. De igual manera se sugiere realizar más pruebas de voltamperometría cíclica modificando parámetros como concentraciones de los electrolitos, el uso de electrolitos orgánicos o incluso el uso de otros compuestos nitrados, todo esto para determinar si se dan reacciones secundarias no deseadas en la mezcla de reacción que puedan ser interferentes en los cromatogramas y espectros de masas obtenidos.

Se encontraron las condiciones para llevar a cabo la reacción de electrosíntesis orgánica de azocompuestos a partir de la reducción de los grupos nitro del ácido pícrico, la formación de dichos compuestos fue confirmada por la presencia del grupo funcional azo ( $-N=N-$ ) mediante espectroscopia de FTIR.

No se detectaron en GC/MS lo cual puede deberse a la descomposición de esta clase de compuestos a temperaturas de entre  $190$  y  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo los componentes detectados en las muestras de reacción fueron los mismos que los observados en los controles introducidos también a dicho instrumento.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Couper, A. "Electrode Materials for electrosynthesis", Chem. Rev., Vol. 90, 1990, pp. 837-865.
2. Fontana-Uribe B., "Organic electrosynthesis: a promising green methodology in organic chemistry", Green Chemistry, Vol. 12, 2010, pp. 2009-2019.
3. Fontana-Uribe B., "Síntesis orgánica electrolizando moléculas", Química Central, Vol. 3,2, 2013, pp. 33-42.

4. Paddon C, "Towards paired and coupled electrode reactions for clean organic microreactorelectrosynthesis", *Journal of applied electrochemistry*, Vol. 36, 61, 2006, pp. 617-634.
5. Siggia S. "Quantitative organic analysis: via functional groups". John Wiley and Sons, Nueva York, EUA, 1963. pp. 526-529.
6. Soonki W, "Electro organic synthesis utilizing Mg electrodes (II) –Novel synthesis of symmetric azobenzenes from nitrobenzenes", *Bull. KoreanChem. Soc.*, Vol. 27, 2, 2006, pp. 195-196.
7. Tatsuya S., "Electroorganic synthesis", 1°, Academic press limited, San Diego, EUA, 1991, pp. 8, 11-19, pp. 64-65.
8. Torii S., *Electroorganic reduction synthesis*, (Wiley-VCH, Tokio, Jap, 2006), vol. 1, pp. 190-191.

## COLEÓPTEROS NECRÓFILOS COLECTADOS EN LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA Y EL PARQUE EHECATL ECATEPEC ESTADO DE MEXICO

A.K. Nava-Guzmán<sup>a</sup>, M.P. Villeda-Callejas<sup>a</sup>, H. Barrera-Escorcía<sup>a</sup>, G. E. D. Guedea-Fernández<sup>a</sup>, O. Cervantes-Zamudio<sup>a</sup>.

Laboratorios de Microscopía y Fotografía Digital. Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM, Tlalnepantla, Estado de México C.P. 54090

[ana-biologia-entomologia@hotmail.com](mailto:ana-biologia-entomologia@hotmail.com), [mapili\\_villeda@yahoo.com.mx](mailto:mapili_villeda@yahoo.com.mx), [hbarrerae@hotmail.com](mailto:hbarrerae@hotmail.com),  
[dalethguedea@hotmail.com](mailto:dalethguedea@hotmail.com), [osvaldocz@hotmail.com](mailto:osvaldocz@hotmail.com)

**RESUMEN:** Los insectos son reintegradores de la materia orgánica y pueden ser vectores de parásitos, se clasifican en organismos necrófagos, saprófagos y coprófagos, siendo Coleóptera y Díptera los órdenes más representados de este grupo. En los últimos años se han realizado gran número de investigaciones enfocadas a conocer el proceso de descomposición cadavérica y la artropofauna asociada con interés de aplicarlo a las ciencias forenses (Entomología forense) con el objetivo de determinar el Intervalo de Post Mortem. Se colocaron necrótrampas N-80 en los campos de la FES Iztacala y el parque Ehecattl, obteniendo 10 familias; Silphidae y Staphylinidae fueron las familias más abundantes; observando que las trampas cebadas con calamar obtuvieron un mayor número de organismos (744).

### INTRODUCCION:

Los insectos son reintegradores de la materia orgánica, se clasifican en organismos necrófagos, saprófagos y coprófagos, siendo Coleóptera y Díptera los órdenes más representados de este grupo. Los coleópteros es el orden más abundante de la clase con 250 mil especies, las familias necrófilas más sobresalientes son Silphidae, Trigididae y Scarabaeidae (Amador et al., 2010), pueden vivir en casi cualquier ecosistema terrestre. (Morales y León 2010).

En México las familias Scarabaeidae y Trogidae contemplan a la mayor parte de las especies degradadoras de carroña, razón por la cual son muy importantes debido a su mayor masa y fenología; pese al profundo conocimiento taxonómico y morfológico que se tiene sobre estos grupos, aún persiste un evidente rezago en el estudio de sus comunidades. (Ix-Balam et al., 2011)

La materia animal en descomposición provee un micro-hábitat dinámico a infinidad de artrópodos que la colonizan durante el proceso, los cambios físicos y químicos, producto de la putrefacción, así como los factores medio ambientales, influyen en la diversidad y secuencia de dicha colonización. Diversos grupos de artrópodos son atraídos a la carroña en diferentes estados de descomposición, dependiendo de sus particulares requerimientos alimentarios o refugio temporal. (Quiroz-Rocha 2005)

En México los estudios de coleópteros necrócolos, han ido aumentando gracias al trabajo de Morón y Terrón (1983) que diseñaron una trampa especialmente para su colecta. La cual fue denominada como necrotrampa permanente modelo 1980 (NTP-80). A partir de ahí los estudios realizados tienen una marcada tendencia hacia especies de Scarabaeidae, Silphidae y más recientemente Staphylinidae. (Navarrete-Herendida, 2012)

En los últimos años se han realizado gran número de investigaciones enfocadas a conocer el proceso de descomposición cadavérica y la artropofauna asociada con interés de aplicarlo a las ciencias forenses (Entomología forense) con el objetivo de determinar el Intervalo de Post Mortem. (Quiroz-Rocha 2005). En la mayoría de los trabajos dejan a un lado a grupos como Scarabaeidae o Formicidae debido a su poca "importancia" desde el punto de vista forense. Cabe mencionar que estos grupos suelen ser los más abundantes y diversos en la carroña siendo fundamental para el proceso de reintegración, actuando como depredadores y detritívoros. (Quiroz-Rocha 2005)

Quiroz-Rocha et al (2005). Realizaron un estudio de Entomofauna necrócola en cadáveres de conejo y codorniz, en el municipio de Mascota, Jalisco, México, encontrando en los Coleópteros uno de los grupos más abundantes con las familias Silphidae, Trogidae de hábitos necrobios y Scarabaeidae cuyas especies son necrobios y algunas necrófilas y saprófagas, y Staphylinidae e Histeridae necrófilas depredadoras.

En 2010 Villamares et al, realizaron un estudio de coleópteros necrófilos en Coatepec Harinas, Estado de México, percibiendo en la familia Scarabaeidae y Silphidae una mayor riqueza de especies. En 2011 Aguilar-Muñoz et al, realizaron un estudio de Coleópteros recolectados con técnicas directas e indirectas en el bosque mesofilo de montañas y pino-encino de Coatepec Harinas, Estado de México, México, viendo que la familia



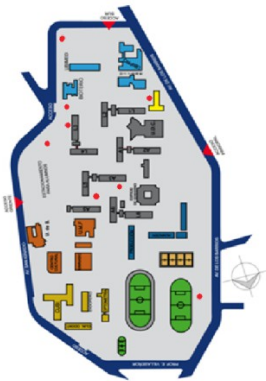
Scarabaeidae era la más abundante con 371 individuos, seguida por Staphylinidae con 185, Silphidae con 127, Leiodidae con 152, Hydrophilidae con 83 y Carabidae con 33, las restantes 16 tuvieron menos de 10 representantes. En el mismo año Pereda-Breceda et al, Realizaron un estudio de comparación de la entomofauna necrófaga descomponedora en 3 tipos de vertebrados en la región de Nombre de Dios, Durango; en mamífero se encontraron larvas y adultos de coleópteros en la etapa final de descomposición comiéndose las partes queratinizadas, en aves de igual forma se hallaron en la etapa final. Por lo que en el presente trabajo se enlistaran las especies de coleópteros encontrados con ayuda de necrótrampas en la FES-Iztacala y el Parque Ehécatl.

**OBJETIVOS:**

- 1.- Determinación de las especies de coleópteros necrófagos presentes en la FES-Iztacala y el parque Ehécatl.
- 2.- Determinación del cebo más adecuado para la captura de coleópteros necrófagos.
- 3.- Comparar las especies encontradas en los dos sitios de muestreo.

**PARTE EXPERIMENTAL:**

El trabajo se llevó a cabo en 2 sitios de muestreo, en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala ubicada en Tlalnepantla, Estado de México y el Parque Ehécatl ubicado en Ecatepec Estado de México. Se colocaron 8 necrótrampas tipo NTP-80, como fijador se utilizaron 95 partes de alcohol al 70% y 5 partes de ácido acético; 4 de ellas cebadas con calamar y 4 con carne de cerdo las cuales se revisaron mensualmente. El líquido conservador y los cebos se sustituyeron también mensualmente. Los organismos colectados se trasladaron en frascos al laboratorio de microscopia para ser determinados con ayuda de las claves de Borror et al., (1907) y claves de Peck y Anderson (1985).



**RESULTADOS**

Se revisaron las trampas en la FES Iztacala encontrando que la mayoría estaban inundadas y algunas fueron extraídas\*, por lo que los organismos encontrados fueron escasos. (\* No se muestran en las tablas)

TABLA 1 FES IZTACALA En esta tabla se muestran las especies encontradas en cada trampa, así como la abundancia de estas, con los diferentes cebos (Cerdo y Calamar), colectadas en la FES-Iztacala.

Trampa-Carne de Cerdo		No. de Organismos Encontrados
Silphidae	<i>Nicrophorus mexicanus</i>	13
Carabidae	<i>Harpalus pensylvanicus</i>	29
Staphylinidae	sp 1	98
	sp 2	63
Nitidulidae	<i>Omosita colon</i>	29
		<b>TOTAL 232</b>
<b>Trampa-Calamar</b>		<b># Organismos Encontrados</b>

Silphidae	<i>Nicrophorus mexicanus</i>	14
Carabidae	<i>Harpalus pensylvanicus</i>	22
Staphylinidae	sp 1	76
	sp 2	61
Nitidulidae	<i>Omosita colon</i>	4
Coccinellidae	sp 1	3
Histeridae	sp 1	5
<b>TOTAL</b>		<b>185</b>

TABLA 2 PARQUE EHECATL En esta tabla se muestran las especies encontradas en cada trampa, así como la abundancia de estas, con los diferentes cebos (Cerdo y Calamar), colectadas en el Parque Ehec atl.

Trampa-Calamar		No de Organismos Encontrados
Silphidae	<i>Nicrophorus mexicanus</i>	273
	<i>Oxelytrum discicolle</i>	12
	<i>Thanatophilus truncatus</i>	6
Carabidae	<i>Harpalus pensylvanicus</i>	59
	<i>Brachinus crepitans</i>	3
Tenebrionoidea	<i>Alobates pennsylvanica</i>	3
	<i>Eleodes dentipes</i>	6
Histeridae	sp 1	8
Staphylinidae	sp 1	31
	sp 2	144
	sp 3	2
	sp 4	5
Scarabaeidae	<i>Geotrupes vernalis</i>	1
Byturidae	sp 1	3
Dermestidae	sp 1	2
<b>TOTAL</b>		<b>559</b>
Trampa-Carne de Cerdo		No. de Organismos Encontrados
Silphidae	<i>Nicrophorus mexicanus</i>	125
	<i>Oxelytrum discicolle</i>	6
	<i>Thanatophilus graniger</i>	1
	<i>Thanatophilus truncatus</i>	3
Carabidae	<i>Harpalus pensylvanicus</i>	49
	<i>Brachinus crepitans</i>	3
	<i>calosoma protractum</i>	2
Staphylinidae	sp 1	54
	sp 2	31
Histeridae	sp 1	44
Nitidulidae	<i>Omosita colon</i>	3
Tenebrionoidea	<i>Alobates pennsylvanica</i>	2
	<i>Eleodes dentipes</i>	2
Byturidae	sp 1	11
<a href="#">Scarabaeidae</a>	<i>Geotrupes vernalis</i>	1
<b>TOTAL</b>		<b>337</b>

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Se recolectaron un total de 1313 organismos que representan a las familias: Silphidae, Carabidae, Staphylinidae, Histeridae, Nitidulidae, Tenebrionoidea, Byturidae, Scarabaeidae, Dermestidae y Coccinellidae.

Las familias con mayor abundancia fueron: Silphidae y Staphylinidae lo que concuerda con los resultados obtenidos por Quiroz-Rocha (2005)

Las menores representadas fueron las familias de Coccinellidae con 3 organismos y Scarabaeidae con 2 organismos.

Con respecto a los dos tipos de cebos podemos observar que al calamar tiene una mayor atracción de coleópteros, encontrando que en los 4 muestreos se obtuvieron 744 organismos mientras que en las cebadas con carne de cerdo se obtuvieron solo 569 organismos.

La presencia de coleópteros del género *Nicrophorus* puede estar asociada a la aparición de larvas de moscas ya que en el trabajo de Gonzales y Labrador, mencionan que estos son afines a las larvas de moscas.

*Nicrophorus mexicanus* estuvo presente todo el año en la localidad de Coatepec Harinas, Estado de México (Pérez-Villamares et al., 2010), por tal razón se recolectó en la FES-Iztacala y el Parque Ehécatl siendo una de las familias mayormente representadas.

Según con lo reportado por Navarrete- Hereida (2009) la mayor presencia de

*N. mexicanus* ocurre a una altitud de 2000 a 2500 msnm., el área de muestreo tanto la FES-Iztacala y el Parque Ehécatl se encuentra entre 2300 y 2700 msnm

La familia Carabidae según Acuña-soto et al., (2006) por sus hábitos alimenticios es considerada dentro de los necrófilos-depredadores por lo que en este tipo de estudios se encuentra en abundancia, esto concuerda con nuestros resultados.

La familia Staphylinidae son considerados como depredadores los cuales aparecen pocas horas después de la muerte y pueden pertenecer durante mucho tiempo por lo que frecuentemente son encontrados en las trampas (Villamil-Ramírez, Galindo-Miranda y Navarrete-Heredia, 2004).

Los restos de un cadáver puede ser colonizado por numerosos insectos, no obstante no todos participan activamente en la descomposición, además de que el nivel de exposición de los cuerpos, puede no favorecer la llegada de algunos de ellos.

También se observó la presencia de mosca tanto adultos como larvas y la familia Formicidae las cuales están asociadas a los hábitos necrófilos, la fauna que fue considerada como accidental estuvo representada por las familias: Himenóptera, Oniscidea, Pseudoescorpionida, Opiliónidos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Aguilar-Muñoz. L, M.A. Domínguez-Martínez, D. Meneses-San Juan, R. Parra-Marcelo, V. Reyes-Galindo, A.G. Trejo-Sarabia, 2010. Coleópteros (insecta Coleóptera) recolectados con técnicas directas e indirectas en bosque mesofilo de montaña y pino-encino de Coatepec Harinas, Estado de México, México, Revista de Entomología Mexicana, pp.:536-541.
2. Amador. C. F. E. Cruz. R, E. Hernández. A, A. Méndez. R, G. E. Ramos. C, V. Ramos H, I. Y. Rivero. H. 2010. Diversidad biológica de familias de insectos necrófilos (díptera y coleópteros) del bosque tropical caducifolio del municipio de Jungapeo, Michoacán, México. Revista de Entomología Mexicana pp.: 530-535
3. Borror, D. J., Triplehorn, C. A., and N: F: Jonson. 1989. And Introduction to the Study of insects. Saunders Collage Publishing.USA.
4. Brues. T. C., A. L. Malander, F. M. Carpenter.1954 Classification of insects. Bulletin of museum of comparative zoology at Harvard College Vol. 108.
5. Ix-Balam. A. M, C. Deloya, H. Ballina-Gómez, E. Sauri-Duch, L. Cuevas-Glory. 2010Diversidad de escarabajos necrófagos (coleóptera: Scarabaeidae y Trogidae) de la selva baja caducifolia de Conkal, Yucatán, México. Revista de Entomología Mexicana, pp.:177-181.
6. Navarrete-Heredia, J. L. 2009.Silphidae (Coleóptera) de México: Diversidad y distribución. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco México. p. 160.
7. Pereda-Breceda. V, L. E. Martínez-Navarrete, R. D. Barrios-Irigoyen, S. E. Hernández-Páez, R. M. Viggers-Carrasco. 2011. Comparación de la entomofauna necrófaga descomponedora en tres tipos de vertebrados en la región de Nombre de Dios, Durango, México. Revista de Entomología Mexicana, pp.: 476-481
8. Pérez-Villamares. J. C, E. Jiménez-Sánchez, J. R. Padilla-Ramírez. 2010. Coleópteros necrófilos (Scarabeidae, Geotrupidae, Ceratocanthidae y Silphidae) de Coatepec Harinas, Estado de México, México. Revista de Entomología Mexicana pp.: 1098-1103
9. Quiroz-Rocha. G.A, P. A. Martínez-Rodríguez, B. Hernández-Márquez, J. L. Navarrete-Heredia, M. Vásquez-Bolaños. 2005. Entomofauna necrófila en Cadáveres d conejo y codorniz, en bosque de pino-encino y bosque mesofilo de montaña, en el municipio de mascota, Jalisco, México. Revista de Entomología Mexicana, pp.: 1725-1729.

10. Villamil-Ramírez, E, D. Galindo-Miranda N, E. y Navarrete-Heredia J, L. 2004. Caracterización de la Coleoptero fauna asociada a cadáveres de *Mus musculus* L. en la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel. México.

## Respuesta ecofisiológica diaria y estacional de *Ficus benjamina* (L.) (Moraceae) a la luz y sombra

Celia Robles-Murguía<sup>a</sup>, M.P. Soto-Aceves<sup>a</sup>, S.G. De León-Santos<sup>a</sup>, A. Garrido-Sandoval<sup>a</sup>, N.A. García-Navarro<sup>a</sup>, A.M. González-López<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, [celrobles@gmail.com](mailto:celrobles@gmail.com), [soto5070@gmail.com](mailto:soto5070@gmail.com), [silvia.gabriela@gmail.com](mailto:silvia.gabriela@gmail.com), [ame.garrido@hotmail.com](mailto:ame.garrido@hotmail.com), [nanyb.ogn@hotmail.com](mailto:nanyb.ogn@hotmail.com), [angelagl\\_92@hotmail.com](mailto:angelagl_92@hotmail.com)

### Resumen

Se realizó un estudio ecofisiológico en la especie arbórea *Ficus benjamina* (L.), originaria de regiones tropicales y subtropicales del sur de Asia<sup>12</sup>, la cual se encuentra ampliamente distribuida en las áreas verdes de la Zona Metropolitana de Guadalajara<sup>3</sup>. El objetivo de la presente investigación es identificar las variables fisiológicas y estructurales que son significativas en la adaptación de *F. benjamina* en condiciones de luz y sombra, así como entre las estaciones secas (invierno y primavera). Las variables que resultaron significativamente diferentes, en la comparación entre estaciones, fueron el grosor de la cutícula, mesófilo, parénquima empalizada, parénquima esponjoso, el contenido relativo de agua y contenido de biomasa. En cambio, en la comparación entre hojas expuestas a la luz y hojas de sombra fueron grosor de parénquima esponjoso, densidad de estomas y tasa de fotosíntesis. De esta manera se puede concluir que la alta plasticidad fenotípica de esta especie se explica en su mayoría por cambios anatómicos progresivos los cuales fueron identificados con los datos obtenidos en la comparación entre estaciones; en cuanto a la comparación entre la condición de sol y sombra se observan cambios más rápidos orientados directamente a hacer eficiente metabolismo.

### Introducción

*Ficus benjamina* es una especie arbórea ampliamente distribuida en las áreas verdes de la Zona Metropolitana de Guadalajara<sup>12</sup>. Es originaria de las regiones tropicales y subtropicales del sur de Asia<sup>3</sup> y se cultiva como planta ornamental para decorar espacios interiores. La mayoría de los estudios sobre intercambio de gases en *F. benjamina* se han realizado en condiciones de baja irradiación<sup>11,12,14</sup> y son escasos los estudios sobre las condiciones de campo en las que las plantas se exponen durante el día a fluctuaciones en la temperatura, irradiación, humedad relativa, precipitación pluvial y CO<sub>2</sub> atmosférico<sup>14</sup>. Estudios preliminares han revelado que esta especie presenta una amplia plasticidad fisiológica a luz, por lo que es capaz de crecer en ambientes con baja y alta irradiación<sup>9,12</sup>. La plasticidad fenotípica foliar a la irradiación alta es considerada como una adaptación modificativa que se expresa en un mayor grosor de la hoja y contenido de biomasa, a diferencia de las hojas que crecen con baja irradiación, que desarrollan mesófilo con menor grosor y contenido de biomasa<sup>10</sup>. El objetivo de este trabajo es identificar las variables fisiológicas y estructurales que son significativas en la adaptación de *F. benjamina* en condiciones de luz y sombra, así como entre las estaciones secas (invierno y primavera).

### Metodología

Este estudio se efectuó del 10 de enero a julio de 2013 en el jardín principal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, ubicado en Zapopan, Jalisco, a 20 ° 4' LN, 103° 30' LO y 1420 m de altitud. Seis árboles de 10 años de edad de *F. benjamina* fueron elegidos para realizar este estudio. Las tasas instantáneas de asimilación de CO<sub>2</sub> se registraron cada 2 h en seis hojas maduras creciendo en luz y en seis de sombra, con un sistema portátil para medir fotosíntesis (LI-COR LI-6400®; Lincoln, NE, USA). Se registró el contenido de clorofila y el contenido relativo de agua, en 10 hojas. La clorofila de las hojas fue extraída con acetona fría (80 %, v:v). El homogeneizado se centrifugó con una centrífuga (Allegra 64 R®, Beckman Coulter, California, USA), a -4 °C a 12 000 g por 4 min. El sobrenadante se colectó en un tubo de ensayo frío. Al precipitado se le agregó 8 mL de acetona y se centrifugó. En una alícuota obtenida de la mezcla de los sobrenadantes se midió la absorbencia a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro Lambda Bio 10® (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA), para determinar el contenido de clorofila ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )<sup>3</sup>. El contenido relativo de agua (CRA) se determinó en cinco secciones de hoja (1 cm<sup>2</sup> de diámetro) obtenidas de hojas maduras colectadas entre las 9:00 y 10:00 h, y colocadas por 4 h en agua destilada hasta saturación. Se determinó la masa fresca de éstas antes y después de saturación. Posteriormente las muestras se secaron en estufa a 80 °C por 72 h, hasta peso constante. El CRA se calculó con la fórmula<sup>1</sup>:

$$\text{CRA} = (\text{masa fresca} - \text{masa seca}) / (\text{masa saturada} - \text{masa seca}) \times 100^1$$

Hojas de árboles de *F. benjamina* creciendo en luz plena y en la sombra fueron colectadas para registrar diferencias plásticas anatómicas en respuesta a la variación en irradiación. Las mediciones realizadas fueron: densidad de estomas por área (mm<sup>-2</sup>), grosor de la cutícula, mesófilo y de los parénquimas de empalizada y esponjoso. Para la comparación de los tratamientos luz y sombra se aplicaron las pruebas t de Student y F de Fisher ( $\alpha = 0.05$ ); la comparación entre los tratamientos enero-febrero, marzo-abril y mayo, se realizó con un análisis de varianza (ANOVA) mediante el paquete Minitab 15®. Los promedios fueron separados con la prueba de Tukey.

## Resultados y discusión

En la primera fecha de medición (enero) las hojas expuestas a luz plena mostraron mayor grosor de parénquima de empalizada y esponjoso, así como una mayor densidad estomática y tasa fotosintética neta ( $P_N$ ) sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el grosor de la cutícula, mesófilo y CRA (Tabla 1). En los meses de marzo y abril solo se observaron diferencias significativas en las variables de grosor de cutícula, mesófilo, parénquima esponjoso,  $P_N$  (Tabla 1) y contenido de clorofila, siendo todas estas mayores en condiciones de luz, exceptuando el contenido de clorofila, que fue mayor en hojas expuestas a la sombra (25  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) a diferencia de las expuestas a la luz (15  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ). No se observaron diferencias significativas en el grosor de parénquima empalizada, CRA y en la densidad estomática. En el mes de mayo únicamente se observaron diferencias significativas en el grosor de cutícula y parénquima esponjoso siendo éstas mayores en condiciones de luz. Los resultados obtenidos en cuanto a contenido de clorofila concuerdan con los estudios de Dias *et al.*<sup>4</sup> en donde el contenido de clorofila a y b fue mayor en hojas expuestas a la sombra, esto puede deberse a que en intensidades elevadas de irradiación las moléculas de clorofila están más expuestas a procesos fotooxidativos<sup>7</sup>. Labunskaya<sup>8</sup> menciona que el mesófilo de las hojas puede alterarse en función de las condiciones de iluminación, presentando un mayor grosor en hojas expuestas a la luz, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en marzo y abril. Regularmente las hojas que crecen bajo luz intensa presentan mayores tasas fotosintéticas<sup>1,4</sup> y una mayor densidad estomática. Dias *et al.*<sup>4</sup> menciona que la elevada tasa fotosintética que se genera en las hojas expuestas a intensas cantidades de luz está asociada a importantes adaptaciones morfológicas, especialmente al engrosamiento de la cutícula, el cual se observó en los datos obtenidos en los meses de marzo, abril y mayo, y de parénquima de empalizada. No se observaron diferencias significativas en el contenido de biomasa y el contenido relativo de agua. En la

comparación de las tres estaciones se observó que las hojas expuestas a la luz y las expuestas a la sombra mostraron un menor grosor de cutícula en los meses de marzo y abril (3.5  $\mu\text{m}$  y 2.5  $\mu\text{m}$ , respectivamente), sin embargo, el grosor del mesófilo fue mayor en hojas expuestas a la luz (247.8  $\mu\text{m}$ ) en los meses de enero y febrero, también se observó que el grosor de parénquima empalizada fue mayor, tanto en hojas con luz como en sombra, en el mes de mayo (97.2  $\mu\text{m}$  y 88.1  $\mu\text{m}$ , respectivamente), mientras que parénquima esponjosa presentó un mayor grosor en los meses de enero y febrero (132.2  $\mu\text{m}$  en luz y 95.1  $\mu\text{m}$  en sombra). El CRA fue más alto en hojas expuestas a la luz en los meses de marzo y abril (81 %), Sinclair y Ludlow<sup>13</sup> mencionan que el CRA es un determinante principal de la actividad metabólica y de la sobrevivencia foliar.



### Conclusión

De esta manera se puede concluir que la alta plasticidad fenotípica de esta especie se explica en su mayoría por cambios anatómicos progresivos los cuales fueron identificados con los datos obtenidos en la comparación entre estaciones; en cuanto a la comparación

entre los ambientes expuesto al sol y en sombra se trata de cambios más rápidos directamente orientados a ajustar el metabolismo.

### **Bibliografía**

1. Abrams, D.M. 1994. Genotypic and phenotypic variation as stress adaptations in temperate tree species: a review of several case studies, *Tree Physiology* 14, 833-842 pp.
2. Bruinsma, I. 1961. A comment on the spectrophotometric determination of chlorophyll. *Biochim. Biophys. Acta.* 52: 576-578 pp.
3. Chávez, A. 2006. Descripción y comportamiento microclimático de especies arbóreas del Área Metropolitana de Guadalajara. Universidad de Guadalajara. México. 97 pp.
4. Dias, J., J. A. Pimenta, M. Medri-Maria., R. Torres-Boeger and C. Toledo de -Freitas. 2007. Physiological Aspects of Sun and Shade Leaves of *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 50 (1): 91-99 pp.
5. Givinish, T. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole plant perspective. *Plant Physiology.* 15: 63-69 pp.
6. Kozlowski, T., P. Kramer y S, Pallardy. 1991. The physiological ecology of woody plants. San Diego, Academic Press. 657 pp.
7. Labunskaya, E.; Zhigalova, T. y Choob, V. 2007. Leaf Anatomy of the Mosaic *Ficus benjamina* cv. Starlight and Interaction of Source and Sink Chimera Components. *Russian Journal of Developmental Biology.* 38(6): 471-480 pp.
8. Lance C. J. y Guy, C. L. 1992. Changes in pigment levels, Rubisco and respiratory enzyme activity of *Ficus benjamina* during acclimation to low irradiance. *Physiologia Plantarum.* 86(4): 630-638 pp.
9. Larcher, W. 2003. *Physiological Plant Ecology.* Springer, New York. 513 pp.
10. Ottosen, C, O. 1990. Growth versus net photosynthesis in clones of *Ficus benjamina*. *Hortscience.* 25: 956-957 pp.
11. Scuderi, D., Giuffrida, F., Toscano, S. y Romano, D. 2012. Growth, Physiological Response, and Quality Characteristics of Weeping Fig in Response to Shading Levels and Climatic Conditions. *HortScience.* 47(11): 1586-1592 pp.
12. Sinclair, T.R. y Ludlow, M.M. 1985. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Aust. J. Plant Physiol.* 33: 213-217 pp.
13. Zotz, G., and K. Winter. 1996. Diel patterns of CO<sub>2</sub> exchange of rainforest canopy plants. In: Mulkey, S.S., R. L. Chazdom and A. P. Smith (eds). *Tropical Forest Ecophysiology.* Chapman and Hill, New-York: 89-113 pp.



## Síntesis de compuestos organometálicos tipo Bases de Shiff como catalizadores en reacciones de epoxidación enantioselectiva

<sup>a</sup>Molina Maldonado Paulina, <sup>a</sup>Hernández Fuentes Carlos Felipe, <sup>a</sup>Ruíz Guerrero María-del-Rosario, Mendoza Hernández Fabian<sup>b</sup>, Reguera Ruíz Edilso<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación e Innovación Tecnológica, México, D.F., [mompau@gmail.com](mailto:mompau@gmail.com), [charlos\\_552@hotmail.com](mailto:charlos_552@hotmail.com), [rosarior@hotmail.com](mailto:rosarior@hotmail.com)

<sup>b</sup> Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, México, D.F., [fabianm\\_76@hotmail.com](mailto:fabianm_76@hotmail.com), [edilso.reguera@gmail.com](mailto:edilso.reguera@gmail.com)

### RESUMEN

En el presente trabajo se reporta el uso de complejos metálicos tipo base de Shiff como catalizadores útiles en la epoxidación enantioselectiva de olefinas. En el método propuesto se hace uso de hipoclorito de sodio (NaOCl) como agente oxidante. Se obtuvieron buenos resultados de conversión en cuanto a actividad catalítica para estireno e indeno.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los epóxidos son éteres intramoleculares en la posición alfa, cuya estructura mantiene un anillo de tres átomos, por lo que pueden ser considerados como heterociclos de tres eslabones. La tensión que contiene el anillo los hace altamente reactivos, característica que los ubica como importantes intermediarios en la obtención de diversos productos químicos altamente específicos. La apertura del anillo de un epóxido es uno de los puntos de mayor interés científico e industrial, pues se producen mezclas enantioméricas (misma estructura molecular pero diferente distribución espacial) y donde el reto es obtener productos enantioméricamente puros. Un ejemplo desafortunado fue constatado cuando se empleó una mezcla enantiomérica como medicamento: Talidomina, un sedante y calmante de náuseas en mujeres embarazadas en los primeros meses de embarazo, este medicamento provocó miles de nacimientos de bebés afectados con focomelia, anomalía congénita que se caracteriza por la extrema cortedad o carencia de las extremidades) la forma R que tiene la función sedante) y la forma S (que produjo efectos teratogénicos).

Este hecho puso en primera línea la necesidad de contar con productos completamente puros del enantiomero de interés. Para esto se emplea como herramienta la catálisis asimétrica, pues es capaz de producir compuestos orgánicos en una forma enantioselectiva. Dentro de los compuestos que se han empleado como precursores de catalizadores se encuentran las llamadas bases de Shiff (ligandos) que son producto de condensación entre un aldehído y una amina, estas son capaces de coordinarse a metales formando enlaces a través del nitrógeno y oxígeno que contienen, con lo que pueden estabilizar diferentes metales en diversos estados de oxidación [1]. En las últimas décadas los grupos de investigación de Jacobsen y Katzuki han desarrollado los principales métodos para la obtención de catalizadores asimétricos a partir de estas bases, teniendo como idea principal el diseño de complejos con el catión Mn(III) ópticamente activos. Jacobsen y col. observaron que la incorporación de sustituyentes t-butil en anillo aromático del ligando aumenta la enantioselectividad, por su lado Katzuki y col. observaron que la quiralidad en la diamina mantiene una inducción asimétrica en los alquenos.

Esta idea da el sustento para pensar en la elaboración de complejos M-Salen donde M= Mn(III) similares al catalizador de Jacobsen pueden servir como catalizadores en la epoxidación de olefinas. En el presente trabajo se realizó la síntesis de un grupo de complejos M-Salen más "sencillos" al catalizador de Jacobsen, que pueden evaluarse como catalizadores en la catálisis asimétrica.

## 2. TEORÍA

Los primeros intentos en la preparación de epóxidos ópticamente activos se reportan a partir de 1965, desde entonces se ha mantenido una atención considerable en la producción de este tipo de compuestos debido a que son importantes unidades intermediarias para la síntesis de compuestos usados en la preparación de fármacos, agroquímicos y aditivos de alimentos [3]. La catálisis asimétrica es uno de los métodos más sobresalientes para la obtención de compuestos ópticamente activos, ya que el enantiómero deseado se puede obtener en una sola etapa y de esta forma se pueden suprimir procesos costosos de separación del enantiómero indeseado [4].

El enfoque más exitoso para lograr una alta selectividad en la epoxidación asimétrica de alquenos no funcionalizados ha implicado una estrategia biomimética, empleando porfirinas quirales y algunos complejos de metales de transición basados en estructuras tipo Salen como catalizadores (Figura 1).

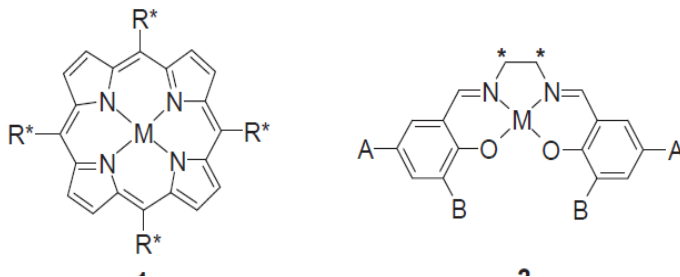


Figura 1 Estructuras generales para 1) Porphirinas quirales y 2) Complejos quirales Salen

Los primeros reportes sobre el uso de los complejos de porfirina como catalizadores en la epoxidación aparecieron en 1979 siendo informado en 1983 el primer ejemplo de epoxidación asimétrica catalítica con metaloporfirina ópticamente activa. [5,6] seguido a esto, varios grupos han desarrollado la utilización de metaloporfirinas como catalizadores quirales para la epoxidación de olefinas no funcionalizadas.

Sin embargo el verdadero avance en la epoxidación catalítica asimétrica de alquenos no funcionalizados se hizo en 1990, cuando dos grupos de investigación, Jacobsen y col. y Katzuki y col., informaron, de forma independiente, el uso de complejos ópticamente activos de Mn (III)-salen como catalizadores [7,8].

En específico, el complejo de Salen de Manganeso (III) (Figura 2) conocido como el catalizador de Jacobsen es el más activo y enantioselectivo para la epoxidación de diferentes clases de olefinas no funcionalizadas, principalmente cis-di y tri-sustituidas [8].

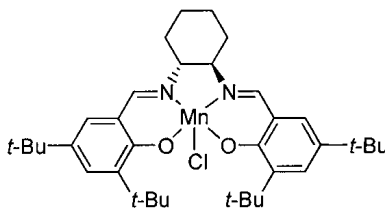


Figura 2 Catalizador de Jacobsen

En 1994 Jacobsen y col. Publican un trabajo [9] en donde se reportan las modificaciones contempladas en la fabricación del catalizador de Jacobsen a escala industrial manteniendo la alta enantioselectividad que se necesita para su uso potencial como catalizador en diversas reacciones de epoxidación. En este mismo año se reportó la epoxidación enantioselectiva de ésteres de cinamato utilizando el catalizador de Jacobsen e hipoclorito de sodio (NaOCl) así como N-óxido 4-fenilpiridina (4-PPNO) como sistema de oxidación [10]. Este epóxido ópticamente activo se emplea

para la preparación de Taxol®, medicina que se utiliza en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer [11].

Como ya se ha mencionado con anterioridad dentro de los factores que son de suma importancia en el diseño y síntesis de los catalizadores para la epoxidación asimétrica de alquenos, se encuentran los sustituyentes en los carbonos 3 y 3' (Figura 3) que pueden mejorar la enantioselectividad, así como los sustituyentes en el carbono 5 y 5' con grupos aceptores de electrones como el Cl o NO<sub>2</sub> que aumentan la actividad catalítica

Figura 3 Diagrama complejos Mn-Salen

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se desarrollo una metodología experimental en dos etapas. Primeramente se reprodujeron los resultados obtenidos por Jacobsen, trabajo que conlleva la síntesis y caracterización del catalizador de Jacobsen, la caracterización se realizo con el apoyo de diversas técnicas espectroscópicas. En la segunda etapa se diseñaron catalizadores “más simples” en su estructura (Figura 4), empleando siempre bases de Schiff para su preparación, y Mn(II) o Mn(III) como metal coordinante.

a) Mn-SalenNO<sub>2</sub>

b) Mn-Salen NO<sub>2</sub>Cl

c) Mn-Salen

Figura 4 Complejos de Mn-Salen

El catalizador de Jacobsen se preparó siguiendo el procedimiento ya reportado [8] en tres etapas: En la primera etapa se obtuvo la amina ópticamente activa (mono-(+)- tartrato de (R,R)-1,2-ciclohexano diamina) por resolución de 1,2-diamino ciclohexano (mezcla de isómeros *cis/trans*) con ácido L-(+)-tártarico. En la segunda etapa se sintetizó el ligando de salen ((R,R)-(-)-N,N'-Bis(3,5-di-tert-butylsalicilideno)-1,2-ciclohexano diamina) por condensación entre mono-(+)- tartrato de (R,R)-1,2-ciclohexano diamina y 3,5 diter-butilsalicilaldehído. En un procedimiento típico de (R,R)-1,2-ciclohexano diamina, carbonato de potasio y agua destilada, se introdujeron en un balón de fondo redondo provisto de agitación magnética. La mezcla se agitó hasta alcanzar disolución completa y luego se adicionó etanol y se calentó bajo reflujo. Se adicionó Una solución de 3,5 di-terbutilsalicilaldehído disuelto previamente en etanol. La mezcla resultante se calentó bajo reflujo. Posteriormente, el calentamiento se suspendió y se adicionó agua destilada. El sólido obtenido se recuperó por filtración al vacío y se lavó con etanol, después se disolvió en diclorometano y la solución resultante se lavó con agua destilada y solución acuosa saturada con cloruro de sodio. La capa orgánica obtenida se secó con sulfato de sodio y luego se filtró para separar el agente deshidratante. En la tercera etapa el catalizador de Jacobsen (Cloruro de N,N'-bis(3,5-di-ter-butilsalicilideno)- 1,2-ciclohexanodiamina-manganeso(III)), se obtuvo por tratamiento del ligando de salen (previamente sintetizado) con acetato de manganeso tetrahidratado (fuente de manganeso) y cloruro de litio (fuente de cloruro). En un procedimiento típico, una mezcla de ligando de salen y etanol se calentó bajo reflujo en un balón de tres bocas provisto con agitación magnética. Luego se adicione acetato de manganeso. La mezcla resultante se calentó bajo reflujo, posteriormente se adaptó una tubería de plástico al balón y se hizo burbujear aire dentro de la solución a una velocidad baja, mientras el calentamiento se mantiene. Posteriormente, se retiró la tubería, se adiciona el cloruro de litio. El sólido obtenido se disolvió en diclorometano, se lavó con agua destilada y solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio. El diclorometano (pero no el heptano) se removió por roto-evaporación. La mezcla obtenida se enfrió en un baño de hielo, el sólido se recuperó por filtración al vacío, se secó a temperatura ambiente y se caracterizó por FT-IR. El complejo de Mn-Salen (Figura 4 c) sigue la misma ruta de síntesis que el catalizador de Jacobsen.

Para los complejos Mn-Salen NO<sub>2</sub> y Mn-Salen NO<sub>2</sub>Cl no se lleva emplea el ácido L-(+)-tártarico, esto con el fin de no inducir la quiralidad y obtener así un punto de comparación en los diversos

complejos sin embargo si se realizan las dos etapas posteriores de síntesis, como en los casos anteriores.

Una vez obtenido el catalizador de Jacobsen y los diversos catalizadores propuestos se prosiguió con su evaluación en reacciones de epoxidación enantioselectiva empleando como agente oxidante el NaOCl.

En un matraz de fondo redondo con agitación magnética, se agrego el alqueno (estireno), el catalizador (Complejo M-Salen), co catalizador (Acetato de amonio), disolvente (diclorometano) y oxidante (NaOCl), a temperatura ambiente por un tiempo de 3-5 horas. Siguiendo la reacción por Cromatografía de gases.

En la Tabla 1 se resumen las pruebas catalíticas realizadas y los resultados obtenidos, en la epoxidación del estireno.

Catalizador	Alqueno	Oxidante	Tiempo de Reacción	Rendimiento	Observaciones
Mn-Salen	Estireno	NaOCl (13%)	4 h	61%	T <sub>amb</sub>
				32%	T <sub>3°C</sub>
				39%	Con hojuelas de NaOH
Mn-Salen NO <sub>2</sub>	Estireno	NaOCl (13%)	4 h	5%	T <sub>amb</sub>
Mn-Salen NO <sub>2</sub> Cl	Estireno	NaOCl (13%)	4 h	10%	T <sub>amb</sub>

Tabla 1 Resumen de resultados

Bajo la siguiente relación molar: alqueno:oxidante:catalizador:co-catalizador:disolvente;  
1:14:8%:5%:10ml

#### 4. CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron los diferentes complejos de M-Salen así como el catalizador de Jacobsen.

De las variantes realizadas, en la síntesis de los catalizadores se pueden observar un producto final diferente, ya que el complejo Mn-Salen mantiene en su estructura una diamina quiral en tanto los compuestos Mn-Salen NO<sub>2</sub> y Mn-Salen NO<sub>2</sub>Cl no la contienen.

Los sistemas de catalisis que se probaron fueron empleando el NaOCl como agente oxidante, que tiene ventajas sobre otros oxidantes como el Iodosilbenceno, los peroxiacidos, el peroxido de hidrogeno, entre otros. Esto debido a su disponibilidad y bajo costo. Aunado a esto este agente oxidante fue facilmente manipulable a temperatura ambiente. Observandose las mejores conversiones bajo estas condiciones.

Para llevar un seguimiento de la reacción se empleo la cromatografia de gases y el método de patrón interno.

El medio de disolución y la constante agitación en el que se desarrollan las reacciones de epoxidación, son de vital importancia ya que ayudan en la interacción entre el catalizador que contiene el metal y el agente oxidante.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Cozzi, 2004: 410
2. R. Kureshy, 2006, 134-141
3. H. Caner, E. Groner, L. Levy. "Trends in the development of chiral drugs". *Drug. Discov. Today*. Vol. 9. 2004. pp. 105-110.

4. H. U. Blaser, A. Indolese, A. Schnyder. "Applied homogeneous catalysis by organometallic complexes". *Current Science*. Vol. 78. 2000. pp. 1336-1344.
5. Groves, J.T.; Nemo, T.E.; Myers, R.S. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 1032.
6. Groves, J.T.; Myers, R.S. *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105, 5791.
7. Zhang, W.; Loebach, J.L.; Wilson, S.R.; Jacobsen, E.N. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 2801.
8. Irie, R.; Noda, K.; Ito, Y.; Matsumoto, N.; Katsuki, T. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 7345.
9. Jay F. Larrow and Eric N. Jacobsen "A Practical Method for the large-Sacale Preparation of [N,N'-Bis (3,5-di-tert-butylsalicylidene)-1,2-cyclohexanediaminato(2-)]manganese (III) Chloride, a Highly Enantioselective Epoxidation Catalyst" *J.Org.Chem.* 1994, 59,1939-1942
10. J. F. Larrow, E. N. Jacobsen. "Asymmetric Processes Catalyzed by Chiral (Salen)Metal Complexes". *Topics Organomet. Chem.* Vol. 6. 2004. pp. 123-152.
11. L. Deng, Y. Furukawa, E. N. Jacobsen, L. E. Martinez. "Enantioselective catalytic epoxidation of cinnamate esters". *Tetrahedron*. Vol. 50. 1994. pp. 4323-4334.
12. R. Croteau, T. Horiguchi, C. D. Rithner, R. M. Williams. "Studies on taxol biosynthesis. Preparation of 5aacetoxytaxa-4(20),11-dien-2a,10b-diol derivatives by deoxygenation of a taxadiene tetra-acetate obtained from Japanese yew". *Tetrahedron*. Vol. 59. 2003. pp. 267-273.

## LA IRREGULARIDAD DEL RÉGIMEN ALIMENTICIO DESAJUSTA EL CICLO ESTRAL DE LA RATA WISTAR

Karina Uriostegui-Ortega<sup>1</sup>, A. Cortés-Sol<sup>1</sup>, T. Molina-Jiménez<sup>2</sup>, C. Juárez-Portilla<sup>1,3</sup>, Elvira Morgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, [karycandy4@hotmail.com](mailto:karycandy4@hotmail.com); [alcortes@uv.mx](mailto:alcortes@uv.mx); [elmorvi@hotmail.com](mailto:elmorvi@hotmail.com)

<sup>2</sup>Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, [tmolina@uv.mx](mailto:tmolina@uv.mx)

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana, [cjuarez@uv.mx](mailto:cjuarez@uv.mx)

### RESUMEN

Estudios recientes reportan que el desajuste circadiano incrementa el riesgo de desarrollar padecimientos como enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer e inclusive problemas reproductivos. Una alimentación irregular puede provocar desajustes en la ritmicidad de la liberación de diferentes hormonas, incluyendo a las hormonas esteroides. En este trabajo se exploró el posible desajuste en el ciclo reproductivo femenino ocasionado por el régimen alimenticio. Para esto se analizó la regularidad del ciclo estral en ratas Wistar hembra, las cuales fueron distribuidas en tres grupos experimentales bajo diferentes condiciones de alimentación: grupo AL (n=6) con alimentación *ad libitum*; grupo AF (n=6) con disponibilidad de alimento de 08:00 a 11:00 h; y grupo Alr (n=6) con acceso al alimento diario pero en diferentes horarios, durante tres horas (a las 10:00, 06:00, 18:00, 14:00, 22:00, 02:00 h reiniciando el ciclo hasta el final del experimento). Los sujetos fueron mantenidos en condiciones de bioterio con ciclo de luz-oscuridad 12:12 (encendido a las 04:00 h) y agua *ad libitum*. El ciclo estral fue monitoreado a través de frotis vaginales realizados dos horas posteriores al apagado de la luz durante 26 días de experimentación. Los resultados indican que las hembras de los grupos AF y Alr mostraron un marcado desajuste en la ritmicidad del ciclo estral sin ciclos regulares y presentando un diestro continuo. En contraste, las hembras del grupo AL presentaron cinco ciclos regulares de cuatro días, a lo largo del periodo de experimentación. Estos resultados sugieren que la irregularidad del régimen alimenticio afecta la liberación de hormonas esteroides, viéndose reflejada en el desajuste de la ritmicidad del ciclo estral de las ratas hembra Wistar.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los horarios de alimentación son 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). El modo de vida actual condiciona a las personas a perder los horarios establecidos de comida, debido a que se realizan actividades laborales o de entretenimiento sin importar si es de día o de noche, afectando negativamente la sincronización interna que los horarios de alimentación proveen a los organismos.

En los últimos años se ha estudiado ampliamente el efecto que tiene la alteración de la ritmicidad biológica causada por el trabajo nocturno o la rotación de turnos así como por el efecto de los viajes transmeridionales. Bajo estas situaciones se mantiene actividad y se ingiere alimento en horas no habituales, causando una desincronización interna. Esta desincronización ha sido vinculada a perturbaciones metabólicas como obesidad, síndrome metabólico y diabetes (Knutsson, 2007; Salgado-Delgado *et al.*, 2010) así como predisposición al cáncer (Davis y Mirik, 2006) y afecciones cardiovasculares y renales (Martino *et al.*, 2008; Scheer *et al.*, 2009). En hembras, se ha demostrado que la desincronización interna a causa del trabajo nocturno o turnos

rotatorios, incrementan el riesgo de presentar ciclos menstruales irregulares (Lawson *et al.*, 2011), endometriosis (Marino *et al.*, 2008) aborto involuntario (Cone *et al.*, 1998) y bajo peso de recién nacidos (Bonzini *et al.*, 2011). Por otra parte, se ha reportado que la irregularidad temporal en la ingestión de alimento sugiere la consecución de una desincronización interna similar a la generada por el trabajo nocturno, que predispone a la aparición del síndrome metabólico (Sierra-Johnson *et al.*, 2008). Sin embargo, poco se ha explorado sobre los efectos de la desincronización interna a causa de la ingestión de alimento sin regularidad temporal sobre la biología reproductiva de las hembras. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la alimentación con horarios irregulares sobre el ciclo estral de la rata Wistar.

## **2. Parte Experimental**

### **Sujetos experimentales**

Se utilizaron 18 hembras intactas de la cepa Wistar de 3 meses de edad, las cuales fueron mantenidas en un ciclo de luz-oscuridad de 12/12h (con encendido de luz a las 4:00 h), con alimento (Purina Rodent Chow) y agua *ad libitum* durante dos semanas de adecuación. Posteriormente fueron divididas en tres grupos experimentales, con diferentes horarios de alimentación.

### **Grupos experimentales**

Las hembras fueron asignadas aleatoriamente en los siguientes grupos experimentales: 1) Grupo AL (n=6) con alimentación *ad libitum*, 2) Grupo AF (n=6) con disponibilidad al alimento de 08:00 a 11:00 h durante la fase de luz, y 3) Grupo AIR (n=6) con alimentación diaria en diferentes horarios durante tres horas (10:00, 06:00, 18:00, 14:00, 22:00, 02:00 h, reiniciando el ciclo hasta finalizar el experimento).

### **Toma y análisis de muestras (frotis)**

El análisis de la citología vaginal fue realizado durante 26 días consecutivos, 2 h después del inicio de la fase de oscuridad. Con un gotero de punta roma, se introdujo solución salina estéril en la entrada vaginal e inmediatamente las células del epitelio vaginal fueron succionadas con el mismo. Las muestras recolectadas se colocaron sobre un portaobjetos y observadas con un microscopio de luz (Velaquin) con cámara de video integrada. La clasificación de las fases del ciclo estral se realizó mediante la identificación del tipo celular dominante en cada muestra, considerando: a) Proestro temprano cuando el 80% de las células epiteliales fueron esféricas y sólo un 20% fueron células epiteliales ovaladas nucleadas; b) Proestro cuando el 100% de las células fueron ovalada nucleadas; c) Proestro tardío/Estro temprano cuando el 80% de las células de la muestra estuvo constituido por células ovalada nucleadas y el 20% restante por células poliédricas cornificadas; d) Estro cuando el 100% fueron células poliédricas cornificadas; e) Estro tardío cuando el 80% de las células fueron poliédricas cornificadas y el 20% células ovaladas nucleadas; f) Diestro 1 cuando se encontraron los tres tipos celulares (ovaladas nucleadas, poliédricas cornificadas y leucocitos); y g) Diestro 2 cuando el 100% de las células de la muestra fueron leucocitos.

## **3. Resultados**

Como se muestra en la figura 1, la citología de las muestras analizadas del grupo AL presentaron de forma regular el ciclo estral a lo largo de los 26 días de registro, manifestado por la presencia consecutiva las fases de proestro (temprano o tardío) seguido por un estro (temprano o tardío) y ésta a la vez fue seguida por la fase de diestro, con un total de 6 ciclos regulares durante todo el tiempo de experimentación. Por su parte, en las muestras de las hembras de los grupos AF y grupo Alr, la citología vaginal únicamente indicó la fase diestro 1 y diestro 2 durante más de 5 días consecutivos, es decir, mostraron diestro continuo. Además, nuestras hembras AF y Alr no presentaron la fase de receptividad a diferencia de las AL, cuya fase proestro fue presentada cada 4-5 días y en el último ciclo del experimento, sólo las AL fueron sometidas a pruebas de conducta sexual, mostrando receptividad al macho a diferencia de AF y Alr. Asimismo, es importante mencionar que durante la toma de muestras las hembras del grupo Alr se encontraban más reactivas al momento de ser manipuladas que las pertenecientes al grupo AL.

#### **4. Discusión**

Las hembras pertenecientes a nuestros grupos AL y AF presentaron una interrupción de las fases del ciclo estral y comportamiento reproductivo similar a lo reportado en ratas expuestas a un estrés prolongado (Marcondes *et al.*, 1998). Del mismo modo, nuestros resultados coinciden con los reportes de Mariani y cols. (2003) quienes observaron que el ciclo estral fue interrumpido cuando los animales adultos fueron sometidos a altos niveles de estrés causado por calor y frío. Sin embargo, nuestros sujetos AF y Alr únicamente tuvieron un desajuste del ciclo estral, presentando únicamente dos fases: diestro 1 y diestro 2. Es probable que dicho desajuste en la ritmicidad del ciclo se deba a lo reportado por l'Anson y cols. (2000), donde sugieren que al estar limitada la disponibilidad de alimento, la frecuencia del pulso de la hormona luteinizante es reducida además de la lenta frecuencia de liberación de la GnRH. Dichas secreciones se presentan en la fase de proestro, afectando de manera importante la presencia de las células epiteliales características de cada fase (Maeda, 2000; Marcondes *et al.*, 2002). Otro indicativo que nos proporciona la citología vaginal, es el despliegue de la conducta receptiva de la hembra frente al macho, estableciendo que en la fase proestro (predominancia de células nucleadas ovaladas) las hembras están receptivas para la cópula, teniendo un incremento en la secreción de hormona luteinizante y foliculo estimulante (l'Anson *et al.*, 2000). Nuestros resultados indican que en los grupos AF y Alr dicha fase de receptividad es inhibida, por lo tanto, podemos suponer que su éxito reproductor se ve afectado.

#### **6. Conclusión**

Nuestros resultados sugieren que la irregularidad temporal del régimen alimenticio afecta de manera importante la liberación de las hormonas esteroides, viéndose reflejada en el desajuste de la ritmicidad del ciclo estral de las ratas hembra Wistar, inhibiendo las fases donde la hembra se encuentra receptiva al macho. Asimismo, sugerimos que se afecta el éxito reproductivo dado que la facilitación de la sexual de la hembra no se lleva a cabo. Es importante continuar con estudios para comprender los posibles desórdenes que desencadena la alimentación con horarios temporalmente irregulares y la consecuente restricción calórica sobre la biología reproductiva de las hembras.





## BIBLIOGRAFIA

1. Bonzini M., Palmer K. T., Coggon D., Carugno M., Cromi A., Ferrario M. M., "Shift work and pregnancy outcomes: a systematic review with meta-analysis of currently available epidemiological studies", *BJOG*, Vol. 118(12), 2011, pp. 1429–37.
2. Cone J. E., Vaughan L. M., Huete A., Samuels S. J., "Reproductive health outcomes among female flight attendants: an exploratory study", *J Occup Environ Med* Vol. 40(3), 1998, pp. 210–6.
3. Damiola F., Minh N. L., Preitner N., Kornmann B., Fleury-Olela F. y Schibler U., "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.
4. Davis S. y Mirick D. K., "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.
5. Díaz-Muñoz M., Vázquez-Martínez O., Aguilar-Roblero R. y Escobar C., "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. R2048-R2056.
6. Escobar C., Díaz-Muñoz M., Encinas F. y Aguilar-Roblero R., "Persistence of metabolic rhythmicity during fasting and its entrainment by restricted feeding schedules in rats", *Am J Physiol* Vol. 274, 1998, pp.1309-1316.
7. l'Anson H., Manning J. M., Herbosa C. G., Pelt J., Friedman C. R., Wood R. I. y Bucholtz D. L., "Central inhibition of gonadotropina-Releasin hormone secretion in the growth-restricted hypogonadotropic female sheep", *Endocrinology*, Vol. 141(2), 2000, pp. 520-527.
8. Krieger D. T., "Food and water restriction shifts corticosterone, temper- ature, activity and brain amine periodicity", *Endocrinology*, Vol. 95, 1974, pp. 1195–1201.
9. Knutsson K. L., Spiegel K., Penev P. y Van Cauter E., "The metabolic consequences of sleep deprivation", *Sleep Med Rev* Vol.11(3), 2007, pp.163-178.
10. Lawson C. C., Whelan E. A., Lividoti Hibert E. N., Spiegelman D., Schernhammer E. S., Rich-Edwards J. W., "Rotating shift work and menstrual cycle characteristics", *Epidemiology* Vol. 22, 2011, pp. 305-312
11. Maeda K., Ohkura S. y Tsukamura H., "Physiology of reproduction", En: *The laboratory rat*. Ed. Krinke. Academic Press, Cap. 9, 2000, pp. 145-162.
12. Mariani M. L., Ciocca D. R., González Jatuff A. S. y Souto M., "Effect of neonatal chronic stress on expression of Hsp70 and oestrogen receptor  $\alpha$  in the rat oviduct during development and the oestrous cycle", *Reproduction*, Vol. 126, 2003, pp. 801-808
13. Marcondes F. K., Vanderlei L. C. M., Lanza L. B. y Spadari-Bratfisch R. C., "Stress-induced subsensitivity to catecholamines depends on the estrous cycle", *Can. J. Physiol. Pharmacol.* Vol. 74, 1996, pp. 663-669.
14. Marcondes F. K., Bianchi F. J. y Tanno A. P., "Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations", *Braz. J. Biol.*, Vol. 62, 4A, 2002, pp. 609-614.
15. Marino J.L., Holt V.L., Chen C., Davis S., "Shift work, hCLOCK T3111C polymorphism, and endometriosis risk", *Epidemiology*, Vol. 19(3), 2008, pp. 477–84.
16. Martino T. A., Oudit G. Y., Herzenberg A. M., Tata N., Koletar M. M., et al., "Circadian rhythm disorganization produces profound cardiovascular and renal disease in hamsters", *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, Vol. 294(5), 2008, pp. R1675-R1683.
17. Salgado-Delgado R., Angeles-Castellanos M., Saderi N., Bujis R. M., Escobar C., "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.
18. Scheer F. A., Hilton M. F., Mantzoros C. S. y Shea S. A., "Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment", *PNAS*, Vol. 106(11), 2009, pp.4453-4458.
19. Sierra-Johnson J., Undén A. L., Linstrand M., Rosell M., Sjogren P., Kolak M., De Faire U., Fisher R. M., Hellénus M. L., "Eating meals irregularly: a novel environmental risk factor for the metabolic síndrome", *Obesity* Vol.16 (6), 2008, pp. 1302–1307.

## **POLIMEROS INORGANICOS COMO COAGULANTES EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

A. Quiroga-Almaguer<sup>a</sup>, H. Rodriguez-Badillo<sup>a</sup>, P. Rangel-Rivera<sup>a</sup>, G. Rangel-Porras<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química. Noria Alta s/n Col. Noria Alta. C.P. 36050, Guanajuato, Gto., México., q.adanquiroya@gmail.com, rodr.\_hector@hotmail.com, ranriv@hotmail.com, gporras@ugto.mx

### **RESUMEN**

La gestión integral y el tratamiento de la manera más completa de aguas residuales, cuyas fuentes sean tanto domésticas como industriales, es una de las principales preocupaciones a nivel mundial en años recientes. Una de las sustancias más utilizadas en estos procesos son los coagulantes, cuya función es desestabilizar las partículas coloidales en suspensión, favoreciendo su aglomeración y de esta manera eliminar la turbiedad y la concentración de materia orgánica y microorganismos en aguas tratadas. Por lo general se utilizan como coagulantes sales tales como sulfatos o cloruros metálicos, sin embargo el empleo de productos poliméricos coagulantes se ha visto incrementado de manera sustancial conforme se desarrollan nuevas metodologías de la gestión de aguas residuales. Dichos materiales se conforman por unidades moleculares que se repiten periódicamente, de manera que se unen mediante enlaces químicos, para finalmente formar cadenas de moléculas de características coloidales. Dichos materiales poliméricos cuentan con uno o más grupos ionizables que proveen cargas de características específicas. Estos coagulantes son caracterizados mediante técnicas tales como espectroscopía infrarroja, difracción de rayos X de polvos, adsorción de N<sub>2</sub> a 77 K y espectroscopía Raman. Este trabajo muestra un resumen general de los coagulantes híbridos usados en tratamientos de aguas residuales.

### **1. INTRODUCCIÓN**

El tratamiento para aguas residuales, consiste principalmente en tres tratamientos, el tratamiento primario, consiste en la filtración de partículas grandes y eliminación de sólidos, posteriormente en el tratamiento secundario, se realizan procesos de eliminación de contenido biológico y moléculas orgánicas a través del uso de microorganismos, y finalmente, en el tratamiento terciario se eliminan partículas muy estables en agua, además de iones tóxicos y se desinfecta o purifica para su posterior utilización. En el tratamiento terciario, es en el cual es más complicado realizar una eliminación de los contaminantes presentes en el agua, debido a que existen moléculas complejas o partículas que poseen una gran estabilidad en suspensión. La gran estabilidad de las moléculas es generada por la dimensión de los agregados, solo pueden ser observadas a través de un microscopio, porque su tamaño está entre 1 nm hasta 1 µm, además, estas partículas poseen cargas en su superficie que impide su aglomeración. Estas partículas son denominadas, partículas coloidales. Los procesos utilizados, como lo es la cloración la ozonización, solo son utilizados para desinfectar evitar el crecimiento de microorganismos y no son capaces de eliminar estas moléculas o partículas, tampoco los procesos comunes de filtración aplicados en pasos anteriores son eficientes para retener estas partículas con tamaños nanométricas. El tratamiento adecuado de partículas coloidales consiste principalmente en la desestabilización de las cargas presentes en la superficie.

Para lograr la eliminación de las cargas superficiales, y además conseguir la aglomeración de partículas para una eliminación más eficaz, se utilizan diferentes técnicas, en las cuales se aplican voltajes altos, se usan materiales catalíticos e incluso tratamientos con irradiación de luz. Sin embargo, lo que dificulta su adecuación de las técnicas mencionadas a los procesos actuales es su elevado costo, ya sea por la síntesis del material catalítico, la misma toxicidad o se requieren de plantas para tratamiento de aguas con equipamiento más especializado. Por otro lado, la técnica más simple para tratamiento de partículas coloidales, es el cambio de pH, que neutraliza cargas superficiales y disminuye la estabilidad de los coloides, pero con la desventaja de que difícilmente logran que las partículas puedan formar aglomerados y en mejor de los casos, en periodos de tiempo muy prolongados. Sin embargo, existe otra técnica muy utilizada a nivel mundial en la actualidad en las plantas de tratamiento de aguas residuales, que se complementa con los cambios de pH, para una mayor eficiencia. Esta técnica consiste principalmente, en la adición de agentes coagulantes – floculantes.

La coagulación consiste en la neutralización de la carga de las partículas suspendidas en el agua y el proceso de floculación consiste en la aglomeración de las partículas en suspensión, ambos procesos, favorecen la agregación y posterior eliminación de partículas. Como se muestra en la figura 1, a una suspensión de partículas coloidales, se le adiciona un agente coagulante que neutraliza las cargas de las partículas suspendidas, posteriormente, se adiciona un agente floculante que promueva la interacción entre las partículas coaguladas y como consecuencia, una precipitación de los compuestos anteriormente suspendidos para su eliminación, ya sea por medio de filtración o simple decantación.

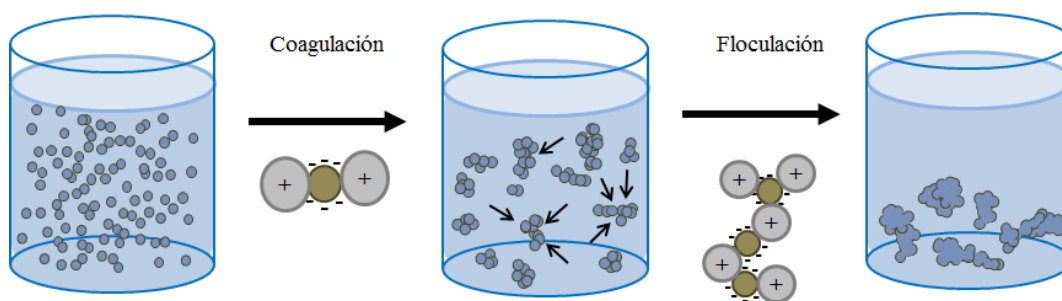


Figura 1. Proceso de coagulación – floculación, mediado a través de la adición de un agente desestabilizante de partículas coloidales.

Existe un gran número de compuestos químicos capaces de modificar la estabilidad de una partícula suspendida y promover su eliminación, estos compuestos son conocidos como agentes coagulantes o floculantes. En la rama de la química inorgánica, las sales de metales como el hierro y el aluminio, son utilizados como agentes coagulantes, por otro lado, en la rama de la química orgánica, se prefieren generalmente moléculas poliméricas para la floculación de partículas [1].

## 2. MATERIALES HIBRIDOS

Los compuestos inorgánicos utilizados como agentes desestabilizantes son sales metálicas como  $Al_2(SO_4)_3$ ,  $AlCl_3$ ,  $Fe_2(SO_4)_3$  y  $FeCl_3$ , por mencionar las más utilizadas. Por otro lado, los compuestos orgánicos utilizados en los mismos procesos, son moléculas de alto peso y de alta solubilidad en agua, como la poliacrilamida y el cloruro de polidimetildialilamonio. Existen también compuestos más complejos que poseen la mezcla de las propiedades o que poseen nuevas características, y por ello, mayor eficiencia en los procesos de tratamiento de aguas. Los investigadores pretenden

optimizar los procesos por medio de la combinación de moléculas, con el objetivo de generar nuevas propiedades aglutinantes o la optimización de las ya existentes, estos materiales se componen por dos o más tipos diferentes de componentes en una matriz polimérica. La clasificación para estos materiales híbridos depende del tipo de interacciones entre componentes, existen tres grupos principales:

- Material híbrido por estructura: Sintetizado a través de la mezcla de componentes a nivel macroscópico, combinando las propiedades de sus precursores.
- Material híbrido por enlaces químicos: materiales que poseen una combinación y mezcla de átomos y moléculas que optimiza las propiedades del material.
- Material híbrido funcionalizado: Son aquellos que a través de la combinación de sus componentes, pueden realizar más de una función, sin la necesidad de complementos.

Y a su vez, estos grupos se describen como la combinación de materiales inorgánicos, moléculas orgánicas, polímeros naturales y biopolímeros. Principalmente se utilizan los materiales híbridos compuestos por la combinación de materiales inorgánico-inorgánico e inorgánico-orgánico para los procesos de tratamiento de aguas.

Existen materiales híbridos compuestos por moléculas inorgánico-inorgánico, conocidos como coagulantes poliméricos inorgánicos (IPC), son coagulantes pre-hidrolizados como el policloruro de aluminio, policloruro férrico y polisulfato férrico. La relevancia de estos compuestos es debida a la capacidad para soportar las temperaturas y pH utilizados en los procesos de tratamiento de aguas residuales. Los materiales híbridos inorgánicos-inorgánicos son mejores en los procesos de coagulación-floculación que los coagulantes convencionales basados en aluminio o en hierro, pero poseen una menor capacidad comparados con los coagulantes poliméricos orgánicos, debido a que estos poseen un bajo peso y tamaño molecular, resultando en una baja capacidad de agregación. Por otro lado, los compuestos híbridos inorgánico-orgánico más utilizados son la poliacrilamida y el cloruro de polidimetildialilamonio por su alto peso molecular y su alta solubilidad en agua. La poliacrilamida es uno de los compuestos orgánicos más utilizado en los materiales híbridos, ya que posee alto peso molecular, alta solubilidad, bajo costo y puede ser modificada químicamente. Los coagulantes inorgánicos y los IPC pueden ser modificados con poliacrilamida para generar componentes híbridos inorgánicos-orgánicos y mejorar sus propiedades de agregación [2 - 5].

Los materiales híbridos se utilizan en diversas áreas, por ejemplo, los IPCs de aluminio e IPCs de hierro son utilizados en la coagulación-floculación de colorantes en la industria textil [6]. Sin embargo, su uso no se limita a la coagulación o floculación en procesos de purificación de agua, ya que también se han realizado estudios de compuestos pre-hidrolizados de hierro y aluminio modificados con poliacrilamida y acrilato de sodio, aplicados sobre modelos de suspensiones de caolín y ácidos húmicos [7] debido a que poseen propiedades como agentes adsorbentes. Los materiales híbridos al contar con diversas aplicaciones, existe un gran interés por parte de los investigadores para generar materiales más eficientes, como lo son los materiales híbridos funcionalizados, los cuales permitan realizar funciones de coagulación – floculación, además de la eliminación por medio de otros procesos, como por ejemplo, estudios de purificación de iones metálicos tóxicos en agua por medio de procesos de coagulación-floculación [9]. Por mencionar un ejemplo de suma importancia, existen materiales híbridos que pretenden la adsorción de metales como el arsénico. La remoción de arsénico por medio de materiales híbridos es llevada a cabo a través de varias metodologías utilizando materiales híbridos, entre las cuales se han reportado su tratamiento por medio de la adsorción sobre óxido de zirconio modificado con poliacrilamida [10] y

sobre materiales híbridos de nanotubos de carbono con zirconia [11] en los procesos de potabilización del agua.

### 3. CARACTERIZACION DE MATERIALES

Existen diversos métodos para la caracterización de los materiales híbridos, pero los que se utilizan principalmente para la determinación de la estructura de estos materiales híbridos, son aquellos que permiten ver la estructura y los grupos funcionales que permiten diversas funciones, como las que permiten llevar a cabo fenómenos de coagulación, de floculación, adsorción, oxidación, etc. Uno de las técnicas que permite ver la estructura de un compuesto es la difracción de rayos-X (DRX), esta técnica aplicada en los materiales híbridos ayuda a determinar la estructura cristalina de los componentes inorgánicos y determinar si alguna fase cristalina favorece las interacciones o en el caso de materiales arcillosos, el espacio interlaminar y si es posible la interacción de moléculas en este espacio. En la figura 2, se puede observar un difractograma de rayos-X, que muestra la señal del espacio interlaminar de una arcilla, la cual puede retener moléculas en sus superficie, como en su espacio interlaminar.

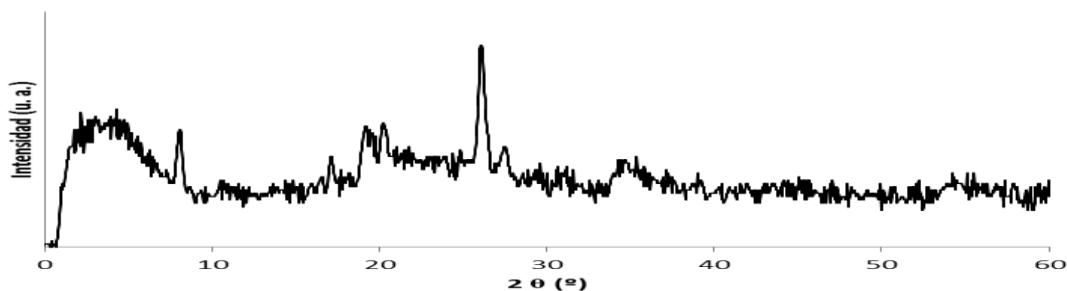


Figura 2. Difractograma de rayos-X, en el que se muestra las señales características de una arcilla tipo montmorillonita.

Otra técnica auxiliar en la determinación de las propiedades de los coagulantes híbridos es la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Esta técnica permite observar los grupos funcionales principales de las moléculas híbridas. Al analizar estos grupos, se puede determinar las diferentes interacciones por las cuales se pueden desestabilizar partículas coloidales. Por otro lado, La Tabla 1 presenta valores del área superficial obtenidos mediante la adsorción de N<sub>2</sub> a 77° K, ya que se utiliza para la caracterización textural de los compuestos híbridos, por medio de esta técnica además se puede obtener el tamaño de los poros, que complementado con el tipo de sitios ácidos, proporciona información es fundamental para proponer un mecanismo de interacción de coagulante y partículas suspendidas a través de la interacción entre la superficie y la difusión en los poros.

Tabla 1. Características superficiales de algunos sólidos inorgánicos.

Material	Área superficial (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	Sitios ácidos en sus superficie	Capacidad de intercambio iónico
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	300	Brønsted	Bajo
Arcilla montmorillonita 1	250	Lewis	Medio
Arcilla montmorillonita 2	10	Brønsted	Alto

Las técnicas de caracterización mostradas solo son un ejemplo para obtener información estructural de un material, ya que a partir de esta información se pueden proponer mecanismo de reacción, que a su vez, son esenciales para el entendimiento de los fenómenos de coagulación – floculación funcionalizados con otros procesos de tratamiento de partículas.

#### 4. CONCLUSIONES

Existen diferentes compuestos que pueden ayudar a la eliminación de partículas coloidales en el tratamiento de aguas, sin embargo se busca optimizar el agente coagulante o floculante por medio de la mezcla de compuestos y optimizar sus propiedades originales, esto se logra a través de la hibridación de materiales, de los cuales, los materiales híbridos funcionalizados, combinan propiedades que pueden llevar a cabo diferentes fenómenos con una misma estructura. No se requieren una modificación en los métodos convencionales de tratamiento de aguas para separar los sólidos adsorbentes, porque los cambios se llevan a cabo sobre los materiales. El método de coagulación-floculación puede ser complementado con otras técnicas de eliminación, como la adsorción, ya que la coagulación-floculación es uno de los métodos de purificación menos costosos y no es necesario un gran cambio en las plantas de tratamiento de aguas.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. P. Bhattacharya, A.H. Welch, K.G. Stollenwerk, M.J. McLaughlin, J. Bundschuh, G. Panaullah; Arsenic in the environment: Biology and Chemistry; Science of the Total Environment; 379, 2007, pp. 109–120.
2. K.E. Lee, N. Morad, T.T. Teng, B.T. Poh; Development, characterization and the application of hybrid materials in coagulation/flocculation of wastewater: A review; Chemical Engineering Journal; 203 (2012) 370–386.
3. P.A. Moussas, A.I. Zouboulis; A new inorganic–organic composite coagulant, consisting of polyferric sulphate (PFS) and polyacrylamide (PAA); Water Res.; 43 (2009) 3511–3524.
4. P.A. Moussas, A.I. Zouboulis; A study on the properties and coagulation behaviour of modified inorganic polymeric coagulant-polyferric silicate sulphate (PFSiS); Sep. Purif. Technol.; 63 (2008) 475–483.
5. K.E. Lee, B.T. Poh, N. Morad, T.T. Teng; Synthesis and characterization of hydrophobically modified cationic polyacrylamide with low concentration of cationic monomer; J. Macromol. Sci. Pure; 46 (2009) 240–249.
6. A.K. Verma, R.R. Dash, P. Bhunia ; A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters; Journal of Environmental Management; 93 (2012) 154-168.
7. P.A. Moussas, N.D. Tzoupanos, A.I. Zouboulis; Advances in coagulation/flocculation field: Al- and Fe-based composite coagulation reagents; Desalination and Water Treatment; 33 (2011) 140–146.
8. T. Tshukudu, H. Zheng, X. Hua, J. Yang, M. Tan, J. Ma, Y. Sun, G. Zhu; Response surface methodology approach to optimize coagulation-flocculation process using composite coagulants; Korean J. Chem. Eng.; 30(3) (2013) 649-657.
9. X. Du, F. Qu, H. Liang, K. Li, H. Yu, L. Bai, G. Li; Removal of antimony (III) from polluted surface water using a hybrid coagulation–flocculation–ultrafiltration (CF–UF) process; Chemical Engineering Journal; 254 (2014) 293–301.
10. S. Mandal, M.K. Sahu, R.K. Patel; Adsorption studies of arsenic(III) removal from water by zirconium polyacrylamide hybrid material (ZrPACM-43); Water Resources and Industry; 4 (2013) 51–67.

## Especiación de cobre en jales y suelos de un sitio minero de Guanajuato

R. Loredó-Portales<sup>a</sup>, G. Cruz-Jiménez<sup>a</sup>, D. O. Rocha-Amador<sup>a</sup>, G. De la Rosa-Alvarez<sup>b</sup>, H. Castillo-Michel<sup>c</sup>, J. A. Reyes-Aguilera<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto., [r.loredoportales@ugto.mx](mailto:r.loredoportales@ugto.mx), [cruzg@ugto.mx](mailto:cruzg@ugto.mx), [drochaa@ugto.mx](mailto:drochaa@ugto.mx)

<sup>b</sup>Departamento de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica, Universidad de Guanajuato, Leon, Gto., [gdelarosa@fisica.ugto.mx](mailto:gdelarosa@fisica.ugto.mx)

<sup>c</sup>European Synchrotron Radiation Facility, ID 21, Grenoble, France., [hiram.castillo\\_michel@esrf.fr](mailto:hiram.castillo_michel@esrf.fr)

### RESUMEN

El cobre es un micronutriente esencial para una gran variedad de organismos vivos. Sin embargo, en elevadas dosis de exposición puede producir efectos tóxicos incluyendo daño hepático y en plantas daño celular. En el presente trabajo se determinó la especiación de Cu en jales y suelos aledaños a la mina "Mineral La Aurora", localizada en Xichú, Guanajuato, que fue explotada para Pb, Zn, Ag, Cu y Au hasta el año de 1957.

Para fin del proyecto, se aplicaron una combinación de extracciones, Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA), Fluorescencia de Rayos X (XRF) y técnicas de Espectroscopia de Absorción de Rayos X (XAS); Cerca del Borde (XANES) y de Estructura Fina (EXAFS). En el sitio de la mina se muestrearon un total de 13 puntos distribuidos en jales y suelos cercanos, de donde se tomaron muestras superficiales (1cm) y compositos de 30cm. Las muestras se secaron a 50°C y se tamizaron en dos tamaños de partícula (<0.25 mm y 0.85 mm). El contenido de Cu se determinó mediante EAA y XRF y la especiación se realizó mediante Análisis de Combinación Lineal (LCF) de espectros de XANES y  $\mu$ -XANES y mapas de  $\mu$ -XRF.

Los resultados muestran que el Cu contenido en los jales y suelos está entre 1400±92 y 142±19 mg·kg<sup>-1</sup>, respectivamente. El Cu se encuentra como especies de Cu<sup>2+</sup>, altamente solubles en los jales; sin embargo en los suelos se encuentra formando especies poco solubles como óxidos y sulfuros de Cu<sup>+</sup>. El contenido de Cu en los jales se encuentra disponible para las plantas alrededor de un 50% y bioaccesible en medio gástrico en porcentajes de hasta 90% en casi todos los puntos muestreados. El Cu presente en los jales representa un riesgo potencial, dado que sobrepasa el límite que produce efectos gastrointestinales (0.0731 mg·kg·día<sup>-1</sup>) por exposición crónica

### 1. INTRODUCCIÓN

Los jales mineros constituyen un riesgo latente, por su alto contenido en Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT). La exposición de organismo a este tipo de contaminantes puede resultar en daño fisiológico. El cobre es considerado un micronutriente esencial para los organismos vivos, sin embargo en altas dosis (0.0731 mg·kg·day<sup>-1</sup>) puede causar irritación gastrointestinal y en algunos casos daño hepático [1], en las plantas el Cu, puede causar desordenes morfológicos y fisiológicos, que incluyen una disminución en el crecimiento y efectos en la actividad fotosintética [2]. Algunas plantas pueden acumular estos elementos en sus tejidos y dado que son la base de la cadena alimenticia, pueden contribuir a la movilización de estos elementos a través de la cadena trófica. El grado de movilización de estos elementos depende de su especiación elemental y de la naturaleza del medio que contiene el contaminante.

La concentración de Cu reportada alrededor del mundo en sitios contaminados varía significativamente, se han reportado concentraciones de entre 455 a 9979 mg·kg<sup>-1</sup> [3,4 y 5]. Por otro lado las regulaciones en cuanto al contenido de Cu en suelos también tiene una variación considerable y se encuentra entre 50 (Holanda) hasta 1000 mg·kg<sup>-1</sup> (España) [6].

Las técnicas de análisis de jales mineros comúnmente empleadas incluyen Microscopía electrónica de barrido (SEM), Fluorescencia de Rayos X (XRF) y Espectroscopia de Absorción de rayos-X (XAS). Por ejemplo Yang y Cols.,(2014) emplearon Absorción de rayos-X cerca del borde (XANES), Absorción de rayos-X de Estructura Fina (EXAFS), Micro Fluorescencia de rayos-X ( $\mu$ -XRF) y Microscopía de transmisión de barrido de rayos-X (STXM) en el estudio de la especiación de Cu en jales mineros en Zhejiang provincia de China. Sus resultados sugieren que el Cu se



encuentra asociado con los óxidos de Fe, adsorbido a óxidos de Fe (III) mediante complicación de esfera interior [7].

## 2. METODOLOGÍA

Se muestrearon 13 puntos distribuidos en los jales mineros y cinco puntos en suelos alrededor de estos, adicionalmente se colectaron 3 puntos más en suelos alrededor de 1.5km de distancia con fines comparativos. En cada uno de los puntos de muestreo se colectó una muestra superficial y un composito de los primeros 30cm. Las muestras se secaron en un horno de secado durante 24h a 50°C y se tamizaron en dos tamaños de partícula; <085 y <0.25 mm (malla 20 y 60), de acuerdo a la normativa mexicana [8] y al método 3050b de la USEPA [9].

El contenido de Cu en las muestras se determinó mediante Espectroscopia de Absorción Atómica de Flama (FAAS) y Fluorescencia de rayos X (XRF). Para FAAS las muestras se procesaron mediante una digestión ácida de acuerdo al método 3050b de la EPA [9]; se pesó 1 gramo de la muestra en un vaso de precipitado de 100mL y se adicionaron 5mL de HNO<sub>3</sub> (Grado reactivo; Fermont), las muestras se calentaron y se mantuvieron en reflujo durante 1h, pasado este tiempo se adicionaron 3mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%, Fermont) y se mantuvo en reflujo durante media hora más. El residuo se centrifugó a 3000 xg y se filtró con una membrana de 2.5µm (Whatman ©). Las muestras se aforaron a 10mL y se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su análisis. En el caso de las muestras para análisis mediante XRF se trituraron de entre 100 a 300mg de muestra y se fabricó una pastilla usando una prensa hidráulica. Un <sup>109</sup>Cd(25mCi) (Isotope Products Laboratories, Valencia, USA) se empleó como la fuente de excitación primaria para el análisis. La radiación fluorescente emitida se colectó empleando un espectrómetro de energía dispersiva de rayos-X equipado con un detector de Si(Li) (Canberra, 157 Meriden, USA) con una ventana de Be de 25µm de grosor. El análisis se realizó expuesto a la atmósfera y las muestras se irradiaron durante 1 a 5s.

Para determinar las fracciones de Cu presentes en los jales mineros en el sitio se empleó una extracción secuencial (SEP) de acuerdo a Tessier y Cols., (1979) [10], se pesó 1 g de muestra en un tubo de centrifuga de 50mL, y se procedió como sigue: 1) Soluble en agua, se adicionaron 15mL de agua desionizada y se agitó durante dos horas; 2) Intercambiable, al residuo sólido de la extracción anterior se le adicionaron 8 mL de MgCl<sub>2</sub> (1M; pH 7) y se agitó durante dos horas; 3) Unida a carbonatos, al residuo sólido de la extracción anterior se le adicionaron 8 mL de NaOAc (1M; pH 5 con HOAc) y se agitó durante 5h; 4) Unida a óxidos de Fe-Mn, al residuo de la extracción anterior se le adicionaron 15mL de NH<sub>2</sub>OH·HCl en 25% (v/v) HOAc y se mantuvo a 96°C durante seis horas con agitación ocasional; 5) Unido a materia orgánica, al residuo de la extracción anterior se le adicionó 3mL de HNO<sub>3</sub> (0.02M) y 5mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% ; pH 2 con HNO<sub>3</sub>) y se mantuvo a 85°C durante tres horas, pasado este tiempo se adicionaron 3mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y se mantuvo en las mismas condiciones por dos horas más; 6) Residual, se obtuvo por digestión ácida de acuerdo al método 3050b de la EPA [9]. Todos los extractos se centrifugaron a 3000 xg, se filtraron con membrana de 2.5 µm y se almacenaron a 4°C hasta su análisis por FAAS.

Adicionalmente se determinó el Cu bioaccesible mediante una extracción simulando medio gástrico con un medio de glicina (0.4M; pH 1.5 con HCl). Pesando 1 g de la muestra y sometiéndolo a agitación durante una hora en 100 mL de medio a 30±2 rpm a 37°C, de acuerdo a la normativa mexicana [8]. EL Cu fitoaccesible se determinó empleando una extracción simulando la solución de la rizosfera con ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LWMOA) de acuerdo a Cieśliński y Cols., (1998) [11].

Los análisis mediante las técnicas de XAS, se realizaron en la XAFS beam line de Elettra Sincrotrone Trieste. Dado el tiempo limitado en el uso de estas técnicas se analizaron solo dos muestras de jales mineros y una de suelo y las muestras tamizadas en malla 60, dado que son más susceptibles a su movilización por lixiviación. Las muestras se pulverizaron y se homogeneizaron en un mortero de ágata y se mezclaron con nitrato de boro (BN) ó polivinil pirrolidona (PVP) y se prepararon como pastillas. Los materiales de referencia se montaron en cinta adhesiva. Se emplearon como compuestos modelo los siguientes reactivos: clinoclase (Cu<sub>3</sub>AsO<sub>4</sub>(OH)<sub>3</sub>), cobre(II) sulfato/chalcantita (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), óxido de cobre (II) (CuO), óxido de cobre (I) (Cu<sub>2</sub>O), olivenita (Cu<sub>2</sub>AsO<sub>4</sub>OH), y acetato de cobre Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>. Dado el gran contenido de As se emplearon los compuestos de Cu/As comúnmente presentes en jales mineros en condiciones oxidantes tales como la clinoclase y olivenita [12]. El resto se obtuvieron de minerales de Excalibur y como materiales de grado reactivo de Sigma Aldrich. Las adquisiciones de XANES se

obtuvo mediante un detector de Si (Silicon Drift Detector; SDD; Ketek, GmbH AXAS-M de 80 mm<sup>2</sup>), la energía se calibró a 8979eV empleando una lámina de Cu°, y se escaneó 120eV por debajo (con pasos de 5eV) y 220 eV por encima de la energía de calibración (con pasos de 0.2eV) empleando un monocromador de doble cristal de Si (111), se escanearon de 2 a 10 veces por muestra. El análisis de los datos se realizó mediante el software Athena [13].

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de Cu en las muestras de jales mineros y suelos se ubicaron respectivamente en el rango de 125±21 y 1763±10 y 22±5 y 88±5 mg·kg<sup>-1</sup> ver tabla 1. Las muestras de referencia colectadas a 1.5km de distancia mostraron valores de entre 11±5 y 36±5 mg·kg<sup>-1</sup>. Se observó que el contenido de Cu es más alto en la muestra superficial que en el composito de 30cm. En climas en donde la evaporación tiene influencia, es posible que las especies altamente solubles de Cu se movilicen a la superficie por fuerzas capilares y una vez ahí su movilidad es controlada mediante el pH y los procesos adsorción [14].

**Tabla 1.** Contenido de Cu total en jales mineros (T) y suelos (S) tamaño de partícula <0.25mm (60), <0.85 (20), de la zona de la mina la Aurora.

Fracción muestra	AA mg Cu/kg suelo		Fracción muestra	AA mg Cu/kg suelo		Fracción muestra	AA mg Cu/kg suelo	
	60	20		60	20		60	20
T1s	628 ± 21	452 ± 10	T7s	549 ± 46	564 ± 49	T13s	920 ± 84	547 ± 10
T1c	318 ± 28	217 ± 10	T7c	428 ± 41	373 ± 19	T13c	734 ± 57	561 ± 45
T2s	1763 ± 10	1411 ± 36	T8s	211 ± 13	125 ± 21	S1c	82 ± 5	33 ± 5
T2c	798 ± 27	574 ± 16	T8c	145 ± 17	125 ± 21	S2c	47 ± 7	41 ± 5
T3s	398 ± 33	377 ± 48	T9s	369 ± 29	308 ± 75	S3c	32 ± 5	22 ± 5
T3c	430 ± 7	400 ± 24	T9c	211 ± 18	219 ± 44	S4c	84 ± 5	88 ± 5
T4s	812 ± 12	967 ± 56	T10s	718 ± 31	675 ± 24	S5c	39 ± 5	29 ± 14
T4c	448 ± 23	407 ± 11	T10c	513 ± 5	675 ± 24	S1Rc	28 ± 5	22 ± 5
T5s	622 ± 81	821 ± 47	T11s	349 ± 16	316 ± 7	S2Rc	19 ± 5	11 ± 5
T5c	432 ± 15	434 ± 74	T11c	546 ± 8	465 ± 85	S3Rc	36 ± 5	27 ± 5
T6s	373 ± 83	970 ± 92	T12s	1363 ± 43	1311 ± 26			
T6c	871 ± 81	471 ± 47	T12c	451 ± 19	518 ± 38			

s= superficie (1 cm) c= composito (30 cm); R= muestra de referencia; ±S.D.

Para el estudio de la especiación de Cu y su influencia en su movilización se empleó una combinación de extracciones (SEP, fitoaccesibilidad y bioaccesibilidad) y técnicas de análisis de XAS, la SEP mostró que más del 80% de Cu es soluble en la fracción acuosa. En los jales mineros se observó la siguiente tendencia en cuanto a las fracciones de la SEP; soluble en agua>residual>unido a materia orgánica>intercambiable>unido a óxidos de Fe y Mn>unido a carbonatos y en suelos; residual>unido a materia orgánica>unido a óxidos de Fe y Mn>unido a carbonatos>soluble en agua>intercambiable ver tabla 2. Los resultados sugieren que el Cu se encuentra presente formando especies altamente solubles y que la movilización no es controlada por procesos de absorción a óxidos de Fe y Mn. Los resultados del análisis de fitoaccesibilidad y bioaccesibilidad muestran que entre el 50% y 99% del Cu presente en las muestras de jales mineros se encuentra disponible para las plantas y disponible en medio gástrico. Por el contrario en los suelos este porcentaje es limitado y no se detectó Cu bioaccesible. Aunque se detectó que todas las muestras superan el límite de ingesta diaria de 0.0731mg Cu·kg·día [1], que involucra desordenes gástricos el rango en los jales mineros se encontró entre 0.123 y 0.549mg Cu·kg·día. Los resultados sugieren que existe un riesgo alto para la comunidad vegetal (Cu fitoaccesible) y una limitada para la exposición humana (Cu bioaccesible).

**Tabla 2.** Resultados de la SEP en algunas muestras de jales mineros (T) y suelos (S) tamizados en <0.25mm (60), <0.85 (20), de la zona de la mina la Aurora.

	Soluble en agua	intercambiable	Unida a carbonatos	Unida a óxidos de Fe y Mn	Unida a material orgánica	residual

Fracción muestra	60		20		60		20		60		20	
	60	20	60	20	60	20	60	20	60	20	60	20
T1s	366 ± 18 (80%)	413 ± 11 (71%)	21 ± 5 (5%)	19 ± 5 (3%)	ND	ND	9 ± 5 (2%)	8 ± 5 (1%)	18 ± 5 (4%)	17 ± 5 (3%)	36 ± 9 (8%)	124 ± 8 (21%)
T1c	113 ± 5 (26%)	168 ± 49 (46%)	13 ± 5 (3%)	11 ± 5 (6%)	ND	ND	8 ± 5 (2%)	7 ± 5 (2%)	13 ± 5 (3%)	15 ± 5 (4%)	283 ± 5 (65%)	159 ± 8 (44%)
T2s	841 ± 16 (81%)	1184 ± 39 (75%)	54 ± 5 (5%)	33 ± 5 (3%)	6 ± 5 (1%)	6 ± 5 (0%)	6 ± 5 (1%)	7 ± 5 (0%)	18 ± 5 (2%)	22 ± 5 (1%)	111 ± 7 (11%)	310 ± 29 (20%)
T2c	519 ± 23 (76%)	444 ± 66 (73%)	45 ± 5 (5%)	48 ± 5 (8%)	ND	ND	7 ± 5 (1%)	7 ± 5 (1%)	19 ± 5 (3%)	22 ± 5 (4%)	97 ± 5 (14%)	79 ± 9 (13%)
T10s	379 ± 11 (54%)	406 ± 70 (63%)	34 ± 5 (5%)	7 ± 5 (5%)	ND	ND	39 ± 5 (6%)	26 ± 6 (4%)	91 ± 5 (13%)	97 ± 5 (15%)	125 ± 5 (18%)	47 ± 5 (7%)
T10c	351 ± 20 (67%)	27 ± 5 (6%)	7 ± 5 (1%)	6 ± 5 (1%)	ND	ND	37 ± 5 (7%)	36 ± 5 (8%)	85 ± 5 (16%)	82 ± 5 (17%)	33 ± 5 (6%)	305 ± 6 (65%)
T12s	1129 ± 65 (83%)	1360 ± 112 (87%)	52 ± 5 (4%)	53 ± 5 (3%)	14 ± 5 (1%)	13 ± 5 (1%)	16 ± 5 (6%)	15 ± 6 (1%)	42 ± 23 (3%)	52 ± 5 (3%)	36 ± 5 (3%)	67 ± 24 (4%)
T12c	333 ± 21 (72%)	352 ± 54 (68%)	30 ± 5 (7%)	26 ± 5 (5%)	9 ± 5 (2%)	9 ± 5 (2%)	15 ± 5 (3%)	8 ± 5 (3%)	39 ± 5 (9%)	37 ± 5 (7%)	33 ± 5 (7%)	78 ± 10 (15%)
S1c	22 ± 5 (21%)	17 ± 5 (20%)	<5	<5	<5	<5	6 ± 5 (8%)	<5	31 ± 5 (31%)	14 ± 5 (17%)	34 ± 5 (35%)	40 ± 5 (48%)
S2c	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	18 ± 5 (41%)	11 ± 5 (26%)	15 ± 5 (35%)	26 ± 5 (61%)
S1Rc	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8 ± 5 (26%)	7 ± 5 (34%)	13 ± 5 (41%)	6 ± 5 (25%)

s= superficie (1 cm) c= compuesto (30 cm); R= muestra de referencia; ±S.D. (% fracción del total); ND no detectado

De acuerdo análisis de XAS, las muestras tienden a identificarse como especies altamente solubles de  $\text{Cu}^{2+}\text{SO}_4$  para Cu (II) y asociadas a materia orgánica y no orgánica como  $\text{Cu}^{+1}\text{O}_2$  para Cu (I) para especies con ligandos de O y  $\text{Cu}^{+1}\text{FeS}_2$  para especies de Cu (I) con ligandos S y se determinó también una asociación entre el Cu y As en donde se sugiere a  $\text{Cu}^{2+}_3\text{AsO}_4(\text{OH})_3$  (clinoclase), esto se detectó en los mapas generados por  $\mu$ -XRF (los resultados no se muestran) en una muestra de jales mineros. Los análisis de combinación lineal (LCFs) de XANES mostraron también la presencia de compuestos solubles de  $\text{Cu}^{2+}$  especialmente clinoclase (ver tabla 3) aunque los resultados de  $\mu$ -XRF muestran que la principal asociación de Cu no es con S dado que este último se corresponde principalmente con Ca. Las especies de Cu (II) en los jales mineros son una mezcla de  $\text{CuSO}_4$ , en varios grados de hidratación y probablemente formando complejos solubles de Cu con exudados derivados de microorganismos

**Tabla 3.** Análisis de combinación lineal de XANES en algunas muestras de jales mineros (T) y suelos (S) de la zona de la mina la Aurora

Muestra	Componente				Cu2O	Resultados R/factor
	Clinoclase	Chalcantita	Calcopirita			
T1s60	0.342	0.606	0		0.052	0.0018
T1c60	0.327	0.673	0		0	0.0015
T2s60	0.404	0.596	0		0	0.0013
T2c60	0.225	0.775	0		0	0.002
S1c60	0.649	0.162	0.189		0	0.008

s= superficie c= compuesto; tamaño de partícula <0.25mm (60); clinoclase ( $\text{Cu}_3\text{AsO}_4(\text{OH})_3$ ), chalcantita ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) y calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ )

#### 4. CONCLUSIONES

El Cu presente en los jales mineros se encuentra formando especies altamente solubles de Cu (II) que puede movilizarse por medio de los complejos solubles en agua y por erosión. En suelos el Cu también se encuentra formando especies de Cu (II) pero especies mucho menos solubles. En el suelo existe una correlación alta entre el Cu y As de acuerdo a los mapas de  $\mu$ -XRF y la adsorción sobre óxidos de Fe y Mn también ocurre en el suelo, las especies de Cu (I) están presentes en un porcentaje reducido y estas fueron confirmadas por  $\mu$ -XRF/XANES. Los resultados de esta investigación también ponen en evidencia la alta afectación a la comunidad vegetal dada la disponibilidad del Cu para estas. Para la población existe un riesgo reducido de acuerdo a los

análisis de bioaccesibilidad, sin embargo la exposición por vía de ingestión puede causar alteraciones gastrointestinales de acuerdo a los resultados de la dosis calculada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Agency for Toxic Substances & Disease Registry (ATSDR), "Toxicological Profile for copper", ATSDR, Atlanta, Georgia, Federal Register, 2004, 314 p
2. N. Mohanty, I. Vass, S. Demeter, "Copper toxicity affects photosystem II electron transport at the secondary quinone acceptor, Q<sub>B</sub>," *Plant physiol*, Vol. 90, pp. 175-179.
3. G. Yao-guang, H. Peng, Z. Wu-gang, Y. Xue-wu, F. Feng-xia, W. Huan-li, L. Jian-she, W. Zhao-hui, "Leaching of heavy metals from dexiong copper mine tailings pond", *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, Vol. 23, 2013, pp. 3068-3075.
4. L. Zebo, S. Qihua, Z. Jianfeng, C. Guancai, Y. Wang, "Soil copper distribution in Tongling mine tailing dam, China, proceedings, in International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology, TBD, Macau, Macaco, 2012, pp. 672-1675.
5. O. Sracek, M. Milhaljevič, B. Křibek, V. Majer, F. Veselovský, "Geochemistry and mineralogy of Cu and Co in mine tailings at the Copperbelt Zambia", *Journal of African Earth Sciences*, Vol. 57, 2010, pp. 14-30.
6. S. F. Belmonte, D.A. Romero, S. F. Alonso, B. J. Moreno, L. S. Rojo, "Afección de suelos agrícolas por metales pesados en áreas limítrofes a explotaciones mineras del sureste de España, *Papeles de geografía*, Vol. 45, pp. 51-52
7. J. Yang, J. Lui, J. J. Dynes, D. Peak, T. Regier, J. Wang, S. Zhu, J. Shi, J. S. Tse, "Speciation and distribution of copper in mine soils using multiple synchrotron-based bulk and microscopic techniques", *Environ Sci Pollut Res*, Vol. 21, pp. 2943-2954.
8. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), "Criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio y/o vanadio", NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, México, Diario Oficial, Viernes 2 de Marzo de 2007, pp.60.
9. United states Environmental Protection Agency (USEPA), "Acid digestion of sediments, sludges and soils (Method 3050b), U.S.A. revisión december 18 of august of 2014.
10. A. Tessier, P. G. C. Campbell, M. Bisson, "Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals", *Analytical Chemistry*, Vol. 51, 1979, pp. 844-851.
11. G. Cieśliński, K. C. J. Van-Ress, A. M. Szmigielska, G. S. R. Krisnamurti, P. M. Huang, "Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation". *Plant and soil*, Vol. 203, 1998, Vol. 203, pp. 109-117.
12. J. W. Anthony, R. Bideaux, K. W. Bladh, M. C. Nichols, "Hanbook of mineralogy" (Hanbook of Mineralogical Society of America, Mineral Data Publishing, Tucson, Arizona, 2000).
13. B. Ravel, M. Newville, "Athena, Arthemis, Hephaestus; data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT", *Journal of Synchrotron Radiation*, Vol. 12, 2005, pp. 537-541.
14. B. Dold, "Mineralogical and geochemical changes of copper flotation tailings in relation to their original composition-climatic settings, implications for acid mine drainage and element mobility", *Terre & Environment Genève*, Vol. 18, 1999, pp. 230.

## Administración oral a largo plazo del extracto de *Montanoa tomentosa* y su efecto en ratas forzadas a nadar

Ma. de Jesús Roviroso-Hernández<sup>1</sup>, Lina Monserrat Martínez-Flores<sup>2</sup>, Juan Francisco Rodríguez-Landa<sup>1</sup>, Francisco García-Orduña<sup>1</sup>, Omar Lagunes-Merino<sup>2</sup>, Abril de los Ángeles Aguilar-Tirado<sup>2</sup>, Miguel Carro-Juárez<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. CP 91190, México, [jroviroso@uv.mx](mailto:jroviroso@uv.mx), [juarodriguez@uv.mx](mailto:juarodriguez@uv.mx), [fragarcia@uv.mx](mailto:fragarcia@uv.mx).

<sup>2</sup>Posgrado en Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. CP 91190, México, [li-bre@hotmail.com](mailto:li-bre@hotmail.com), [omarlagunes@hotmail.com](mailto:omarlagunes@hotmail.com), [abrilati@hotmail.com](mailto:abrilati@hotmail.com).

<sup>3</sup>Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, Tlaxcala, CP 90000. México, [miguel\\_carro@hotmail.com](mailto:miguel_carro@hotmail.com).

### RESUMEN

**Introducción.** *Montanoa tomentosa* (*Mt*) es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana como remedio para los impedimentos reproductivos y trastornos del estado emocional y de ánimo. La administración aguda del extracto acuoso de *Mt* en la rata, produce efectos parciales anti-estrés en la prueba de nado forzado. Sin embargo, el efecto de la administración crónica de este extracto no ha sido explorado. **Objetivo.** Evaluar el efecto conductual producido por la administración crónica (28 días) del extracto acuoso de *Mt* en ratas forzadas a nadar y comparar el efecto con el producido por Fluoxetina (Flx) un antidepresivo clínicamente eficaz. **Método.** Se incluyeron 24 ratas macho Wistar en tres grupos a los cuales se les administró durante 28 días; 1) Vehículo (Vh) el cual recibió 1 mL/Kg de agua purificada; 2) *Montanoa tomentosa* (*Mt*) que recibió 50 mg/Kg/mL del extracto acuoso de la planta; y 3) Fluoxetina (Flx) que recibió 1 mg/Kg/mL. Los efectos fueron evaluados 30 minutos después de la última administración en las pruebas de campo abierto y nado forzado. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía y la prueba *post hoc* de Tukey. **Resultados.** En la prueba de nado forzado, flx redujo significativamente ( $p < 0.05$ ) el tiempo total de inmovilidad con respecto al grupo Vh, sin embargo *Mt* mostró un decremento aunque éste no fue significativo. Ninguno de los tratamientos modificó la latencia al primer período de inmovilidad, aunque se observó una tendencia a incrementar en los grupos *Mt* y Flx. En campo abierto, ninguno de los tratamientos modificó la locomoción con respecto al Vh. **Conclusión.** La administración crónica de *Mt*, puede ejercer un efecto tipo antidepresivo en ratas forzadas a nadar, aunque menor al producido por Flx. Estos datos sugieren el potencial efecto de *Mt* en el control de los estados emocionales que se le han atribuido en la medicina tradicional.

### INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno psiquiátrico que se caracteriza por alteraciones del humor o estado de ánimo (1). Un elemento clave en el desarrollo de la depresión es la respuesta alterada ante al estrés (2). Si esta respuesta es mantenida por largo plazo puede tener efectos perjudiciales incrementando el riesgo no sólo a la depresión, sino también a una serie de padecimientos o enfermedades que podrían causar la muerte (2). En la actualidad, se emplean diversos fármacos para el tratamiento de los trastornos depresivos como son los inhibidores de la recaptura de serotonina (IRS), cuyo uso conlleva algunos efectos adversos que limitan su uso a largo plazo. Es por ello que la investigación de productos naturales surge como alternativa al uso de fármacos sintéticos (3).

La infusión de *M. tomentosa* ha sido usada desde hace más de 500 años para el control del estado de ánimo y otros padecimientos (4). Se ha reportado que el extracto de *Mt* ejerce

propiedades tipo ansiolítico (5,6) y parcial efecto antiestrés en la prueba de nado forzado (7), que al parecer se asocia con la actividad oxitocinérgica que regula la respuesta al estrés (8). El objetivo del presente estudio fue determinar si la administración oral crónica del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa*, ejerce un efecto antidesesperanza similar al antidepressivo fluoxetina en la prueba de nado forzado.

## 2. TEORIA

### Depresión y uso de plantas medicinales.

La depresión se caracteriza por un estado de ánimo decaído o pérdida de interés y de anhedonia, los cuales pueden ser desencadenados por factores psicosociales, genéticos o biológicos. Los sujetos que sufren depresión generalmente presentan un deterioro variable en su funcionamiento social, familiar y laboral, por lo que la depresión es considerada un serio problema de salud pública, sugiriéndose que en pocos años ésta será la segunda enfermedad discapacitante a nivel mundial (9). Las personas que sufren este trastorno a menudo recibe como tratamiento antidepressivos sintéticos; sin embargo éstos pueden producir efectos secundarios como; retardo psicomotor, sequedad de boca, estreñimiento y disfunción sexual (10), entre otros. Como terapia alternativa, las plantas pueden ofrecer una posible alternativa terapéutica. (11).

#### **Montanoa tomentosa.**

En la medicina tradicional mexicana, existen plantas de gran utilidad en el tratamiento de diferentes padecimientos reproductivos en la mujer, incluidos los del estado emocional y afectivo (12). El zoapatle nombre común de la *Montanoa tomentosa*, es también conocida como "cihuapatli"; palabra que en lengua náhuatl sintetiza dos vocablos: (cihuatl – mujer y patli – medicina, 13). La infusión de *M. tomentosa* ha sido usada desde la época prehispánica, como un remedio para diversos padecimientos en la mujer, como: inductor del parto, estimulador de la lactancia y la menstruación; así como para el tratamiento de desordenes nerviosos y del estado de ánimo (4). La administración oral aguda del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* (*Mt*), produce un efecto tipo ansiolítico similar al diazepam (6) y un efecto parcial antidesesperanza en la prueba de nado forzado (7). Por consiguiente, nos propusimos evaluar el efecto producido por la administración crónica (28 días) del extracto acuoso de *Mt* en ratas forzadas a nadar y compararlo con un antidepressivo clínico como Fluoxetina.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar, con un peso aproximado de  $250 \pm 25$  g, las cuales se mantuvieron en cajas de acrílico translúcido (40 x 33 x 20 cm) con una cama de aserrín de aproximadamente 4 cm de espesor. Los animales fueron mantenidos, en un bioterio con temperatura controlada, con ciclo normal de luz-oscuridad (12 x 12hrs), y con agua y alimento *ad libitum*. Todas las manipulaciones experimentales se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (14), en lo relativo a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio, y conforme a los lineamientos éticos internacionales basados en la Guía de cuidado y uso de animales de laboratorio publicado por el National Research Council (15). Adicionalmente, se tomaron en cuenta las recomendaciones del Código Ético del Instituto de Investigación Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México para el uso de animales en la experimentación biomédica. Se formaron tres grupos experimentales, los cuales recibieron el tratamiento por vía oral diariamente durante 28 días bajo el siguiente esquema: **Grupo 1** Vehículo (n = 8): A cada individuo se le administró una dosis 1mL/Kg de agua purificada. **Grupo 2** *Montanoa tomentosa* (n=8): A cada individuo se le administró una dosis de 50 mg/Kg/mL de extracto acuoso de *M. tomentosa*. **Grupo 3** Fluoxetina (n = 8): a cada individuo se le administró una dosis de 1 mg/Kg/mL de fluoxetina. El último día de la administración 30 minutos después de ésta, los individuos fueron evaluados en las pruebas de campo abierto y nado forzado.

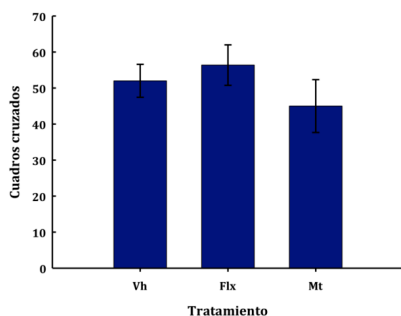
**Extracto acuoso de *Monetanao tomentosa*.**- Las hojas de *Monetanao tomentosa* fueron recolectadas cerca de Tlaxcala. Posterior a su autenticación, fueron secadas durante 20 días y se molieron. Para la preparación del extracto se agregó 1gr de hojas secas pulverizadas en 20ml de agua purificada a punto de ebullición, se dejó reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se filtró. El extracto fue preparado una hora antes de la administración de los animales, a los cuales se les administró una dosis de 50 mg/Kg/mL, por vía oral, durante 28 días.

**Fluoxetina.**- Para la administración de fluoxetina se mezcló el contenido de una cápsula de Prozac (20mg c.b.p.), y se diluyó en 20ml de agua purificada. Después de la preparación se administró de manera oral, durante 28 días en una dosis de 1 mg/Kg/mL.

**Prueba de campo abierto.**- La rata fue colocada en una caja de acrílico opaca de 44 x 33 x 20 cm cuya base fue dividida en cuadros de 11 x 11 cm donde se colocaron 30 minutos después de recibir el tratamiento correspondiente a cada grupo, durante 5 minutos y antes de la prueba de nado forzado. En esta prueba se evaluó el número de cuadros cruzados (cc), tomando como criterio que la rata pasará al menos tres cuartas partes de su cuerpo de un cuadro a otro. Esta prueba se realizó para identificar o descartar efectos motores que pudieran interferir en la prueba de nado forzado (16).

**Prueba de nado forzado.**- La rata fue colocada en un estanque rectangular de cristal (30 x 20 x 50 cm) con agua a temperatura de  $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , donde no existió la posibilidad de escape, el nivel de agua dependió de la longitud del animal de manera que le permitió tocar el fondo del estanque con la cola o la punta de las patas posteriores manteniendo las narinas por arriba del nivel de agua del estanque. En la primera sesión (pre-prueba), la rata permaneció en el agua durante 15 min, con lo que se indujo un estado de desesperanza, caracterizado por la presencia de inmovilidad. 24 horas después de la sesión de pre-prueba, el animal fue colocado nuevamente en el agua y videograbado por cinco minutos. Durante este período, se registró la latencia a la primera inmovilidad, que corresponde al tiempo que transcurre desde que la rata se introdujo al estanque, hasta que presentó el primer período de inmovilidad. Asimismo, se contabilizó el tiempo total de inmovilidad, es decir, la suma de los períodos de inmovilidad ocurridos durante los cinco minutos; considerando todos aquellos períodos, mayores a dos segundos, en los que el animal se mantiene a flote realizando los movimientos mínimos, sin desplazarse y que le permiten mantener la cabeza por encima del nivel de agua. El aumento en la duración de la conducta activa de nado, y la consiguiente disminución del tiempo de inmovilidad son considerados como perfiles consistentes con un efecto tipo antidepresivo (17). Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para grupos independientes, con una prueba *post hoc* de Tukey. Aceptando una  $p < 0.05$  como estadísticamente significativa, los datos son presentados como la media  $\pm$  error estándar.

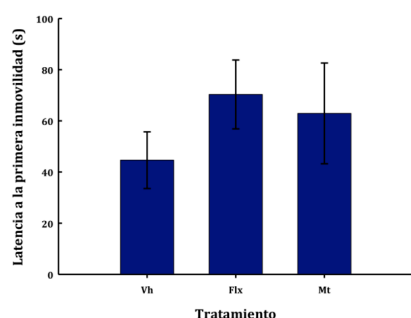
**Actividad locomotriz.**- En la prueba de campo abierto no hubo diferencias estadísticas ( $F_{(2,23)}=0.930$ ,  $p < 0.460$ ) en el número de cuadros cruzados por los animales entre los diferentes tratamientos (Figura 1).



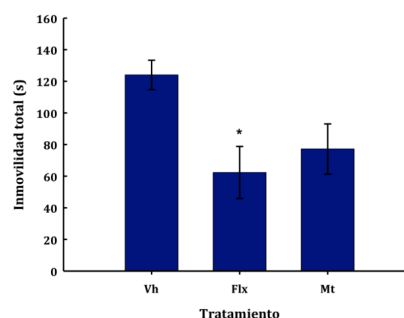
**Figura 1.** Número de cuadros cruzados. Ninguno de los tratamientos modificó esta variable ANOVA de una vía *post hoc* Tukey. Vehículo, Vh; Fluoxetina, Flx; *Monetanao tomentosa*, Mt.

## Nado Forzado

**Latencia a la primera inmovilidad.**- No se encontraron diferencias significativas ( $F_{(2,23)}=0.751$ ,  $p<0.484$ ) entre los tratamientos, aunque se observó una tendencia a incrementar en los grupos *Montanoa* y fluoxetina (Figura 2).



**Figura 2.** Latencia a la primera inmovilidad. No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos Vehículo (Vh), Fluoxetina (Flx), *Montanoa* (Mt). ANOVA de una vía *post hoc* Tukey.



**Figura 3.** Tiempo total de inmovilidad. El tratamiento con Fluoxetina (Flx) y *Montanoa* (Mt), redujeron el tiempo total de inmovilidad con respecto al Vehículo (Vh). Se observó un incremento en la inmovilidad total de los individuos del grupo Flx con respecto a los del grupo Vh ANOVA de una vía, *post hoc* Tukey.

**Tiempo total de la inmovilidad.**- Se encontraron diferencias significativas ( $F_{(2,23)}=4.962$ ,  $p<0.017$ ) entre los tratamientos. El tratamiento con Fluoxetina redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad con respecto al Vehículo. El extracto de *Mt* redujo el tiempo total de la inmovilidad aunque no fue tan acentuado como el de Flx (Figura 3).

## 4. CONCLUSIONES

La administración oral crónica por 28 días de 50mg/Kg del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* no mostró un efecto significativo sobre la latencia a la primera inmovilidad, ni sobre el tiempo total de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Sin embargo muestra una tendencia a reducir el tiempo total de inmovilidad parecida al antidepressivo Fluoxetina. Estos resultados sugieren que la infusión de *Mt* ejerce un efecto tipo antidepressivo en ratas forzadas a nadar, aunque menor al producido por Flx. Estos datos sustentan el potencial efecto benéfico en el control de las alteraciones del estado emocional y afectivo atribuido al extracto de *Mt* en la medicina tradicional mexicana.

## AGRADECIMIENTOS

Lina Monserrat Martínez-Flores (LMMF), Omar Lagunes Merino (OLM) y Abril de los Ángeles Aguilar Tirado (AAAT) recibieron beca del CONACYT para estudios de Maestría (LMMF) y (OLM, AAAT) de Doctorado en Neuroetología (Registro 337257, 239772 y 235957, respectivamente). El trabajo fue apoyado con recursos parciales del Programa de Fortalecimiento Académico del Posgrado de Alta Calidad I010/458/2013, C-703/2013.

## BIBLIOGRAFIA

1. A. Sequeira-Cordero, J. Fornaguera-Trias "Neurobiología de la depresión", Rev. Mex. Neuroc., Vol. 10, 6, 2009, pp. 462-478.



2. D. F. Swaab, A. M. Bao, P. J. Lucassen, "The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration", *Ageing. Res. Rev.*, Vol. 4, 2005, pp. 141-94.
3. J. Sarris, A. Panossian, I. Schweitzer, C. Stough, A. Scholey, "Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: A review of psychopharmacology and clinical evidence". *Europ. Neuropsychol.*, Vol. 21, 2011, pp. 841-860.
4. S.D. Levine, D.W. Hahn, M.L. Cotter, F.C. Greenslade, R.M. Kanojia, S.A. Pasquale, M. Wachter, J.L. Mcguire, "The mexican plant zoapatle (*Montanoa tomentosa*) in reproductive medicine. Past, present and future", *J Reprod Med*, Vol. 26, 1981 pp. 524-528.
5. JF. Rodríguez-Landa, M.G. Rodríguez-Santiago, MJ. Rovirosa-Hernández, F. García-Orduña, M. Carro-Juárez, "Aqueous Crude Extract of *Montanoa tomentosa* Exerts Anxiolytic-Like Effects in Female Rats With Long-Term Absence of Ovarian Hormones". *J Chem Biol Physical Sciences*. Vol. 4, No. 3(II) 2014, Special Issue.
6. I. Sollozo-Dupond, E. Estrada-Camarena, M. Carro-Juárez, C. López-Rubalcava, "GABA<sub>A</sub>/benzodiazepine receptor complex mediates the anxiolytic-like effect of *Montanoa tomentosa*". *J Ethnopharma*, Vol. 162, 2015, pp. 278-286.
7. O. Lagunes-Merino, "Efecto de la administración oral aguda del extracto acuoso de *Montanoa tomentosa* sobre la activación de células oxitocinérgicas del hipotálamo de la rata Wistar forzada a nadar". Tesis Doctoral en Neuroetología. Doctorado en Neuroetología, UV. 2015, pp. 108
8. K. Uvnäs-Moberg, M. Petersson, "Oxytocin, a mediator of anti-stress, well-being, social interaction, growth and healing". *Z. Psychosom Med Psychother*, Vol. 51,1, 2005, pp. 57-80
9. WHO, "World Health Organization. The world Health Report 2001: Mental Health—New Understanding", New Hope. *World Health Organizat, Geneva*. 2001.
10. E. Richelson, "Pharmacology of antidepressants – characteristic of the ideal drug". *Mayo Clin Proc*, Vol. 69, 1994, pp. 1069 – 1081.
11. J. Sarris, A. Panossian, I. Schweitzer, C. Stough, A. Scholey, "Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence" *Europ. Neuropsychol.*, Vol. 21, 2011, pp. 841–860.
12. M.M. Goonasekera, V.K. Gunawardana, K. Jayasena, S.G. Mohammed, S. Balasubramaniam, Pregnancy terminating effect of *Jatropha curcas* in rats. *J. Ethnopharmacol*, Vol. 47, 1995, pp. 117–123.
13. Bejar, E. "El efecto de la decocción de *Montanoa tomentosa* ssp. *tomentosa* (zoapatle) y de su constituyente activo el ácido grandiflorenico sobre la contractilidad uterina". Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana UAT-Ixtapalapa, 1985, 24-28.
14. NOM-062-ZOO-1999 "Norma Oficial Mexicana. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio". México, D.F. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*
15. National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996. publication no. 85-23
16. S. Wieland, I. Lucki, "Antidepressant-like activity of 5-HT<sub>1A</sub> agonist measured with the forced swim test". *Psychopharmacol*, Vol. 101, 1990, pp. 497 – 504.
17. J.F. Cryan, I. Lucki, "Assesing antidepressant activity in rodents: recent developments and future need". *TIPS* Vol. 23. 2002, pp. 238 – 245.

## Papel de las fitohormonas auxinas y citocininas en el desarrollo en una planta no vascular

Hernández-Sanabria Erika Alejandra<sup>b</sup>, Chamorro-Flores Alejandra<sup>a</sup>, Ríos-Melénde Selma<sup>a</sup>, Villalobos-López Miguel Angel<sup>a</sup>, Arroyo-Becerra Analilia<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada ; mvillalobosl@ipn.mx, joalbema@hotmail.com, selmuchis@hotmail.com, alarroyo@ipn.mx.

<sup>b</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Escuela de Biología. erika-zanabria@hotmail.com

### RESUMEN

Las briofitas son el grupo de plantas más primitivas de la tierra y son consideradas plantas no vasculares por carecen de un sistema especializado para el transporte de agua y nutrientes. El efecto de las fitohormonas vegetales ha sido ampliamente estudiado en plantas vasculares, sin embargo se desconoce en gran medida en plantas no vasculares. Con el objetivo de evaluar el papel de una citocinina y una auxina en una etapa de desarrollo de una briofita, en este trabajo se utilizó el musgo *Physcomitrella patens* en etapa protonemal y se evaluó el efecto de la auxina ácido indol-acético (IAA) y la citocinina, benzilaminopurina (BAP) en diferentes concentraciones, en el fenotipo y crecimiento de los protonemas, así como el desarrollo de gametóforos. Los fenotipos obtenidos al concluir 30 días de monitoreo, evidenciaron que la auxina IAA en concentraciones 5  $\mu\text{M}$  posee un efecto estimulador, provocando un aumento significativo en el crecimiento expansivo de los filamentos protonemales y el tamaño de los gametóforos. En contraste, IAA 10  $\mu\text{M}$  no tuvo efecto respecto al control. En el caso de BAP, este provocó disminución en el crecimiento expansivo así como cambios en la morfología de los gametóforos en concentraciones de 10  $\mu\text{M}$ . Por otro lado concentraciones de esta misma citocinina (0.1  $\mu\text{M}$ ) ocasionó disminución significativa en el número y tamaño de gametóforos. Con base en estos resultados se concluye que la auxina IAA en bajas concentraciones (5  $\mu\text{M}$ ) promueve el crecimiento y tamaño de los gametóforos y la citocinina BAP posee un efecto negativo en el crecimiento (10  $\mu\text{M}$ ), número y morfología de los gametóforos del musgo *P. patens*.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las briofitas son consideradas plantas no vasculares, es decir plantas que carecen de un sistema especializado para el transporte de agua y nutrientes, a diferencia de las plantas vasculares que poseen xilema y floema (Goffinet y Shaw, 2009). Se dividen en tres categorías: Musgos, Antocerotes y Hepáticas (Delgadillo, 2003). *P. patens* es un musgo modelo experimental en áreas como biología molecular, celular, vegetal, citología y biotecnología. Entre sus ventajas resaltan su patrón simple de crecimiento y desarrollo, con pocos tipos de células, la habilidad para crecer en medios líquidos y sólidos, así como la sensibilidad a las fitohormonas como auxinas, citoquininas y ácido abscísico. Además *P. patens* es la única briofita con el genoma completamente secuenciado (Rensing *et al.*, 2008). Por otro lado, los grupos de fitohormonas clásicas que se han identificado químicamente en briofitas (Yasumura *et al.*, 2007), y de las cuales se sabe que tienen

un efecto sobre el crecimiento y desarrollo de *P. patens*, son auxinas, citocininas, ABA y etileno (Decker *et al.*, 2006) Las citocininas como la benzilaminopurina (BAP) en altas concentraciones (10  $\mu\text{M}$ ) posee un efecto inhibitorio en el tamaño de la colonia de *P. patens* (Thelander *et al.*, 2005; Ashton *et al.*, 1979) e induce la formación de tejido calloso (Ashton *et al.*, 1979). Además las auxinas son las encargadas de la diferenciación de cloronema a caulonema (Ashton *et al.*, 1979). Esta etapa es muy importante en el desarrollo de los musgos ya que la formación de caulonema dará lugar a la formación de brotes (Ashton *et al.*, 1979). La presencia de citocininas en bajas concentraciones induce la formación de brotes, lo que dará paso a la etapa adulta del musgo, el gametóforo (Ashton *et al.*, 1979). Se ha reportado que en *P. patens*, el ácido naftalenacético, una auxina, provoca disminución en el diámetro de la colonia del musgo en condiciones de baja luminosidad (Thelander *et al.*, 2005).

A pesar de la evidencia creciente del efecto en el desarrollo de auxinas y citocininas en el desarrollo de algunos musgos, los diferentes sistemas y condiciones experimentales (diferentes tipos y edades de tejidos, esporas, células en suspensión, esporas en suspensión, fragmentos pequeños seccionados de una colonia, tejidos en diversos medios de cultivo, directo sobre el medio, sobre papel filtro, en obscuridad o diferentes regímenes de luz, etc.) resultan en respuestas diferentes ante la presencia de las diversas fitohormonas por lo que no es posible extrapolar ni generalizar las respuestas de los musgos a dichos fitoreguladores. En nuestro grupo de trabajo hemos establecido un sistema experimental homogéneo que consiste en utilizar tejidos protonemales de 10 días homogenizados en pequeños fragmentos y sembrando cantidades constantes y homogéneas en abundancia y distribución en pequeñas membranas de celofán. Esto nos permite someter los tejidos a los diferentes estímulos y obtener resultados consistentes y comparativos, por lo resulta necesario conocer las respuestas de desarrollo del musgo modelo *P. patens* bajo estas condiciones experimentales.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### *Material biológico*

Los tejidos de *P. patens* se obtuvieron a partir de una línea monoespórica con la que cuenta el Laboratorio de Biología Molecular de Plantas (LBMP), originalmente donada por la Dra. Verónica Lira Ruán de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

### Propagación del tejido vegetal

Para mantener joven (protonema) el tejido vegetal del musgo *P. patens* se realizaron propagaciones periódicas cada 5 días en medio  $\text{PpNH}_4$  líquido y sólido bajo condiciones de cultivo *in vitro*.

### *Siembra de tejido protonemal*

Para los experimentos con fitohormonas se requirió tejido protonemal de *P. patens* de 10 días de edad. Se colocó el tejido en membranas de celofán esterilizadas de 0.7 cm de diámetro. Para esto fue necesario utilizar 6 cajas de Petri grandes adicionadas con medio  $\text{PpNH}_4$ . Las cajas de Petri de 100 X 15 mm contenían 60 micromembranas de celofán, cada una de las cuales fue inoculada con 4  $\mu\text{l}$  de tejido protonemal recién propagado. Finalizada la siembra de tejido protonemal, las cajas fueron selladas con cinta adhesiva microporosa (3 M micropore, 1.25 cm) y colocadas en el cuarto de cultivo vegetal *in vitro* con un fotoperiodo de 16 hrs luz y 8 hrs de obscuridad a una temperatura de 23°C durante 10 días.

### *Experimentos con la citocinina BAP y la auxina IAA*

Transcurridos los 10 días de crecimiento del musgo, las membranas de celofán con el crecimiento más homogéneo de tejido fueron transferidas a cajas de Petri de 60 X 15 mm que contenían 13 ml de medio sólido  $\text{PpNH}_4$  adicionado con las diferentes concentraciones de las hormonas vegetales a evaluar (BAP 0.1 y 10  $\mu\text{M}$  e IAA 5 y 10  $\mu\text{M}$ ) y se evaluó el crecimiento del musgo durante 30 días.

Cabe señalar que para la hormona BAP el tratamiento fue por 24 hrs, posteriormente los tejidos se transfirieron a medio control.

#### *Análisis fenotípico*

Se realizó un análisis fenotípico mediante la observación visual y el registro fotográfico que inició a partir del día en que las membranas estuvieron en contacto por primera vez con los diferentes tratamientos (día 0) y continuó a los 5, 15 y 30 días de crecimiento del musgo, esto para evidenciar cambios tempranos y tardíos en el fenotipo (Crecimiento Expansivo-CE), número y tamaño de gametóforos y apariencia fenotípica)

Para la determinación del CE de los protonemas del musgo se utilizó el programa AutoCAD (2014) el cual posee una herramienta de medición que permite determinar la medida exacta de la imagen a analizar en milímetros En cuanto al número de gametóforos, se realizó la cuantificación de éstos al finalizar los 30 días de desarrollo del musgo. Se colocó la caja de Petri abierta en el microscopio estereoscópico y con ayuda de una pinza se retiraron cuidadosamente cada uno de los gametóforos.

Para los experimentos con BAP e IAA se llevaron a cabo tres experimentos biológicamente independientes de cada abordaje experimental, cada uno con tres cajas de Petri con tres muestras de tejido protonemal en micro-membranas de celofán por cada tratamiento, para verificar la reproducibilidad de los resultados. Posteriormente se realizó el análisis estadístico (ANOVA de una vía y prueba de Tukey) de los datos obtenidos, se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism (Versión 5.00).

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La citocinina BAP en concentraciones de 10  $\mu$ M provoca reducción significativa en el CE siendo esta característica claramente observable a partir del día 15 (Figs 1 y 2). Estos resultados son consistentes con lo reportado por Thealander *et al.* (2005) en donde, a pesar de utilizar un tipo y edad de tejido diferentes, se reporta una disminución en el diámetro de la colonia de *P. patens*. Así mismo se observó que BAP ocasionó disminución significativa en el número y tamaño de gametóforos en concentraciones bajas (0.1  $\mu$ M) (Fig. 3) e indujo cambios en la morfología de los filidios en concentraciones de 10  $\mu$ M (Fig. 4). Nuestros resultados sobre el efecto de la citocinina BAP en la disminución en el número de gametóforos contrastan con estudios hechos con citocininas en *P. patens*, ya que se ha reportado que la citocinina BAP en bajas concentraciones, induce la formación de brotes en *P. patens* (Ashton *et al.*, 1979), lo que sugiere que la concentración de citocinina utilizada en nuestro trabajo no fue la óptima para una mayor formación de brotes y por ende para el crecimiento de gametóforos, o bien, el tipo y edad de tejido utilizados en este trabajo son determinantes para la respuesta de los tejidos a las concentraciones de fitohormona utilizada. Por otro lado se ha reportado que concentraciones entre 5 y 50  $\mu$ M provocan un crecimiento anormal en los gametóforos, causando filidios más pequeños y tallos más cortos (Ashton *et al.*, 1979).

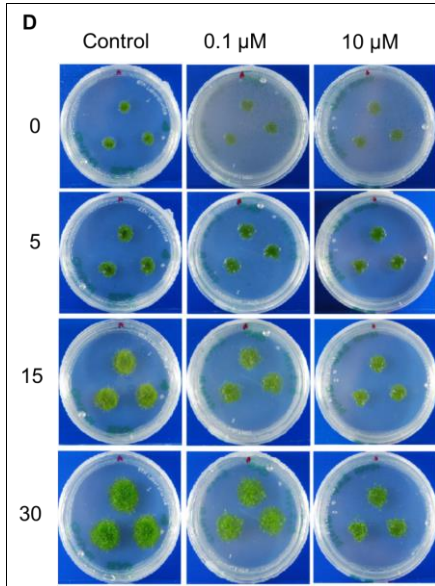


Fig. 1 Imagen panorámica representativa del desarrollo de los protonemas de *P. patens* creciendo en diferentes concentraciones de BAP del día 0 al 30. D=Días.

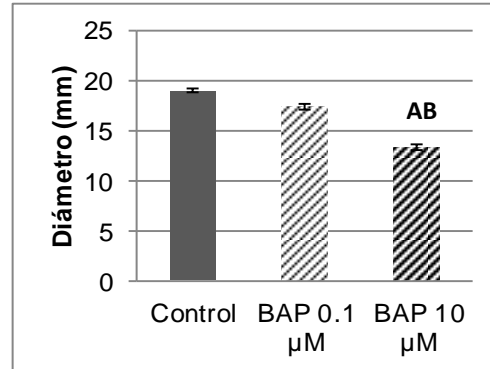


Fig. 2 CE de los protonemas de *P. patens* sometidos a las diferentes concentraciones de BAP. Se representa la  $\bar{x} \pm ES$ ,  $n=9$  (membranas representativas de cada caja de Petri de cada experimento). A: Diferencias significativas respecto al control. B: Diferencias significativas respecto a otro tratamiento.  $p=0.05$

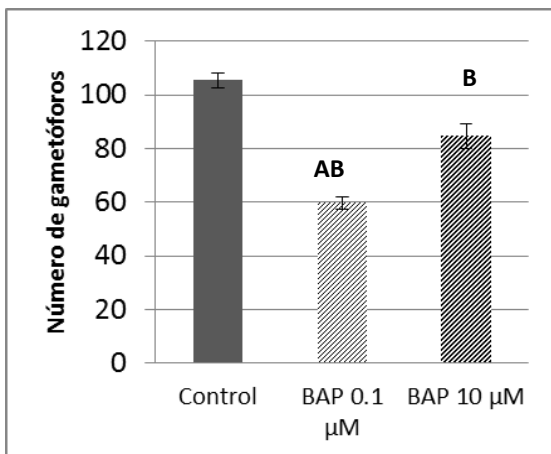


Fig. 3 Número de gametóforos obtenidos al día de 30 en las diferentes concentraciones de BAP. Se representa la media  $\pm ES$ ,  $n=6$  (membranas representativas de cada caja de Petri de cada experimento). A: Diferencias significativas respecto al control. B: Diferencias significativas respecto a otro tratamiento.  $p=0.05$

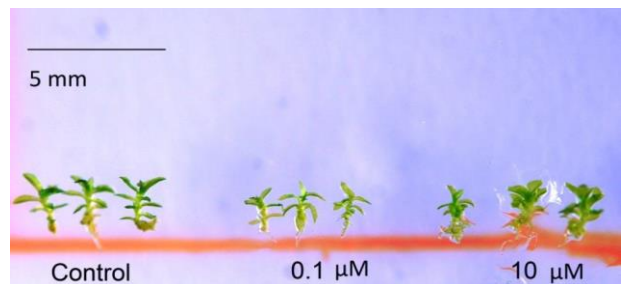


Fig. 4 Imagen representativa de los gametóforos de *P. patens* a los 30 días en los diferentes tratamientos con la citocinina BAP.

En cuanto a la auxina IAA 5  $\mu\text{M}$  provocó un aumento significativo en el CE de los protonemas de *P. patens* (Figs. 5 y 6) así como el tamaño de los gametóforos. Lo reportado por Johri y Desai (1973) contrasta con nuestros resultados en donde a pesar de que se observó un aumento en el número de gametóforos en presencia de IAA 5  $\mu\text{M}$ , no fue estadísticamente significativo. Por otro lado, los tejidos sometidos a IAA 10  $\mu\text{M}$  se comportaron similares al control, respecto al CE, número (Fig. 7) y tamaño de los gametóforos (Fig. 8).

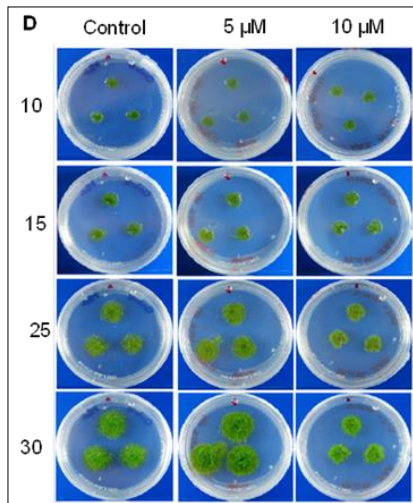


Fig. 5 Imagen panorámica representativa del desarrollo de los protonemas de *P. patens* creciendo en presencia de 5 y 10  $\mu\text{M}$  durante 30 días. D=Días.

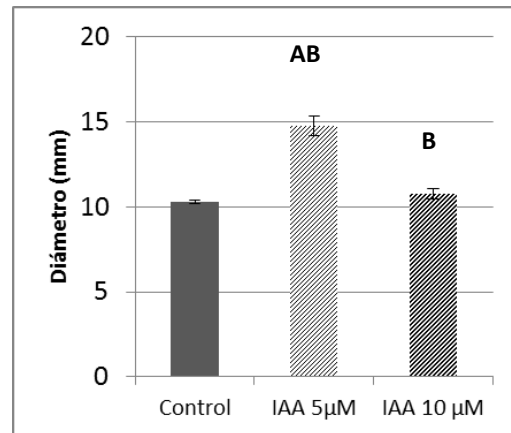


Fig. 6 CE de los protonemas de *P. patens* sometidos a IAA 5 y 10  $\mu\text{M}$  durante 30 días. Se representa la media ES, n=9 (membranas representativas de cada caja de Petri de cada experimento independiente). A: Diferencias significativas respecto al control. B: Diferencias significativas respecto a otro tratamiento.  $p=0.05$

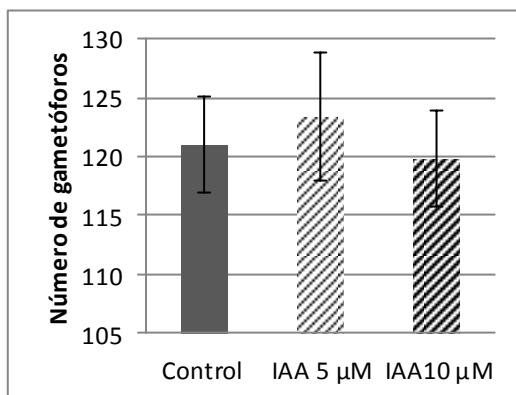


Fig. 7 Número de gametóforos obtenidos al día 30 en protonemas de *P. patens* creciendo a IAA 5 y 10  $\mu\text{M}$ . Se representa la media ES, n=6 (membranas representativas de cada caja de Petri independiente de cada experimento)  $p=0.05$

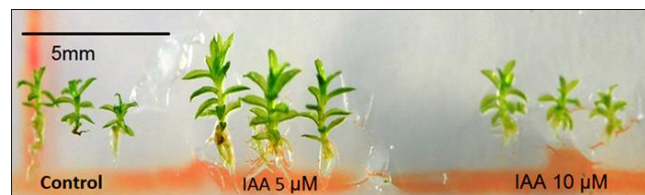


Fig. 8 Imagen representativa de la apariencia de los gametóforos de *P. patens* en los diferentes tratamientos con la auxina IAA, transcurridos 30 días.

**Agradecemos a CONACYT 131860, SIP2015, COFAA y al IPN por los apoyos otorgados**

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Ashton N, Grimsely N, Cove D. 1979. Analysis of gametophytic development in the moss, *Physcomitrella patens*, using auxin and cytokinin resistant mutants. *Planta* 144: 427–435
2. Decker E, Frank W, Saringhausen E, Reski R. 2006. Moss systems biology en route: phytohormones in *Physcomitrella* development. *Plant Biology* 8: 397-405
3. Delgadillo, C. 2003. Briofitas. Sociedad Latinoamericana de Briología.
4. Goffinet B, Shaw A. 2009. Bryophyte Biology. Second edition. Cambridge University Press pp. 565
5. Johri M., Desai S. 1973. Auxin regulation of caulonema formation in moss protonema. *Nature (London), New Biology* 245:223-224
6. Rensing S A, Lang D, Zimmer A D, Terry A, Salamov A, Shapiro H, Nishiyama T, Perroud P F, Lindquist E A, Kamisugi Y, Tanahashi T, Sakakibara K, Fujita T, Oishi K, Shin-I T, Kuroki Y, Toyoda A, Suzuki Y, Hashimoto S, Yamaguchi K, Sugano S, Kohara Y, Fujiyama A, Anterola A, Aoki S, Ashton N, Barbazuk W B, Barker E, Bennetzen J L, Blankenship R, Cho S H, Dutcher S K, Estelle M, Fawcett J A, Gundlach H, Hanada K, Heyl A, Hicks K A, Hughes J, Lohr M, Mayer K, Melkozernov A, Murata T, Nelson D R, Pils B, Prigge M, Reiss B, Renner T, Rombauts S, Rushton P J, Sanderfoot A, Schween G, Shin-Han S, Stueber K, Theodoulou F L, Tu H, Van de Peer Y, Verrier P J, Waters E, Wood A J, Yang L, Cove D, Cumming A C, Hasebe M, Lucas S, Mishler B D, Reski R, Grigoriev I V, Quatrano R S y Boore J F. 2008. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science* 319: 64-69
7. Thelander M, Olsson T, Ronne H. 2005. Effect of the energy supply on filamentous growth and development in *Physcomitrella patens*. *Journal of Experimental Botany* 56 (412): 653–662
8. Yasumura Y, Crumpton-Taylor M, Fuentes S, Harberd P. 2007. Step-by-step acquisition of the giberellin-DELLA growth-regulatory mechanism during land-plant evolution. *Current Biology* 17, 1225-1230

## Determinación de Benceno y Tolueno mediante sus metabolitos en niños procedentes del municipio de Tula de Allende Hgo.

Fátima del Carmen Durán Mendoza<sup>a</sup>, Israel Enciso Donis<sup>a</sup>, Diana O. Rocha Amador<sup>a</sup>, Gustavo Cruz Jiménez<sup>a</sup>, Nadia A. Pelallo Martínez<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, fatimaep187@hotmail.com, nata3434@hotmail.com, cruzg@ugto.mx, drochaa@ugto.mx.

<sup>b</sup>Universidad del Centro de México, na\_pelallom@yahoo.com.mx.

### RESUMEN

El municipio de Tula de Allende, Hidalgo, es de gran relevancia para su estado así como para los alrededores debido a las empresas que se han instalado en él. Dentro de estas empresas se encuentran la Refinería Miguel Hidalgo, las Cementeras Cooperativa “La Cruz Azul” y “CEMEX”, así como la Termoeléctrica Francisco Pérez Ríos. En conjunto, estas empresas coinciden en la emisión de benceno y tolueno, compuestos que se encuentran de manera natural en el petróleo, y son liberados al ambiente durante su proceso de manufactura causando efectos adversos en las poblaciones aledañas.

En este estudio se realizó un monitoreo de los metabolitos del benceno, el ácido *trans*, *trans*-mucónico (AttM) y tolueno, el ácido hipúrico (AH), en orina como biomarcadores de exposición. Se evaluaron niños de edades entre 6-12 años de zonas aledañas. La determinación de los metabolitos se realizó mediante la técnica de HPLC-UV utilizando modificaciones a las metodologías de Ducos *et al.* para AttM y NIOSH para AH. Para el control de calidad de dichas metodologías se utilizó un Clin-Check RECIPE® obteniendo un 85.13% y 92.3% de recobro para AttM y AH respectivamente.

Como resultado para el AttM la población analizada presentó un porcentaje de 20.63% de los niños con niveles superiores a los marcados en la NOM-047-SSA-2011 (500 µg/g de creatinina, exposición ocupacional) para benceno lo que resulta de relevancia. Además el 69.84% de ésta población se encuentra por encima de los niveles encontrados en zonas urbanas (170 µg/g de creatinina). Por otro lado, para el análisis del AH, se obtuvieron en todas las muestras niveles bajos correspondientes a individuos no fumadores y no expuestos. Todos los resultados se compararon con una población control del municipio de Irapuato, Gto., la cual, no se encuentra expuesta a ninguna de las fuentes de estos compuestos.

### 1. INTRODUCCIÓN

Geográficamente el municipio de Tula de Allende se ubica en la región del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo. Dicho municipio se destaca principalmente por las industrias que se encuentran presentes, dedicadas principalmente a la transformación, procesos de extracción, construcción y maquiladoras.

Entre las empresas que se encuentran en el municipio se encuentra la refinería Miguel Hidalgo, en la cual se procesan actualmente alrededor de 320,000 barriles de petróleo crudo, controlando una gran porción del mercado nacional (procesando un 24% del total del crudo que se refina en México[1]). Por otro lado, se encuentran las industrias cementeras ubicadas en este municipio (cementería “La Cruz Azul” y “CEMEX” las de mayor relevancia, además de las locales) y la Termoeléctrica “Francisco Pérez Ríos”, que en conjunto son de gran importancia económica, no sólo del estado de Hidalgo, sino también para los estados vecinos[2].

Las industrias mencionadas con anterioridad, además de ser el motor que contribuye al buen desarrollo económico en la región, afectan el ambiente de manera adversa en esta zona por las emisiones de compuestos que se liberan a causa de sus procesos.

Al ambiente son emitidos un gran número de compuestos, entre los cuales se encuentra el benceno y el tolueno, compuestos volátiles de gran relevancia por su conocida toxicidad. El benceno junto con el tolueno son compuestos muy empleados en la industria por sus propiedades



como solventes y materia prima para la generación de otros compuestos más complejos, además de ser muy volátiles poco solubles en agua[3, 4]. Ambos compuestos, aparte de ser producidos como materia prima, son generados y liberados al ambiente de manera involuntaria, por la combustión incompleta de materia orgánica en los procesos de transformación de las industrias presentes en el municipio de Tula de Allende, mencionadas anteriormente. Para el caso particular de la cementera estas emisiones se dan por medio de sus hornos, los cuales, tienen tres fuentes potenciales de benceno: el combustible, la materia prima y los nuevos compuestos formados por las reacciones en el precalcinador (productos de la combustión incompleta, PIC por sus siglas en inglés)[5].

De acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) y la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC)[6], el benceno es considerado como un compuesto carcinogénico en humanos como resultado de exposiciones crónicas, además de que puede provocar efectos como disminución en los glóbulos rojos (ocasionando anemia), hemorragias y afectación del sistema inmunitario (aumentando las probabilidades de contraer infecciones y disminuyendo las capacidades del cuerpo contra el cáncer). Los malestares por exposiciones agudas a benceno (dependiendo del nivel de exposición al mismo), van desde dolores de cabeza, náuseas, confusión y temblores, los cuales pueden desaparecer si se alejan de la fuente de exposición[3].

Mientras tanto para el tolueno la EPA y la IARC lo tienen clasificado como compuesto no carcinogénico, aunque la exposición a dicho compuesto trae consigo malestares y problemas como: mareos, confusión, depresión, dolor de cabeza, los cuales pueden desaparecer si la persona se aleja de la fuente de emisión, sin embargo, si el contacto continua volviéndose una exposición crónica, la afectación se da principalmente en el sistema nervioso central con daños irreversibles en la mayoría de los casos.

El seguimiento (monitoreo) de éstos compuestos en la población usualmente se da mediante la cuantificación del compuesto mismo o su metabolito (compuesto metabolizado en el organismo vivo) en fluidos corporales (sangre u orina), siendo el ácido *trans*, *trans*-mucónico (AttM) el empleado para benceno y el ácido hipúrico (AH) en esta investigación.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La presencia de benceno y tolueno en el ambiente es de gran importancia ya que son compuestos que presentan características fisicoquímicas similares y toxicidad en organismos. Por lo que es de interés el conocimiento de la cantidad a la que las personas se encuentran expuestas al vivir cerca de fuentes que generan estos compuestos (termoeléctrica, refinería y cementeras), con la finalidad de con la información que se obtenga conocer la situación en cuanto a estos compuestos en esta zona y proporcionar los datos necesarios para la toma de decisiones

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

La selección de la población se realizó con base en su ubicación en relación a las industrias presentes en la ciudad de Tula de Allende, (N=63). La edad de la población fue de entre 6 y 12 años, a la cual se le dio las recomendaciones (no ingesta de alimentos procesados) a tomar 24 horas previas a la colecta de la muestra. Se colectó la primera orina de la mañana en recipientes estériles de polipropileno, las cuales, una vez en el laboratorio se acidificaron con HCl 6N, para posteriormente centrifugar y tomar dos alícuotas haciéndolas pasar a través de un filtro para jeringa de PTFE. Las muestras se mantuvieron almacenadas a -20°C hasta su análisis.

### Cuantificación de ácido *trans*, *trans*-mucónico

La determinación se llevó a cabo por el método descrito por Ducos [7] con previas modificaciones. A 1mL de muestra se adicionó un buffer de fosfatos pH 7 y se hizo pasar a través de un cartucho de intercambio aniónico. El metabolito fue eluido con ácido acético al 10% (v/v), del cual, 20µL fueron inyectados en un equipo HPLC acoplado a un detector UV-Vis, utilizando una columna C18 y siguiendo el metabolito a una longitud de onda de 259 nm.

### Cuantificación de ácido hipúrico

Para esta determinación el método utilizado fue el descrito en la NIOSH 83001 [8] con algunas modificaciones. A 1mL de orina se le adicionó HCl 6N, NaCl y acetato de etilo. Se agitaron en

durante 10min para después centrifugar a 4500rpm durante 30min. De la fase orgánica se tomaron 400µL y se dejó evaporar en un baño de agua a 30°C, para finalmente resuspender en el mismo volumen de agua grado HPLC y agitar durante 3 minutos. De estos 400µL se inyectaron 20µL en el equipo HPLC empleado para el AttM, con una longitud de onda de 254nm.

#### 4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Se realizó una modificación al proceso empleado por Ducos *et al.*<sup>5</sup> para la determinación de AttM, con la finalidad de acondicionar la muestra y extraer la mayor cantidad de analito posible, homogeneizando el valor de pH a 7 con el buffer de fosfatos permitiendo el aumento en el porcentaje de extracción de 53 a 85.13 %. Posteriormente la validación del método se realizó empleando un estándar certificado, y el porcentaje de recuperación, así como los parámetros analíticos de la curva se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros analíticos del método de análisis para AttM por HPLC-UV en orina.

Parámetro	AttM
No. de Estándares	6
Coefficiente de Correlación, R <sup>2</sup>	0.9999
Ordenada en el origen	11557.25
Pendiente	271.25
Intervalo de Trabajo (µg mL <sup>-1</sup> )	0.1-5.0
Límite de Detección (µg mL <sup>-1</sup> )	0.036
Reproducibilidad (%DSR, n=3, 0.5 µg ml <sup>-1</sup> At,t-M)	0.6
Recobro (Porcentaje)	85.13
Tiempo de análisis (min)	16.0

Posteriormente se realizó el análisis de 63 muestras obtenidas de niños provenientes de 3 diferentes escuelas primarias del municipio de Tula de Allende, obteniendo los resultados que se muestran a continuación en la Figura 1.

Para la determinación de AH, se realizó una modificación al proceso empleado por NIOSH permitiendo la determinación del analito a pesar de los niveles basales y logrando extraer la mayor cantidad de analito posible, con dicha modificación se logró un porcentaje de recuperación de 92.3%. La validación del método se realizó al igual que para el AttM empleando un estándar certificado, y el porcentaje de recuperación, así como los parámetros analíticos de la curva se muestran a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros analíticos del método de análisis para AH por HPLC-UV en orina.

Parámetro	AH
No. de Estándares	6
Coefficiente de Correlación, R <sup>2</sup>	0.9932
Ordenada en el origen	2282443.33
Pendiente	5933.09
Intervalo de Trabajo (µg mL <sup>-1</sup> )	5-100
Límite de Detección (µg mL <sup>-1</sup> )	3.59
Reproducibilidad (%DSR, n=3, 50 µg ml <sup>-1</sup> AH)	2.56
Recobro (Porcentaje)	92.3
Tiempo de análisis (min)	21.1

Una vez obtenidos los parámetros se realizó el análisis de las muestras obteniendo los resultados que se muestran a continuación en la Figura 2.

Figura 1. a) Porcentaje de los niños evaluados con niveles superiores y por debajo a lo establecido por la NOM-047 para AttM (500 µg/g de creatinina). b) Porcentaje de los niños evaluados con niveles superiores y por debajo a lo establecido por la NOM-047 para AH (1.6 g/g de creatinina).

Como se puede observar en la Figura 1, para el caso del AttM el porcentaje de la población que se encuentra por encima del valor establecido por la NOM-047 (20.6%) es de gran relevancia debido a que lo establecido en ella corresponde a exposición ocupacional, por lo que los niños no deberían presentar dichos niveles; esto puede ser un indicativo de que las emisiones de benceno a causa de la industria en la región es elevada, lo que trae consigo una afectación a la población que se encuentra en las zonas aledañas.

Por otro lado para el caso del AH, como se puede ver en la Figura 1, los niveles se encuentran por debajo de la NOM-047, lo que nos indica que la exposición a tolueno en la población de esta zona es nula.

## 5. CONCLUSIONES

Las modificaciones a las metodologías permitió un mejoramiento en el porcentaje de recobro de los analitos, así como su análisis en muestras de orina de niños procedentes del municipio de Tula de Allende.

El porcentaje de niños que se encuentran por encima de lo establecido por la NOM-047 para AttM (20.6%), es de gran relevancia, ya que la norma mexicana establece el nivel de 500 µg/g de creatinina de AttM como *exposición ocupacional a benceno*, por lo que un análisis más profundo de los datos es de interés.

Para el análisis de Tolueno, se obtuvo que los niveles encontrados en los niños analizados están por debajo de lo establecido en la NOM-047, encontrándose niveles basales en el 100% de los casos, por lo que la exposición a este compuesto no se presenta en la zona.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez, L. *La Refinería Miguel Hidalgo*. 1998; Available from: <http://www.ref.pemex.com/octanaje/17miguel.htm>.
2. Sánchez, E.M.O., et al., *Programa Estatal de Acción para el Cambio Climático*. 2011, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: Pachuca. p. 358.
3. ATSDR, *Toxicological Profile for Benzene*, in *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. 2007, Department of Health and Human Services, Public Health Service.
4. ATSDR, *Toxicological Profile for Toluene*, in *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*. 2000, Department of Health and Human Services, Public Health Service.
5. Karstensen, K.H., *Formación, Emisión y control de dioxinas en hornos de cemento*. Cemento Hormiguón, 2008(919): p. 60-87.
6. IARC, *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans*, in *Benzene*. 2012, International Agency for Research on Cancer.
7. Ducos, P., et al., *Improvement in HPLC analysis of urinary trans, trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in the assessment of benzene exposure*. International Archives of Occupational and Environmental Health, 1990. **62**(7): p. 529-534.
8. NIOSH, *NIOSH Manual of Analytical Methods*, in *Hippuric and methyl hippuric acids in urine, method 8301*. 1984, National Institute for Occupational Safety and Health: Cincinnati, Ohio.

## AGRADECIMIENTOS

Proyecto Concyteg: "Convocatoria Investigadores Jóvenes 2014"

Beca de doctorado, Registro 246375

Beca de Maestría, Registro 331543

## LATENCIA A LA PRIMERA EYACULACIÓN EN MACHOS BAJO DIFERENTES REGÍMENES DE ALIMENTACIÓN

Yael Lizbeth Panes-González<sup>1</sup>, Claudia Juárez-Portilla<sup>3</sup>, Elvira Morgado<sup>1</sup>, Tania Molina-Jiménez<sup>2</sup> y Albertina Cortés-Sol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, [yaehli\\_pag@hotmail.com](mailto:yaehli_pag@hotmail.com); [elmorvi@hotmail.com](mailto:elmorvi@hotmail.com) [alcortes@uv.mx](mailto:alcortes@uv.mx); <sup>2</sup>Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, [tmolina@uv.mx](mailto:tmolina@uv.mx) <sup>3</sup>Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana, [cljuarez@uv.mx](mailto:cljuarez@uv.mx)

### RESUMEN

La conducta reproductiva es fundamental para que las especies perduren en el tiempo; sin embargo de acuerdo al tratado de Darwin (1859) en el origen de las especies, bajo situaciones adversas derivadas por un decremento en la disponibilidad de los recursos, este comportamiento puede verse afectado. En este estudio se exploró el efecto de diferentes regímenes alimenticios sobre el despliegue de la conducta sexual en la rata macho de la cepa Wistar. Para ello se utilizaron tres grupos experimentales (n=6) sometidos a diferentes regímenes de alimentación: Ad libitum (AL), sujetos con disponibilidad de alimento las 24 horas; Alimentación fija (AF), donde los sujetos solo recibieron alimento por un periodo de 08:00-11:00 h (hora de alimentación no habitual en roedores nocturnos); Alimentación irregular (AIR), donde los sujetos fueron alimentados en diferentes horarios cada día, por espacio de tres horas (a las 10:00, 06:00, 18:00, 14:00, 22:00, 02:00 reiniciando el ciclo). Los resultados de los parámetros de la conducta sexual en machos (con hembras receptivas) indicaron que los machos que recibieron un régimen alimenticio no habitual (grupos AF y AIR) presentaron una latencia menor en la eyaculación en comparación con el grupo de machos con libre acceso al alimento (AL). En conclusión, se sugiere que el decremento en la disponibilidad al alimento afecta de manera significativa el despliegue de la conducta reproductiva, específicamente la latencia en la eyaculación, sugiriendo una estrategia de sobrevivencia en machos de la cepa Wistar.

### 1. INTRODUCCIÓN

En la vida animal, dependiendo del periodo del día en que los individuos realicen su conducta de alimentación y de apareamiento, podemos clasificarlos en organismos con hábitos diurnos o nocturnos. Estas características forman parte de la ritmicidad biológica endógena de los animales, que resulta de la interacción entre el sistema nervioso y el sistema endócrino, cuyas funciones se encuentran adaptadas a las señales ambientales. Así, la ritmicidad endógena está adaptada principalmente a las señales de luz-oscuridad ambientales, que son captadas por las células fotorreceptoras de la retina y cuya información es procesada por el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, considerado el reloj biológico maestro en los mamíferos (Klein et al., 1991). Este oscilador transmite fase y periodo a los osciladores periféricos, orquestando un orden temporal a las funciones biológicas del organismo, para mantener un equilibrio homeostático.

Está demostrado que la ritmicidad en los organismos es producto de la interacción de múltiples osciladores, gobernados por el reloj maestro, pero que otras señales ambientales diferentes de la luz pueden adquirir preponderancia como sincronizadores. Un ejemplo de sincronizador no fótico es el alimento. Cuando el acceso a las fuentes de alimento se restringe a ciertas horas del día, ya sea en condiciones naturales o bien en protocolos experimentales, la conducta y fisiología de los organismos se organiza en función de la disponibilidad del alimento

(Escobar et al., 1998; Damiola et al., 2000). En este sentido, es importante considerar que la ingestión del alimento es una actividad imprescindible para la vida, la cual está regulada por una serie de mecanismos neuroendócrinos que interactúan entre sí para conseguir un balance energético adecuado para el organismo. En el proceso de la alimentación, los órganos que participan, las hormonas que intervienen en el metabolismo y la fisiología circadiana funcionan de forma coordinada.

Cuando alguno de estos mecanismos homeostáticos falla, la desincronización de los osciladores internos puede generar alteraciones fisiopatológicas, tales como desórdenes metabólicos. Se sabe que los desórdenes metabólicos traen consigo varias consecuencias en la salud que van desde problemas con el ciclo sueño-vigilia, depresión e inclusive problemas reproductivos (Harper, 1984; Maeda y Tsukamura, 1997; Ganong, 2003), provocando problemas en la fertilidad tanto de machos como en hembras (Vigersky et al., 1977; Dubey et al., 1986). En este sentido, cuando las señales ambientales no corresponden con la ritmicidad del organismo o cuando ésta se ve alterada, se habla de un proceso de desincronización o crononodisrupción, respectivamente. La desincronización interna o desalineación circadiana puede deberse a situaciones como la rotación de turnos de trabajo, el trabajo nocturno o al cambio de zona horaria por un viaje transmeridional (jet lag). Existe evidencia de que éstos son factores de riesgo para el desarrollo de desórdenes cardiovasculares, metabólicos y gastrointestinales, así como de algunos tipos de cáncer y desórdenes mentales (Boivin et al., 2007; Scheer et al., 2009; Salgado-Delgado, 2010). También se han observado alteraciones en el ciclo menstrual y otras alteraciones reproductivas en hembras (Lawson *et al.*, 2011) pero poco se ha explorado el efecto de la desincronización interna sobre parámetros reproductivos de machos.

Aún más, considerando la importancia del alimento como sincronizador, éste podría causar la interrupción rítmica interna a causa de la falta de regularidad en los horarios de alimentación. Con base en todo lo anterior, la sociedad actual se encuentra sometida a continuos cambios en las costumbres y hábitos de alimentación, los cuales se ven reflejados en desórdenes patológicos de tipo metabólico, endócrino, cardiovascular y reproductivo. Es por ello que el interés de este trabajo es explorar el efecto que causa la alimentación a horarios temporalmente irregulares sobre la conducta sexual de ratas Wistar macho.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **Animales y alojamiento**

Se utilizaron 18 ratas de la cepa Wistar con un peso entre 250 a 300 g mantenidos (n=6) en cajas jumbo de acrílico transparentes (44x33x20 cm), con un fotoperíodo de 12:12 h (encendido a las 04:00 h), con acceso al agua y alimento (Purina Rodent Chow) *ad libitum*. El estudio fue realizado en las instalaciones de la Facultad de Biología campus Xalapa, de la Universidad Veracruzana. La manipulación de los sujetos fue realizada de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-199) y bajo vigilancia del comité de Ética y Transparencia de la Facultad de Biología-Xalapa UV.

### **Grupos experimentales**

Después de dos semanas de habituación a las condiciones de bioterio, los sujetos fueron separados aleatoriamente en grupos (n=6) y sometidos durante 26 días consecutivos a tres diferentes regímenes de alimentación:

- 1) Alimentación *ad libitum* (grupo AL), con acceso libre al alimento durante las 24 h.
- 2) Alimentación en horario fijo (grupo AF), con disponibilidad al alimento (300 g) de 08:00 a 11:00 h durante la fase de luz.
- 3) Alimentación irregular (grupo AIR), con disponibilidad del alimento en diferentes horarios por un periodo de tres horas (10:00, 06:00, 18:00, 14:00, 22:00, 02:00 h, reiniciando el ciclo hasta finalizar el experimento).

### Prueba conductual

Después de permanecer durante 26 días consecutivos en el régimen de alimentación previamente descrito, el día 27 se llevó a cabo el registro de los parámetros conductuales (una serie copulatoria completa) de los tres grupos de animales. Esta prueba conductual se realizó dos horas después del apagado de la luz, en arenas circulares con paredes transparentes de 50 cm de diámetro por 50 cm de alto. El piso fue cubierto con viruta en el cual se colocó al individuo para su aclimatación durante 5 minutos. Pasado este periodo de tiempo, inmediatamente se introdujo una hembra receptiva y se cronometró el tiempo en que el macho realizó los diferentes parámetros conductuales que consistieron en: a) latencia a la primera monta, b) latencia a la primera intromisión, c) latencia a la eyaculación, d) número de montas y e) número de intromisiones realizadas (frecuencia) hasta alcanzar la eyaculación. Las sesiones fueron videograbadas con un sistema de video con captura infrarroja (MERIVA SECURITY; Modelo: MVA-845-08) y posteriormente analizadas utilizando el Software para PC (SDLcon) en el que se registraron la latencia y la frecuencia de cada parámetro conductual para cada individuo.

### 4. RESULTADOS

De manera general, la duración de las pruebas conductuales para cada individuo de los tres grupos experimentales fue de 20 a 30 minutos de registro. Al realizar la comparación entre los datos obtenidos de la secuencia eyaculatoria, específicamente en la latencia a la primera monta entre los tres grupos a través de una prueba Kruskal Wallis para datos no paramétricos, no existieron diferencias significativas ( $F_{(2,12)} = 0.53$ ,  $P = 0.94$ ). Tampoco al comparar los datos de la latencia a la primera intromisión ( $F_{(2,12)} = 0.59$ ,  $P = 0.56$ ). Sin embargo, al comparar los datos de la latencia a la eyaculación entre los tres grupos de animales, los sujetos que se encontraron sometidos a un régimen de alimentación temporalmente irregular (AF y AIR) fueron diferentes con respecto al grupo AL ( $F_{(2,12)} = 4.38$ ,  $P = 0.03$ ); Figura 1. Sin embargo, al realizar la comparación de la frecuencia de monta se nota una tendencia a presentar un mayor número de montas y de intromisiones (frecuencia) en los grupos de animales con alimentación en horarios no habituales del grupo AF y el grupo AIR, pero no hubo diferencias. Es pertinente incrementar el número de individuos analizados para poder eliminar esta posible fuente de error. Al realizar el análisis estadístico de ANOVA de una vía para grupos independientes, no se encontraron diferencias en el número de montas ( $F_{(2,15)} = 1.68$ ,  $P = 0.21$ ); ni en número de intromisiones ( $F_{(2,15)} = 3.58$ ,  $P = 0.53$ ).

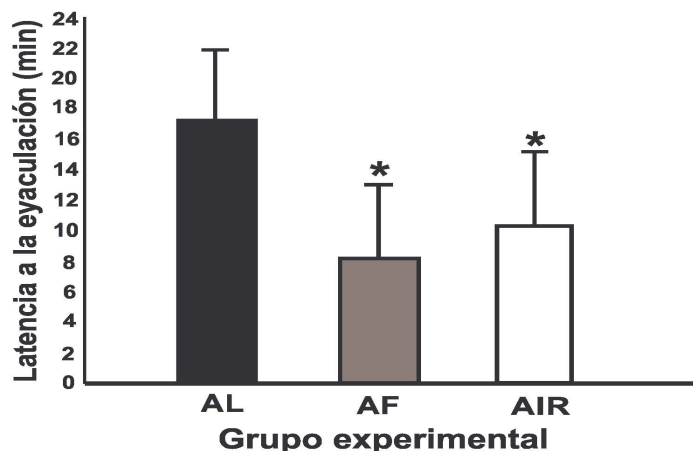


Figura 1. Latencia a la eyaculación. Se registró la conducta sexual en ratas Wistar machos

## 5. DISCUSIÓN

El tiempo promedio en que un macho puede llegar a eyacular es de 8 a 10 min aproximadamente después haber pasado al menos por dos sesiones espaciadas de dos series eyaculatoria en machos sexualmente expertos (Dewsbury, 1979; Matthews y Adler, 1977). De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio los individuos que se encontraron en condiciones de alimentación irregular en horarios no habituales para la especie afectó la conducta reproductiva de la rata macho, específicamente la latencia a la primera eyaculación al ser expuestos por primera vez ante una hembra receptiva. Con estos datos, podemos sugerir que ante condiciones extraordinarias de alimentación, tal como la disponibilidad de alimento a diferentes horas cada día (grupo AIR) o con alimentación durante la fase de descanso (grupo AF), la conducta reproductiva se ve afectada, decrementando la latencia a la eyaculación. Es posible que este efecto obedezca a una desincronización en la secreción de hormonas esteroides (testosterona) debido al desajuste circadiano que causa la alimentación sin regularidad de horario o por el desfase entre una señal ambiental (alimentación) y la ritmicidad interna. Asimismo, desde el punto de vista ecológico-evolutivo es importante considerar el costo-beneficio de la respuesta conductual de los individuos ante situaciones adversas en su entorno, en este sentido, podemos entender que la disponibilidad del alimento, favoreció la compensación de la respuesta de los machos de los grupo AF y AIR para priorizar su capacidad reproductiva y asegurar su descendencia ante la inestabilidad de los recursos. Nuestros resultados reflejan la necesidad de realizar más estudios que exploren el proceso adaptativo de la conducta reproductiva como un mecanismo de sobrevivencia de las especies ante un ambiente cambiante.

## 6. CONCLUSIONES

Los ritmos biológicos en los organismos, tienen un papel de suma importancia en todos los procesos que se llevan a cabo en el mismo. Cuando se altera un factor como la alimentación, el ritmo biológico natural también lo hace, y esto trae consecuencias contundentes en funciones reproductivas como la eyaculación. Los roedores, al ser animales nocturnos, tienen un periodo de actividad durante de la noche y de reposo en el día, al alimentarlos en un horario no habitual o irregular, estos periodos varían, ya que por naturaleza se antepone la necesidad de comer a la de dormir. En conclusión, se sugiere que el decremento en la disponibilidad al alimento afecta de manera significativa el despliegue de la conducta reproductiva, específicamente la latencia en la eyaculación, sugiriendo una estrategia de sobrevivencia en machos de la cepa Wistar.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Boivin D. B., Tremblay G. M. y James F. O. "Working on atypical schedules", *Sleep Med*, Vol. 8 (6), 2007, pp. 578–89.
2. Damiola F., Minh N. L., Preitner N., Kornmann B., Fleury-Olela F. y Schibler U. "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.
3. Dewsbury D. A "Factor analyses of measures of copulatory behavior in three species of muroid rodents", *J. Comp. Physiol. Psychol.*, Vol. 93(5), 1979, pp. 868-878.
4. Escobar C., Díaz-Muñoz M., Encinas F. y Aguilar-Roblero R. "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. Harper M. J. K. "Sperm and egg transport. En: Reproduction in mammals: 1 germ cells and fertilization", Eds. Austin, CR y Short, RV. Ed. Cambridge University Press, Cap. 5, 1984, pp. 102-126
6. Johnson K. E. y Golombek P. "Teachers' narrative inquiry as professional development", Cambridge University Press, 2002, pp. 113-213.
7. Klein D. C., Moore R. y Reppert S. "Suprachiasmatic nucleus: the minds clock", Oxford university press, 1991.
8. Lawson C. C., Whelan E. A., Lividoti Hibert E. N., Spiegelman D., Schernhammer E. S. y Rich-Edwards J. W. "Rotating shift work and menstrual cycle characteristics", *Epidemiology* Vol. 22, 2011, pp. 305-312.
9. Matthews M. y Adler NT "Facilitative and inhibitory influences of reproductive behavior on sperm transport in rats", *J. Comp. Physiol. Psychol.*, Vol. 91, 1977, pp. 727- 741.
10. Salgado-Delgado R., Angeles-Castellanos M., Saderi N., Bujis R. M. y Escobar C. "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.
11. Scheer F. A., Hilton M. F., Mantzoros C. S. y Shea S. A. "Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment", *PNAS*, Vol. 106(11), 2009, pp.4453-4458.
12. Vigersky R. A., Andersen A. E., Thompson R. H. y Loriaux D. L. "Hypothalamic dysfunction in secondary amenorrhea associated with simple weight loss", *New England J Med.*, Vol. 297, 1997, pp. 1141-1145.



## ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE *HAMELIA PATENS*

.<sup>a</sup> Sáyago Sánchez, J.<sup>a</sup> Machuca Rodríguez, C.

<sup>a</sup> FES-Zaragoza, UNAM. Av. 5 de Mayo, Esq. Fuerte de Loreto, Col. Ejército de Oriente C.P. 09230, México D.F. [gioryo30@hotmail.com](mailto:gioryo30@hotmail.com), [catalina.machuca@gmail.com](mailto:catalina.machuca@gmail.com)

### RESUMEN

El presente estudio está enfocado en la realización de un análisis preliminar fitoquímico de extractos acuosos, secos e hidroalcohólicos de *H. patens*. Para ello fueron realizadas reacciones específicas en la determinación de metabolitos como saponinas (Rosenthaler), glucosidos (KOH con ácido dinitrobenzoico), esteroides (cloroformo con anhídrido acético y ácido sulfúrico=), taninos (ferrocianuro de potasio y cloruro férrico), flavonoides (magnesio con ácido clorhídrico), quinonas (ensayo con NaOH), cumarinas (etanol con hidróxido de amonio), alcaloides (Mayer) y lactonas (Lieberman). Los resultados muestran que en los extractos acuosos de toda la planta, se encontraron saponinas, taninos y flavonoides. Mientras que en los hidroalcohólicos de toda la planta fue determinada la presencia de saponinas y quinonas.

### INTRODUCCIÓN

La herbolaria es la aplicación de la botánica a la medicina; es decir, al uso de hierbas contra las enfermedades que aquejan al hombre y a otras especies, para restablecer la salud.

Los químicos han aislado principios activos, de plantas, y los han denominado fármacos o medicamentos. La farmacología se ha encargado de estudiar las propiedades de estos principios activos en los seres humanos, con el objetivo de darles una utilización en diversas enfermedades.

Los medicamentos de origen vegetal son aproximadamente una cuarta parte de los que se encuentran en el mercado, por ejemplo la morfina (*papaver somniferum*), la atropina (*atropa belladonna*), la digitoxina (*digitalis purpurea*), quinina (corteza de árbol de quino), cocaína (*erithroxylum coca*)<sup>1</sup>.

*Hamelia patens* es una planta originaria de la región neártica hasta la neotropical, cuyo hábitat principal se sitúa a lo largo de ríos, claros de bosques y sitios perturbados

- **Taxonomía**

***Hamelia patens***

Reino -- Plantae

Filo -- Magnoliophyta

Clase -- Magnoliopsida

Orden -- Rubiaceae

Familia -- Rubiaceae

Género -- *Hamelia*

Especie -- *Hamelia patens* Jacq.

*Hamelia patens* es una importante planta medicinal. Es antihemorrágico (contra sangrado) y ayuda en la cicatrización. Además, se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antipiréticas y antifúngicas.

- **Antecedentes fitoquímicos**

Diversos estudios fitoquímicos se han realizado a esta planta, los cuales se resumen en la siguiente tabla.

Nombre y año de la publicación.	Método de extracción .	Metabolitos encontrados.
Separación cromatográfica del extracto de <i>Hamelia patens</i> . (2012)	Las hojas frescas de <i>H. patens</i> fueron trituradas en un mortero, una vez trituradas fueron mantenidas en etanol absoluto por 24 horas para posteriormente evaporar el extracto etanólico a sequedad.	Esteroides, saponinas, alcaloides, flavonoides y polifenoles.
Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de <i>Hamelia patens</i> . (2006)	Se utilizó un sistema eluyente de hexano y acetona 95:5	Alcaloides, flavonoides, esteroides, sesterpenos, triterpenos, alcaloides indólicos y oxindólicos, arcinas, catequinas y cicloartranoles.
Análisis fitoquímico de la planta <i>hamelia patens</i> . (2006)	Maceración de hojas de la planta y mantenidas en acetona.	Alcaloides axidólicos, saponidos, esteroides, taninos, triterpenos, flavonoides, antocianinas y ácido ursólico.

Tabla 1: Antecedentes fitoquímicos de *hamelia patens*.

## PARTE EXPERIMENTAL

El objetivo de este proyecto consistió en la identificación de metabolitos secundarios por medio de reacciones coloridas específicas en un extracto acuoso, hidroalcohólico y seco acuoso de cada una de las partes de la planta.

El Área de estudio se encuentra en Localidad Limón Chiquito, situada en el Municipio de Cazonos. Edo de Veracruz. El clima predominante es cálido con lluvias en verano, presenta una temperatura media anual de 25°C. A una altitud media de 54 m.s.n.m., Longitud: -97.28277778 y Latitud: 20.68027778.

- **Fase etnobotánica del proyecto.**

Se acudió a la comunidad de Limón chiquito, Cazonos, Veracruz en el mes de Agosto con la finalidad de recolectar muestras vegetales frescas de la planta y recabar la mayor cantidad de información posible acerca del uso medicinal que se le da a la planta en la comunidad, para ello se realizaron entrevistas etnobotánicas a los habitantes.

- **Fase de extracción.**

Para realizar el extracto acuoso de la planta, se colocaron 100 g de material de vegetal en 1461 ml de agua.

Para el proceso de cocimiento de la planta, se agregaron 1461 ml de agua a 100 g de materia vegetal y se puso a hervir, y se retiró del fuego hasta 10 minutos después del primer hervor, posteriormente se almacenaron y se etiquetaron debidamente

Se realizó el mismo procedimiento para la elaboración de los extractos acuosos de las partes vegetales hoja, tallo, flor y fruto pero estas en un volumen de 500 mL. Para realizar el extracto hidroalcohólico se agregaron 100 g de material vegetal fresco macerado en 500 ml de una solución hidroalcohólica 70:30.

Se siguió el mismo procedimiento para la elaboración de los extractos hidroalcohólicos de flor, fruto, hoja y tallo

Para la obtención del extracto seco se tomaron partes de los extractos acuosos obtenidos previamente y se dejaron secar en cristalizadores.

- **Fase de identificación de metabolitos secundarios (fitoquímica).**

La fase fitoquímica consistió en la identificación de metabolitos secundarios en los 15 extractos obtenidos, tanto acuosos como hidroalcohólicos de la planta completa, de hoja, de flor, de fruto y de tallo.

Para la identificación cualitativa de estos metabolitos, se llevaron a cabo protocolos específicos para cada uno de ellos (ver tabla 2), los cuales consisten en reacciones coloridas para cada metabolito.

<b>Metabolito Secundario</b>	<b>Prueba de identificación</b>	<b>Resultado Positivo</b>
<b>Alcaloides</b>	Mayer	Precipitado naranja
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	Coloración roja
<b>Saponinas</b>	Rosenthaler	Coloración violeta
<b>Quinonas</b>	Borntrager	Coloración amarilla
<b>Cumarinas</b>	Etanol / hidróxido de amonio	Coloración azul
<b>Esteroides</b>	Cloroformo / anhídrido acético	Coloración verde-azul
<b>Taninos</b>	C6NOFeK4 / FeCl3	Coloración verde-azul
<b>Lactonas sesquiterpénicas</b>	Libermann - Burchard	Coloración verde
<b>Glucósidos cardiotónicos</b>	Keller Killiani	Coloración purpura

Tabla 2: Pruebas fitoquímicas realizadas para cada metabolito

- **Resultados**

Resultados del rendimiento de la extracción.

<b>TABLA DE RENDIMIENTOS</b>			
Parte de la planta	Cantidad sometida al cocimiento	Cantidad final de extracto seco obtenido	Porcentaje de rendimiento.
Total	100 g	1.975 g	1.975 %
Hoja	100 g	1.134 g	1.134 %
Tallo	100 g	0.623 g	0.623 %
Flor	100 g	1.377 g	1.377 %
Fruto	100 g	0.608 g	0.608 %

Resultados de la identificación de metabolitos secundarios

Según los procedimientos realizados, de los 9 metabolitos evaluados, el extracto acuoso total de la planta dio positivo en 4 de estos, mientras que en extracto hidroalcohólico total dio positivo solo para 2 de los 9 metabolitos evaluados y para el extracto seco total se encontraron 4 metabolitos de los 9 analizados.

Tabla de resultados para la identificación de metabolitos en extractos acuosos e hidroalcohólicos									
Extracto	Cumarinas	Saponinas	Esteroides	Lactonas s.	Glucósidos c.	Taninos	Alcaloides	Flavonoides	Quinonas
Ac. Hoja	X	X	X	X	X	✓	X	X	✓
Hid. Hoja	X	✓	X	X	X	✓	X	X	✓
Sec. Hoja	X	✓	X	X	X	✓	X	✓	✓
Ac. Flor	X	✓	X	✓	X	✓	X	✓	✓
Hid. Flor	X	✓	X	X	X	✓	X	✓	✓
Sec. Flor	X	✓	X	X	X	✓	X	✓	✓
Ac. Fruto	X	✓	X	✓	X	✓	X	✓	✓
Hid. Fruto	X	X	X	✓	X	✓	X	X	✓
Sec. Fruto	X	X	X	X	X	✓	X	✓	✓
Ac. Tallo	X	X	X	X	X	✓	X	X	✓
Hid. Tallo	X	X	X	X	X	✓	X	X	✓
Sec. Tallo	X	X	X	X	X	✓	X	✓	✓
Ac. Total	X	✓	X	X	X	✓	X	✓	✓
Hid. Total	X	✓	X	X	X	X	X	X	✓
Se. Total	X	✓	X	X	X	✓	X	✓	✓

Tabla 3: Tabla de resultados finales de las pruebas de identificación de metabolitos.

## CONCLUSIONES

En el extracto acuoso y seco se encontraron 4 metabolitos (saponinas, taninos, flavonoides y quinonas), mientras que en el hidroalcohólico solamente 2 (saponinas y quinonas). Se encontraron un total de 5 metabolitos de los 9 de los que se realizó la búsqueda. Nuestros resultados coinciden con 3 de los encontrados en la bibliografía aunque faltaría complementar el estudio utilizando sistemas eluyentes de diferente polaridad.

Los metabolitos encontrados en mayor concentración según diluciones hechas a partir del extracto seco son lactonas sesquiterpénicas y taninos, encontrados en diluciones hechas en el orden de 1:100,000

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Patiño, N., Hernández, J., Figueroa, J. 2002. Herbolaria. Departamento de farmacología. Facultad de medicina. UNAM. México, DF.
- 2.- Ficha botánica [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
- 3.- Análisis fitoquímico de la planta *hamelia patens*. Universidad Mariano Gálvez de Guatemala
- 4.- Ríos, Y. Guadarrama, B. 2006. Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae). Centro de investigaciones químicas. UAEM. México.
- 5.- Catedra de farmacognosia. Facultad de ciencias naturales. Universidad Nacional de la Patagonia de San Juan Bosco.

# PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 2G POR SACARIFICACIÓN Y FERMENTACIÓN SIMULTÁNEA (SFS) DE BIOMASA DE *Agave lechuguilla*

Deniss Ithzel Díaz Blanco<sup>a</sup>, Leopoldo J. Ríos González<sup>a\*</sup>, José A. Rodríguez de la Garza<sup>a</sup>, Yolanda Garza<sup>a</sup>  
<sup>a</sup>Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. V. Carranza, Saltillo, Coahuila, 25010, México. [tkmorales@uadec.edu.mx](mailto:tkmorales@uadec.edu.mx)

Email: [leopoldo.rios@uadec.edu.mx](mailto:leopoldo.rios@uadec.edu.mx), [ygarza@uadec.com.mx](mailto:ygarza@uadec.com.mx), [antonio.rodriguez@uadec.com.mx](mailto:antonio.rodriguez@uadec.com.mx), [deniss.diaz@uadec.com.mx](mailto:deniss.diaz@uadec.com.mx)

## Resumen

En este estudio se llevó a cabo la evaluación de la producción de etanol 2G a partir de hidrolizados enzimáticos de biomasa de *Agave lechuguilla* pretratada por autohidrólisis como medio de fermentación para la producción de bioetanol por *Sacharomyces cerevisiae* ATCC 4126, en este trabajo se abordaron diferentes configuraciones del proceso, hidrólisis y fermentación separada y sacarificación y fermentación simultáneas, se realizaron en contenido de carga de sólidos (25%), los resultados muestran que la mayor concentración de etanol (17.8 g/L) se obtuvo de la sacarificación y fermentación por separado, a diferencia de un rendimiento de etanol de (5g/L) obtenido como resultado de la sacarificación y fermentación simultánea con una concentración inicial de glucosa diferente para cada tratamiento y un tiempo constante de 19 h para todos los casos.

## Introducción

El *Agave lechuguilla* pertenece a la familia de las agaváceas, es una planta rústica que prospera en terrenos secos áridos y montañosos, crece generalmente sobre suelos calizos, calcáreos rocosos y arcillosos. [1]. Su área de distribución nacional cubre una superficie aproximada a los 20 millones de hectáreas, que corresponden a 10% del territorio; comprende los estados de Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Durango, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas [2]. Las composiciones relativas de lignina, celulosa y hemicelulosa en algunas especies de *Agave*, nos da una proyección positiva de procesamiento en comparación con otros cultivos, mostrándonos la gran oportunidad de aprovechar la biomasa de esta planta que crece intensivamente en gran parte del Noreste de México, para la producción de bioetanol.

La producción de bioetanol puede llevarse a cabo bajo configuraciones de proceso diferentes, dos de ellas son la sacarificación y fermentación por separado y la sacarificación y fermentación simultáneas, de las cuales se comprobó cuál de ellas presenta una mayor productividad de etanol (PE).

## Metodología

### Sacarificación y fermentación por separado.

**Hidrólisis:** La optimización del proceso de hidrólisis de la fibra pretratada se realizó mediante el complejo enzimático comercial Cellic CTec3 (Novozymes A / S, Dinamarca), con una carga de sólidos del 25 % y 25 FPU/ g de glucanos respectivamente, todos los ensayos fueron realizados en matraces Erlenmeyer de 125 ml con una concentración inicial de glucosa de 40 g/L en un Shaker New Brunswick <sup>TM</sup> 124/24R a una velocidad de agitación de 200 rpm, 50°C, con una masa total de reacción de 50 g, en buffer de citratos a pH 4.8 durante 24h. La variable de respuesta fue el rendimiento de hidrólisis relacionada con la concentración de glucosa liberada en los tratamientos evaluados.

**Fermentación:** El hidrolizado procedente de la biomasa pretratada fue suplementado con los nutrientes esenciales para el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 a un pH 5.5. La fermentación fue llevada a cabo a 32 ° C y 100 rpm con un 5% de inóculo de levadura durante 19 h. Las muestras obtenidas fueron analizadas por HPLC para determinar la concentración de etanol.

### **Sacarificación y fermentación simultánea.**

#### **Hidrólisis y Fermentación:**

De forma similar se utilizó como sustrato la fibra pretratada de *Agave lechuguilla* con una carga de sólidos de 25 % y una relación E/S de 25 FPU/ g de glucano, la cual fue colocada en matraces de 125 ml a una concentración inicial de glucosa de 35 g/L en buffer citrato a pH de 4.8 en un volumen total de reacción de 50 g a los cuales fueron enriquecidos con los nutrientes esenciales para el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 a un pH 5.5. Inoculado al 5% del volumen total. La sacarificación y fermentación simultánea fue llevada a cabo a 32 ° C y 150 rpm en el mismo equipo Shaker New Brunswick™ 124/24R durante 19h. De igual manera las muestras resultantes fueron analizadas por HPLC para determinar la concentración de azúcares y etanol correspondientes a las variables de respuesta.

Simultáneamente se colocó una fermentación con medio estándar de *Saccharomyces cerevisiae* tomado como control, el cual se corrió bajo los mismos estándares y condiciones que los tratamientos anteriores, con una concentración de glucosa inicial de 48 g/L, tomando como variable de respuesta de igual manera la concentración de etanol producido.

### **Resultados**

Los mejores resultados de etanol producido fueron generados en la sacarificación y fermentación por separado, mostrando una máxima producción de bioetanol de 17.8 g/L, equivalente a 93 % de rendimiento de etanol.

*Figura 1.- Cinética de fermentación, muestra la producción de etanol y la glucosa degradada a las 19h de tratamiento donde, Etanol-H y Glu-H, corresponde a la Sacarificación y fermentación separada, el Etanol-C y Glu-C corresponden al medio control de Sc y el Etanol-SFS, Glu-SFS representan los valores obtenidos por Sacarificación y fermentación simultánea.*

En la sacarificación y fermentación simultánea se obtuvo 5 g/L de producción de bioetanol, correspondiente a un 26% de rendimiento de etanol y el control con medio estándar de *Saccharomyces cerevisiae* se obtuvieron 19 g/L de etanol correspondiente a un rendimiento del 100 % a un tiempo constante de 19 h, con 25 % de sólidos y una relación E/S de 25 FPU/ g de glucano para todos los tratamientos.

### **Conclusión**

La biomasa de *Agave lechuguilla* es una atractiva fuente de azúcares para generar bioetanol de segunda generación. En este trabajo se obtuvo un mayor rendimiento de fermentación con la sacarificación y fermentación de manera separada (93%), que en forma simultánea (26%), las cargas de sólidos mayores pueden limitar la viabilidad celular de *Saccharomyces cerevisiae* y someterla a condiciones de estrés, además de la simbiosis con la que debe trabajar con el complejo enzimático para el caso de sacarificación y fermentación simultánea, mientras que en la forma separada la principal limitación para la productibilidad será la actuación de las enzimas. Según lo informado por Stenberg et al. [4], demuestra que la levadura es más sensible a la inhibición bajo condiciones simultáneas de sacarificación y fermentación de azúcares en comparación con el proceso por separado, en el cual se trabaja de forma óptima las condiciones de funcionamiento de las enzimas y los microorganismos. Sin embargo desde el punto de vista industrial el proceso simultáneo puede crear ventajas en cuanto a tiempos de tratamiento

### **Referencias.**

1. Hernández S.R., Eugenia C.L.C., Lourdes D.J., Socorro V. "Extraction and indirect quantification of saponins from the *Agave lechuguilla* Torrey". *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Redacy*, 3, 1-9. (2005).

2. Mares A.O., Villavicencio G.E. E. “Lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) planta suculenta de importancia económica y social de las zonas áridas y semiáridas de México”. *Boletín de la Sociedad de Cactáceas y Suculentas*. 23 p. (2011).
3. Satu Sipponen I, Mika H. Sipponen, Ossi Pastinen, Simo Laakso. Enzymatic saccharification of pretreated wheat straw: Comparison of solids-recycling, sequential hydrolysis and batch hydrolysis. *Bioresource Technology* 153 15–22. (2014)
4. Stenberg K, Bollók M, Réczey K, Galbe M, Zacchi G. Effect of substrate and cellulase concentration on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated softwood for ethanol production. *Biotechnol Bioeng* 2000;68:204–10.



## Obtención y evaluación de extractos etanólicos de *Dracocephalum moldavica* L. con actividad antidepresiva.

Marcos Jiménez<sup>a</sup>, Alejandro Hurtado<sup>a</sup>, Yolanda Gómez<sup>a</sup>, Esther Bautista<sup>a</sup>,

<sup>a</sup>Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos, Laboratorio de Farmacología, mjimenez.zuniga@hotmail.com, alejandroj\_hm@hotmail.com y gomezipn@hotmail.com, maestherbr@gmail.com.

### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN.** En la medicina tradicional mexicana, *Dracocephalum moldavica* L. se conoce como "Toronjil azul". Además se ha informado, que los extractos poseen actividad sedante, tranquilizante y analgésico. Los análisis de su aceite esencial revelan la presencia de Geraniol y Citral, lo que podría explicar sus propiedades tranquilizantes. **METODOLOGÍA.** De *Dracocephalum moldavica* L. se limpio y se seco a 40 °C durante 24 horas, posteriormente la planta fue molida. Se pesaron 5 g y se mezcló con 50 mL de agua:etanol (1:9), se sónico por 15 minutos para obtener los componentes activos. Finalmente el líquido fue concentrado mediante un Rotavapor. De los polvos finos se pesaron 5 g y se añadieron 40 mL de hexano y 40 mL de metanol:agua (9:1). La mezcla se sónico por 15 minutos, se filtro y se separo el extracto en dos fases una polar (metanol:agua) y no polar (hexano). Para la actividad antidepresiva se uso la prueba del destete temprano y posteriormente la Prueba de Nado Forzado un modelo para el estudio de la depresión usando un cilindro con agua de 40x18 cm. (altura/longitud) donde se introduce al animal, sin posibilidades de escapar. **RESULTADOS.** Para el tamiz fitoquímico presenta positivos alcaloides, flavonoides, azúcares reductores, taninos, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos, saponinas y esteroides. En la prueba de inmovilidad presenta 185±6.02, 171±15.39, 193.3±68.06, 238±25.23 [s/5min], para la prueba de nado 47.5±6.36, 24±5.65, 26±5.65, 13.66±7.09 [s/5min], para la prueba de escalamiento 70±13.11, 119±15.55, 115±21.21, 48.33±24.66 [s/5min], extracto 80 mg/Kg (destetados), fármaco 15 mg/Kg (destetados), extracto 80 mg/Kg (no destetados), control sin administración, respectivamente. **CONCLUSIONES.** Con la presencia de flavonoides es posible aliviar problemas causados en el Sistema Nervioso Central, ya que es conocido que estos tienen un efecto farmacológico sobre el SNC. Respecto al extracto presenta efectos como antidepresivo ya que presenta resultados semejantes al fármaco control.

### 1. INTRODUCCIÓN

La depresión es distinta a las variaciones habituales del estado de ánimo y de las respuestas emocionales breves a los problemas de la vida cotidiana. Puede convertirse en un problema de salud serio, especialmente cuando es de larga duración e intensidad moderada a grave, y puede causar gran sufrimiento y alterar las actividades laborales, escolares y familiares (OMS, 2014).

En la medicina tradicional mexicana, *Dracocephalum moldavica* L. se conoce como "Toronjil chino", "Toronjil extranjero", "Toronjil azul". Se utiliza como tranquilizante y como agente sedante. Sin embargo, su uso principal es como parte de una combinación tanto con el "Toronjil blanco" (*Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana*) y el "Toronjil morado" (*Agastache mexicana* ssp. *mexicana*). Esta infusión conocida como "Los Tres toronjiles", se recomienda para el tratamiento de enfermedades nerviosas (Linares *et al.*, 1999).

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Extracción de los metabolitos secundarios del extracto total

De la parte aérea de *Dracocephalum moldavica* L. (20 g) se limpiaron y se sometieron a secado en una estufa a una temperatura máxima de 40 °C durante 24 horas. La planta fue molida hasta obtener polvos finos. Los componentes activos fueron extraídos usando una mezcla hidroalcohólica (10:90), se sometió a sonicación durante 15 minutos para obtener el 95% de los componentes activos. El extracto se filtro, mientras que a los sólidos se les sometió a una segunda extracción para obtener el 5% restante. Finalmente el líquido fue concentrado en un Rotavapor, para eliminar la mayor parte del etanol.

De *Dracocephalum moldavica* L. se pesaron 5 g de la planta y se añadieron 40 mL de hexano y 40 mL de solución metanol-agua (9:1). La mezcla se sometió a sonicación durante 15 minutos, se filtro el líquido y se separo el extracto en dos fases una polar (metanol-agua) y otra no polar (hexano). Para la pruebas de identificación se uso la parte polar con excepción para la prueba de saponinas y esteroides.

### 2.2. Pruebas de modelos antidepresivos in vivo

El destete temprano se realizo a los 15 días de nacidos los animales, los cuales fueron separados 25 días, se agruparon n=3 bajo las mismas condiciones ambientales a las que se encuentran cuando están con la madre, posteriormente se comenzó la separación materna siguiendo un protocolo de separación de 2 horas diarias entre las 12 pm y las 3 pm, una vez que se cumplía el tiempo de separación se regresan con la madre. Posteriormente se les provoco la depresión siguiendo el modelo de Porsolt *et. al.* 1977, que desarrollo un modelo para el estudio de la depresión usando un cilindro con agua de 40 cm. x 18 cm. (altura/longitud) donde se introduce al animal, sin posibilidades de escapar. Luego de un período de movimiento vigoroso, el animal se acomoda en una postura inmóvil, dejando la cabeza fuera del agua como para respirar. Esta inmovilidad representa un estado de depresión y desesperación que puede ser revertida mediante un tratamiento con antidepresivos.

Cada animal permanecerá 15 minutos en el agua (Temperatura 25 °C) y luego otros 15 minutos en un ambiente a 32 °C para secarse antes de volver a su jaula. Se entiende como un momento altamente ansiogeno, que usaremos en nuestro experimento como el segundo estresor del modelo. La inmovilidad está definida como el periodo en el que el roedor solo hace los movimientos necesarios para mantener la cabeza sobre el nivel del agua y no hace intentos para escapar (Ej.: swimming, paddling, climbing, diving). Estos intentos de escape o conductas activas (específicamente el climbing y el swimming) fueron susceptibles a tratamientos con fármacos, y se reconocieron los neurotransmisores mediadores. Esto indicaría que las conductas activas de la Prueba de Nado Forzado son factibles de ser cuantificadas.

Los ratones fueron colocados individualmente en cilindros de vidrio (altura: 21 cm, diámetro: 14,5 cm) que contienen 15 cm de agua a  $23\pm 1$  °C. Todos los animales se ven obligados a nadar por un período de 15 minutos (pre-test), seguidas de una sesión de 5 minutos (prueba) a las 24 horas después (Murakami *et al.*, 2009). Sobre esta base, cuatro grupos independientes de ratones (n=3 por grupo) se utilizaron en este experimento. Un grupo fue administrado con Toronjil azul a 80 mg/Kg 24, 6 y 1 hora antes de la prueba, otro grupo fue administrado a 15 mg/Kg del fármaco Imipramina 24, 6 y 1 hora antes de la prueba, mientras que un grupo independiente se utilizo como control negativo.

Después de las sesiones de natación, los ratones fueron retirados del cilindro, secan cuidadosamente, colocaron en jaulas caliente durante 20 min y luego devueltos a sus jaulas. Todas las sesiones de prueba fueron grabados en vídeo y después el tiempo de inmovilidad acumulada durante la prueba de tiempo se registró (Porsolt *et. al*, 1977a, b; Xu *et. al.*, 2005; Schürmann da Silva *et. al*, 2006).

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Tamiz fitoquímico

Tabla 1. Metabolitos presentes en *Dracocephalum moldavica L.*

Metabolito	Reacción	<i>Dracocephalum moldavica L.</i>
Alcaloides	Dragendorff	+-
	Wagner	-
	Mayer	-
Flavonoides	Shinoda	+ Auronas y Chalconas
	Hidróxido de sodio al 10%	+ Xantonas y Flavonas
Cumarinas	Erlich	-
	Hidróxido de amonio	-
Sesquiterpenlactonas	Hidróxido férrico	-
Azúcares Reductores	Fehling	+-
	Benedict	-
Taninos	Con cloruro férrico	+ Catecol
Glicósidos cardíacos	De Legal	+
	De Baljet	-
Glicósidos cianogénicos		+-
Quinonas	Ácido sulfúrico	-
Saponinas	Lieberman-Bouchard	+ Triterpenoides
	Rosenthaler	+ Triterpenoides
Esteroides		+ Esteroides

NOTA: + presencia, +- poca presencia, - negativo.

Se obtuvo el tamiz fitoquímico de *Dracocephalum moldavica L.*, donde las pruebas positivas fueron: esteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, azúcares reductores, taninos, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos, saponinas, alcaloides y flavonoides, estos últimos son los de interés farmacéutico en especial para enfermedades relacionadas con el Sistema Nervioso Central (SNC) como lo menciona Estrada-Reyes y Col. (2012).

### 2.3.2. Prueba del nado forzado, modelo *in vivo* antidepresivo

En la figura 1, 2 y 3 se muestran los parámetros evaluados del test de la Prueba de Nado Forzado los parámetros evaluados fueron (Inmovilidad, Natación y Escalamiento) se pueden observar los efectos de los extractos de *Dracocephalum moldavica L.* e Imipramina sobre la duración de las conductas activas, escalamiento y natación, y sobre el tiempo de inmovilidad en el ensayo de la prueba de nado forzado, todo respecto al grupo control.

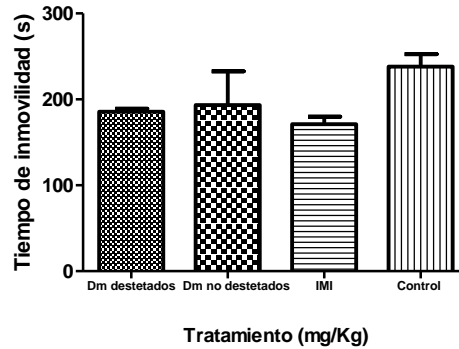


Figura 1. Evaluación de la inmovilidad del extracto de *Dracocephalum moldavica* L. (DM) 80 mg/Kg para ambos grupos (destetados) y (no destetados), Imipramina (IMI) 15 mg/Kg y el grupo control.

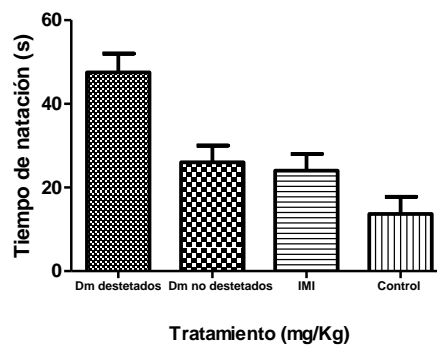


Figura 2. Evaluación de la natación del extracto de *Dracocephalum moldavica* L. (DM) 80 mg/Kg para ambos grupos (destetados) y (no destetados), Imipramina (IMI) 15 mg/Kg y el grupo control.

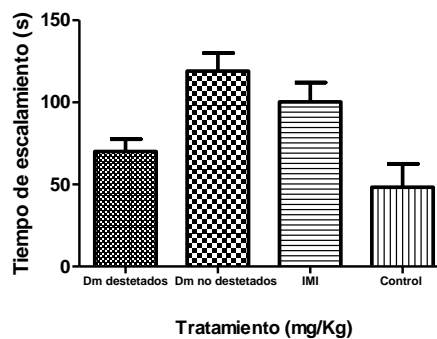


Figura 3. Evaluación del escalamiento del extracto de *Dracocephalum moldavica* L. (DM) 80 mg/Kg para ambos grupos (destetados) y (no destetados), Imipramina (IMI) 15 mg/Kg y el grupo control.

Como se observa en las figuras 1, 2 y 3 se muestran los datos del extracto de *Dracocephalum moldavica* L., usado la prueba del destete y posteriormente la prueba de nado forzado a los ratones una vez transcurridos 25 días de crecimiento y separarlos de la madre por 2 horas diarias.

En la figura 1 se muestran los datos de la evaluación de la inmovilidad donde podemos ver que el extracto administrado a los grupos de destetados y no destetados estadísticamente son representativos ya que se observa un tiempo de inmovilidad de  $185.6 \pm 6.02$  y  $193.33 \pm 68.06$  respectivamente, mientras que el grupo control presenta un tiempo de inmovilidad de  $238 \pm 25.23$ , este tiempo es donde el ratón permanece inmóvil y en el que no intenta ningún tipo de movimiento o escalamiento para intentar salir del tanque donde se encuentra.

Para la evaluación del nado, los datos se observan en la figura 2, donde se observa que el grupo de los destetados muestran tiempos mayores de nado de  $47.5 \pm 6.36$  respecto al grupo control que fue de  $13.66 \pm 7.09$ , al igual que el grupo de los no destetados que tiene un tiempo de nado de  $26 \pm 5.65$ , un tiempo mayor que el grupo control.

Como se muestra en la figura 3 el grupo de los no destetados son los que intentan escapar más tiempo teniendo una duración de  $115 \pm 21.21$  mientras que el grupo control presentó un tiempo de  $48.33 \pm 24.66$ , teniendo un tiempo casi doble para el caso de los destetados en el que intentan escapar del tanque. Para el grupo de los destetados se observa un tiempo de  $70 \pm 13.11$  en donde se observa un incremento del tiempo de escapatoria de los ratones respecto al grupo control.

#### 4. CONCLUSIONES

- Tras el estudio fitoquímico de *Dracocephalum moldavica* L. se determinó que contiene esteroides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, azúcares reductores, taninos, glicósidos cardíacos, glicósidos cianogénicos, saponinas, alcaloides y flavonoides del tipo Auronas y Chalconas.
- El extracto total de *Dracocephalum moldavica* L. presenta efecto antidepresivo semejante al fármaco (Imipramina), ya que los tiempos de inmovilidad son semejantes, y esto se comprueba dado que es menor que el grupo control, reduciendo los tiempos de inmovilidad y aumentando los tiempos de nado del extracto respecto al fármaco y al grupo control.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suarez, D., & Araujo-Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Salud Mental*, 35, 375-384.
2. Linares, E., Bye, R., Flores, B., 1999. *Plantas Medicinales de México, usos y remedios tradicionales*. Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM, México, México, D.F.
3. Murakami, T., Yamane, H., Tomonaga, S., Furuse, M., 2009. Forced swimming and imipramine modify plasma and brain amino acid concentrations in mice. *European Journal of Pharmacology* 602, 73–77.
4. OMS, O. M. (Octubre de 2014). Organización Mundial de la Salud OMS. Obtenido de La depresión.
5. Porsolt, R.D., Le Pichon, M., Jalfre, M., 1977a. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266, 730–732.
6. Schürmann da Silva, A.F., de Andrade, J.P., Bevilacqua, L.R.M., de Souza, M.M., Izquierdo, I., Heriques, A.T., Zuanazzi, J.Â.S., 2006. Anxiolytic-, antidepressant- and anticonvulsant-like effects of the alkaloid montanine isolated from *Hippeastrum vittatum*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 85, 148–154.

# ESTUDIO DEL EFECTO DEL PH EN LA REACCIÓN DE CLORACIÓN DE TRAZAS DE COMPUESTOS FENÓLICOS CLORADOS

Ana María Núñez Gaytán y María Elena Núñez Gaytán

Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, [amnunez@umich.mx](mailto:amnunez@umich.mx)

## RESUMEN

La implementación de un método analítico de cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada con la extracción en fase sólida es un método exacto, preciso y eficiente para el estudio de la reacción de cloración de trazas de fenol y del 3-clorofenol a diferentes condiciones experimentales como: pH de 4.8, 7 y 9, tiempo de contacto 1 h, concentración del compuesto fenólico 50 µg/L y concentración de cloro de 1 mg/L. Este método en línea desarrollado permite identificar y cuantificar los diversos clorofenoles a partir de la cloración de soluciones acuosas de fenol y de 3-clorofenol en condiciones similares a las que pueden usarse en el proceso de desinfección del agua. Durante el seguimiento de 1 h de reacción de cloración de 50 µg/L de estos fenoles con 1 mg/L de cloro y a diferentes pH (4.8, 7 y 9) se determinaron diferentes clorofenoles como: (2-clorofenol y 4-clorofenol, 2,4-diclorofenol, 2,6-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol), generados por la cloración de trazas de fenol y diversos policlorofenoles como 2,3-diclorofenol, 2,5-diclorofenol y 3,4-diclorofenol y 2,3,4,6-tetraclorofenol formados a partir de la cloración de trazas de 3-clorofenol. Las concentraciones de estos clorofenoles formados no exceden a las concentraciones máximas permitidas por los organismos oficiales.

## 1. INTRODUCCIÓN

La cloración se aplica en el tratamiento de aguas residuales con el propósito de desinfectar los efluentes previo a su descarga, particularmente en lugares en donde el agua se utiliza para fines de recreo o para uso doméstico. Entre los compuestos frecuentemente presentes en los efluentes industriales se encuentra el fenol, el cual al reaccionar con el cloro forma compuestos policlorados que son más tóxicos y más resistentes a la biodegradación que el mismo fenol. Por lo tanto es estrictamente necesaria la eliminación completa del fenol de las aguas residuales antes que éstas sean vertidas a los cauces naturales.

A partir del trabajo de Rook<sup>1</sup> se ha demostrado la presencia de diversos productos halogenados en el agua potable como: clorofenoles, ácidos fenólicos, quinonas cloradas, trihalometanos (THMs), ácidos haloacéticos (HAAs), haloacetónitrilos y otros. Es evidente que estas especies provienen de la reacción del cloro con la materia orgánica disuelta en las aguas de abastecimiento de las plantas de tratamiento<sup>2</sup>.

El método ideal para la determinación de derivados clorados del fenol a niveles traza (del orden de µg/L) es la cromatografía de líquidos, sin embargo, los detectores convencionales (básicamente UV y electroquímico) no tienen la sensibilidad suficiente para poder cuantificarlos a esos niveles de concentración en la muestra inyectada. Por ello, se requiere un paso previo de preconcentración.

El acoplamiento en línea de la extracción en fase sólida y la cromatografía de líquidos en fase reversa es una de las herramientas más poderosas para la determinación de compuestos traza en matrices acuosas<sup>3</sup>.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Cloración del compuesto fenólico.- Los experimentos se realizaron con disoluciones buffer de pH amortiguado de medio moderadamente ácido, neutro y moderadamente alcalino y corresponden a relaciones en peso de Cloro:Fenol de 20:1 (1 mg/L de cloro, 50 µg/L del compuesto estudiado). Las especies reaccionantes se mantuvieron en contacto durante un tiempo pre-establecido, para después proceder al análisis de los productos formados mediante un sistema de extracción en fase sólida (EFS) para la preconcentración de la muestra y un sistema de análisis por cromatografía de líquidos con detección UV y electroquímica. La detección de los analitos se efectuó fijando una longitud de onda de 280 nm en el detector UV y potenciales de 850 mV y 900 mV en las celdas de guardia y analítica, respectivamente, del detector coulombimétrico. El sistema de preparación de muestra requiere del empleo de una pequeña precolumna polimérica (20 X 2 mm D.I.), empacada con una fase de estireno-divinilbenceno de 10 µm. Por otra parte, la columna analítica (150 x 4.6 mm D.I.) está empacada con fase reversa Hypersil ODS de 5 µm.

### 3. RESULTADOS

La cloración de 50 µg/L de 3-clorofenol con 1 mg/L de cloro a pH 4.8 amortiguado con un buffer de acetatos y un tiempo de reacción de 1 h, origina como productos los diclorofenoles: 2) 2,3-diclorofenol, 3) 2,5-diclorofenol y 4) 3,4-diclorofenol

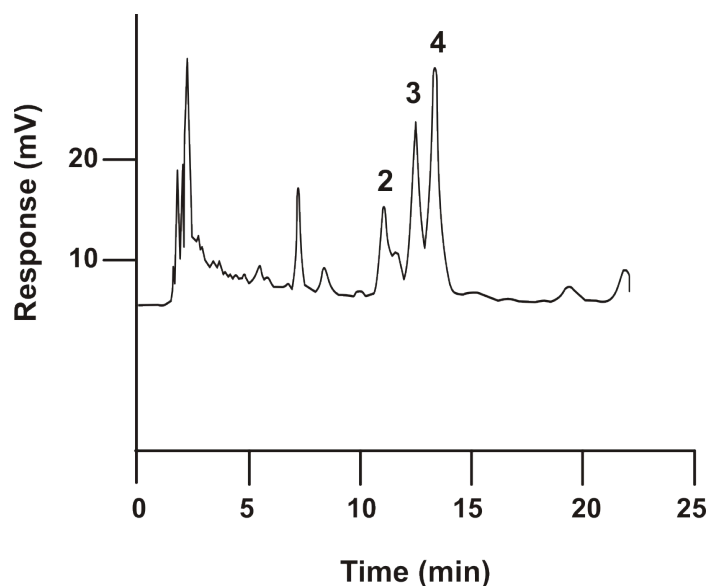


Figura 1. Cromatograma ultravioleta correspondiente al análisis de una solución clorada de 3-clorofenol (50 µg/L). Concentración de cloro 1 mg/L, tiempo de reacción 1 h, pH 4.8. Solutos: 2) 2,3-diclorofenol, 3) 2,5-diclorofenol y 4) 3,4-diclorofenol.

A un pH amortiguado de pH 7, la cloración de 50 ppb de 3-clorofenol con 1 mg/L de cloro dio lugar a la formación del 2,3,4,6-Tetraclorofenol.

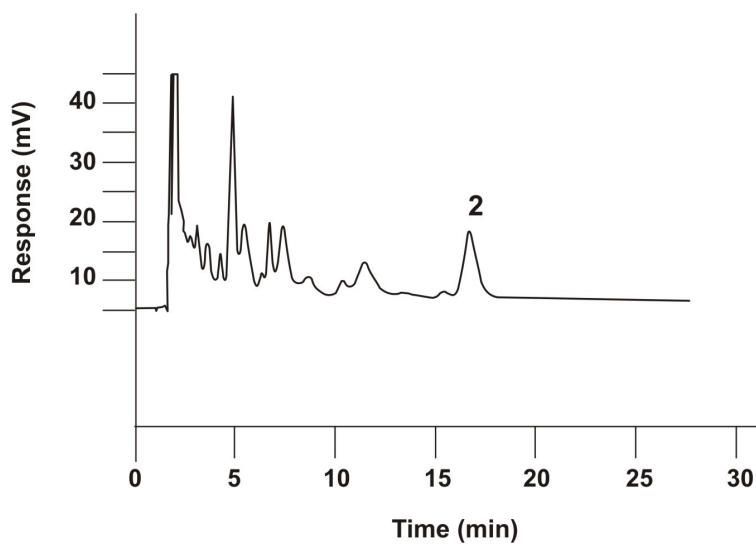


Figura 2. Cromatograma ultravioleta correspondiente al análisis de una solución clorada de 3-clorofenol (50 ppb). Concentración de cloro 1 ppm, tiempo de reacción 1 h, pH 7. Soluto: 2) 2,3,4,6-tetraclorofenol

La cloración de una disolución acuosa de fenol de 50  $\mu\text{g/L}$  disuelta en un buffer de boratos de pH 9 con 1 mg/L de cloro y a un tiempo de contacto de 1 h origina la formación de diversos clorofenoles como 2,6-diclorofenol, 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol.



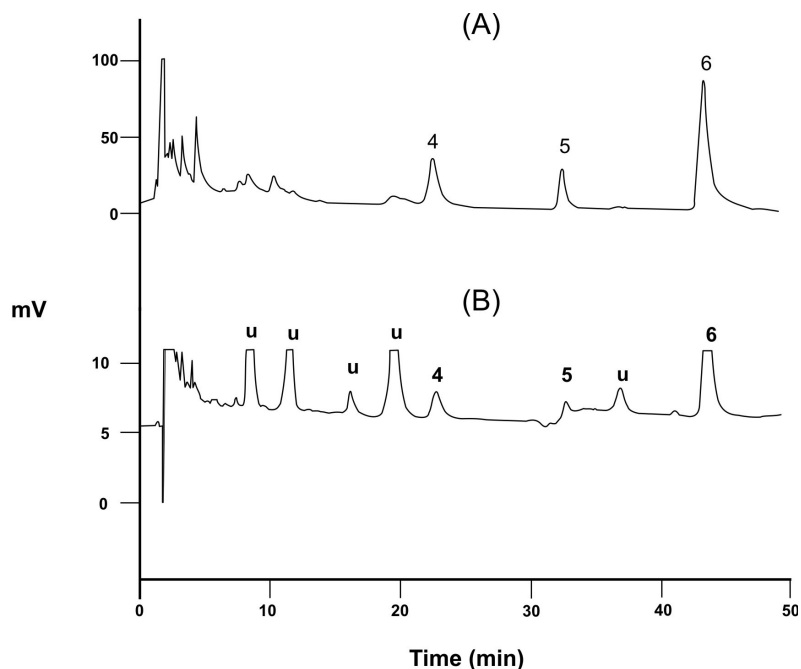


Figura 3. Cromatograma coulombimétrico **(A)** y cromatograma UV **(B)** obtenidos del análisis de una solución clorada de 50 µg/L de fenol disuelta en un buffer 0.1 M de boratos (pH 9) después de un tiempo de reacción de 1 h. Concentración de cloro 1 mg/L. Solutos: 4) 2,6-diclorofenol, 5) 2,4-diclorofenol, 6) 2,4,6-triclorofenol y u) soluto desconocido

#### 4. CONCLUSIONES

El método de extracción en fase sólida acoplada a la cromatografía de líquidos de fase reversa, permite caracterizar verazmente los clorofenoles formados a partir de trazas de fenol o de 3-clorofenol en aguas cloradas usando la detección dual o electroquímica. La separación cromatográfica proporciona información importante para efectuar la caracterización precisa y veraz de los clorofenoles. La concentración de cada clorofenol formado no excede la concentración máxima permitida por los organismos oficiales

#### BIBLIOGRAFÍA

1. J. J. Rook, "Formation of haloforms during chlorination of natural waters", *Water Treatment Examination*, 23 (1974) 234-243.
2. F. Ge, L. Zhu, J. Wang, "Distribution of chlorination products of phenols under various pHs in water disinfection," *Desalination*, 225 (2008) 156-166.
3. E. R. Brouwer, U. A. Th. Brinkman, "Determination of phenolic compounds in surface water using on-line liquid chromatographic precolumn-based column-switching techniques, *J. Chromatogr. A*, 678 (1994) 223-231.

## **Conservación de morteros de cal-arena a partir de partículas coloidales de hidróxido de calcio**

Gilberto Álvarez Guzman<sup>1</sup>, Jorge A. Cervantes Jáuregui<sup>1</sup>, Dolores E. Álvarez Gasca<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, <sup>2</sup>Universidad de Guanajuato, División de Arquitectura, Arte y Diseño.  
g.alvarez@ugto.mx, jauregi@ugto.mx, elenaag@ugto.mx

### **RESUMEN**

En tiempos recientes, la conservación del Patrimonio Cultural se ha visto enriquecida a través del trabajo inter y multidisciplinario y **con** el uso de las nuevas tecnologías, logrando así rescates exitosos que permiten preservar la memoria histórica del bien cultural. Dentro de este rubro la nanotecnología ha incursionado en el campo de la restauración y conservación del patrimonio cultural, un ejemplo es el uso de nanopartículas de SiO<sub>2</sub>, hidróxidos de magnesio y calcio empleados en la conservación de pintura mural y materiales pétreos. La nanotecnología como ciencia aplicada permite sintetizar y diseñar materiales de acorde a requerimientos específicos. Es en este punto en donde recaerá esta investigación en el uso de nanomateriales para la conservación de un mortero de cal y arena, constituyente de una noria alta que perteneció a la Ex Hacienda de Bustos, ubicada en el barrio de Cata en Guanajuato, Gto. En este trabajo de investigación se logró la síntesis de partículas coloidales de Ca (OH)<sub>2</sub>, las cuales serán empleadas en los proceso de consolidación del mortero de cal arena de la noria alta de Cata. El sistema de partículas obtenido fue caracterizado por SEM, DRX y Dispersión de Luz Dinámica. Posteriormente, se aplicó en morteros de cal sintetizados en el laboratorio (simulando al que se encuentra en la noria) y sometidos a pruebas de intemperismo (efectos de sales solubles y efectos de lluvia ácida), el producto de dicha experiencia se caracterizó por SEM y DRX.

### **1. INTRODUCCIÓN**

La conservación del Patrimonio Cultural es una actividad que en las últimas décadas se ha procurado con mayor énfasis, debido a la mayor concientización por resguardar los vestigios que son testigos de la cultura e historia de las sociedades humanas. Esta tarea es ardua y no solamente el especialista en conservación es la persona que interviene en este proceso pues a últimas fechas esta actividad se ha visto enriquecida a través de los trabajos multidisciplinarios e interdisciplinarios.

Dentro de este rubro la nanotecnología ha comenzado a incursionar en el campo de la restauración y conservación del patrimonio cultural, un ejemplo es el uso de nanopartículas de SiO<sub>2</sub>, hidróxidos de Mg y Ca empleados en la conservación de pintura y materiales pétreos. La nanotecnología como ciencia aplicada permite sintetizar y diseñar materiales en concordancia con requerimientos específicos. Es en este punto en donde recae esta investigación en el uso de partículas coloidales de Ca (OH)<sub>2</sub>, para la conservación de un mortero de cal y arena, constituyente de una noria alta que perteneció a la Ex Hacienda de Bustos, ubicada en el barrio de Cata en Guanajuato, Gto. ¿Por qué la conservación de morteros de cal? Como es bien sabido los morteros de cal revolucionaron

la arquitectura desde su introducción en la construcción hace más de 6000 años, algo que lo hizo de gran valor dentro de la construcción fueron sus propiedades físicas, promoviendo la generación de sistemas constructivos y una diversidad de aplicaciones. Además de lo anterior todas las obras arquitectónicas construidas hasta antes de principios del siglo XX, emplearon como material cementante morteros de cal (Alejandre, 2002).

En este estudio se logró la síntesis y caracterización de partículas coloidales de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , y las cuales fueron probadas sobre morteros de cal-arena deteriorados, en la cual se observó el efecto que tiene en el proceso de consolidación de la matriz calcárea afectada por lluvia ácida y alta condiciones de humedad, los cuales son los principales agentes de deterioro de este tipo de material constructivo.

## 2. TEORÍA

La cal es uno de los materiales que revolucionaron la arquitectura desde hace más de 6000 años, debido a sus propiedades mecánicas, ya que presentan una capacidad de deformación relativamente alta gracias a su módulo de elasticidad bajo, lo que le permite absorber los movimientos producidos por los materiales colindantes sin sufrir fractura. Aunado a lo anterior, su naturaleza alcalina le protege de las sales solubles, las cuales son las causantes de las eflorescencias, criptoflorescencias, subflorescencias, etc. (Alejandre, 2002; Meli 2011.). Esto permitió revolucionar los sistemas constructivos y darle un sinfín de usos en la construcción. **En el** territorio mexicano el uso de cal data desde tiempos precolombinos y en la zona maya es uno de los máximos exponentes en el uso variado de este material. El principal agente de deterioro de los morteros de cal es el agua, que al combinarse con contaminantes como los óxidos de azufre provoca un cambio en la composición del material pasando de carbonato de calcio, a sulfato de calcio di hidratado (yeso), el cual mecánicamente es un material excesivamente endeble. Además de lo anterior, en climas tropicales en los que hay una humedad relativa muy alta, este material se ve afectado por microorganismos, generalmente algas oscilatorias y en algunos casos ciertos hongos, los cuales ya sea que tiendan a alimentarse del carbonato de calcio o en su proceso metabólico excreten ácidos generando el deterioro del material (Warscheid 2000, Novelo 2011).

Debido a la importancia que ha tenido este material en el avance de las técnicas constructivas empleadas por el ser humano, desde hace una década se ha venido investigando sobre el uso de materiales compatibles con el hidróxido de calcio elemento principal de la cal. Una de tales aportaciones son las obtenidas por el grupo Colloidal Science and Nanotechnology for Cultural Heritage (CSGI) en donde Baglioni y colaboradores han logrado sintetizar y emplear nanopartículas basadas en hidróxido de calcio para restaurar los murales Mayas de Calakmul en el Estado de Campeche, México (Baglioni, 2006). Cabe mencionar que a partir de las propuestas de este grupo de investigación, han surgido una serie de nanomateriales que son compatibles con materiales calcáreos como las hidroxiapatitas (Gómez- Villalba, 2011).

Se puede observar que a pesar de ser una ciencia que hace menos de diez años incursionó en la protección y conservación del patrimonio cultural la nanotecnología de materiales ya ha tenido resultados de suma importancia.

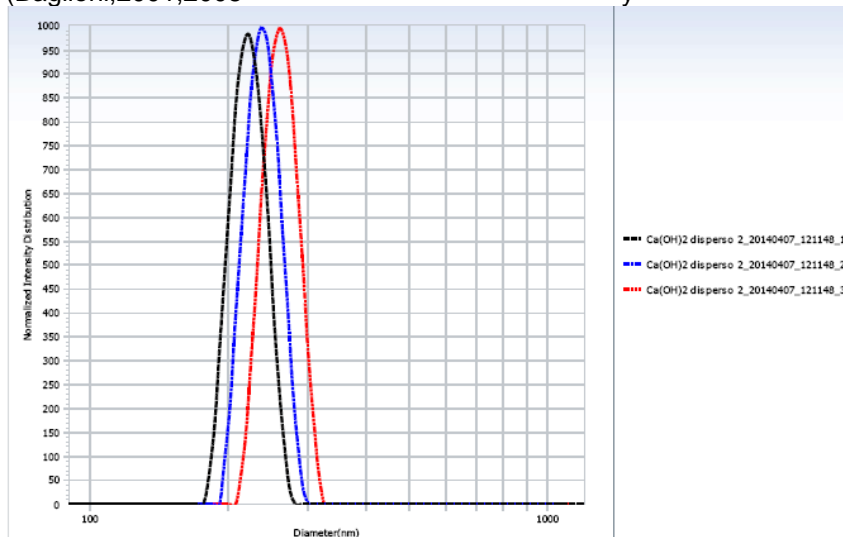
## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se presentan los resultados obtenidos sobre la caracterización de tamaño y morfología de la partícula coloidal y la aplicación sobre muestras de mortero de cal- arena, las cuales fueron sometidas a pruebas de intemperismo acelerado.

- Las partículas coloidales de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se obtuvieron a partir de la metodología propuesta por Taglieri y col. A partir de ella, se precipita una solución al 0.3mol/L de  $\text{CaCl}_2$ , con una

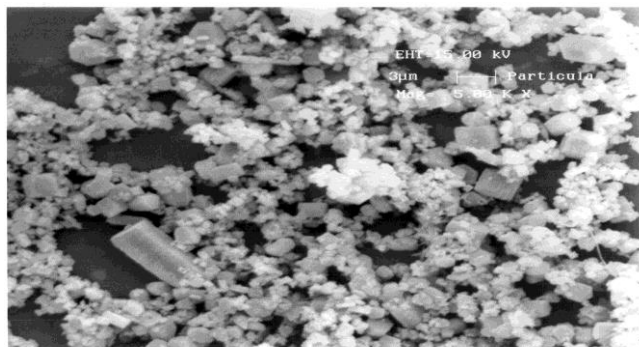
solución de NaOH al 0.6 mol/L a una razón de 4mL/min a 90°C. Se observara un cambio en la coloración de la solución, de ser transparente a blanco lechoso. Posteriormente se deja reposar por 24 h, y se observara la formación de dos fases. Se desecha la fase superior. La fase inferior contiene la solución de partículas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y NaCl el cual debe eliminarse con 4 lavados con agua desionizada corroborado lo anterior mediante un análisis de ausencia de cloruros efectuado mediante la adición de gotas de  $\text{AgNO}_3$  al 30%. Una vez terminado el lavado se procede a reconcentrar en 2-propanol las partículas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  obtenidas.

- Caracterización de tamaño y morfología: Para determinar el tamaño de partícula, se empleó el equipo Beckman Coulter el cual cuenta con un dispersor de luz dinámica y por medio del obtener el tamaño promedio de partícula el cual fue de 256 nm, esto concuerda con lo reportado por Baglioni empleando la misma técnica y corroborando con AFM (Baglioni,2001,2008 y 2010).



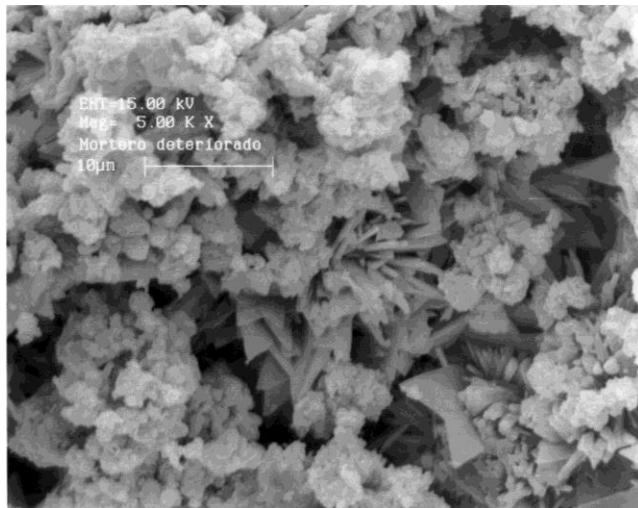
**Fig.1 Distribución de tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica (LS).**

La observación de la morfología de la partícula se realizó a través de Microscopia Electrónica de Barrido (SEM). Ha sido reportado por Baglioni, Gómez-Villalba entre otros que estos sistemas presentan una geometría planar hexagonal así como prismática, en este estudio se encontraron los dos sistemas (Baglioni 2001, 2008, 2010; Gómez-Villalba 2011).



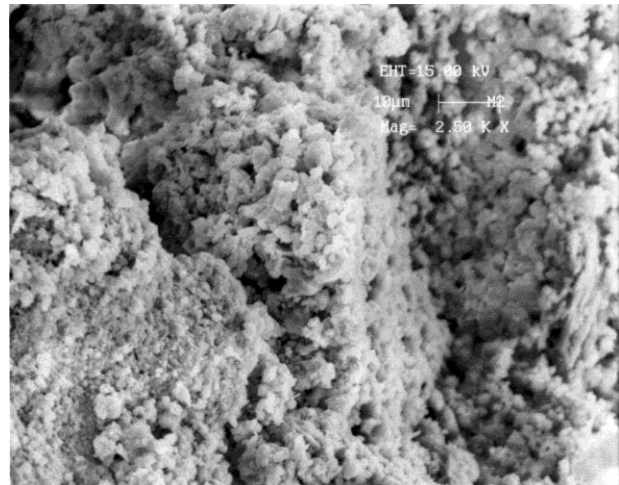
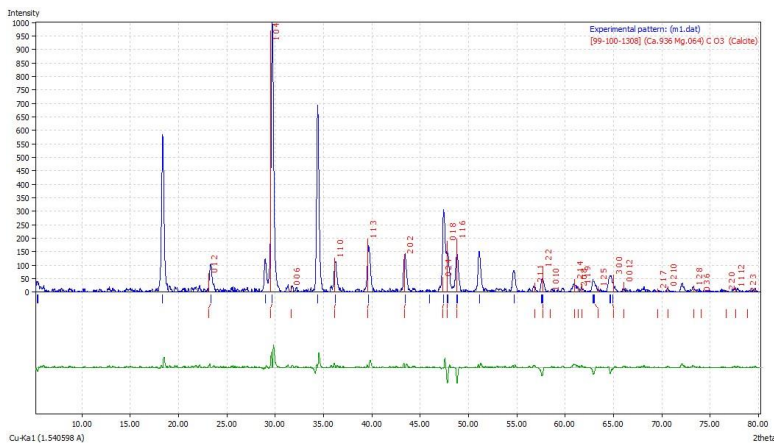
**Fig. 2 SEM morfología de partícula de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$**

- Intemperismo acelerado: Una vez determinado el tamaño de partícula y su morfología, se sometió a probarlo en un mortero de cal-arena preparado a una proporción 1:3 el cual es la referencia que se tiene para dicho uso. Al mortero se le realizaron pruebas de intemperismo acelerado en una cámara acondicionada a una humedad relativa del 85% a temperatura ambiente y se le realizaron dos pruebas, absorción de sales solubles empleando una solución al 25% de sulfato de sodio, y una simulación de ataque por lluvia acida, empleando una solución de  $H_2SO_4$  a pH 3 de acuerdo a lo reportado para este tipo de prueba. (Thornbush 2007, Shaodong Xie 2004). Se efectuaron ciclos de inmersión en las soluciones. El primero fue llevarla a 4 ciclos de 4 h de inmersión y 2h de secado. La segunda prueba fue de 12 h de inmersión y 2 h de secado. En las pruebas se observó el proceso de sulfatación del carbonato de calcio a sulfato de calcio efectuado la verificación por SEM y mediante una prueba analítica de identificación la cual consiste en hacer reaccionar una pequeña muestra con sulfato de bario, el cual da positivo a yeso si se obtiene un precipitado blanco, siendo en este estudio positivo. En la micrografía se observa el crecimiento de sistemas tipo aguja típico del sulfato de calcio, lo que indica que las muestras han sufrido el proceso de deterioro y por ende están listas para el proceso de consolidación.



**Fig.3 Mortero deteriorado.**

El proceso de consolidación se realizó por aspersión al rociar la muestra con la suspensión coloidal de  $Ca(OH)_2$  dejando el material tratado en reposo por tres semanas controlando la temperatura para que el material absorbiera el consolidante. Se efectuó el análisis por SEM para verificar el proceso de re carbonatación y por DRX para su corroboración. El patrón de difracción de rayos-X muestra que el proceso se llevó a cabo y en la micrografía se observa como las partículas se adhieren a la parte deteriorada dando como resultado un proceso de consolidación efectivo.



**Fig. 4 DRX y SEM de las muestras consolidadas.**

#### 4. CONCLUSIONES

Como parte de este estudio, se ha podido sintetizar el sistema coloidal de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , obteniéndose su tamaño promedio de partícula. Al ser aplicado en el mortero deteriorado de cal-arena preparado expofeso, muestra una buena interacción cumpliendo cabalmente con el proceso de consolidación.

#### BIBLIOGRAFÍA.

1. Alejandro Sánchez, F.J. *Historia, caracterización y restauración de morteros*, Volumen 25 de texto de Doctorado en Arquitectura, Universidad de Sevilla, 2002. ISBN. 8447207730, 9788447207732.
2. Meli Roberto. *“Los conventos mexicanos del siglo XVI”*. Instituto de Ingeniería de la UNAM y Miguel Ángel de Porrúa. México, 2011.
3. Eberto Novelo et al. *Las algas en las zonas arqueológicas mayas*. Ciencias 104,2001.
4. Th Warscheid and J. Braams. *Biodeterioration of stone: a review*. International Biodeterioration & Biodegradation 46, 2000.
5. Baglio, P, Giorgi, R. *Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage*. The Royal Society Chemistry, Soft. Matter, Vol. 2, 2006, pp. 293-303.
6. Gomez-Villalba et al. *Aplicación de nanopartículas a la consolidación del patrimonio pétreo*. La Ciencia y el Arte III: Ciencias Experimentales y Conservación del Patrimonio, Ministerio de Cultura. España 2011.
7. Taglieri, D. et al. *The nanolimes in Cultural Heritage conservation: Characterisation and analysis of the carbonatation process*. Journal of Cultural Heritage, 9 (2008) 294-301.

## El organismo modelo *Caenorhabditis elegans* en la evaluación de fitoquímicos como antioxidantes

Miguel Antonio Maldonado Rubio<sup>1</sup>, Gabriela Camargo Hernandez<sup>2</sup>, Mario Alberto Ramirez Herrera<sup>3</sup>, Abel Hernandez Chavez<sup>3</sup> y Leonardo Hernandez Hernandez<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Licenciatura de Biología. Universidad Autónoma de Nayarit, [miguelamr\\_7@hotmail.com](mailto:miguelamr_7@hotmail.com).

<sup>2</sup> Departamento de Botánica y Zoología, CUCBA-Universidad de Guadalajara, [gabycamargoh@gmail.com](mailto:gabycamargoh@gmail.com).

<sup>3</sup> Departamento de Fisiología. CUCS-Universidad de Guadalajara, [amario999@gmail.com](mailto:amario999@gmail.com), [abehercha38@hotmail.com](mailto:abehercha38@hotmail.com), [leohhdez@hotmail.com](mailto:leohhdez@hotmail.com).

### RESUMEN.

**INTRODUCCION;** El Estrés Oxidativo (EO) se ha asociado a toda una serie de patologías de curso crónico e invalidantes, tales como enfermedades neurodegenerativas. Numerosas investigaciones sobre EO se han realizado usando modelos animales, incluyendo al nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia como antioxidante de algunos fitoquímicos en *C. elegans* adultos expuestos a daño oxidativo por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Aquí probamos el Diferuloilmetano (DFM) y el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (AECC), que se les han descrito propiedades antioxidantes. **METODOLOGIA:** Se empleó a *C. elegans* de las cepas N2 (Wild type) y TJ375 (*hsp-16.2::GFP*) adultos con edad sincronizada. Se realizó una curva dosis-respuesta para el DFM y AECC. Posteriormente, con animales tratados con DFM o AECC, se realizaron ensayos de la sobrevivencia a la exposición de Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Finalmente se evaluó el grado de fluorescencia producida por la expresión de las proteínas fusionadas HSP-16.2::GFP en gusanos TJ375 tratados con DFM o AECC y expuestos a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los datos resultantes se analizaron con la prueba t-student, considerando como significativa una P<0.05. Se reportan valores como media ± error estándar. **RESULTADOS:** Los resultados preliminares mostraron un aumento significativo de la sobrevivencia en los gusanos tratados con DFM en las concentraciones usadas y expuestos por 5 horas a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.5 mM pero no cambio significativamente la expresión de la proteína HSP-16.2 En relación al AECC, se observó un aumento significativo de la sobrevivencia y una mayor expresión de HSP-16.2. **CONCLUSIONES:** En este trabajo se analizó el efecto antioxidante del DFM y el AECC, utilizando al *C. elegans*, probando ser adecuado para tal fin. Asimismo pudimos inferir dos mecanismo de acción antioxidante en los fitoquímicos probados, el barrido de ERO y la inducción de proteínas de protección contra el EO.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. La luz del sol (rayos UV), el ozono y otros contaminantes del medio ambiente (fotoquímicos, el humo de cigarrillo, herbicidas) son causas de la formación de ERO, pero también se generan como resultado del metabolismo celular. Su gran reactividad se debe a que poseen electrones no apareados y les hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de oxido-reducción (1, 2). Dentro de los ERO, en particular el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), es una molécula moderadamente reactiva, y aunque no es

realmente un radical libre, sus propiedades químicas son similares a las del superóxido, y fácilmente puede formar radicales hidroxilo, los cuales son muy reactivos. El  $H_2O_2$  se genera en altos niveles en respuesta a las señales inflamatorias, aunque su actividad oxidante es relativamente baja en comparación con otras ERO (3).

En los sistemas biológicos, incluido el cuerpo humano, se mantienen un balance de óxido-reducción constante, preservando el equilibrio entre la producción de pro-oxidantes que se generan como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensas antioxidantes (4). Dentro de los antioxidantes endógenos se encuentran 3 enzimas que son fundamentales; la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPx). Estas enzimas detoxifican los compuestos reactivos Superóxido y  $H_2O_2$ . La pérdida del balance mencionado arriba, lleva a un estado de estrés oxidativo, que se caracteriza por un aumento en los niveles de radicales libres, en especial de las ERO, que no alcanza a ser compensado por los sistemas de defensa antioxidante. Durante este proceso se producen reacciones químicas sobre los lípidos, proteínas, carbohidratos y el ADN en el interior de las células, lo que puede desencadenar daños irreversibles y muerte. Esto ocurre en patologías degenerativas (1, 5, 6), particularmente se ha relacionado con enfermedades neurodegenerativas, en diabetes y en el envejecimiento (1). Numerosas investigaciones se han realizado en este sentido, algunos de estos se han realizado usando modelos animales, incluyendo al nematodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). El *C. elegans* es un organismo simple, el hermafrodita adulto tiene 959 células somáticas y el macho adulto tiene 1031. Tanto el número de células como su posición son constantes. Con la ayuda de un microscopio, los animales, pueden ser observados y manipulados de forma individual. Otra ventaja que ofrece el modelo es su fácil mantenimiento en el laboratorio y bajo costo (7). Además, se ha demostrado que las enzimas antioxidantes (CAT, SOD y GPx) se encuentran en el *C. elegans* y forman parte de su sistema de defensa antioxidante, del mismo modo que ocurre en mamíferos. La vía de señalización de la insulina IGF-1, que se ha relacionado con la respuesta al estrés, se encuentra en el *C. elegans* y también se encuentra ampliamente conservado en mamíferos. Adicionalmente, Investigaciones previas han reportado que la administración de  $H_2O_2$  de forma exógena, es capaz de producir estrés oxidativo en el *C. elegans* (8), lo cual se hace evidente tras la reducción de la supervivencia en éste. Por lo anterior, el gusano *C. elegans* nos parece un magnífico modelo para observar estrés oxidativo, pues los efectos observados por su exposición a ERO, y se podrían extrapolar a los seres humanos, por lo menos a un nivel celular y molecular.

Se ha propuesto que el daño asociado con las ERO, podría ser mejorado por intervenciones que aumenten la resistencia al estrés oxidativo. Dentro de las posibles intervenciones, el uso de sustancias de origen natural podría resultar una opción económica y efectiva, como vitaminas, fenoles y aceites esenciales. El objetivo de este trabajo es evaluar la eficacia como antioxidante de algunos de estos productos naturales sobre el *C. elegans* en la edad adulta expuestos a daño oxidativo por  $H_2O_2$ . Particularmente probamos el compuesto polifenol Diferuloilmetano (DFM), y el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (AECC). A éstas sustancias se les ha descrito como antioxidantes contra algunas especies reactivas de oxígeno, como grupos hidroxilos, peróxidos y radicales superóxidos (9).

## 2. METODOLOGÍA

Se utilizaron *C. elegans* de la cepas N2 (Wild type) y TJ375 (hsp-16.2::GFP) adultos con edad sincronizada, cultivados en placas de agar-NGM a 19°C, de acuerdo a los protocolos estándar de uso y mantenimiento de este nematodo (7). Primero se realizó una curva dosis-respuesta para la DFM y AECC para encontrar las dosis más adecuadas para los tratamientos. Posteriormente, con animales previamente tratados con DFM (10 y 100  $\mu$ M) o AECC (10ng/ml), se realizaron ensayos de la sobrevivencia a la exposición de Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ , 10 y 0.5 mM) como oxidante. Los ensayos fueron hechos en medio líquidos, en placas de 24 pocillos de fondo plano con un



volumen final de 1 ml con 30 animales por pocillo. Brevemente, Los gusanos sujetos a tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se dejaron en reposo a 19°C. Después cada hora durante 5 horas, la sobrevivencia fue determinada mediante el toque al cuerpo de cada gusano, usando un alambre de platino estéril. Finalmente utilizando la cepa TJ375 se evaluó el grado de fluorescencia producida por la expresión de las proteínas fusionadas HSP-16.2::GFP, de los animales tratados con DFM o AECC y posteriormente expuestos a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, esto mediante un microscopio de fluorescencia. Para analizar los datos resultantes se utilizó la prueba t-student, considerando como diferencia significativa una P<0.05. Los valores se reportan como media ± error estándar.

### 3. RESULTADOS

Los resultados preliminares mostraron un aumento significativo de la sobrevivencia en los gusanos tratados con DFM en las concentraciones usadas y expuestos por 5 horas a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.5 mM (Sobrevivencia de 72% y 80% con DFM 10 y 100 µM respectivamente,) pero no cambio significativamente la expresión de la proteína HSP-16.2, indicadora de estrés oxidativo de los nematodos sometidos a estrés oxidativo. Esto sugiere un efecto protector de la DFM contra los efectos oxidantes del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, posiblemente mediante un mecanismo de barrido de ERO. En relación al AECC, los resultados preliminares mostraron un aumento significativo de la sobrevivencia del grupo de gusanos tratados con AECC (55%) con respecto al grupo control después de 5 horas de exposición a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.5 mM. Los experimentos de fluorescencia en este caso mostraron que existe una mayor expresión de hsp-16.2 (referido como una disminución de fluorescencia por GFP) tanto en los grupos expuestos y no expuesto al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tratado con AECC. Estos resultados preliminares sugieren que el AECC ofrece protección contra el estresor H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a través de un mecanismo que involucra el aumento de la expresión de proteínas de respuesta al estrés HSP-16.2.

### 4. CONCLUSIONES

A partir de la realización de este trabajo pudimos analizar el efecto antioxidante de dos fitoquímicos, la DFM y el AECC, utilizando al *C. elegans*, el cual probó ser un organismo modelo adecuado para tal fin. Asimismo pudimos inferir dos mecanismo de acción antioxidante en los fitoquímicos probados, uno de barrido de ERO y el otro de la inducción de proteínas de protección contra el estrés oxidativo.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Céspedes T, Sánchez D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. Rev Cubana Cardiol. 2000;14(1):55-60.
2. Justo VG. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cubana Med Milit. 2002;31(2):126-334.
3. Milton NG. Role of hydrogen peroxide in the aetiology of Alzheimer's disease: implications for treatment. Drugs & aging. 2004;21(2):81-100.
4. Venereo Gutiérrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar. 2002;31:126-33.
5. Dorado C, Rugerio C, S. R. Estrés oxidativo y neurodegeneración. Rev Fac Med UNAM. 2003;46(6):229-35.
6. Zorrilla A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. Rev Cubana Invest Biomed. 2002;21(3):178-85.
7. Hope IA. *C. elegans: A Practical Approach*. 1 ed. Press OU, editor. USA, New York 2000.

8. Lee SS, Lee RY, Fraser AG, Kamath RS, Ahringer J, Ruvkun G. A systematic RNAi screen identifies a critical role for mitochondria in *C. elegans* longevity. *Nature genetics*. 2003 Jan;33(1):40-8.
9. Aiello A, Fattorusso E, Luciano P, Macho A, Menna M, Munoz E. Antitumor effects of two novel naturally occurring terpene quinones isolated from the Mediterranean ascidian *Aplidium conicum*. *Journal of medicinal chemistry*. 2005 May 5;48(9):3410-6.

## ANÁLISIS Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *BRUCELLA* (DE REFERENCIA, CAMPO Y EMERGENTES) MEDIANTE ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL

A. Orduña-Díaz<sup>a</sup>, M. González Quintero<sup>a</sup>, E. I. Castañeda Roldan<sup>b</sup>, M. Rojas López<sup>a</sup>, R. Delgado Macuil<sup>a</sup>, V.L. Gayou<sup>a</sup>, O. Zaca Moran<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA), IPN, C.P. 72197, Tlaxcala México. [abdueve@hotmail.com](mailto:abdueve@hotmail.com) [delfin19\\_86@hotmail.com](mailto:delfin19_86@hotmail.com)

<sup>b</sup> Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, San Manuel CP 72570 Puebla, Pue. México. [iracena@yahoo.com](mailto:iracena@yahoo.com)

### RESUMEN.

Las bacterias del género *Brucella* ocasionan la enfermedad infecciosa llamada Brucelosis, pudiendo ocasionar grandes pérdidas en el sector ganadero, por su patogenicidad para infectar a los animales y al humano como huésped accidental. Hasta la fecha, se conocen diez especies de *Brucella*, el diagnóstico microbiológico es tardado y poco exitoso, requiriendo implementar nuevas alternativas en su identificación y diferenciación. Por lo que en este trabajo, se realizó el análisis e identificación de diferentes especies del género *Brucella* (cepas de referencia, campo y emergentes) utilizando como herramienta la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), que es una técnica analítica instrumental que permite conocer los principales grupos funcionales de la estructura molecular de un compuesto, obteniendo información sobre aspectos cualitativos y cuantitativos. Para este estudio, se usaron bacterias del género *Brucella* del cepario del laboratorio de Patogenicidad Microbiana del Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas del ICUAP, las cuales se sembraron en medio Brucella-BUAP, se incubaron a 37°C por 48 horas e inmovilizaron con formaldehído al 5% por seguridad y manejo. Posteriormente, por FTIR se analizó cada cepa obteniendo diferentes espectros característicos, observando principalmente cambios espectrales en las cepas de referencia de *B. abortus* S19, *B. suis* 1330, *B. melitensis* M16 con respecto a la cepa emergente *B. microti* en la región de proteínas de 1500 a 1700cm<sup>-1</sup> y carbohidratos de 900 a 1200 cm<sup>-1</sup>. En las cepas de campo se encontraron diferencias más notorias entre ellas en comparación con las de referencia, en las intensidades de las bandas, especialmente en la región de ácidos grasos (3000 a 2800 cm<sup>-1</sup>). Por lo tanto, se propone esta técnica para la identificación y diferenciación de las diversas especies de *Brucella*, pudiendo profundizar su estudio con análisis quimiométricos logrando la cuantificación en función a las unidades formadoras de colonia.

### 1.- INTRODUCCION

Los microorganismos patógenos pueden contaminar los alimentos y generar enfermedades graves en los seres humanos. Estas enfermedades infecciosas transmitidas por los alimentos son conocidas como "ETAS", las cuales cada vez van teniendo mayor importancia a nivel mundial. Entre los agentes que producen ETAS se encuentran *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Salmonella spp.*, *Brucella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Vibrio cholerae.*, *Yersinia*, *Streptococcus*, entre otras. Los microorganismos patógenos pueden afectar gravemente al sector salud, ganadero y al sector alimenticio. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año, se producen unos dos mil millones de casos de diarrea en todo el mundo. Las enfermedades diarreicas son una causa principal de morbilidad, mortalidad y un factor importante de desnutrición en la niñez; y por lo general son consecuencia de la exposición a alimentos o agua contaminados [1]. En caso particular la brucelosis es una de las zoonosis de mayor distribución mundial ocasionada por las bacterias del género *Brucella*, son bacilos Gram negativos de 0.5 a 1.5 micrómetros de longitud. Hasta la fecha se reconocen diez especies del género *Brucella* (*melitensis*, *abortus*, *suis*, *canis*, *ovis neotomae*, *pinnipedialis*, *ceti*, *microti*, *inopinata*) cuya clasificación se basa principalmente en diferencias en su patogenicidad y preferencia por su hospedero [2]. El hombre es sensible a las primeras cuatro especies ya que se consideran a *Brucella ovis* y *B. neotomae* poseen una baja virulencia por lo que se restringen a ciertos huéspedes. La *Brucella inopinata* aunque fue aislada de un implante mamario aún no se ha

estudiado como es que ocasiono este daño. Todas las especies de *Brucella* pueden también infectar especies de animales de vida silvestre, se han aislado especies clásicas de *Brucella* de animales como bisonte, alce, cerdo salvaje, jabalí, zorro, liebre, búfalo africano, reno y caribú [3]. Por lo que Una nueva especie de *Brucella*, *B. microti* se ha aislado de roedores de campo y se ha encontrado ser patógena en los ratones. *B. microti* fue aislada por primera vez del hígado de un ratón de campo común (*Microtus arvalis*) que se encuentran en el sur de Moravia, República Checa en el año 2000. Recientemente *B. microti* También se identificó a partir de los zorros rojos de Baja Austria. Los aislamientos frecuentes de diferentes hospedadores mamíferos en diferentes regiones geográficas sugiere que *B. microti* podría ser un patógeno emergente. Más recientemente, *B. microti* se aisló del suelo donde se encontraron los ratones de campo infectados, lo que es atípico para las especies de *Brucella* [4]. Para su determinación e identificación se requieren de análisis microbiológicos como extensión en placa en medios selectivos, pre enriquecimiento y enriquecimiento en caldos nutritivos y selectivos, diferenciación mediante pruebas bioquímicas. Sin embargo, el tiempo necesario para realizar estos diagnósticos es muy prolongado. Por lo que se requiere de la implementación de técnicas complementarias para su análisis, proponiendo la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) como una alternativa, ya que es una técnica relativamente rápida, simple de usar, requiere muy poca cantidad de muestra y no es destructiva, comprende el uso de la absorción, emisión o dispersión de radiación electromagnética para estudiar la materia o procesos fisicoquímicos. La región del infrarrojo, se encuentra localizada entre las regiones visibles y la de microondas del espectro electromagnético. De esta forma, una sustancia puede ser caracterizada midiendo la absorción de energía infrarroja de las moléculas que la componen. La espectrometría en el infrarrojo es una herramienta versátil que se aplica a la determinación cualitativa y cuantitativa de especies moleculares de todo tipo. La región infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres zonas, infrarrojo lejano (100 -25  $\mu\text{m}$ ), mediano (25-2.5  $\mu\text{m}$ ) y cercano (2.5-1  $\mu\text{m}$ ). En el infrarrojo medio se presenta la absorción por parte de enlaces moleculares, específicamente se presentan aquí vibraciones de tipo primario y es la más común y más empleada para el análisis de sustancias orgánicas. Por lo tanto, en este trabajo se propone la técnica de espectroscopia infrarroja para la identificación y diferenciación de las diversas especies de *Brucella*.

## 2.- DESARROLLO EXPERIMENTAL.

Las cepas de *Brucella* utilizadas en este trabajo se obtuvieron del banco de cepas del laboratorio de patogenicidad microbiana perteneciente al centro de investigación ICUAP. Se trabajó con tres cepas de referencia *B. melitensis* M16, *B. suis* 1330, *B. abortus* S19. Una cepa emergente *B. microti* y 10 cepas de campo aisladas de alimentos, humanos y animales. Las cepas de *Brucella* se sembraron de forma masiva en cajas Petri con caldo *Brucella*-BUAP adicionando agar al 2% adicionado con antibióticos (Vancomicina, Polimixina B, Clitoheximida, Nistatina y Ácido nalidíxico).

Se incubaron a 37°C por 48 horas. Teniendo el crecimiento masivo de las cepas se debían inactivar

para el manejo de las muestras y evitar daños a la salud humana. Por lo que todo el crecimiento de las cepas se colocó en un tubo falcón con 5 ml de agua destilada con formaldehído al 5%

previamente esterilizado, para posteriormente ponerlo en agitación constante por 48 horas a 20°C.

Los tubos se pusieron a centrifugar a 4800 rpm x 30 minutos. El sedimento obtenido se lavó tres veces con agua destilada estéril y por último se centrifugó a 7500 rpm x 20 minutos, el sedimento obtenido se re suspendió en un mililitro de agua destilada. Al finalizar se estandarizaron las muestras a una densidad óptica de 2.4 a 600nm. Las muestras se guardaron en eppendorf y sellados con parafilm para ser transportados al laboratorio donde se medirán por la técnica de Espectroscopia FTIR para obtener los espectros de cada cepa.

El equipo que se utilizó para caracterizar las distintas cepas, fue un espectrómetro FTIR Bruker, modelo Vertex 70, utilizando la modalidad de muestreo por Reflectancia Total Atenuada (ATR), con accesorios de la marca PIKE, figura 1. En el rango infrarrojo mediano (400-4000  $\text{cm}^{-1}$ ).El tiempo de

adquisición de cada espectro será de 120 segundos. Para obtener los espectros se salvó el pico y se midió la línea base cristal. Teniendo el eppendorf de cada cepa se tomaron 3µl y se dejó secar la muestra aproximadamente por 20 minutos para que se elimine el agua. Teniendo la muestra seca se midió y se obtuvieron los datos característicos de cada espectro FTIR para todos los microorganismos.



Figura 1. Espectrometro FTIR, modelo vertex 70

### 3.- RESULTADOS.

Primero se analizaron todas cepas de *Brucella* de referencia, por la técnica FTIR obteniendo los espectros característicos y únicos, logrando observar distintas bandas de absorción a diferentes frecuencias para distintas regiones. Como se muestra en la figura 2, donde podemos observar el espectros de las 3 cepas de referencia *B.abortus s19* (rojo), *B suis 1330* (azul) y *B.melitensis m16* (verde) con la cepa emergente *B. microti* (morado). Al realizar el análisis espectral para las cepas de referencia y emergente de *Brucella* pudimos encontrar diferencias claras en ciertas regiones importantes del espectro infrarrojo donde las bandas de absorción son distintas para la cepa emergente en comparación a las cepas de referencia que muestran mayor similitud.

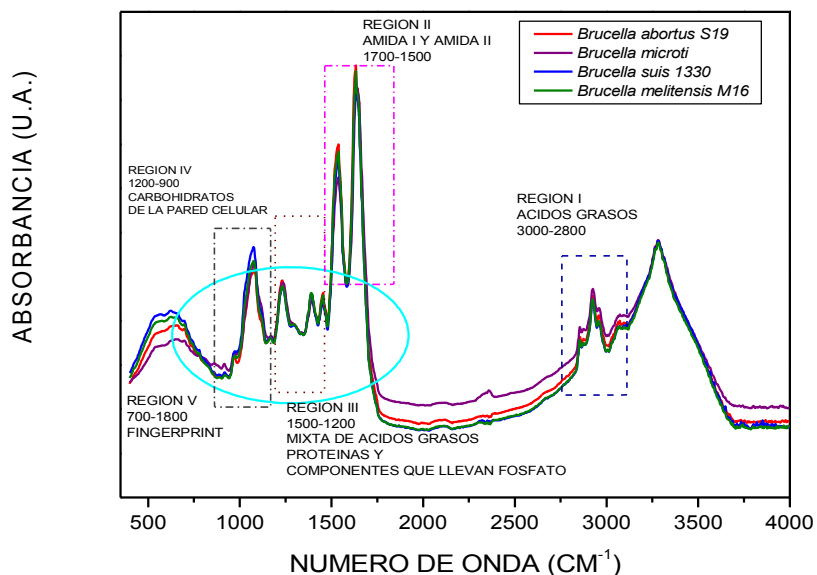


Figura 2, espectro FTIR de las cepas de referencia de *Brucella* y la cepa emergente *B. microti*, en la región medio, 25-2.5 µm (400-4000 cm<sup>-1</sup>).

En la región de la amida I que va desde  $1600-1700\text{ cm}^{-1}$ , Al igual que en la región de la amida II, de  $1480\text{ a }1600\text{ cm}^{-1}$  las cepas de *Brucella microti* (morado) es la que muestra una mayor diferencia en el espectro comparada con las demás cepas, *Brucella abortus S19* (rojo), *Brucella suis 1330* (azul) y *Brucella melitensis M16* (verde) como se muestra en la figura 3.

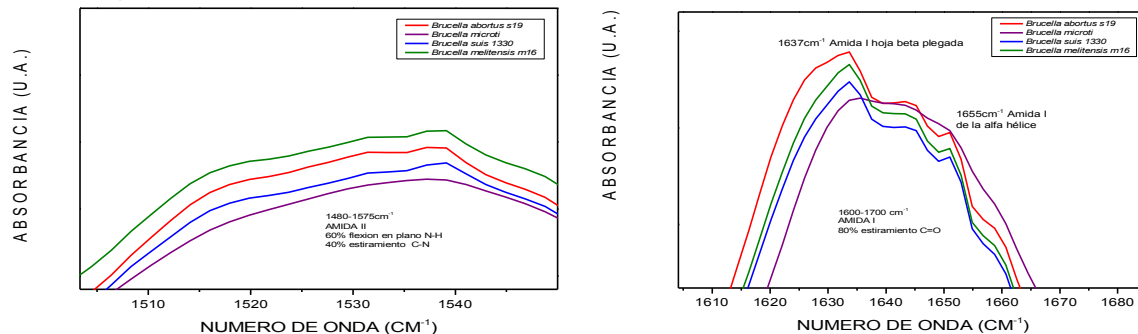


Figura 3, muestra la región de las proteínas,  $1578-1700\text{ cm}^{-1}$  para las cepas de referencia de *Brucella* y la cepa emergente *B. microti*.

Al igual que las cepas de referencia se les realizó el análisis por FTIR a todas cepas de campo de *Brucella* aisladas de distintos hospederos (alimentos, humanos y animales) comparandolas con la cepa de referencia correspondiente (cepa vacunal *B. abortus S19*). sin embargo solo se muestran algunos de los espectros de estas cepas. Las cepas de campo de *Brucella* pueden adquirir ciertas diferencias fenotípicas al entrar en contacto con el hospedero como se observó en el análisis espectral que las cepas de campo de *Brucella* generan un espectro característico y único, mostrando muchas diferencias al de la cepa de referencia como se muestra en la figura 4 se observó que los espectros FTIR de las cepas de *Brucella* aisladas de alimentos Leo2 (azul), Leo7 (cian) y Leo9 (morado) presentaron bandas de absorción muy diferentes al de la cepa vacunal *B. abortus s19* (negro).

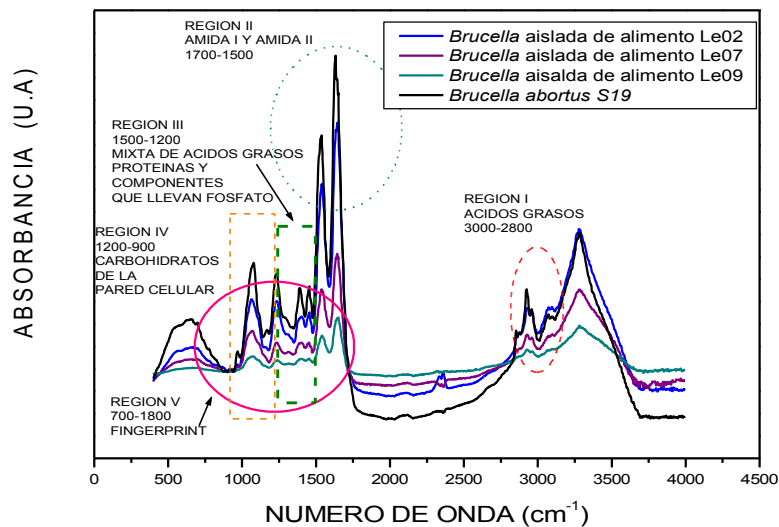


Figura 4. Espectros FTIR en la región de  $400\text{ a }4000\text{ cm}^{-1}$  de las cepas de *Brucella* aisladas de alimentos Leo2, Leo7 y Leo9 y la cepa vacunal *B. abortus s19*.

En la figura 5 se muestra algunas regiones donde se pueden observar bandas de absorción características para cada cepa como en la región de los ácidos grasos  $2800-3000\text{ cm}^{-1}$  y en la región de las proteínas  $1578-1700\text{ cm}^{-1}$ .

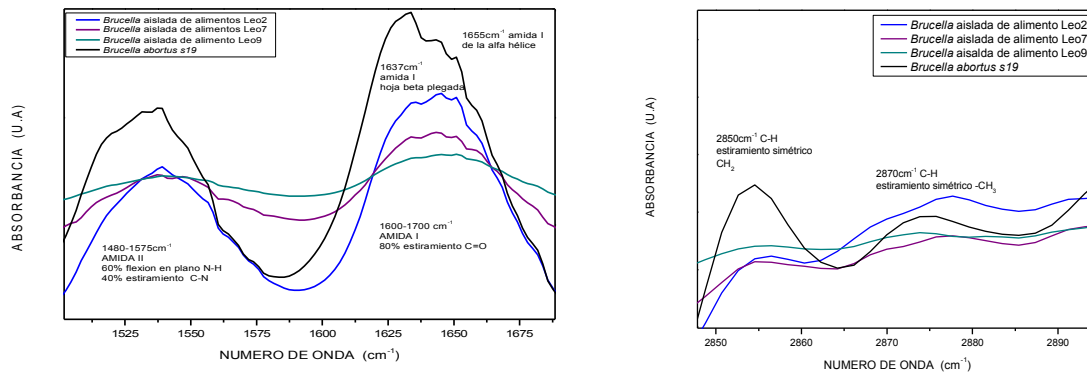


Figura 5 Espectros FTIR para las cepas de *Brucella* aisladas de alimentos y la cepa vacunal *B.abortus s19*. para la región de proteínas (1,525 a 1700  $\text{cm}^{-1}$ ) y la región de los ácidos grasos (2850 a 2890  $\text{cm}^{-1}$ ).

#### 4.-CONCLUSIONES.

La identificación de microorganismos es de gran importancia para el control de los agentes causales de infección como es la especie *Brucella* que presentan casos clínicos, al igual que afecta al sector ganadero. Siendo la técnica FTIR cada vez más utilizada para el análisis de microorganismos, por lo que para las especies de *Brucella* de referencia se observaron diferencias en la región de carbohidratos (900-1200  $\text{cm}^{-1}$ ), que pueden ser por las distintas cantidades de perosamina presente en el lipopolisacrido (LPS). Por otra parte, para las cepas de *Brucella* aisladas de los distintos hospederos se observan diferencias en la región de lípidos de (2800-3000  $\text{cm}^{-1}$ ), pudiendo ser por la distinta composición lipídica en la envoltura celular y finalmente para la región de proteínas (1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ ) tanto para las cepas de referencia como de campo se observan diferencias en esta región del espectro FTIR, en la que refleja la distinta composición de enlaces peptídicos en la pared celular.

#### BIBLIOGRAFIA.

1. SINAVE/DGE/SALUD/Perfil Epidemiológico de las Enfermedades Infecciosas Intestinales., página 16
2. Al Dahouk S., Tomaso H., Nöckler K., Neubauer H., Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of Brucellosis – A review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp.( Clin. Lab. 2003); 49:487-505.
3. Godfroid J., Nielsen K., Saegerman C. Diagnosis of Brucellosis in livestock and wildlife., (Croatian Medical Journal 2010); 51: 296-305
4. Audic, S, M Lescot, JM Claverie, and H Scholz *Brucella microti*: the genome sequence of an emerging pathogen.( BMC Genomics. 2009).10-352.

## SIMULADOR DE LA CORRIENTE DE SODIO REGISTRADA EN EL NODO SINUSAL DE CONEJO

Rosa María Reyes Chapero<sup>a</sup>, Uryke Mharx Cagal Caldelas<sup>a</sup>, María Eugenia Pérez Bonilla<sup>a</sup>, Arturo Reyes Lazalde<sup>a</sup> y Marleni Reyes Monreal<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Biología-BUAP, Puebla, Pue., [romarec2008@hotmail.com](mailto:romarec2008@hotmail.com), [urykemcc@gmail.com](mailto:urykemcc@gmail.com), [bonillaeugenia@gmail.com](mailto:bonillaeugenia@gmail.com), [arturoreyeslazalde@gmail.com](mailto:arturoreyeslazalde@gmail.com).

<sup>b</sup>Dirección General de Innovación Educativa-BUAP, Puebla, Pue., [marleni.reyes@yahoo.com.mx](mailto:marleni.reyes@yahoo.com.mx)

### RESUMEN:

La simulación en biología es una herramienta tecnológica que nos permite reproducir en un ordenador los procesos biológicos que se llevan a cabo en un organismo, esto es posible gracias a la resolución de ecuaciones matemáticas que se ajustan a estos, permitiendo así conocer el cómo se llevan a cabo. El objetivo de este estudio fue diseñar y desarrollar un simulador computacional que nos permita recrear y estudiar la corriente de sodio ( $I_{Na^+}$ ) que se registra y fluyen en las células cardiacas del nodo sinusal. Se utilizó el modelo matemático descrito por Yanagihara, Noma e Irisawa en 1980, en el que se describe esta corriente mediante ecuaciones diferenciales y funciones, tomando como variables: activación e inactivación de compuertas iónicas, así como su velocidad de apertura y cierre. El simulador fue desarrollado con el lenguaje Visual Basic ver. 5.0 para ambiente Windows® desde XP a Windows 8. El usuario puede realizar experimentos con la técnica fijación de voltaje. El cardiomiocito es estimulado con pulsos de voltaje.

### 1. INTRODUCCIÓN

La simulación en biología, en los últimos años, se ha convertido en una herramienta tecnológica ampliamente utilizada en el campo de la enseñanza, esto con la finalidad de enriquecer la enseñanza aprendizaje de los interesados en ciertos temas de índole biológico (potenciales de acción, presión sanguínea, etc). Lo que se pretende con esto, es simular el comportamiento de un sistema, utilizando un modelo, entendido como un medio para reproducir un fenómeno que se pretende señalar o enseñar. De esta manera los modelos se vuelven útiles para la ampliación del conocimiento y que el estudiante tenga la oportunidad de interactuar creativamente con el contenido del aprendizaje vía la "realidad simulada" [1].

En el nodo sinusal se registran corrientes iónicas ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ , etc.) que se involucran en los procesos de generación de un potencial de acción. Todas las células poseen un potencial eléctrico a través de su membrana, estos se generan por que las concentraciones iónicas del citoplasma son diferentes a las del intersticio, generando un gradiente electroquímico.

En las células marcapasos el potencial de acción se inicia con un voltaje de -60 mV, por lo que a este grado de inactividad, los canales rápidos de sodio ( $Na^+$ ) se han inactivado en su mayor parte y permanecen bloqueados a consecuencia de tener un potencial menos negativo durante más de



unos milisegundos. Las puertas de inactivación del lado interno de la membrana celular que cierran los canales rápidos de  $\text{Na}^+$ , permanecen inactivados e incapaces de transportar  $\text{Na}^+$ . Por lo que solo pueden activarse los canales lentos de  $\text{Na}^+$  y causar un lento potencial de acción [2].

Niedergerke and Orkand en 1966 [3]; Seyama, 1969 [4]; Beeler and Reuter, 1970 [5], con los resultados de sus trabajos electrofisiológicos en las fibras auriculares y ventriculares, han demostrado que la velocidad máxima de aumento de la despolarización es dependiente de la concentración extracelular de  $\text{Na}^+$ , mientras que la amplitud del potencial de acción es en gran parte dependiente de la concentración de iones de sodio y de calcio extracelular.

Noma e Irisawa en 1974 [6] realizaron trabajos para determinar la tasa máxima de aumento de la despolarización en las células de los nódulos sinusal del conejo, observaron que tanto la amplitud y la tasa máxima de aumento de la despolarización se reduce en proporción a la concentración de sodio extracelular. Se concluye que los iones de sodio son responsables de la generación de la fase inicial de los potenciales de acción de nodo sinusal, como en otras células del miocardio. Sin embargo, la cantidad de corriente iónica requiere para la generación de pico es cuantitativamente más pequeña que otras células del miocardio.

La importancia de la corriente de sodio ( $I_{\text{Na}^+}$ ) en el nodo sinusal ha sido muy debatida, porque  $I_{\text{Na}^+}$  se asume que puede llegar a ser muy pequeña o ausente [7]. Las corrientes eléctricas tienen diferentes expresiones naturales y matemáticas. Existen diversos modelos matemáticos celulares que tienen diferentes composiciones de estas corrientes en función del momento de su formulación (dependiendo de la disponibilidad de datos experimentales) y en la especificidad del conjunto problema a resolver mediante el uso de modelos matemáticos y su aproximación de simulación computacional [8].

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El simulador de la corriente de  $\text{Na}^+$  registrada en el nodo sinusal de conejo, fue desarrollado con el lenguaje Visual Basic ver. 5.0 para ambiente Windows® de XP a Windows 8. El modelo matemático que se utilizó para la descripción de esta corriente fue el descrito por Yanagihara, Noma e Irisawa en 1980 [9], las ecuaciones correspondientes son las siguientes:

$$i_{\text{Na}} = m^3 \cdot h \cdot \bar{i}_{\text{Na}}$$

$$\alpha_m = \frac{E+37}{1 - \exp(-(E+37)/10)}$$

$$\beta_m = 40 \exp(-5.6 \times 10^{-2}(E+62))$$

$$\alpha_h = 1.209 \times 10^{-3} \exp(-(E+20)/6.534)$$

$$\beta_h = \frac{1}{\exp(-(E+30)/10) + 1}$$

$$\bar{i}_{\text{Na}} = 0.5(E-30)$$

## 3. RESULTADOS

El simulador es ejecutable desde la venta principal con el nombre “Corriente de sodio. Exe” cuenta con un pequeño recuadro en la parte superior derecha, en el que el usuario puede cambiar el voltaje de fijación que se le está dando al miocito cardiaco, se observan dos recuadros uno para el registro de la corriente de sodio y el otro, para presentar el pulso del voltaje clamp. El botón de “Simular” permite realizar la simulación después de ingresar la amplitud del pulso de estímulo. Debajo, se encuentran un botón de borrar, un botón de regreso al menú y un botón para salir del simulador. De acuerdo a los datos experimentales de Yanagihara, Noma e Irisawa en 1980 [9], con un voltaje de -55 mV se logra registrar la corriente de sodio (Figura 1), notando que efectivamente la corriente de sodio es muy pequeña. Si nosotros cambiamos el voltaje de fijación, podremos observar que si damos un estímulo inferior (más negativo) la corriente tiende a disminuir (Figura 2 y Figura 3).

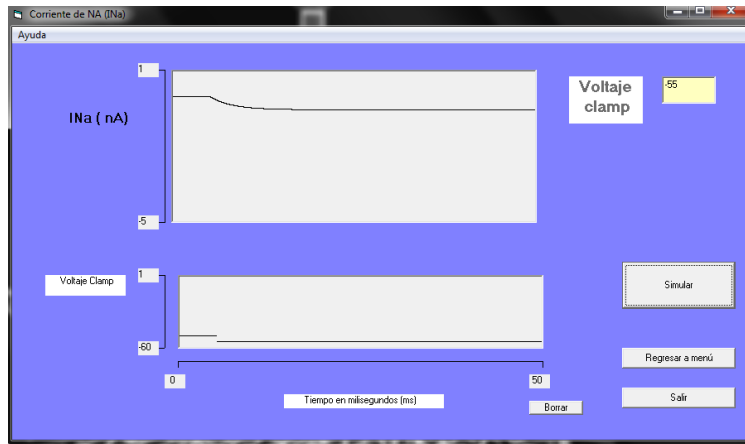


Figura 1. Trazo de la corriente de sodio con un estímulo de -55 mv, tomando como referencia los resultados de Yanagihara, Noma e Irisawa en 1980 [9].

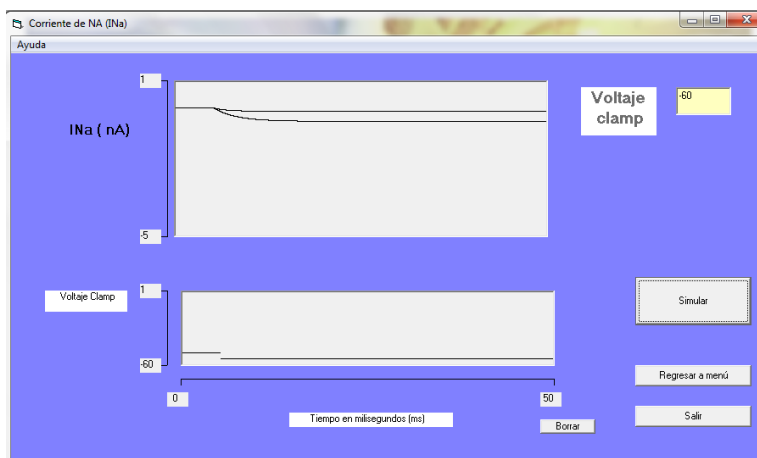


Figura 2. Trazo de la corriente de sodio con un voltaje de -60 mv. La corriente se observa más pequeña con respecto a la simulación anterior.

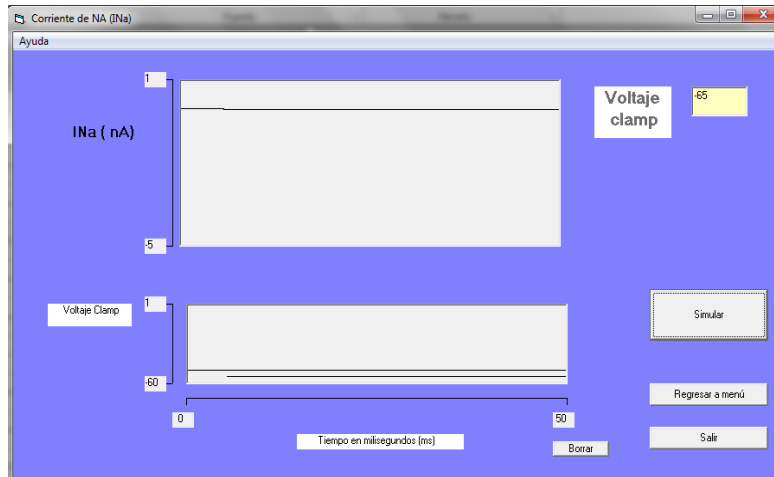


Figura 3. Trazo de la corriente de sodio con un estímulo de voltaje de  $-65$  mV. La corriente registrada aún es más pequeña.

En las figuras 4 se muestran el trazos de la corriente de sodio con voltajes menos negativos (por debajo de  $-55$  mV), se puede observar que la corriente tiende a expresarse más.

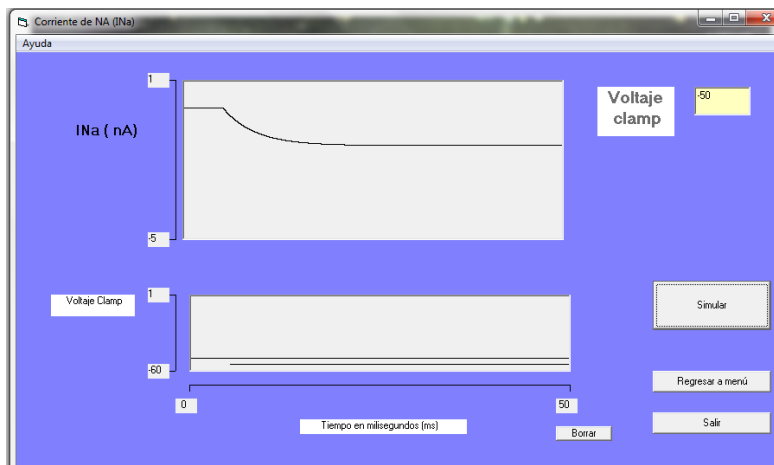


Figura 4. Trazo de la corriente de sodio con una fijación de voltaje de  $-50$  mV

#### 4. CONCLUSIONES

El simulador de la corriente de sodio registrada en el nodo sinusal, es de fácil manejo y permite al usuario dar estímulos de voltaje para ver cuál es el comportamiento electrofisiológico de las células al cambiar el voltaje de fijación. Los experimentos virtuales permiten una disminución en los costos; y en consecuencia la factibilidad de realizarlos en la licenciatura.

## BIBLIOGRAFÍA

1. L. A. Pugnali. "Los simuladores: el papel de la simulación en la ciencia", *Ciencia Hoy*, Número 5, 2008, pp. 27- 34.
2. D. E. Mohrman, L. J. Heller. "Características de las células cardíacas", en *Fisiología cardiovascular*. McGraw Hill, México, 2007, pp. 19-45.
3. R. Niederggerke, R. K. Orkand "The dependence of the action potential of the frog's heart on the external and intracellular sodium concentration". *J. Physiol.*, 184, 1966, pp. 312-334.
4. I. Seyama. "Characteristics of transient current in the atrium myocardium of the frog". *J. Physiol. Soc. Jap.*, 33, 1971, pp. 729-730.
5. G. W. Beeler, H. REUTER. "Membrane calcium current in ventricular myocardial fibres". *J. Physiol.*, 207, 1970, pp. 191-209.
6. A. Noma, H. Irisawa. "The effect of sodium ion on the initial phase of sinoatrial pacemaker action potentials in rabbits", *Jap. J. Physiol*, 25, 1974, pp. 617-632.
7. CR, Wilde AAM. "Contribution of sodium channel mutations to bradycardia and sinus node dysfunction in LQT3 families". *Circ Res.*, 2003, 92, pp. 976-83.
8. B. J. Kogan. "Currents through a cell membrane: in introduction to computational cardiology", Springer, New York, Chapter 3, pp. 33-43.
9. K. Yanagihara, A. Noma, H. Irisawa. "Reconstruction of sino-atrial node pacemaker potential based on the voltage clamp experiments", *Japanese Journal of Physiology*, 30, 1980, pp. 841-857.

## pH UN INDICADOR DEL ESTADO DE EVOLUCIÓN DE UN RELLENO SANITARIO

Ulises Uriel Guzmán<sup>a</sup>, María Patricia Domínguez Echeverría<sup>b</sup> y Ximena Barrientos Domínguez.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> UNAM, Facultad de Ingeniería, Programa de Ahorro de Energía (PAE), y Posgrado de la Facultad de Arquitectura y *campus* C.U. [uxguzman@gmail.com](mailto:uxguzman@gmail.com) [arq.barrientos@gmail.com](mailto:arq.barrientos@gmail.com)

<sup>b</sup> Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos. Calzada de Hueso # 1100 Col. Villa Quietud, C.P. 04960, México, D.F. [mpdomin@correo.xoc.uam.mx](mailto:mpdomin@correo.xoc.uam.mx)

### RESUMEN

**Introducción:** uno de los grandes problemas que enfrenta la Ciudad de México, es la disposición final de los residuos sólidos urbanos (RSU), los cuales alcanzan un promedio de 13,400 toneladas diarias. Para ello, considerando el factor económico, tanto en los costos iniciales, como en su mantenimiento, el uso del relleno sanitario, para la disposición final de los RSU, ha sido el método más utilizado. Para la Ciudad de México, el único relleno sanitario es el Bordo Poniente, localizado en terrenos del antiguo Lago de Texcoco, cuyos inicios se remontan al año 1985.

**Teoría:** desde sus inicios, en el Bordo Poniente se han llevado a cabo 4 etapas de operaciones (I a IV), cada una de las cuales ha ido ocupando mayor superficie de terreno (Has) para el relleno. De las etapas de operación del Bordo Poniente, sólo la última (la IV), ha sido operada siguiendo la normatividad estipulada, NOM-052-SEMARNAT-2005, al utilizar una macrocelda (cubierta plástica) para evitar que el lixiviado entrara en contacto con el suelo circundante.

**Metodología:** De la última etapa (IV) de operación en el Bordo Poniente desde sus inicios (1985), en Julio de 2013 (época de lluvias), *nuestro equipo colectó muestras de lixiviados de los RSU*, en 16 puntos de escurrimientos, con el objeto de determinar su pH, siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, dado que, al aumentar la alcalinidad, los metales pesados presentes podrían precipitar y sedimentarse en el suelo en forma de carbonatos e hidróxidos. Asimismo, al ser contaminantes de aguas y suelos, los lixiviados deben ser tratados para determinar su potencial contaminante.

**Conclusiones:** Los valores de pH encontrados en los 16 puntos de escurrimiento, quedaron comprendidos entre 6.1 y 8.4, lejos de los valores límite establecidos por la NOM-052-SEMARNAT-2005, los cuales caracterizan como residuo corrosivo, valores de  $\text{pH} \leq 2$  y  $\geq 12$ .

### 1. INTRODUCCIÓN

En noviembre de 1992, el Departamento del Distrito Federal, hoy Gobierno del Distrito Federal, y, la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), a través de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), elaboraron conjuntamente un convenio para el uso de terrenos federales del Lago de Texcoco para el aprovechamiento, tratamiento y disposición final de los residuos sólidos; asimismo, quedarían comprendidos el depósito de rezaga de la construcción del drenaje profundo; el control y manejo de las aguas residuales de la Ciudad de México y la construcción del arco norte del Periférico, en el tramo comprendido entre la Alameda Oriente y el Río de los Remedios (CONAGUA, 1992). En el mencionado documento, las partes involucradas declararon que en el Proyecto Ejecutivo para el

Cierre y Clausura Definitiva del relleno sanitario Bordo Poniente, IV Etapa, el GDF deberá contemplar todas las acciones necesarias para acondicionar el sitio mencionado, de manera que se integre con el paisaje de recuperación ambiental alcanzado en la zona federal del ex lago de Texcoco como área verde, independientemente de las acciones que se deban realizar en la franja de amortiguamiento del impacto ambiental que a la fecha se ha venido formando mediante la forestación.

## 2. TEORÍA

La NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-052-SEMARNAT-2005, ESTABLECE LAS CARACTERÍSTICAS, EL PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACIÓN, CLASIFICACIÓN Y LOS LISTADOS DE LOS RESIDUOS PELIGROSOS.

La vigilancia del cumplimiento de la mencionada Norma Oficial Mexicana corresponde a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, por conducto de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, cuyo personal realizará los trabajos de inspección y vigilancia que sean necesarios.

Dado que **la IV Etapa del Bordo Poniente** contempla la utilización de una *macrocela* (cubierta plástica) para evitar que el lixiviado entre en contacto con el suelo circundante, es necesaria la *vigilancia* de la norma mencionada, ya que ella define las características de un residuo peligroso (que va a ser retenido por la macrocela). Así, la norma NOM-052-SEMARNAT-2005, define, en sus numerales 7.2 a 7.7 las características de un residuo peligroso:

- 7.2) Corrosividad
- 7.3) Reactividad
- 7.4) Explosividad
- 7.5) Toxicidad Ambiental
- 7.6) Inflamabilidad
- 7.7) Biológico-Infeciosa

**7.2 Es Corrosivo** cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades: 7.2.1 Es un líquido acuoso y presenta un pH menor o igual a 2,0 o mayor o igual a 12,5 de conformidad con el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente. 7.2.2 Es un sólido que cuando se mezcla con agua destilada presenta un PH menor o igual a 2,0 o mayor o igual a 12,5 según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente. 7.2.3 Es un líquido no acuoso capaz de corroer el acero al carbón, tipo SAE 1020, a una velocidad de 6,35 milímetros o más por año a una temperatura de 328 K (55°C), según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

**7.3 Es Reactivo** cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades: 7.3.1 Es un líquido o sólido que después de ponerse en contacto con el aire se inflama en un tiempo menor a cinco minutos sin que exista una fuente externa de ignición, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente. 7.3.2 Cuando se pone en contacto con agua reacciona espontáneamente y genera gases inflamables en una cantidad mayor de 1 litro por kilogramo del residuo por hora, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente. 7.3.3 Es un residuo que en contacto con el aire y sin una fuente de energía suplementaria genera calor, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana

correspondiente. 7.3.4 Posee en su constitución cianuros o sulfuros liberables, que cuando se expone a condiciones ácidas genera gases en cantidades mayores a 250 mg de ácido cianhídrico por kg de residuo o 500 mg de ácido sulfhídrico por kg de residuo, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente.

**7.4 Es Explosivo** cuando es capaz de producir una reacción o descomposición detonante o explosiva solo o en presencia de una fuente de energía o si es calentado bajo confinamiento.

**7.5 Es Tóxico Ambiental** cuando: 7.5.1 El extracto PECT, obtenido mediante el procedimiento establecido en la NOM-053- SEMARNAT-1993, contiene cualquiera de los constituyentes tóxicos listados en la Tabla 2 de esta Norma en una concentración mayor a los límites ahí señalados, la cual deberá obtenerse según los procedimientos que se establecen en las Normas Mexicanas correspondientes.

**7.6 Es Inflamable** cuando una muestra representativa presenta cualquiera de las siguientes propiedades: 7.6.1 Es un líquido o una mezcla de líquidos que contienen sólidos en solución o suspensión que tiene un punto de inflamación inferior a 60,5°C, medido en copa cerrada, de conformidad con el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente, quedando excluidas las soluciones acuosas que contengan un porcentaje de alcohol, en volumen, menor a 24%. 7.6.2 No es líquido y es capaz de provocar fuego por fricción, absorción de humedad o cambios químicos espontáneos a 25°C, según el procedimiento que se establece en la Norma Mexicana correspondiente. 7.6.3 Es un gas que, a 20°C y una presión de 101,3 kPa, arde cuando se encuentra en una mezcla del 13% o menos por volumen de aire, o tiene un rango de inflamabilidad con aire de cuando menos 12% sin importar el límite inferior de inflamabilidad.

7.6.4 Es un gas oxidante que puede causar o contribuir más que el aire, a la combustión de otro material. 7.7 Es Biológico-Infecioso de conformidad con lo que se establece en la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, referida en el punto 4 de esta Norma.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL / METODOLOGÍA

De la última etapa (IV) de operación en el Bordo Poniente desde sus inicios (1985), en Julio de 2013 (época de lluvias), *nuestro equipo colectó muestras de lixiviados de los RSU*, en 16 puntos de escurrimientos, con el objeto de determinar su pH, siguiendo la Norma Oficial Mexicana, dado que, al aumentar la alcalinidad, los metales pesados presentes podrían precipitar y sedimentarse en el suelo en forma de carbonatos e hidróxidos. Asimismo, al ser contaminantes de aguas y suelos, los lixiviados deben ser tratados para determinar su potencial contaminante.

Para las determinaciones de pH, seguimos la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-052-SEMARNAT-2005, la cual establece las características el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

### 4. CONCLUSIONES

Los valores de pH encontrados en los 16 puntos de escurrimiento, quedaron comprendidos entre 6.1 y 8.4, lejos de los valores límite establecidos por la NOM-052-SEMARNAT-2005, los cuales caracterizan como residuo corrosivo, valores de  $\text{pH} \leq 2$  y  $\geq 12$ .

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. CONAGUA (1992). Relleno Sanitario BORDO PONIENTE IV ETAPA (1992). Obtenido del sitio web:  
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Contenido/Documentos/CONVENIO%20DE%20COORDINACION%20CIERRE%20B.%20PONIENTE%20IV%20ETAPA.pdf>
2. JICA (1999). *Estudio sobre el manejo de los residuos sólidos para la Ciudad de México de los Estados Unidos Mexicanos*, Agencia de Cooperación Internacional del Japón, México.
3. Martínez *et al* (2011). "Medición de pH y cuantificación de metales pesados en los lixiviados del relleno sanitario más grande de la zona metropolitana de la Ciudad de México. *Universidad y Ciencia, Trópico Húmedo*, México, 27 (2):121-132.
4. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-052-SEMARNAT-2005. Obtenida del sitio web:  
[http://www.inb.unam.mx/stecnica/nom052\\_semarnat.pdf](http://www.inb.unam.mx/stecnica/nom052_semarnat.pdf)
5. SMA (2009). *Inventario de Residuos sólidos del Distrito Federal (2008)*. Secretaría del Medio Ambiente del D.F., México, D.F.



## IMPORTANCIA DEL HIERRO PARA EL ENRUTAMIENTO DEL METABOLISMO DE *Clostridium acetobutylicum* ATCC824 HACIA LA PRODUCCIÓN DE BUTANOL

Victoria-Rosalía Durán-Padilla<sup>a</sup>, Norma-Angélica Chávez-Vela<sup>a</sup>, Gustavo Davila-Vazquez<sup>b</sup>, José-Raunel Tinoco-Valencia<sup>c</sup>, José-Leobardo Serrano-Carreón<sup>c</sup>, Juan Jáuregui-Rincón<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Ags., [rosaliaduran87@gmail.com](mailto:rosaliaduran87@gmail.com), [nachavez@yahoo.es](mailto:nachavez@yahoo.es), [jjaureg@correo.uaa.mx](mailto:jjaureg@correo.uaa.mx).

<sup>b</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnológica y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), Guadalajara, Jal., [gdv@ciatej.mx](mailto:gdv@ciatej.mx).

<sup>c</sup> Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México (IBT-UNAM), Cuernavaca, Mor., [runel@ibt.unam.mx](mailto:runel@ibt.unam.mx), [Leobardo@ibt.unam.mx](mailto:Leobardo@ibt.unam.mx).

### RESUMEN

El butanol es considerado un combustible líquido con potencial para remplazar a la gasolina. Es producido mediante la fermentación ABE (acetona-butanol-etanol), la cual, está seriamente limitada por los altos costos de sustrato, baja tolerancia a solventes y crecimiento lento. Otro de los problemas observados durante el desarrollo de la fermentación es la desviación de las rutas metabólicas de los microorganismos solventogénicos hacia la generación de productos no deseados, como ácidos orgánicos. Este trabajo propone el uso del suero de quesería como sustrato fermentable, evaluando el efecto de la adición de hierro sobre el metabolismo fermentativo y la producción de solventes empleando *C. acetobutylicum* ATCC 824 en fermentaciones anaeróbicas por lote en suero de leche desproteinizado, adicionado con extracto de levadura (5 g/L) y CaCO<sub>3</sub> (18 g/L); evaluando la capacidad fermentativa de la cepa bacteriana sin adición de hierro, adicionando FeSO<sub>4</sub> y adicionando FeCl<sub>3</sub> (20 mg Fe/L). La producción de solventes se analizó por cromatografía de gases. Tras 7 días de fermentación se observó que la adición de una fuente de hierro es estrictamente necesaria para que el suero de leche sea un sustrato viable, debido a que este metal es requerido para producir ferredoxina, una proteína clave en el metabolismo fermentativo de *Clostridium acetobutylicum* que funge como un aceptor de electrones temporal. La falta de hierro impide la síntesis de ferredoxina y restringe la actividad de la piruvato-ferredoxina oxidoreductasa llevando a la producción de ácido láctico, en vez de los productos deseados: acetona, etanol y butanol. Además, la adición de FeSO<sub>4</sub> mejoró la producción de butanol en un 65% (hasta alcanzar una concentración de 7.13 g/L), en comparación con lo obtenido con FeCl<sub>3</sub> en las mismas condiciones de fermentación, indicando que FeSO<sub>4</sub> es una fuente de hierro idónea para mejorar la producción de butanol bajo condiciones probadas.

### 1. INTRODUCCIÓN

El butanol es un alcohol primario constituido por 4 carbonos, es un líquido incoloro, flamable, con un olor característico, miscible en solventes orgánicos comunes y parcialmente miscible en agua (Lee et al., 2008). Hasta hoy, es considerado una mejor alternativa que el etanol como biocombustible ya que posee un mayor contenido energético, usabilidad, seguridad y es más fácil de distribuir (Niemistö et al., 2013), además es menos corrosivo y menos soluble en agua que el etanol, siendo un combustible más adecuado para las máquinas de combustión interna utilizadas actualmente en los automóviles (Cooksley et al., 2012; Dong et al., 2012). La producción biológica del butanol ocurre naturalmente en algunas especies de microorganismos, como las bacterias *Butyribacterium methylotrophicum*, *Clostridium butyricum* o la arquea *Hyperthermus butylicus*.

Sin embargo, el género más estudiado es el de *Clostridium* ya que son capaces de convertir diversas fuentes de carbono, como la glucosa, galactosa, celobiosa, manosa, xilosa y arabinosa, en combustibles y químicos como el butanol, acetona y etanol (Ezeji et al., 2007). Las cepas más usadas para la fermentación industrial acetona butanol etanol ABE) son *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium saccharobutylicum* y *Clostridium saccharobutylicum* (Dong et al., 2012).

Los sustratos convencionales de la fermentación ABE incluyen principalmente almidón y melaza de maíz, trigo y centeno. Con el fin de reducir el costo del producto final (butanol) una variedad de sustratos más baratos se han probado incluyendo: sacarosa (Tashiro y Sonomoto, 2010), biomasa lignocelulósica (Jang et al., 2012), residuos domésticos, agrícolas e industriales (Niemistö et al., 2013; Jang et al., 2012), glicerol (Jang et al., 2012; Tashiro y Sonomoto, 2010), biomasa de algas, (Jang et al., 2012), paja de trigo, fibra de maíz, suero de queso (Durán-Padilla et al., 2014; Bahl et al., 1986; Maddox, 1980;), entre otros.

La producción microbiológica de butanol mediante la fermentación ABE está seriamente limitada por los altos costos de sustrato, baja tolerancia a solventes (máximo 20 g/L), crecimiento lento y baja densidad celular viable durante la fase solventogénica (Jang et al., 2012). Estas limitaciones resultan en baja concentración final de butanol, baja productividad, bajo rendimiento y alto costo de recuperación del producto (Tashiro y Sonomoto, 2010). Otro de los problemas observados durante el desarrollo de la fermentación es la desviación de las rutas metabólicas de los microorganismos solventogénicos hacia la generación de productos no deseados, como ácidos orgánicos. Por lo anterior, este trabajo propone el uso del suero de quesería como sustrato fermentable, con la finalidad de aprovechar un desecho de la industria láctea local para generar un producto de valor agregado, enfocando los esfuerzos de la investigación en la evaluación del efecto de la adición de hierro sobre el metabolismo fermentativo y la producción de los solventes deseados empleando a *C. acetobutylicum* ATCC 824 como microorganismo fermentador.

## 2. METODOLOGÍA

Se empleó *Clostridium. acetobutylicum* ATCC 824 obtenida de la American Type Culture Collection. La cepa se cultivó anaeróbicamente a 37 ° C durante 48 h en medio para *C. acetobutylicum* descrito por Atlas (2004). Las fermentaciones fueron efectuadas en suero de leche desproteinizado pH<sub>inicial</sub> 6.5, adicionado con extracto de levadura (5 g/L) y CaCO<sub>3</sub> (18 g/L) (Napoli et al., 2008). Se evaluó la capacidad fermentativa de la cepa bacteriana empleando suero sin adición de hierro, suero adicionado con FeSO<sub>4</sub> (20 mg Fe/L) y suero adicionado con FeCl<sub>3</sub> (20 mg Fe/L). Todas las fermentaciones se efectuaron por lote a 37 °C/7 días en agitación orbital a 125 rpm, bajo condiciones anaeróbicas. La producción de solventes y ácidos se analizó en cromatógrafo de gases HP 6890 series equipado con un detector de ionización en flama y columna capilar HP-Innowax 19091N-133 de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y una película de 0.25 µm (Agilent J&W GC Columns ®). Para el análisis de datos se desarrollaron ANOVA y pruebas de rangos múltiples en STATGRAPHICS Centurión XVI®.

## 3. RESULTADOS

Tras 7 días (168 h) de fermentación por lote se registraron las concentraciones de productos en las fermentaciones, se cuantificaron los solventes totales producidos, se determinó el consumo de lactosa y se calcularon rendimientos y proporciones de solventes obtenidos bajo cada una de las condiciones probadas (Tabla 1). El ANOVA univariado para la producción de butanol, el principal solvente, indicó diferencia estadísticamente significativa para la producción de biobutanol entre las tres condiciones estudiadas ( $p < 0.001$ ). El ANOVA univariado para la producción de solventes totales indicó diferencia estadísticamente significativa entre las fermentaciones adicionadas con hierro y las no adicionadas ( $p < 0.005$ ).

Las fermentaciones empleando suero de quesería suplementados con hierro (FeSO<sub>4</sub> y FeCl<sub>3</sub>) mostraron el comportamiento de dos etapas de fermentación, típico de la fermentación ABE. En la primera etapa, que dura aproximadamente 48 h, se da el consumo de la lactosa y los ácidos acético y butírico se producen reduciendo el pH del medio de cultivo hasta que se vuelve sustancialmente constante alrededor de un valor de 5. Entre las 48 y 60 h de fermentación

comienza la segunda etapa, caracterizada por la disminución del consumo de lactosa y la promoción de re-asimilación de ácidos en los solventes deseados: acetona, butanol y etanol, hasta alcanzar una concentración máxima de solventes después de 168 h de fermentación.

**Tabla 1. Desempeño fermentativo (168 h)**

Producto	Sin Hierro	FeSO <sub>4</sub>	FeCl <sub>3</sub>
Acetato (g/L)	2.61 ± 0.34	0.972 ± 0.08	1.44 ± 0.28
Butirato (g/L)	1.70 ± 0.53	0.650 ± 0.12	1.27 ± 0.35
Lactato (g/L)	5.49 ± 0.69	No detectado	No detectado
Acetona (g/L)	0.04 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.00
Butanol (g/L)	0.06 ± 0.10	7.13 ± 1.53	4.32 ± 0.94
Etanol (g/L)	1.20 ± 0.10	5.11 ± 1.65	3.46 ± 1.37
Solventes totales (g/L)	1.30 ± 0.21	12.24 ± 3.18	7.78 ± 2.30
Consumo de lactosa(%)	56.24 ± 0.65	52.28 ± 0.62	53.80 ± 0.60
Rendimiento (g <sub>p</sub> /g <sub>s</sub> )	0.04 ± 0.01	0.42 ± 0.10	0.25 ± 0.07
Proporción A:B:E	0.31:0.46:9.23	0.0:5.87:4.13	0.0:5.61:4.39

Por otra parte, las fermentaciones efectuadas en suero de quesería que no ha sido correctamente suplementado no muestran el comportamiento de dos fases típico de la fermentación ABE. Tiene lugar el consumo de lactosa pero generan cantidades de ácido acético y butírico notablemente bajas, en cambio, se producen cantidades sustanciales de ácido láctico. No tiene lugar la re-asimilación de ácidos, pero se registra producción de etanol.

#### 4. DISCUSIÓN

Estudios previos caracterizan al permeado de suero de quesería como un sustrato que puede ser utilizado para la fermentación ABE. Se ha estudiado el efecto específico de la administración de suplementos nutricionales o limitación de la actividad fermentativa de clostridios, incluyendo: hierro (Peguín y Soucaille, 1995; Bahl et al., 1986), fosfato (Bahl et al., 1986), CO, sustitutos de ferredoxina (Peguín y Soucaille, 1995), flavonoides, reducción de cofactores (Li et al., 2014), entre otros. Sin embargo, las condiciones de fermentación y los requisitos nutricionales para el óptimo uso de suero de quesería no han sido completamente aclarados y se requería de un trabajo más amplio. Este estudio evaluó la adecuación del uso de suero de queso como caldo de fermentación para la producción de ABE haciendo hincapié en cubrir las necesidades nutricionales de *C. acetobutylicum*, especialmente la administración de suplementos de hierro, para el enrutamiento metabólico hacia la producción de los solventes deseados.

*C. acetobutylicum* tiene la capacidad de descomponer la lactosa hidrolizándola en glucosa y galactosa que después se metaboliza por la vía Embden Meyerhof (EMP) para generar piruvato, entonces el piruvato tiene que ser oxidado para producir acetil CoA que desempeña un papel central en el metabolismo de *C. acetobutylicum* ya que sirve como un precursor para la generación de todos los productos deseados. La oxidación de piruvato se produce en una reacción que está acoplada a la reducción de ferredoxina, utilizando hidrógeno como aceptor final de electrones. Se requiere de hierro suficiente para producir suficiente ferredoxina para completar esta oxidación (Lee et al., 2008). En un entorno deficiente de hierro la formación de hidrógeno molecular no tiene lugar y el metabolismo cambia de piruvato a lactato en lugar de producir acetil CoA (Gheshlaghi et al., 2009). Bahl et al. (1986) indican que limitando la cantidad de hierro en el caldo de cultivo se ayuda a aumentar la proporción de butanol/acetona producida (de 2: 1 a 8:1); los iones ferrosos permitieron que el efecto fuera más drástico. Sin embargo, en condiciones de hierro-limitado el lactato se convierte en el principal producto, en lugar de producir acetato y butirato, afectando negativamente a la concentración final, el rendimiento y la productividad del butanol. Aumentar la proporción butanol/acetona podría facilitar los procesos de recuperación y purificación del producto, pero por la disminución de la cantidad de butanol producido la limitación del hierro resulta contraproducente. Por otra parte, Peguín y Soucaille (1995) sugieren limitar el hierro disponible en caldos de cultivo a base de glucosa, utilizando *C. acetobutylicum* ATCC 824, ayuda a modular los

flujos de carbono y electrones. Para obtener resultados deseables de fermentación un compuesto (viológeno de metilo) que reemplaza las funciones de ferredoxina debe ser proporcionada a los medios de cultivo, debido a la ferredoxina no podía ser sintetizada correctamente debido a la deficiencia de hierro. Al limitar la cantidad de hierro presente la actividad de la deshidrogenasa se afecta limitando la conversión de acetil-CoA en  $\beta$ -hidroxibutirato. Estos autores reportaron que el viológeno de metilo es un mejor sustrato para la ferredoxina-NAD (P) + reductasa que incluso la propia ferredoxina, ya que crea una cadena de transporte de electrones artificial. Ambos efectos: reducción de la actividad deshidrogenasa y aumentan ferredoxina-NAD (P) + reductasa hacen posible obtener mayores rendimientos de butanol que los obtenidos con la fermentación normal ABE, alcanzando una concentración máxima butanol 13 g/L. Sin embargo, la adición de viológeno de metilo causa un alargamiento de la fase lag de crecimiento lo que afecta directamente la productividad de la fermentación. Aumentar la producción de alcoholes mediante la limitación de hierro puede sonar favorable, pero, el tener la necesidad de complementar compuestos que pueden servir como aceptores de electrones para evitar la formación de lactato puede ser más costoso para el proceso y más problemático para la recuperación de productos.

En el presente trabajo se demuestra que adicionando cantidades adecuadas de hierro (20 mg/L) se pueden lograr mejoras en la producción de butanol favoreciendo el comportamiento normal deseado de las vías fermentativas de *C. acetobutylicum*. Los resultados muestran que el suero complementado adecuadamente, puede servir como un buen sustrato para la fermentación ABE. El suero de queso es un sustrato de bajo costo disponible y ampliamente producido que requiere poco tratamiento previo para servir como sustrato de fermentación por lo que es más barato que otros sustratos utilizados como los materiales lignocelulósicos, la biomasa de algas o diferentes residuos industriales y domésticos. Además la lactosa presente en el suero de quesería tiende a favorecer la producción de butanol sobre acetona; una mejora de las condiciones de fermentación para utilizar plenamente la lactosa en el suero de leche podría llevar a la fermentación ABE a la competitividad económica.

#### 4. CONCLUSIONES

*Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 tiene la capacidad de asimilar los azúcares presentes en el suero de quesería y metabolizarlos para generar acetona, etanol y butanol a concentraciones de hasta  $12.24 \pm 3.18$  g/L para solventes totales, de los cuales  $7.13 \pm 1.53$  g/L corresponden al butanol. El suero de quesería es un sustrato viable para la fermentación ABE, siempre y cuando sea adecuadamente preparado y suplementado. La adición de una fuente de hierro es estrictamente necesaria para el suero sea un sustrato viable ya que la falta de éste impide la síntesis de ferredoxina y restringe la actividad de la ferredoxina-piruvato oxidorreductasa, lo que conduce a la producción de ácido láctico en lugar de los deseados solventes ABE. La adición de una fuente de hierro acompañada con azufre ( $\text{FeSO}_4$ ) mejora la producción de butanol en un 65 % en comparación con lo obtenido al emplear una fuente de hierro con distinto estado de oxidación y sin azufre ( $\text{FeCl}_3$ ) bajo las mismas condiciones de fermentación. Adicionalmente emplear suero de quesería favorece el incremento en la producción de butanol sobre la acetona lo que se refleja en un incremento en el rendimiento del producto.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Atlas, R. M. (2004). *Handbook of Microbiological Media* (L. Parks Ed. Third ed. Vol. 1). USA: CRC Press.
2. Bahl, H., Gottwald, M., Kuhn, A., Rale, V., Andersch, W., y Gottschalk, G. (1986). Nutritional Factors Affecting the Ratio of Solvents Produced by *Clostridium acetobutylicum*. *Appl Environ Microbiol*, 52(1), 169-172.

3. Cooksley, C. M., Zhang, Y., Wang, H., Redl, S., Winzer, K., y Minton, N. P. (2012). Targeted mutagenesis of the *Clostridium acetobutylicum* acetone–butanol–ethanol fermentation pathway. *Metabolic Engineering*, 14(6), 630-641.
4. Dong, H., Tao, W., Dai, Z., Yang, L., Gong, F., Zhang, Y., y Li, Y. (2012). Biobutanol. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 128, 85-100.
5. Durán-Padilla, V. R., Davila-Vazquez, G., Chávez-Vela, N. A., Tinoco-Valencia, J. R., y Jáuregui-Rincón, J. (2014). Iron effect on the fermentative metabolism of *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 using cheese whey as substrate. *Biofuel Research Journal*, 1(4), 129-133.
6. Ezeji, T. C., Qureshi, N., y Blaschek, H. P. (2007). Bioproduction of butanol from biomass: from genes to bioreactors. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(3), 220-227.
7. Gheshlaghi, R., Scharer, J. M., Moo-Young, M., y Chou, C. P. (2009). Metabolic pathways of clostridia for producing butanol. *Biotechnology Advances*, 27(6), 764-781.
8. Jang, Y.-S., Malaviya, A., Cho, C., Lee, J., y Lee, S. Y. (2012). Butanol production from renewable biomass by clostridia. *Bioresource Technology*, 123(0), 653-663.
9. Lee, S. Y., Park, J. H., Jang, S. H., Nielsen, L. K., Kim, J., y Jung, K. S. (2008). Fermentative butanol production by clostridia *Biotechnology and Bioengineering* Volume 101, Issue 2. *Biotechnology and Bioengineering*, 101(2), 209-228.
10. Li, T., Yan, Y., y He, J. (2014). Reducing cofactors contribute to the increase of butanol production by a wild-type *Clostridium* sp. strain BOH3. *Bioresource Technology*, 155(0), 220-228.
11. Maddox, I. S. (1980). Production of n-butanol from whey filtrate using *Clostridium acetobutylicum* N.C.I.B. 2951. *Biotechnology Letters*, 2(11), 493-498.
12. Napoli, F., Olivieri, G., Marzocchella, A., y Salatino, P. (2008). *Assessment of Kinetics for Butanol Production by Clostridium acetobutylicum*. Paper presented at the Industrial Biotechnology International Conference, Italy.
13. Niemistö, J., Saavalainen, P., Isomäki, R., Kolli, T., Huuhtanen, M., y Keiski, R. L. (2013). Biobutanol Production from Biomass. In V. K. Gupta y M. G. Tuohy (Eds.), *Biofuel Technologies* (pp. 443-470): Springer Berlin Heidelberg.
14. Peguin, S., y Soucaille, P. (1995). Modulation of Carbon and Electron Flow in *Clostridium acetobutylicum* by Iron Limitation and Methyl Viologen Addition. *Appl Environ Microbiol*, 61(1), 403-405.
15. Tashiro, Y., y Sonomoto, K. (2010). Advances in butanol production by clostridia. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Technology*, 2, 1383-1394.



# ESTUDIO DE LA AFECTACIÓN DEL DICROMATO POTÁSICO SOBRE FITOPLANCTON (CHLOROPHYTA Y CYANOBACTERIA) DE ECOSISTEMAS ACUÁTICOS DULCES

Alondra Alelie Cortés Téllez<sup>a</sup>, María Carmen Bartolomé Camacho<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Químico-Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, [carbarcam@hotmail.com](mailto:carbarcam@hotmail.com), [aact886@hotmail.com](mailto:aact886@hotmail.com)

## RESUMEN

En el presente estudio se han ensayado bajo condiciones de laboratorio, diferencias en el comportamiento de dos especies fitoplanctónicas de agua dulce (*Dyctiosphaerium chlorelloides* y *Microcystis aeruginosa*) cuando son expuestas a estrés por el metal dicromato potásico ( $K_2Cr_2O_7$ ) sustancia de referencia en ensayos de toxicidad en comunidad y de forma individual. Los bioensayos fueron evaluados a través de matrices de fluorescencia sobre ambas cepas cultivadas en laboratorio. Estos cultivos fueron expuestos a  $10mgL^{-1}$  del agente que corresponde aproximadamente la  $IC_{50(72)}$  según ensayos previos. Para determinar los niveles de clorofila en el alga verde se aplicaron ensayos de fluorescencia con filtros de 485-670nm de excitación-emisión, mientras que los ficobilipigmentos de la cianobacteria fueron expuestos en evidencia mediante fluorescencia utilizando filtros de 590-670nm de excitación-emisión respectivamente.

Bajo estas condiciones, el parámetro malthusiano de eficacia biológica (m) de ambas cepas cultivadas por 4 días individualmente y en comunidad ha sido estudiado. Los resultados demuestran que ambas especies se comportan de manera contraria, ya que *Dyctiosphaerium chlorelloides* evidenció mayor estrés cuando se encuentra en comunidad, no obstante la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* soporta mejor la exposición al  $K_2Cr_2O_7$  bajo estas condiciones de existencia en comunidad fitoplanctónica. Hecho alarmante por las biotoxinas de la cianobacteria ya que son peligrosas para la salud pública.

**Palabras clave:** *Dyctiosphaerium chlorelloides*, *Microcystis aeruginosa*, fluorescencia, parámetro malthusiano

## INTRODUCCIÓN

En el ecosistema acuático las algas no se encuentran de forma aislada, sino que forman parte de comunidades complejas de distintas especies de microalgas denominadas "Comunidades Fitoplanctónicas" (Franklin, et al., 2004). Cuando existe un estrés ya sea biótico o abiótico en el ecosistema se produce una acumulación de fitoplancton, por consecuencia se generan floraciones microalgales denominadas "blooms", algunas de ellas nocivas. Muchas especies fitoplanctónicas son formadores de blooms competentes, siendo las cianobacterias (microalgas verde-azules procariontas) las de mayor floración (Lüring & Roessink, 2006). Así estas floraciones de cianobacterias pueden competir por los nutrientes disponibles con otros miembros del fitoplancton, o producir compuestos bioactivos (cianotoxinas) que son tóxicos y representan una amenaza para la salud pública.

Pueden, además, causar turbidez; hipoxia, anoxia y muerte de peces, y en general, alteraciones en la cadena trófica del sistema acuático (Franklin, et al., 2004; Paerl & Huisman, 2009). La ocurrencia de estas floraciones está determinada por varios factores ambientales tales como nutrientes, temperatura, pH, radiación, depredación por el zooplancton, etc. (Hyenstrand, et al., 1998). De hecho las cianobacterias dominan la comunidad del fitoplancton durante los periodos más cálidos en las regiones templadas y cuando existe una alta concentración de contaminantes como metales

presentes en la columna de agua (Lürling, et al., 2013). Existe una gran cantidad de estudios sobre la toxicidad de metales en microalgas mediante bioensayos sobre una sola especie.

Estos estudios suelen analizar los efectos de los metales pesados en microalgas y, de forma indirecta, sus efectos sobre los ecosistemas acuáticos (Sánchez-Fortún, et al., 2009). Sin embargo, no permiten detectar que efectos pudieran presentarse en las interacciones en la comunidad fitoplanctónica alga-alga ya que tales blooms de cianobacterias, también pueden generar alteraciones sobre el crecimiento y reproducción de otros miembros de la comunidad fitoplanctónica, como las microalgas verdes o bien, generar mayor sensibilidad a las sustancias tóxicas que la misma concentración del xenobiótico sobre una especie de microalga de manera individual (Franklin, et al., 2004; Yu, et al., 2007; Gregor, et al., 2008). Entre los metales tóxicos para la vida acuática se destaca al cromo, debido a su amplio uso en los procesos industriales, grandes cantidades de compuestos de cromo se descargan en el medio y aunque el cromo puede existir en todos los estados de oxidación de 0 a VI, el cromo trivalente (III) y hexavalente (VI) son los más prevalentes (D'ors, et al., 2010). El Cr(VI) se considera que es la forma más tóxica del cromo, generalmente se encuentra asociado con oxígeno formando oxi-aniones como el cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) o dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) (Dilek, et al., 2010).

En el presente trabajo se han aprovechado las diferencias pigmentarias del alga verde *Dyctiosphaerium chlorelloides*, abundante Chlorophyta de distribución mundial utilizada ampliamente en los estudios de ecología evolutiva con algas (Sánchez-Fortún, et al., 2009); y de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*, organismo procariótico cosmopolita y muy común en las regiones templadas y tropicales; para estudiar, bajo condiciones de laboratorio, diferencias de comportamiento de ambas especies cuando son expuestas a estrés por dicromato potásico ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), de forma individual o en comunidad fitoplanctónica a través de fluorescencia.

## TEORÍA

La exposición de dicromato potásico o de cualquier xenobiótico sobre comunidades fitoplanctónicas de ecosistemas acuáticos dulces, generan diferencias sobre la tasa de crecimiento poblacional tanto en cultivo individual como en comunidad de la clorofita *Dictyosphaerium chlorelloides* y de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*

Así, el objetivo del presente trabajo fue la determinación del efecto sobre las diferencias en las tasas de crecimiento del alga verde *Dyctiosphaerium chlorelloides* y de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* por exposición al dicromato de potasio de manera individual y en comunidad fitoplanctónica a través de las diferencias pigmentarias de las microalgas por la fluorescencia emitida de ambas algas.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Sustancia testada*

La sustancia de ensayo utilizada fue el dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA). Se realizó dilución del agente en agua destilada para la obtención de una concentración de  $10\text{mg L}^{-1}$  que corresponde a la  $\text{Cl}_{50(72)}$  según ensayos previos por Sánchez-Fortún, et al., (2009) y D'ors, et al., (2010).

### *Material biológico*

El alga verde *Dyctiosphaerium chlorelloides* y la cianobacteria *Microcystis aeruginosa*, fueron obtenidas de la colección de cultivos de algas de la Unidad de Genética de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Las células se mantuvieron en cultivo axénico a  $21\text{ }^\circ\text{C}$  y periodo de luz-oscuridad de 16:8 a una intensidad de  $60\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ , en



matraces de cultivo (Greiner; Bio-One; GmbH, Germany), con 20 ml de medio de cultivo BG-11 (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA).

#### *Ensayos de inhibición de tasa de crecimiento*

Para estudiar el efecto inhibitorio exhibido por el  $K_2Cr_2O_7$  sobre ambas poblaciones, con tubos de doble cierre estériles y de poliestireno (Sarstedt, AG & Co. Germany) se establecieron 3 sets, correspondiendo dos a exposiciones individuales sobre cada una de las especies y uno con ambas conviviendo en el mismo tubo.

En cada uno de los sets se incluía un tubo control y cuatro tubos ensayo. Inicialmente, en cada tubo se incluyó una concentración de  $10^5$  cel  $ml^{-1}$  en volumen total de 10 ml, de una sola especie en los sets 1 y 2, y de ambas especies en el set 3 como representante de la comunidad fitoplanctónica en el ensayo. Las células de ambas especies se obtenían de los cultivos madre, y la concentración se ajustaba por recuento sobre cámara de Neubauer (BlauBrand, GmbH + CO KG, Germany) en microscopio óptico (Zeiss, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany). Los tres sets fueron expuestos al equivalente de la concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ) de  $K_2Cr_2O_7$ , que en ensayos previos había sido calculada en  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Tubos control y tubos expuestos al tóxico fueron mantenidos durante todo el ensayo a  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  e iluminación en ciclo 16:8 de luz-oscuridad. A tiempos 0, 24, 48, 72 y 96 horas se midió la fluorescencia emitida por cada uno de los tubos, mediante un lector de placas Tecan Genios (Tecan Group Ltd., Switzerland).

Para determinar la emisión exhibida por la clorofila del alga verde *D. chlorelloides*, se aplicaron filtros de excitación-emisión de 485-670 nm, respectivamente; mientras que la fluorescencia relacionada con los ficobilipigmentos de la cianobacteria *M. aeruginosa* se obtuvo con filtros de excitación-emisión de 590-670 nm, respectivamente. Mediante el estudio de la variación en cada caso de las unidades de fluorescencia se determinó el parámetro maltusiano de eficacia biológica ( $m$ ) de ambas cepas, cultivadas durante 4 días individualmente y en comunidad ():

**Ecuación 1.** Parámetro Maltusiano de eficacia biológica

$$m_t = Ln \frac{N_t/N_0}{t}$$

Dónde,  $m_t$  es el parámetro Maltusiano de eficacia biológica, es decir, la tasa de crecimiento máximo de ambas cepas expuestas de forma individual y en combinación al dicromato potásico;  $N_t$  corresponde al número de células al final del ensayo, y  $N_0$  corresponde al número de células al inicio del ensayo tanto de forma individual como en comunidad fitoplanctónica; y  $t$  corresponde al tiempo expresado en días.

#### *Análisis de datos*

Cada ensayo fue repetido cuatro veces ( $n=4$ ), y de ellas se obtuvieron la media y desviación estándar. Las diferencias estadísticas fueron obtenidas aplicando la  $t$  de Student y posterior análisis de varianza ANOVA, considerando un grado de significación  $p<0.05$ . La comparación múltiple se practicó mediante el test de Bonferroni. Los cálculos estadísticos fueron realizados mediante el paquete estadístico Graphpad Prism v5.0 (Graph-Pad Software Inc., USA).

## **RESULTADOS**

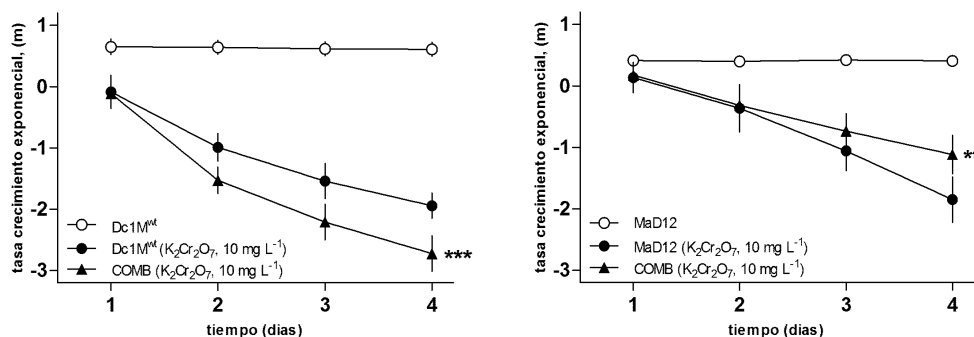
Los resultados de tasa de crecimiento exponencial ( $m$ ), obtenidos en exposiciones a  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $K_2Cr_2O_7$  durante cuatro días sobre ambas poblaciones, tanto de forma individual como en comunidad fitoplanctónica, se presentan en la Tabla 1. En ambos casos, los valores  $m$  indican que tanto Dc1M<sup>wt</sup> como MaD12 disminuyen significativamente su tasa de crecimiento cuando se

cultivan de forma aislada, llegando a obtenerse valores  $m$  de  $-1.94 \pm 0.20$  y  $-1.85 \pm 0.37$  a los cuatro días de exposición, respectivamente. En comunidad fitoplanctónica, la tasa de crecimiento exponencial disminuyó hasta  $-2.72 \pm 0.29$  en las poblaciones de *Dc1M<sup>wt</sup>*, y sin embargo aumentó en las poblaciones de *MaD12* hasta  $-1.12 \pm 0.31$ .

**Tabla 1.** Valores del parámetro maltusiano de eficacia biológica ( $m$ ) obtenidos en ensayos control (C) y con exposición a  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  durante 4 días, sobre poblaciones de *D. chlorelloides* *Dc1M<sup>wt</sup>* y *M. aeruginosa* (*MaD12*) cultivadas de forma aislada (A) o ambas en comunidad fitoplanctónica (COMBO). Cada valor corresponde a la  $\mu \pm \sigma$  de cuatro ensayos ( $n=4$ ), expresados como tasa de crecimiento exponencial ( $m$ ).

T (días)	n	TASA DE CRECIMIENTO EXPONENCIAL (m)					
		<i>D. chlorelloides</i> ( <i>Dc1M<sup>wt</sup></i> )			<i>M. aeruginosa</i> ( <i>MaD12</i> )		
		C	A	COMBO	C	A	COMBO
1	4	0,65±0,13	-0,09±0,27	-0,11±0,21	0,41±0,17	0,14±0,25	0,18±0,11
2	4	0,64±0,11	-0,99±0,23	-1,53±0,21	0,40±0,15	-0,36±0,38	-0,32±0,27
3	4	0,62±0,12	-1,54±0,29	-2,21±0,29	0,42±0,13	-1,06±0,32	-0,74±0,28
4	4	0,61±0,11	-1,94±0,20	-2,72±0,29	0,41±0,13	-1,85±0,37	-1,12±0,31

La comparación entre los ensayos control, exposiciones sobre poblaciones aisladas y exposiciones sobre comunidades fitoplanctónicas, queda representado en las siguientes Fig. 1 y 2.



**Figura 1 y 2.** (A) Comparación de ensayos control, exposiciones de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en poblaciones aisladas de *Dc1M<sup>wt</sup>* y sobre comunidad fitoplanctónica *Dc1M<sup>wt</sup>* vs. *MaD12*; (B) Ensayos control y exposiciones de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  sobre cepas aisladas de *MaD12* y sobre comunidad fitoplanctónica

El análisis de varianza (ANOVA) revela que en ambos colectivos existen diferencias estadísticamente significativas entre las curvas representadas. Acotando dicho análisis entre comunidades aisladas y en comunidad, los ensayos sobre *Dc1M<sup>wt</sup>* revela que el descenso de los valores  $m$  es superior en comunidad con *MaD12* que aislada, mientras que ocurre lo contrario cuando se analiza el efecto sobre la población de cianobacterias.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican, que el comportamiento de ambas especies estudiadas, clorofita y cianobacteria, queda modificado cuando se enfrentan a estrés abiótico en comunidad

fitoplanctónica respecto a su comportamiento cuando están de forma individual. Bajo estas circunstancias, la cianobacteria resiste mejor dicho estrés, lo que supone un incremento del riesgo toxicológico dado su capacidad para producir toxinas peligrosas para el ecosistema acuático y la salud humana.

## BIBLIOGRAFÍA

- Dilek, Ü., O., N. & Atakan, S., 2010. Effects of Chromium VI stress on green alga *Ulva lactuca* (L.). *Turk J Biol*, Volumen 34, pp. 119-124.
- D'ors, A. y otros, 2010. Toxic effects and specific chromium acquired resistance in selected strains of *Dictyosphaerium chlorelloides*. *Chemosphere*, 81(2), pp. 282-287.
- Franklin, N. M., Stauber, J. & Lim, R. P., 2004. Development of multispecies algal bioassays using flow cytometry. *Environmental toxicology and chemistry*, 23(6), p. 1452-1462.
- Gregor, J., Jancula, D. & Marsálek, B., 2008. Growth assays with mixed cultures of cyanobacteria and algae assessed by in vivo fluorescence: One step closer to real ecosystems?. *Chemosphere*, 70(10), pp. 1873-1878.
- Hyenstrand, P., Blomqvist, P. & Petterson, A., 1998. Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems: A literature review. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Adv. Limnol.*, Volumen 51, pp. 41-62.
- Lürling, M. y otros, 2013. Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures: *Temperature and phytoplankton growth rates*. *Freshwater Biology*, 58(3), pp. 552-559.
- Lürling, M. & Roessink, I., 2006. On the way to cyanobacterial blooms: Impact of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a cyanobacterium (*Microcystis*). *Chemosphere*, 65(4), pp. 618-626.
- Paerl, H. & Huisman, J., 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, 1(1), pp. 27-37.
- Sánchez-Fortún, S. y otros, 2009. Toxicity and adaptation of *Dictyosphaerium chlorelloides* to extreme chromium contamination. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(9), p. 1901-1905.
- Yu, Y. y otros, 2007. Determination of short-term copper toxicity in a multispecies microalgal population using flow cytometry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(1), pp. 49-56.

## DESCOMPOSICIÓN DE 2-PROPANOL SOBRE ÓXIDO DE CIRCONIO MODIFICADO CON BORO Y TRATADO TÉRMICAMENTE A DIFERENTES TEMPERATURAS

María Isabel Arregoitia Quezada<sup>a</sup>, Ricardo García Alamilla<sup>a</sup>, José Guillermo Sandoval Robles<sup>a</sup>, Sergio Robles Andrade<sup>a</sup>, José Luis Rivera Armenta<sup>a</sup>, Luz Arcelia García Serrano<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación en Petroquímica Secundaria del Instituto Tecnológico de Ciudad Madero. arregoitia\_12@yahoo.com.mx, ricardogarcia.alamilla@yahoo.com.mx

<sup>b</sup>Centro de Investigación en Estudios Medioambientales y Desarrollo del Instituto Politécnico Nacional.

### RESUMEN

El hidróxido de circonio se sintetizó vía sol-gel y se impregnó con una solución acuosa de ácido bórico para introducir 3.7% peso teórico de boro en el óxido de circonio. La preparación de los materiales modificados se efectuó por medio de agitación en un baño ultrasónico. Los hidróxidos de circonio puros y modificados con boro fueron sometidos a diferentes temperaturas de calcinación: 550, 650 y 750°C, con el objetivo de estudiar la influencia de este parámetro de síntesis sobre la actividad catalítica de los materiales en la descomposición de 2-propanol. Los materiales obtenidos se identificaron como: Z550, Z650 y Z750, para los óxidos puros; y ZB550, ZB650 y ZB750, para los óxidos modificados. En relación a los óxidos de circonio puros se observó que, al incrementarse la temperatura de calcinación, las bandas del espectro de infrarrojo situadas en la región de 750-400  $\text{cm}^{-1}$  se redefinieron en nuevos mínimos, estas bandas caracterizan al óxido de circonio cristalino. Los espectros correspondientes a los óxidos modificados también mostraron cambios por efecto de la temperatura de calcinación, en la región de 1500 a 900  $\text{cm}^{-1}$  se observaron señales atribuidas a estiramientos de enlaces boro-oxígeno. En el material ZB550 las señales indicaron la presencia de especies trigonales (1363  $\text{cm}^{-1}$ ) y tetraédricas (998  $\text{cm}^{-1}$ ); mientras que en los materiales ZB650 y ZB750 sólo están presentes especies trigonales (1453 y 1196  $\text{cm}^{-1}$ ). La descomposición de 2-propanol se llevó a cabo a 220°C. Los resultados confirmaron el carácter predominantemente ácido de los materiales ZB550, ZB650 y ZB750, puesto que catalizaron la reacción vía deshidratación, obteniéndose únicamente propileno, con valores de conversión de 100, 100 y 90%, respectivamente. Los óxidos Z550, Z650 y Z750 mostraron un desempeño inferior a sus homólogos modificados con boro, obteniéndose conversiones menores al 5%.

### 1. INTRODUCCIÓN

El óxido de circonio ( $\text{ZrO}_2$ ) es un cerámico muy importante industrialmente y es usado en aplicaciones estructurales debido a su alta resistencia. Por otra parte, el  $\text{ZrO}_2$  es un material de enorme interés en catálisis heterogénea debido a sus propiedades fisicoquímicas. El procedimiento de síntesis y el subsecuente tratamiento térmico presentan influencia sobre las propiedades finales del  $\text{ZrO}_2$  [1,2]. Además, la adición de diferentes oxoaniones puede incrementar su acidez, siendo la modificación con iones sulfato un ejemplo extensamente estudiado, por lo que se conoce el efecto de diversos parámetros de preparación, siendo la temperatura de calcinación uno de los factores de interés [3,4]. En este trabajo se realizó la síntesis de óxido de circonio modificado con boro, explorando la influencia de la temperatura de calcinación en su desempeño catalítico en la descomposición del 2-propanol. La conversión de alcoholes proporciona información relevante con relación a las propiedades ácido-base de catalizadores [5,6].

Los productos de esta reacción vía deshidratación pueden emplearse como aditivos para combustibles (éteres) y/o constituir la materia prima hacia la síntesis de otros hidrocarburos (olefinas).

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

La síntesis del precursor del  $ZrO_2$  se llevó a cabo mediante la hidrólisis de n-butóxido de circonio IV disuelto en 1-butanol. El hidróxido obtenido se calcinó 3 horas en atmósfera dinámica de aire a 550, 650 y 750°C para así obtener los óxidos puros denominados Z550, Z650 y Z750. Por otra parte, una porción del hidróxido de circonio se impregnó con una solución acuosa de ácido bórico, con la finalidad de depositar 3.7% peso teórico de boro en el soporte; la impregnación se realizó usando agitación asistida en un baño de ultrasonido y el polvo modificado fue calcinado bajo las mismas condiciones que sus homólogos puros, obteniéndose los óxidos modificados asignados como ZB550, ZB650 y ZB750.

La técnica de espectroscopia infrarroja se utilizó para caracterizar a los materiales preparados usando pastillas de bromuro de potasio conteniendo la muestra a analizar. El equipo empleado fue un espectrómetro de transformada de Fourier marca Perkin Elmer modelo Spectrum 100, con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  y 16 escaneos.

Las reacciones de descomposición de 2-propanol se llevaron a cabo a 220°C y presión atmosférica, usando 100 mg de catalizador y un flujo de gas de arrastre ( $N_2$ ) de 40 mL/min. El análisis de los productos se efectuó en línea acoplado a la instalación de microactividad un cromatógrafo de gases Varian 3400-FID.

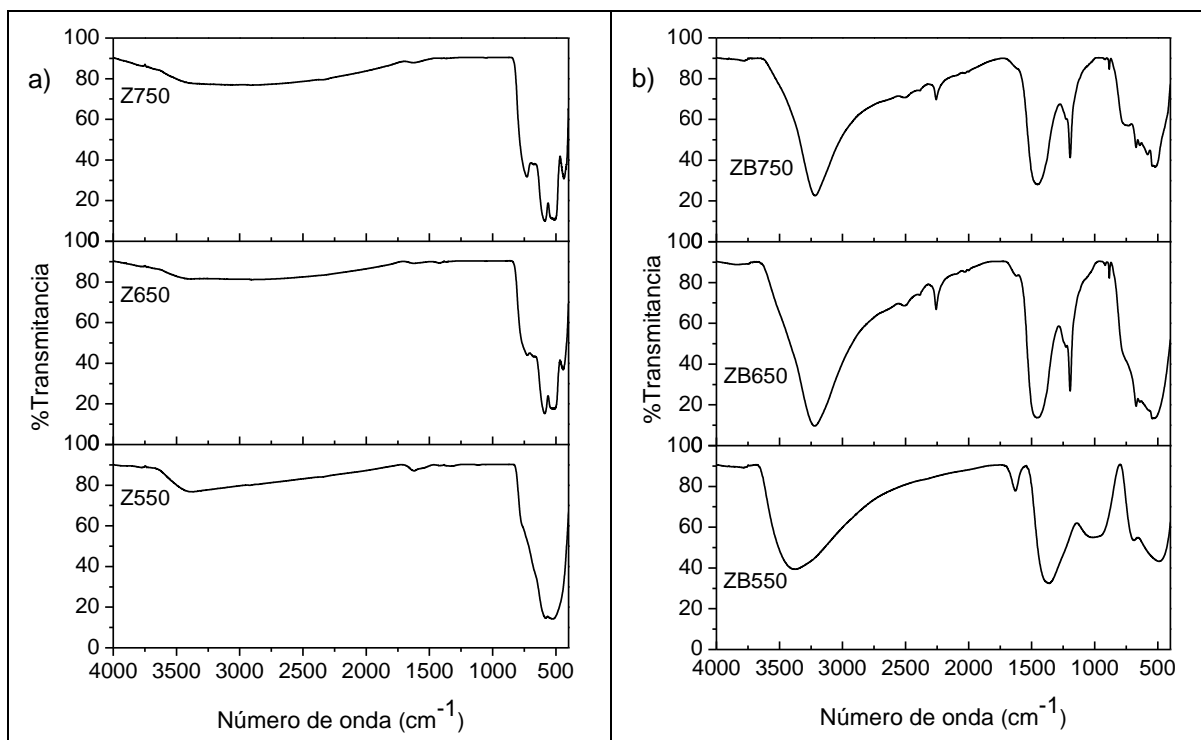
## 3. RESULTADOS

### ❖ Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Los espectros de infrarrojo obtenidos de las muestras de los materiales permitieron seguir la evolución de las bandas, analizando los cambios en función de la temperatura de calcinación. En relación al óxido de circonio puro se observó que, al incrementarse la temperatura de calcinación, las bandas situadas en la región de  $750\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  se redefinieron en nuevos mínimos, estas bandas caracterizan al óxido de circonio cristalino [7]. El material Z550 presentó mínimos a  $581$  y  $522\text{ cm}^{-1}$ , en los espectros de los materiales Z650 y Z750 se localizaron mínimos alrededor de  $727$ ,  $676$ ,  $588$ ,  $519$  y  $440\text{ cm}^{-1}$ , acentuándose más las bandas a una mayor temperatura de calcinación.

Los espectros correspondientes a los óxidos modificados con boro también mostraron cambios por efecto de la temperatura de calcinación, en la región de  $1500$  a  $900\text{ cm}^{-1}$  se ubicaron mínimos a  $1363$  y  $998\text{ cm}^{-1}$  en el caso del material ZB550, en cambio estas señales se desplazaron hacia  $1453$  y  $1196\text{ cm}^{-1}$  para los materiales ZB650 y ZB750. Estas señales son atribuidas a estiramientos de enlaces boro-oxígeno [8]. En el material ZB550 las señales indicaron la presencia de especies trigonales ( $1363\text{ cm}^{-1}$ ) y tetraédricas ( $998\text{ cm}^{-1}$ ); mientras que en los materiales ZB650 y ZB750 sólo están presentes especies trigonales  $BO_3$  [9]. Por tanto, esto sugiere que el incremento en la temperatura de calcinación ocasiona un efecto en relación a la manera en que interactúa el boro en la matriz del óxido de circonio.

Por otro lado, en estos espectros también se encontraron bandas en la región que corresponde a frecuencias de alargamiento de enlaces O-H, lo cual no se observó con la misma intensidad en el caso de los óxidos puros. En este caso existe alguna interacción provocada por efecto de la modificación de los precursores de los materiales con el ácido bórico. Estas bandas mostraron mínimos a  $3377\text{ cm}^{-1}$  (ZB550) y a  $3218\text{ cm}^{-1}$  (ZB650 y ZB750) [8].

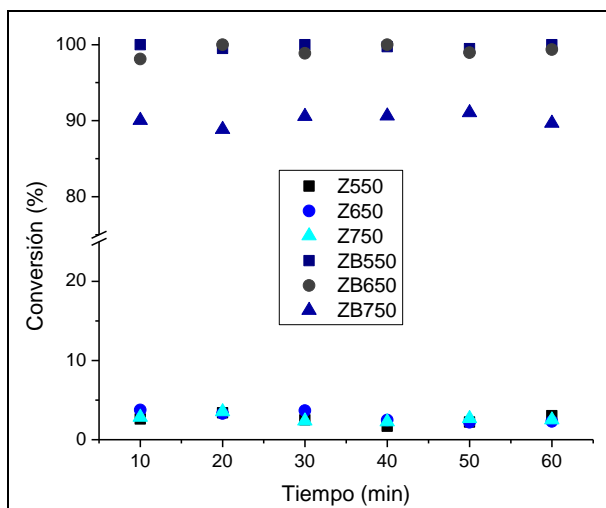


**Figura 1.** Espectros FT-IR de óxidos de circonio puros (a) y modificados con boro mediante agitación ultrasónica (b) calcinados a diferentes temperaturas.

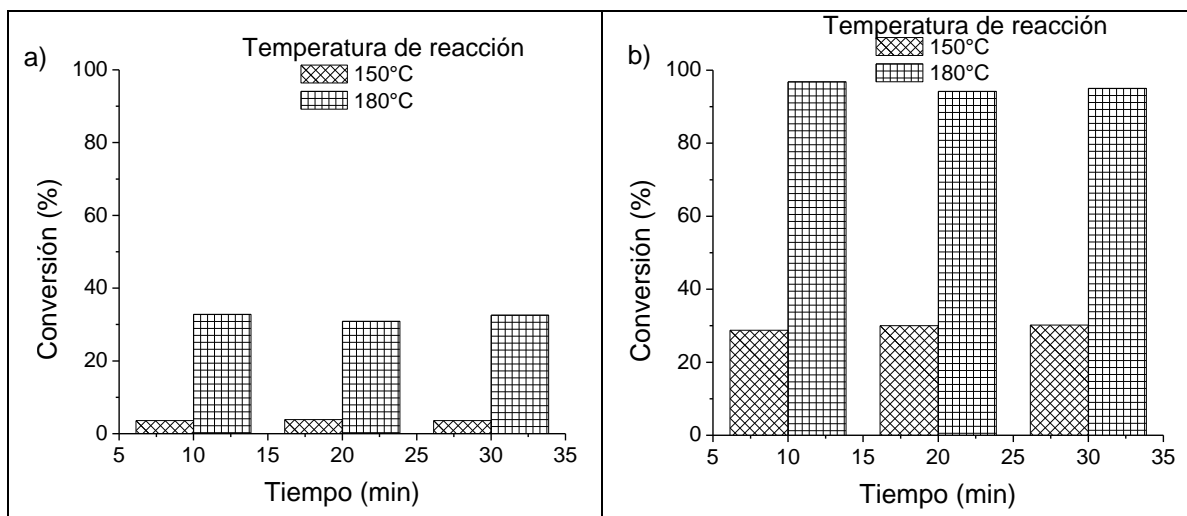
#### ❖ **Descomposición de 2-propanol**

La descomposición de 2-propanol se ha llevado a cabo usando varios óxidos metálicos con diferentes propiedades ácido-base. La selectividad en esta reacción depende de la fuerza y distribución de los sitios ácidos y/o básicos; en particular, la formación de propileno y diisopropil éter deriva de la acidez presente en los catalizadores [5].

La Figura 2 muestra los resultados obtenidos al evaluar los materiales sintetizados. Estos resultados confirmaron el carácter predominantemente ácido de los materiales ZB550, ZB650 y ZB750, puesto que catalizaron la conversión del 2-propanol vía deshidratación obteniéndose únicamente propileno [6]. Los óxidos Z550, Z650 y Z750 mostraron un desempeño inferior a sus homólogos boratados, no encontrándose una diferencia significativa entre los valores de conversión obtenidos con estos catalizadores, por lo que puede señalarse que no existe influencia sobre la actividad catalítica debido a la temperatura de calcinación en el caso de los óxidos puros. Por otra parte, fue necesario realizar pruebas de reacción a temperaturas inferiores con el objetivo de establecer una comparación más clara entre los catalizadores ZB550 y ZB650, puesto que a 220°C se obtuvo 100% de conversión con ambos materiales. La Figura 3 muestra los resultados de la siguiente serie de reacciones efectuadas a 150 y 180°C usando los materiales mencionados, observándose un mejor desempeño catalítico con el material ZB650.



**Figura 2.** Conversión de 2-propanol a 220°C usando los catalizadores sintetizados.



**Figura 3.** Conversión de 2-propanol usando los catalizadores a) ZB550 y b) ZB650.

La reacción se orientó hacia la deshidratación obteniéndose únicamente propileno a ambas temperaturas cuando se usó el material ZB550; mientras que a 150°C se obtuvo 94% de selectividad hacia propileno al emplearse el catalizador ZB650 y un 100% de selectividad hacia la olefina cuando la temperatura fue 180°C.

#### 4. CONCLUSIONES

En este trabajo fueron sintetizados materiales a base de óxidos de circonio puro y modificado con boro, explorando la influencia de la temperatura de calcinación en su desempeño en la reacción de descomposición de 2-propanol efectuada a 220°C. Los materiales puros mostraron bajos niveles de conversión, oscilando en valores inferiores al 5% independientemente de la temperatura de calcinación. Por otra parte, los materiales modificados con boro presentaron mayor actividad catalítica, obteniéndose 100% de conversión con los calcinados a 550 y 650°C. Esto reflejó un aumento en la acidez de los óxidos, puesto que la reacción procedió vía deshidratación obteniéndose propileno únicamente. Además, el incremento en la temperatura de calcinación ocasionó un efecto en relación a la manera en que interactúa el boro en la matriz del óxido de circonio. El material ZB550 presentó especies trigonales y tetraédricas ( $\text{BO}_3$  y  $\text{BO}_4$ ), mientras que el material ZB650 sólo presentó especies  $\text{BO}_3$ .

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández Enríquez J. M., Cortez Lajas L. A., García Alamilla R., Castillo Mares A., Sandoval Robles G., García Serrano L. A., *J. Alloys Compd.*, 2009, 483, 425.
2. Wang J. A., Valenzuela M. A., Salmones J., Vázquez A., García-Ruiz A., Bokhimi X., *Catal. Today*, 2001, 68, 21.
3. Tyagi B., Mishra M. K., Jasra R. V., *Catal. Commun.*, 2006, 7, 52-57.
4. Bolis V., Magnacca G., Cerrato G., Morterra C., *Topics Catal.*, 2002, 19, 259.
5. Ortiz-Islas E., López T., Navarrete J., Bokhimi X., Gómez R., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2005, 228, 345.
6. Bedia J., Rosas J.M., Márquez J., Rodríguez-Mirasol J., Cordero T., *Carbon*, 2009, 47, 286.
7. Said A.E. A.A., El-Wahab M.M.A., El-Aal M.A., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2014, 394, 40.
8. Holly S., en *Contact Catalysis*. (Elsevier 1976) vol. 2, pp. 263-289.
9. Pérez Martínez D.J., Acevedo Quiroga G.A., Giraldo Duarte S.A., Centeno Hurtado A., *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 2011, N.º 57, 23.



## FUNCIONALIZACIÓN DE POLISILOXANOS CON ALILDERIVADOS POLARES

Genaro Angel López-Valadez<sup>a</sup>, Jorge Cervantes Jáuregui<sup>a</sup>, José Antonio Villegas Gasca<sup>a</sup>, José Antonio Guerra Contreras<sup>a</sup>, Eulalia Ramírez Oliva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto. genaro.lopezv@gmail.com, jauregi@ugto.mx, vigaja@ugto.mx, ja.guerracontreras@ugto.mx

### RESUMEN

Los polisiloxanos o siliconas son una clase de sistemas macromoleculares y constituyen el mayor producto comercial basado en la química del organosilicio, esto debido, entre otras cosas, a que en comparación con los polímeros orgánicos, se caracterizan por presentar alta resistencia a agentes químicos y biológicos, se trata así mismo de sustancias hidrófobas. Una ruta síntesis de polisiloxanos funcionalizados se efectuó mediante la reacción de hidrosililación catalítica generando materiales con gran potencial de aplicaciones como acabados, selladores, recubrimientos, etc. En este trabajo se logró la funcionalización de dos polisiloxanos comerciales de diferente peso molecular promedio numeral y diferente porcentaje de grupos metilhidrosiloxano mediante la reacción de hidrosililación catalítica, utilizando el catalizador de Karstedt (Pt(0)), con grupos funcionales alilos como el alil metil éter, alil etil éter, alil metil carbonato y N,N-dimetilalilamina y su versión cuaternizada, los cuales son capaces de conferir polaridad a los polisiloxanos, y con ello propiciar su solubilidad en disolventes polares, de acuerdo a pruebas preliminares de solubilidad, lo que posteriormente permitirá el estudio de sus propiedades fisicoquímicas y que en sus aplicaciones se reduzca la emisión a la atmosfera de compuestos orgánicos volátiles. Los productos obtenidos fueron caracterizados por FT-IR, RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C y RMN-<sup>29</sup>Si.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los polisiloxanos, comúnmente conocidos como “siliconas” son polímeros cuyas cadenas están formadas de átomos alternados de silicio y oxígeno en su esqueleto, los átomos de silicio están unidos a grupos orgánicos y tienen como fórmula general  $-\text{Si}(\text{R}_1, \text{R}_2)_2-\text{O}-$ . La posibilidad de presentar cualquier arreglo o morfología le permite a los polisiloxanos encontrarse en un amplio rango de formas físicas, desde fluidos hasta sólidos insolubles. [1]

El polímero más estudiado de esta familia es el poli(dimetilsiloxano) (PDMS) el cual contiene grupos metilo unidos al átomo de silicio. El PDMS tiene diversas propiedades tales como alta hidrofobicidad, alta estabilidad térmica, temperatura de transición vítrea extremadamente baja ( $T_g$ ), baja tensión superficial, alta permeabilidad a los gases, no es tóxico y es una de las moléculas más flexibles que se conocen. Estas propiedades han hecho del PDMS, y polímeros derivados los polímeros inorgánicos más importantes desde el punto de vista comercial. Debido a sus propiedades los polisiloxanos encuentran aplicaciones en áreas extremadamente diversas como aislantes térmicos, antiespumantes, biotransplantes, sistemas de liberación de fármacos, elastómeros flexibles, agentes sellantes, adhesivos, entre muchas otras [1-2].

Los polisiloxanos organofuncionalizados son una clase de polímeros de siloxano los cuales se representan convenientemente con la fórmula  $RMe_2SiO(Me_2SiO)_x(MeR'SiO)_ySiMe_2R$  donde R o R' son grupos orgánicos que normalmente se unen al átomo de silicio a través de un enlace estable silicio-carbono. De esta manera al funcionalizarse con diversos grupos orgánicos, se obtienen propiedades novedosas que combinan las ventajas de los polímeros inorgánicos y las moléculas o macromoléculas orgánicas [2].

La modificación de polisiloxanos es la más ruta más recurrida para obtener organosiloxanos y se lleva al cabo mediante una variedad de reacciones entre ellas la hidrosililación. Esta reacción es comúnmente usada para preparar poldimetilsiloxanos organofuncionalizados a partir de poli(metilhidro)siloxanos y se describe como la reacción de adición de hidruros de silicio a enlaces múltiples como carbono-carbono, carbono-nitrógeno, nitrógeno-oxígeno, etc [4].

En este trabajo se modificaron polisiloxanos comerciales con alil derivados vía reacción de hidrosililación utilizando el complejo bis(diviniltetrametildisiloxano) platino(0) como catalizador (catalizador de Karstedt), buscando conferir polaridad a la cadena de polisiloxano y con ello propiciar su solubilidad en disolventes polares a fin de minimizar los usos y daños al medio ambiente por emisiones de compuestos orgánicos volátiles como vehículo de aplicación. Los productos obtenidos fueron caracterizados por FT-IR, RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C y RMN-<sup>29</sup>Si.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos usados fueron los comerciales poli(metilhidro)siloxano trimetilsilil terminado (PMHS) de peso molecular promedio numeral (Mn) 2 250 Da y el poli(dimetilsiloxano-co-metilhidrosiloxano) trimetilsilil terminado (PDMSPMHS) de peso molecular promedio numeral (Mn) de 13 000 Da y con un 3-4 % mol de grupos metilhidrosiloxano y el alil éter (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), alil metil éter (CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), alil metil carbonato (CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>OCOOCH<sub>3</sub>), y N,N-dimetilalilamina (CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) así como el catalizador de Karstedt (bis(diviniltetrametildisiloxano) platino(0)), mientras que para las reacciones de cuaternización se usó el iodometano (CH<sub>3</sub>I) y el 1-iodooctano (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>I) Todos los reactivos fueron provistos por Sigma-Aldrich. Las reacciones se realizaron en atmósfera inerte de nitrógeno, utilizando técnicas de Schlenk utilizando tolueno seco como disolvente.

Los polisiloxanos funcionalizados se caracterizaron por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), Los espectros FT-IR se realizaron en la región de 4000 – 400 cm<sup>-1</sup> usando un espectrofotómetro Perkin-Elmer Precisely Spectrum 100 sobre placas de NaCl y 16 repeticiones.

La modificación de los polisiloxanos se efectuó mediante la reacción de hidrosililación como se muestra en el esquema 1 colocando en un matraz fondo redondo de dos bocas equipado con agitador magnético y refrigerante de reflujo 7.0 mL de tolueno anhidro, 0.3 mmol de polímero y 45 µL de catalizador de Karstedt, se agitó durante dos minutos y enseguida se añadieron 10 mmol del alil derivado, todo en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó en agitación a 80 °C durante 48 h. El progreso de la reacción se siguió mediante espectrofotometría infrarroja por la desaparición de la banda de vibración del enlace Si-H a 2166 cm<sup>-1</sup> para el PMHS y a 2157 cm<sup>-1</sup> para el PDMSPMHS. Una vez terminada la reacción, la mezcla de reacción se filtró y se evaporó el disolvente a presión reducida para así obtener los productos de hidrosililación.

### Esquema 1. Reacción de hidrosililación y estructura de polisiloxanos modificados.

A los productos de hidrosililación con N,N-dimetilalilamina se les efectuó la reacción de cuaternización que se llevó a cabo en atmósfera inerte de nitrógeno, a temperatura ambiente y agregando 1-iodooctano en relación molar 2:1 para el caso del homopolímero (PMHS-QAS) y yoduro de metilo para el caso del copolímero (PDMSPMHS-QAS) obteniéndose productos viscosos color ámbar.

El grado de funcionalización se determinó mediante RMN-<sup>1</sup>H relacionando el número *n* de integración de las señales del grupo funcional con el total integrado para la señal de los grupos Si-CH<sub>3</sub> ( $\delta \approx 0.1$ ppm).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los dos polisiloxanos (PMHS y PDMSPMHS) fueron modificados con alil metil carbonato, alil metil éter, alil etil éter y N,N-dimetilalilamina mediante la reacción de hidrosililación. Se observó la completa desaparición de las señales FT-IR del enlace Si-H a 2166 cm<sup>-1</sup> para el PMHS y a 2157 cm<sup>-1</sup> para el PDMSPMHS.

De manera ilustrativa en la figura 1a se presenta el espectro de RMN-<sup>1</sup>H del poli(metilhidro)siloxano trimetilsilil terminado modificado con alil etil éter (PMHS-EtE) donde se observa la desaparición de la señal a 4.7 ppm correspondiente al protón del grupo Si-H y la aparición de las señal a 0.46 ppm que corresponde al grupo Si-CH<sub>2</sub>- (a), a 1.15 ppm la resonancia del -CH<sub>3</sub> (b) y a 1.56 el -CH<sub>2</sub>- (c) del etil éter mientras que los picos a 3.31 ppm y 3.42 ppm presentan la resonancia de -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>- (d y e). Así mismo en la figura 1b se presenta el espectro de RMN-<sup>13</sup>C del PMHS-EtE donde se observan las señales del Si-CH<sub>2</sub>- a 15.02ppm (b), del -CH<sub>3</sub> a 13.32 ppm (a) y del -CH<sub>2</sub>- a 23.07 ppm (c) así como las del -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>- a 65.95 ppm y 73.33 ppm del etil éter (c y d). Para este sistema se realizaron también estudios de RMN-<sup>29</sup>Si observándose a 7.30 ppm la señal correspondiente al (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si-, a -22.62 ppm la de -CH<sub>2</sub>-Si-CH<sub>3</sub> (figura 2). En la figura 1a se muestra también en estudios preliminares el espectro de RMN-<sup>1</sup>H del PMHS-EtE las integraciones asignadas a fin de ilustrar la manera como se determinó el grado de funcionalización de los productos.

En la tabla I se presenta el resultado del grado de funcionalización y solubilidad en diferentes disolventes del PMHS y PDMSPMHS modificados con los diferentes alilderivados.

**Figura 1.** Espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C de PMHS-EtE en CDCl<sub>3</sub>.

**Figura 2.** Espectro de RMN-<sup>29</sup>Si de PMHS-EtE en CDCl<sub>3</sub>.

**Tabla I.** Grado de funcionalización de polisiloxanos y pruebas preliminares de solubilidad en diversos disolventes.

PRODUCTO	GRADO DE FUNC. (%)	SOLUBILIDAD
PMHS-EtE	97.7	Etanol, metanol, isopropanol.
PMHS-MeOCOO	13.6	Acetato de etilo.
PMHS-DMAA	54.6	Etanol, isopropanol.
PMHS-QAS	54.6	Etanol, Etanol/agua (1:1).
PDMSPMHS-EtE	49.2	Isopropanol, n-butanol.
PDMSPMHS-MeE	74.6	Isopropanol.
PDMSPMHS-MeOCOO	53.4	Isopropanol.
PDMSPMHS-DMAA	38	Etanol.
PDMSPMHS-QAS	38	Etanol.

Se realizó el análisis termogravimétrico para conocer la estabilidad térmica de algunos productos funcionalizados debido al gran interés que se tiene sobre los polisiloxanos ya que presentan estabilidad térmica hasta alrededor de 300 °C lo que los vuelve prácticos para aplicaciones como lubricantes o recubrimientos de uso cotidiano. Sin embargo, esta estabilidad puede verse afectada por la incorporación de grupos diferentes a los metilos a lo largo de la cadena del polímero [5].

En la figura 3a se presenta la curva TGA diferentes productos de hidrosililación donde se observa una curva típica de degradación térmica, alcanzando una masa estable alrededor de los 380 °C donde la curva de decaimiento del porcentaje en peso de la muestra permanece constante. En este punto, el peso registrado corresponde a los productos finales de la degradación térmica de la

muestra. Posteriormente se presenta en la figura 3b se ilustran las curvas DTGA donde son más evidentes los puntos de interés del análisis, los primeros picos observados a más baja temperatura, alrededor de 200 °C, corresponde a la temperatura donde inicia la pérdida de peso de la muestras, es decir, donde comienza se degradación. Después de esta temperatura se observan varios picos que corresponden a diversos procesos de degradación de la muestra los cuales no son de gran interés en el sentido que lo que se busca es determinar la estabilidad térmica de los productos.

**Figura 3.** Curva TGA (a) y DTGA (b) de polisiloxanos modificados

#### **4. CONCLUSIONES**

Se funcionalizó el PMHS y el PDMSPMHS mediante la reacción de hidrosililación catalítica con alil etil éter, alil metil éter, alil metil carbonato, N,N-dimetilalilamina y sus sales cuaternarias de amonio. Los productos obtenidos presentan evidencia de ser solubles en disolventes que ocasionan un menor impacto al medio ambiente en comparación con disolventes orgánicos como el tolueno o benceno con los que normalmente se solubilizan los polisiloxanos para distintas aplicaciones.

El comportamiento en la solubilidad de los productos depende del grado de funcionalización y naturaleza del grupo con el que se funcionalizó.

El análisis termogravimétrico muestra que algunos productos son estables alrededor de 200 °C lo que supone materiales con gran potencial en aplicaciones que no exijan condiciones extremas de temperatura.

El estudio fisicoquímico de los sistemas obtenidos sería el camino a seguir a fin de investigar el comportamiento de los polisiloxanos modificados en aquellos disolventes en los que fueron solubles.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Chandrasekhar, V. (2005). *Inorganic and Organometallic Polymers*. India. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
2. Marciniak, B., Gulinski, J., Kopylova, L., Maciejewski, H., Grunwald-Wyspianska, M., Lewandowski, M. (1997). Catalysis of Hydrosilylation: Part XXXI. Functionalization of Poly(methylhydro)siloxanes via Hydrosilylation of Allyl Derivates. *Applied Organometallic Chemistry*, (11), 843-849.
3. Putzien, S., Oskar, N., Kühn F. (2010). Functionalized polysiloxane siloxanes (polycarbosiloxanes) by hydrosilylation-Catalysis and synthesis. *Progress in Polymer Science*, (35), 687-713.
4. Marciniak, B., Matysion, J. (2009). *Hydrosilylation. A Comprehensive Review on Recent Advances*. En *Advances in Silicon Science (vol. 1)*. Ponzan. Poland. Springer.
5. Schiefer, H.M., Awe, R.W., Whipple, C.L. (1961). Extending the Utility of Silicone Lubricant through Structural Modifications. *Dow Corning Corp., Midland, Mich.* 6 (1), 155 – 160.

## EFFECTO DE LOS OVOCITOS DEGENERADOS SOBRE LA QUIMIOTAXIS ESPERMÁTICA EN HÁMSTER SIRIO DORADO

Nancy Flores Guillén<sup>a</sup>, Alfredo Trejo Córdova<sup>b</sup>, María del Carmen Navarro Maldonado<sup>b</sup> y Demetrio Alonso Ambriz García<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Maestría en Biología de la Reproducción Animal. UAMI. g\_n\_nancy@hotmail.com

<sup>b</sup>Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, atrejo109@hotmail.com, dbr@xanum.uam.mx, deme@xanum.uam.mx.

**RESUMEN** En las hembras de hámster Sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) el número promedio de ovocitos que se ovulan es de 10, los cuales tienen una vida fértil máxima de 13 horas. Se ha observado, que en sus oviductos, existen ovocitos degenerados (OD) provenientes de ovulaciones previas, los cuales permanecen en presencia simultánea de los ovocitos potencialmente fértiles (OPF) producto de la ovulación reciente, en el sitio de la fecundación, sin que se conozca, el significado o efecto fisiológico de este fenómeno. Por ello, decidimos investigar si los OD pueden atraer por quimiotaxis a los espermatozoides. Por lo cual utilizamos un sistema de microcanal con medio HTF. En los pozos de salida (A y B) del microcanal, se colocaron indistintamente 4 OD y 4 OPF, y se incubaron durante 2 horas. Se colocaron 140,000 espermatozoides previamente capacitados en el pozo de entrada y se volvió a incubar. 15 minutos después se obtuvieron y contaron los espermatozoides de los pozos A y B, los cuales fueron en cantidades semejantes (113 vs 124 espermatozoides,  $p > 0.05$ ) mostrando un efecto similar sobre la quimiotaxis. En otros experimentos se alternó en los pozos de entrada sin colocar ovocitos. Los espermatozoides que se encontraron en el pozo de salida sin ovocitos se normalizaron al 100%, de ahí que los que salieron cuando se pusieron 4 OPF fueron 116%, en tanto que los que tuvieron OD fue de 129% ( $p > 0.05$ ). A pesar de no alcanzar significancia la tendencia es que los OD atraen en mayor cantidad a los espermatozoides. Se concluye que los ovocitos degenerados contribuyen a la emisión de señales para la quimiotaxis de los espermatozoides que dirigidos hacia los ovocitos potencialmente fértiles, harán que tengan una mayor oportunidad de lograr la fecundación.

**1. INTRODUCCIÓN** Las hembras hámster sirio dorado alcanzan la pubertad al mes y medio de edad, a los 6 meses se consideran adultas y a partir de los 10 meses senescentes (Soderwall *et al.*, 1960). En promedio cada hembra libera 10 ovocitos, los cuales dentro del oviducto tienen una vida fértil máxima de 13 horas, al cabo de las cuales comienzan a envejecer sufriendo cambios a nivel morfológico, celular y molecular (Liang *et al.*, 2009) que los conducen a la muerte celular ocasionando una fragmentación del citoplasma, del núcleo y el agrandamiento de la zona pelúcida, momento en que estos ovocitos se les denominan degenerados (OD) (Takase, 1995). Los OD han sido descritos por Parkening en 1976 en hámster sirio dorado de 14 a 17 meses de edad y en ratones de 12 a 17 meses, dentro del oviducto (área ampulo-ístmica) y que permanecen junto con óvulos fértiles (correspondientes al ciclo). Se ha visto en otros reportes que se han identificado OD dentro del oviducto en otras especies de mamífero como en yegua, burro (Steffenhagen *et al.*, 1972 y David, 1975) y en murciélago (Rasweiler en 1979), recientemente fueron encontrados por Ambriz *et al.*, en 2013, en hembras hámster sirio dorado mayores de 8 meses de edad. Dado este hecho vale la pena preguntar ¿cuál puede ser la función de los OD en el oviducto?, Es posible que los OD puedan atraer mediante quimiotaxis, a los espermatozoides y esto aumente la eficiencia en la reproducción de las hembras adultas, tal como las moléculas secretadas por los óvulos fértiles (por ejemplo. estrógenos) sirven como quimioatrayentes de espermatozoides, El objetivo del presente trabajo fue conocer si los OD ejercen un efecto de quimioatracción sobre los espermatozoides en un sistema *in vitro*.

**2. MATERIAL Y MÉTODO** A un grupo de hembras hámster sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) mayores de 8 meses de edad y 179±11gr de peso promedio, mantenidas en bioterio con fotoperiodo (14hrs.Luz/10hrs oscuridad) y alimentadas con nutricubos Harlan *ad libitum*, se hizo el seguimiento de la regularidad de los ciclos estrales. En la tarde del estro fueron sacrificadas, posteriormente mediante disección se obtuvieron los ovarios y oviductos. Se realizó la perfusión de cada uno de los oviductos con 1ml de HTF (Human Tubal fluid) suplementado con

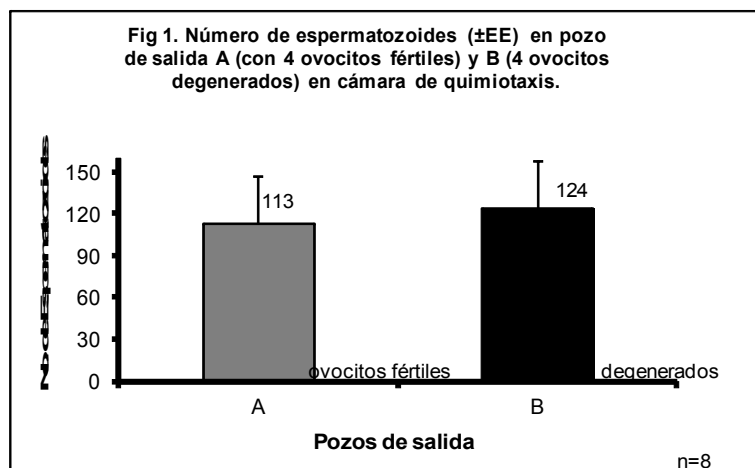
0.3%BSA (Bovine Serum Albumin) bajo el microscopio estereoscópico. Los óvulos fértiles y degenerados fueron colectados y lavados con 1ml de medio fresco suplementado (HTFs) por tres ocasiones. Se colocaron los ovocitos en las cámaras de microcanal para migración espermática con 5µl de medio HTFs, bajo tres tratamientos:

Tratamiento	Pozos de microcanal	Ovocitos colocados
<b>1</b>	<b>Pozo A</b>	<b>4 fértiles</b>
	<b>Pozo B</b>	<b>4 degenerados</b>
<b>2</b>	<b>Pozo A</b>	<b>4 fértiles</b>
	<b>Pozo B</b>	<b>0</b>
<b>3</b>	<b>Pozo A</b>	<b>4 degenerados</b>
	<b>Pozo B</b>	<b>0</b>

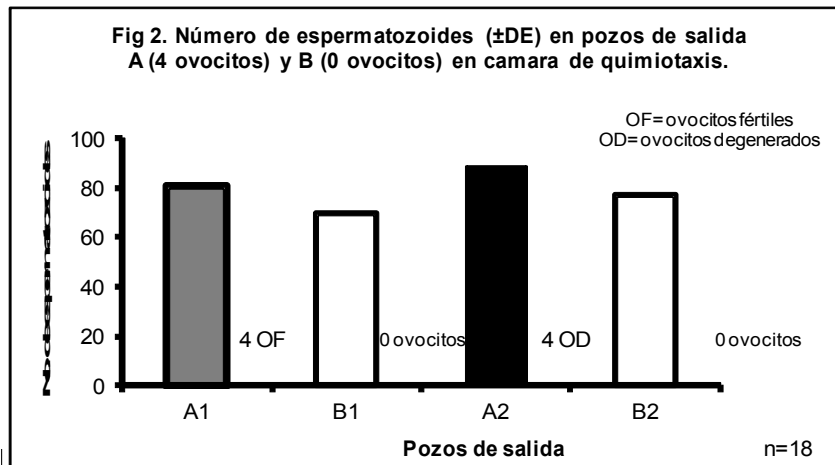
Las cámaras de microcanal fueron colocadas a su vez, en cámara húmeda e incubadas por 2 horas a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. A una hora de incubación de estos microcanales, se sacrificó un hámster macho sirio dorado de 6 meses de edad. Mediante una biopsia de la cola de epidídimo se obtuvieron dos muestras pequeñas de tejido (1/8), colocadas independientes en tubos (1 y 2) con 1ml de HTFs e incubadas a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. A los 30 minutos, se evaluó la muestra espermática considerando la movilidad masal, movilidad individual y concentración. Solo se utilizaron aquellas muestras con valores satisfactorios. El tubo 2 fue centrifugado a (300rpm/3min), el sobrenadante se colocó (45µl) en todo el cuerpo de los microcanales. A las 2 horas de incubación de los ovocitos (condicionamiento del medio) se colocó en el pozo de entrada, una muestra espermática (2µl con 140,000 espermatozoides) procedente del tubo 1. Los microcanales fueron incubados durante 15 minutos (37°C y 5% CO<sub>2</sub>). Se sacaron y se tomó bajo el microscopio estereoscópico, una muestra de 2µl, de los pozos de salida (A y B) y se colocaron de manera independiente en portaobjetos que fueron observados bajo el microscopio óptico a 40x para conteo y registro del número de espermatozoides obtenidos. Los resultados fueron comparados con t-Student y ANOVA seguida de Kruskal-Wallis, considerando diferencias significativas con una p<0.05.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

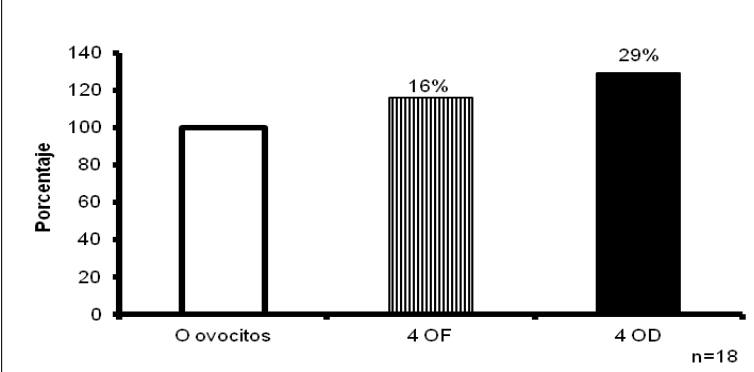
La quimiotaxis hacia los espermatozoides en mamíferos es un tema controversial, pues si bien existen investigaciones que la apoyan, hay otras muchas que aseguran que el proceso de migración espermática en animales de fecundación interna ocurre preferentemente al azar. Los que apoyan la quimiotaxis y quimioquinesis en mamíferos sostienen que las moléculas liberadas en el líquido folicular de manera muy cercana a la ovulación y durante ésta, contienen preferentemente las señales propias para atraer a los espermatozoides, así como lo hacen otras moléculas producidas por el propio ovocito. De esta manera sostienen que el arribo de los espermatozoides será preferentemente a aquél lado del aparato reproductor donde se encuentre el (los) ovocitos(s) disponibles y fértiles. Claro es que cuando se trata de animales que ovulan en ambos ovarios y sus ovocitos llegan a ambos oviductos, la atracción será hacia ambos, pero ahora preferentemente hacia donde las señales de atracción sea mayor. En el presente estudio, cuando en los pozos de salida se colocaron ovocitos fértiles vs degenerados, la migración de los espermatozoides en la cámara de microcanal, fue en cantidades similares (t-Student, p=0.67), lo que pone de manifiesto que tanto los ovocitos fértiles como los degenerados, tienen liberación de sustancias que atraen a los espermatozoides en cantidades similares. (Fig 1).



Cuando se hicieron experimentos colocando ovocitos fértiles o degenerados en uno de los pozos de salida y en el otro pozo no se colocaron ovocitos, el resultado fue que los espermatozoides migraron desde el pozo de entrada hacia todos los pozos de salida, pero preferentemente lo hicieron hacia los pozos con ovocitos. Se ajustó como el 100% al número de espermatozoides que migraron hacia el pozo sin ovocitos, en tanto los pozos de salida con ovocitos también se expresaron en esta orden de magnitud a fin de hacerlo comparativo (Fig 2) De ahí se obtuvo que los espermatozoides que migraron en el pozo de los ovocitos fértiles fue de 116%, es decir un 16% mayor que el pozo sin ovocitos, en tanto que para el pozo de salida con los ovocitos degenerados, la migración fue de 129%, esto es, 29% mayor que el pozo sin ovocitos y 13% mas que el de los ovocitos fértiles (Figura 3), lo que comprueba que los ovocitos degenerados si tienen efecto de quimiatracción hacia los espermatozoides y de mayor magnitud del que ejercen los ovocitos fértiles, pero sin alcanzar valores significativos ( $p > 0.05$ ).



**Fig. 3 Porcentaje comparativo de salida de espermatozoides en pozos con 0 ovocitos, 4 fértiles o 4 degenerados en camaras de quimiotaxis.**



Cabe mencionar que de los 140,000 espermatozoides que se colocaron en el pozo de entrada y después de 15 minutos de incubación, el total de espermatozoides contados en los pozos de salida, fueron apenas el 0.17%, esto debido a que no todos los espermatozoides se movilizan a la misma velocidad y al mismo tiempo, además de que toda muestra de espermatozoides está constituida por subpoblaciones que tienen diferencias anatómicas y fisiológicas.

**4. CONCLUSIÓN** Dados estos resultados en los que se observó una preferencia en la migración de espermatozoides hacia óvulos degenerados, se confirma que si ejercen un efecto sobre la quimiotaxis y dado que se encuentran de manera simultánea a los ovocitos fértiles en el sitio de la fecundación, es probable que colaboren para él.

#### **BIBLIOGRAFIA**

- 1.- Ambríz G D, Navarro M C y Trejo C A. 2003. El primer viaje: El paso del embrión por el aparato reproductor femenino. *Contactos* 54-56.
- 2.- Ambríz G.D y Navarro M.C. 2013. Presencia simultánea de ovocitos en degeneración y fértiles en el oviducto de hembras hámster y su repercusión en la eficiencia reproductiva. X Encuentro Participación de la Mujer en las Ciencias. León, Guanajuato, Mayo 2013.
- 3.- David J(1975) Survey of eggs in the oviducts of mares. *J. Reprod. Fert., Suppl.*23: 513-7.
- 4.- Fissore R., Kurokawa M., Knott J., Zhang M. y Smyth J., 2002, Mechanisms underlying oocyte activation and postovulatory ageing, *Reproduction* 124, 745-754.
- 5.- Yanagimachi R. 1991, Effect of ovulation on sperm transport in the hamster oviduct. *Reproduction and Fertility* 93, 157-163.
6. Liang Y., Kikuchi K., Yuan Q. y Schatten H., 2009, Oocyte aging: cellular and molecular changes, developmental potential and reversal possibility, *Human Reproduction Update* 15 (5) 573-585.
- 7.- Parkening T. (1976) Retention of ova in oviducts of senescent mice and hamster, *J. Exp. Zool.* 196, 307-314.
- 8.- Rasweiler J.(1979) Differential transport of embryos and degenerating ova by the oviducts of the long tongued bat, *Glossophaga soricina*, *J. Reprod. Fert.* 55, 329-334.
- 9.- Steffenhagen W, Pineda M. y Ginther O. (1972) Retention of unfertilized ova in uterine tubes of mares. *Am. J. Vet. Res* 33: 2391-8.
- 10.- Soderwall, A, H. Kent., .L. Turbyfill y A. Britenbaker (1960) Variation in gestation length and litter size of the golden hamster *Mesocricetus auratus*. *J. Geront.* 15:246-8.
- 11.-Takase K., Ishikawa M. y Hoshiai H., 1995, Apoptosis in the degeneration process of unfertilized ova, *Tohoku J. Exp. Med.*, 171 (1), 69-76.
- 12.- Van Hoosier, G, y Mc Pherson, C (1987) *Laboratory hamsters*, Elsevier.



## **PROPUESTA Y EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES APLICABLES EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA.**

MARIA SONIA HERNANDEZ DUARTE <sup>1</sup>, AMERICA ROSANA GUTIERREZ ZUÑIGA<sup>2</sup>, MARTHA FILOMENA FAJARDO MUÑOZ<sup>3</sup>, JORGE HUMBERTO ZUÑIGA CONTRERAS<sup>2</sup>

1.- Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. 2.- Centro Universitario de la Ciénega, 3.- Centro Universitario de Ciencias Económicas Administrativas.  
Universidad de Guadalajara.

El acelerado crecimiento urbano e industrial en los últimos 30 años ha aumentado la complejidad de los residuos descargados al ambiente, provocando serios problemas ecológicos y Toxicológicos en la mayoría de los países en desarrollo.

En términos de contaminación ambiente, se agrava el problema en relación con los ecosistemas acuáticos, lo que merece un énfasis particular, considerando la diversidad de vías a través de las cuales puede ocurrir la contaminación, incluyendo entre las principales, el vertimiento de descargas de aguas residuales a cuerpos naturales y/o artificiales sin un tratamiento previo, o a través del acarreo por corrientes pluviales de sustancias tóxicas tales como Plaguicidas y Fertilizantes usadas en campos agrícolas. (Truba 1970).

Las aguas residuales son productos de las actividades humanas a nivel mundial se ha generado la necesidad de designar lugares para depositarlas. Los cuerpos receptores conocidos, son los arroyos, ríos, lagos y cuerpos artificiales como presas, los cuales pueden resultar contaminados por dichas aguas.

Para resolver el problema de la contaminación por la disposición de aguas residuales, se han creado desde hace varias décadas sistemas para tratar el agua antes de ser vertidas a los cuerpos receptores.

Por parte del Gobierno Mexicano, esta solución se ha tomado con mayor empeño en la última década, en donde se ha exigido a la industria Farmacéutica y posteriormente a los municipios que traten el agua residual.

La mayoría de los sistemas de tratamiento residual que se han instalado en el país utilizan procesos biológicos para llevar a cabo el tratamiento. A pesar de que México cuenta con una considerable cantidad de plantas tratadoras de agua, la tercera parte de éstas se encuentran fuera de servicio, y las que están en operación tratan solo una mínima cantidad de las aguas descargadas generadas a escala nacional. Sin embargo, no se tienen los resultados esperados en cuanto a la calidad del agua que se obtiene después del tratamiento.

Las causas más importantes por las que no se obtienen la calidad del agua deseada son:

- Falta de proyección a futuro
- Malos diseños
- Ubicación geográfica errónea de la planta de tratamiento
- Falta de evaluación de la toxicidad del agua. (P. Odum, 2012)

En caso de la proyección, cuando se planea la construcción de la planta no se considera el volumen del agua residual que aumentará en los siguientes años y como este tipo de obras se

construyen por lo general en periodos mínimos de un año, cuando entra en funcionamiento la planta no tiene capacidad para tratar el volumen real.

En lo que respecta a ubicación Geográfica, en algunos casos las plantas de tratamiento no son situadas en el lugar adecuado. Por ejemplo, las plantas de tratamiento anaerobias requieren de altas temperaturas para obtener funcionamiento óptimo y si son, construidas en climas templados no funcionan adecuadamente.

Por último, el que se considera muy importante es la toxicidad del agua, ya que esta sirve para saber el daño que causa a los organismos de los cuerpos receptores y a los sistemas de aguas residuales.

El problema del tratamiento del agua residual cualquiera que sea su origen, tiene consideraciones similares en todo el país; esto es, una mínima respuesta de infraestructura, que da lugar a que existan descargas en forma directa, contaminando las corrientes superficiales y/o cuerpos receptores originando cambios a la salud, afectando la flora y fauna y en especial impidiendo su aprovechamiento aguas abajo para otros usos. Por otra parte, a pesar de contar con legislación desde los años setenta, por diversas razones, no se ha logrado un avance sustancial en esta materia. Por lo tanto, la industria farmacéutica tampoco ha tenido la precaución de contar con este tratamiento ya que sus descargas van directamente a campos o fosas sépticas.

#### CARACTERISTICAS FISICAS DEL AGUA RESIDUAL.

Las aguas residuales son fundamentalmente las aguas de abastecimiento de una población, después de haber sido impurificadas por diversos usos. Se originan de la combinación de los desechos arrastrados por el agua procedentes de las casas habitación, edificios comerciales diversos, instituciones educativas e instalaciones industriales, a las que en algunos casos se les añaden las aguas pluviales que de alguna manera se introducen a los ductos.

Las características físicas más importante de un agua de desecho es el contenido total de sólidos, el cual comprende la materia flotante, materia en suspensión, materia coloidal y materia en solución. Otras características físicas importantes son la temperatura, color, olor y turbidez, los rangos de estos parámetros están incluidos en la norma NOM-ECOL-001-1996.

Análíticamente, el contenido de sólidos totales de un agua de desecho se define como la materia que queda como residuo después de la evaporación de 103 a 105 °C. Los sólidos totales se clasifican como sólidos suspendidos y sólidos filtrables.

La fracción de sólidos suspendidos incluye los sólidos sedimentables, que sedimentan en el fondo de un cono Imhoff en un periodo de 60 minutos. Los sólidos sedimentables son una medida aproximada de la cantidad de lodos que será removido por sedimentación.

La fracción de sólidos filtrables consiste en sólidos coloidales. Generalmente, después de la oxidación biológica o coagulación sigue la sedimentación, necesaria para remover estas partículas de la suspensión.

Cada una de las categorías de sólidos puede ser posteriormente clasificada en base a su volatilidad a 550 °C. A esta temperatura, la fracción orgánica se oxida y volatiliza, y la fracción inorgánica permanece como ceniza. (Metcalf, 2008).

#### CARACTERISTICAS QUIMICAS DEL AGUA RESIDUAL

El contenido orgánico de las aguas residuales domésticas, es del 75% de los sólidos suspendidos y 40% en los sólidos filtrable aproximadamente. Los compuestos orgánicos, generalmente son combinaciones de carbono, hidrogeno y oxígeno, además del nitrógeno que puede estar presente en algunos casos. Otros elementos importantes como el azufre, fosforo y fierro también se presentan frecuentemente en las aguas residuales.

Las principales sustancias orgánicas encontradas en los desechos son las proteínas (40 a 60%), carbohidratos (25 a 50%) y grasas y aceites (10%). El principal constituyente de la orina, la urea, es un constituyente orgánico importante. Además de estos compuestos, las aguas residuales contienen pequeñas cantidades de compuestos orgánicos sintéticos, ejemplos típicos son; surfactante, fenoles y pesticidas agrícolas.

Las proteínas son toda sustancia alimenticia animal o vegetal, variando de pequeños porcentajes en las frutas acuosas a altos porcentajes en la carne y ciertos granos de plantas leguminosas, las proteínas son las principales fuentes de nitrógeno, que en grandes cantidades produce olores fétidos debido a su descomposición.

Los carbohidratos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, así, como en todas las aguas de desecho. Los carbohidratos concluyen a los azucares, almidones, celulosa y fibra de madera, son compuestos formados de carbono, hidrogeno y oxígeno. La celulosa es el más importante carbohidrato encontrado en su desecho, debido a su resistencia a la descomposición.

Las grasas y aceites son uno de los mayores componentes de las sustancias alimenticias. El término grasa comúnmente usado, incluye a las grasas, aceites, parafinas y otras constituyentes afines encontrados en los desechos.

Las grasas y aceites con ésteres de alcoholes o glicoles (glicerina) con ácidos grasos. Los glicéridos de ácidos grasos que son líquidos a temperaturas ordinarias se llaman aceites y los que son sólidos se llaman grasas, estos similares químicamente y están formados de carbono, hidrogeno y oxígeno en varias proporciones.

Las grasas y aceites de los desechos domésticos, provienen de la manteca, mantequilla, margarina y aceites vegetales. La grasa es uno de los compuestos orgánicos más estables y difíciles de degradar. El Queroseno y aceites lubricantes son derivados del petróleo y el alquitrán de hulla, los cuales se encuentran en las aguas negras en cantidad considerable provenientes de talleres, estacionamientos y calles. Estas sustancias también son solubles en Hexano, y por lo tanto, se incluyen en la determinación de grasas y aceites que se encuentran en las aguas de desecho, flotan, formando una capa que tiende a cubrir la superficie con la acción biológica, causando una capa que tiende a cubrir la superficie con la acción biológica, causando además problemas de mantenimiento.

Los surfactante o agentes de superficie activa son moléculas orgánicas muy grandes, ligeramente solubles en agua y causan la formación de espuma en la superficie del agua donde el desecho es vertido. Su capacidad para formar espuma hace que interfiera en el proceso de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas negras, ya que impide que el oxígeno sea transferido a que tienden a acumularse en la interfase; aceite-agua. Además, se forman gruesas capas de espuma muy estable, que son arrastradas por el viento y constituyen un peligro para la salud pública.

Los fenoles y otras clases de compuestos orgánicos son también constituyentes importantes del agua. Los fenoles causan problemas de olor en el agua potable, particularmente cuando el agua esta clorada. Estos compuestos provienen principalmente de operaciones industriales.

Los pesticidas y productos químicos utilizados en la agricultura, son trazas de compuestos orgánicos y otros productos químicos, son tóxicos para muchas formas de vida, y por lo tanto, son contaminantes importantes. Estos compuestos no son constituyentes comunes de las aguas residuales y provienen principalmente de las infiltraciones de la agricultura. Bajas concentraciones de estos elementos contaminan la fauna, originando su muerte, causando además un deterioro de las fuentes de suministro de agua.

#### DETERMINACION DEL CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA

Actualmente, se depone de diferentes métodos para determinar el contenido orgánico de las aguas residuales. Los métodos de laboratorio empleados son; Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).- Es un parámetro de contaminación orgánica más usado y aplicado a aguas superficiales y de desecho es la DBO a los cinco días ( $DBO_5$ ). Esta determinación comprende la medición de oxígeno disuelto empleado por los microorganismos en la oxidación bioquímica de la materia orgánica.

La medición de la DBO es importante en tratamientos de aguas de desechos y control de la calidad del agua, por determinar la cantidad aproximada de oxígeno que se necesita para estabilizar biológicamente la materia orgánica presente. Los datos de DBO se usan para medir las facilidades de tratamiento de un desecho y la eficiencia de algún proceso de tratamiento.

Demanda Química de Oxígeno (DQO).- Esta prueba se emplea para medir el contenido de materia orgánica de las aguas naturales y de desechos. El oxígeno equivalente de la materia orgánica que puede ser oxidado se mide con un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido.

Es también usada para medir la materia orgánica de los desechos industriales y municipales que contienen sustancias tóxicas para la vida biológica. La DQO es en general es más alta, que la DBO debido a que más compuestos son oxidados químicamente. Es posible correlacionar DQO con DBO para muchos tipos de desechos. Esto es muy útil debido a que el DQO se determina en 3 horas, comparando con los cinco días empleados en la determinación de la DBO. Una vez que la correlación se establece, las mediciones de DQO se emplean con buena aproximación en el control y operación de una planta de tratamiento.

#### DETERMINACION DEL CONTENIDO DE MATERIA INORGÁNICA.

Los componentes inorgánicos de las aguas naturales y de desecho son importantes para establecer y controlar la calidad del agua. La concentración de sustancias inorgánicas, tales como cromo, magnesio, calcio, manganeso, etc.. En el agua se incrementa con la formación geológica con la cual el agua se pone en contacto y por las aguas de desecho tratadas o no tratadas que se descargan en ella. Las aguas naturales disuelven las rocas y minerales con las que ésta en contacto; las aguas de desecho, con excepción de algunos desechos industriales, rara vez son tratadas para removerles los constituyentes inorgánicos que se les agregan en su uso diario. Las concentraciones de los constituyentes inorgánicos también se incrementan por los procesos naturales de evaporación. Estos incrementos deterioran la calidad de las aguas naturales, por lo tanto, es conveniente examinar el oxígeno de los siguientes parámetros:

- pH
- Cloruros
- Alcalinidad

- Nitrógeno
- Fósforo
- Azufre
- Compuestos Tóxicos
- Metales Pesados.

#### GASES COMUNES ENCONTRADOS EN LAS AGUAS RESIDUALES.

Los gases encontrados comúnmente en las aguas de desecho no tratadas son el nitrógeno, oxígeno, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, amoníaco y metano. Los tres primeros son gases comunes de la atmósfera y se encuentran en todas las aguas expuestas al aire, los últimos tres se originan de la descomposición de la materia orgánica presente en las aguas de desecho.

Los siguientes gases son de interés en las aguas de desecho no tratadas:

1. Oxígeno disuelto.- es necesario para la respiración de los microorganismos aeróbios, así, como para otras formas de vida aerobia. La presencia de oxígeno disuelto en las aguas de desecho previene la formación de olores desagradables.
2. Sulfuro de hidrógeno.- se origina de la descomposición de la materia orgánica que contiene azufre o de la reducción de sulfitos y sulfatos minerales en ausencia de oxígeno. El ennegrecimiento de las aguas de desecho domésticas y lodos, es debido a la presencia del sulfuro de hidrógeno que se combina con el hierro presente formando sulfuro ferroso. Otros compuestos volátiles como el indol y mercaptanos se forman también la descomposición anaerobia, originando olores más desagradables que el sulfuro de hidrógeno.
3. Metano.- el principal subproducto de la descomposición anaerobia de la materia orgánica en las aguas de desecho es el gas metano, el cual es un hidrocarburo, combustible inodoro e incoloro. Normalmente no se encuentran grandes cantidades de este gas en las aguas de desecho, debido a que pequeñas cantidades de oxígeno son tóxicas para los organismos responsables de su producción. Ocasionalmente, se encuentran en los fondos de ríos y cuerpos de agua, debido al estado anaerobio de estos.

#### CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS DE LAS AGUAS RESIDUALES.

La naturaleza de las aguas residuales presenta un conjunto de sustancias orgánicas e inorgánicas que proporcionan un marco de carácter físico-químico cuya influencia determina la supervivencia de microorganismos típicos, la abundancia de algunos de ellos y la escasez de otros. Así como la composición de las aguas residuales es oscilante, de la misma manera oscila también el tipo y número de organismo que contienen: Hongos, protozoos, algas, bacterias y virus.

Las aguas residuales pueden contener millones de bacterias por mililitro; bacilos anaerobios, esporulados, coliformes, estreptococos, bacterias del grupo Proteus, y otros tipos que proceden del tracto intestinal humano. Además, las aguas residuales domésticas son un buen receptáculo de protozoos, bacterias y virus patógenos, tales como agentes etiológicos de la disentería, el cólera y la fiebre tifoidea. Las Heces de huéspedes infectados pueden fácilmente depositar en las aguas residuales los virus de; Poliomiélitis, Hepatitis infecciosa y de Coxsachie (enfermedad de manos-pies-boca).

Los rasgos biológicos de las aguas negras lo representan, indudablemente, las poblaciones bacterianas con una gama de organismo anaeróbicos estrictos y facultativos, así como la presencia de organismo patógenos de todo tipo, que van desde virus hasta vermes.

#### RECOMENDACIONES PARA LA SELECCIÓN DE SISTEMA DE TRATAMIENTO.

La tecnología apropiada para el tratamiento de las aguas residuales es aquella que permite al menor costo, cumplir con los resultados propuestos, es decir su aplicación debe ser compatible con el desarrollo socioeconómico de la población.

Las lagunas de estabilización presentan muchas ventajas cuando hay disponibilidad de terreno y su costo no sea excesivo:

- Bajo costo de construcción y los menores costos de operación y mantenimiento que cualquier otro sistema de tratamiento en el ámbito secundario
- Requiere de poca energía eléctrica
- No requiere de equipo de alto costo
- Es posible obtener eficiencias de remoción de patógenos
- Tiene capacidad amortiguadora para las variaciones de las cargas hidráulicas y orgánicas.
- Presenta pocos problemas en el manejo y disposición de lodos
- No requiere de personal altamente capacitado para su operación y mantenimiento.

Las desventajas de este proceso son:

Requiere de grandes extensiones de tierra  
Puede emitir olores desagradables (cuando se sobrecargan)  
Pueden contaminar el manto fríasico (cuando están mal impermeabilizadas)  
Pueden entregar un efluente con una gran cantidad de sólidos suspendidos  
Requiere de una ubicación lejana a la población.

Algunas de estas desventajas pueden ser minimizadas con una buena impermeabilización del terreno, así como una operación y mantenimiento efectivos.

Los sistemas a base de lodos activados tienen la ventaja de:

- Atenúa por dilución las sobrecargas
- Se logra homogeneidad en toda la superficie del tanque
- No requiere de grandes espacios
- Menores tiempos de retención

Algunas de las desventajas del proceso a base de lodos activados son;

- Mayor consumo de energía
- Mayor producción de lodos
- Requiere personal capacitado para su operación.

## ELECCIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTOS.

La selección del método o sistema de tratamiento más adecuado para un determinado tipo de desecho líquido, deberá hacerse tomando por los mínimos costos, y especialmente considerando las necesidades y disponibilidades siguientes;

- Tipo de agua residual por tratar, municipal, industrial o una mezcla de ambas
- Disponibilidad de mano de obra, material de construcción, equipó y terreno
- Condiciones tipográficas y climatológicas del lugar
- Desarrollo municipal, industrial o agrícola
- Recursos técnicos y económicos disponibles.
- Uso del agua tratada
- Tratamiento conjunto o separado

## TRATAMIENTO PRELIMINAR.

Se le llama tratamiento preliminar al sistema que se utiliza en el tratamiento de aguas residuales para dejar en condiciones aceptables o manejables, al agua que se le dará posteriormente un tratamiento, ya sea primario, secundario o terciario y es de fundamental importancia, ya que como sabemos, las aguas residuales pueden ser puramente domésticas (aguas negras), pero también contienen todo tipo de desperdicios, corrientes pluviales que arrastran arenas, infiltraciones de aguas subterráneas y desechos industriales (aguas residuales en general), por lo cual el objeto fundamental del pretratamiento consiste en separar de las aguas residuales todos aquellos constituyentes que podrían llegar a obstruir o dañar los equipos de bombeo, o interferir con los procesos subsecuentes del tratamiento, por lo cual los dispositivos empleados para el tratamiento preliminar se diseñan principalmente para;

- Separar o disminuir el tamaño de los sólidos orgánicos grandes que flotan o están suspendidos. Estos sólidos consisten generalmente en trozos de madera, telas, papel, basura, junto con algo de materia fecal.
- Separar los sólidos inorgánicos pesados, como la arena, la grava e incluso objetos metálicos.
- Separar cantidades excesivas de aceites y grasas

## CONTAMINACION DE LAS AGUAS CON PRODUCTOS FARMACEUTICOS.

Los productos farmacéuticos, en su mayoría, son compuestos que se caracterizan por su compleja estructura química. De forma general (existen algunas excepciones) son moléculas hidrofílicas y pueden estar cargadas, incluso pueden poseer más de un grupo funcional ionizable. Estos productos se consumen en grandes cantidades pero de forma diferente en cada país en cuestión. Se estima que el consumo global en el mundo entero es de 100 000 ton/año (esta cifra corresponde al consumo promedio por cápita mundial de 15 g/per cápita. Año) (Ternes y Joss, 2006; Kummerer, 2004). La mayor parte de las investigaciones relacionadas con los productos farmacéuticos son aquellas que evidencian su presencia en el medio ambiente pero un número relativamente escaso de trabajos se centran en el tratamiento de estos productos.

Afluentes y efluentes de 12 plantas de tratamiento de la Industria farmacéutica.

Paracetamol, ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco, indometacina, fenoprofeno, 17β- estradiol, estriol, estrona, trimetoprima, tetraciclina, clortetraciclina, cimetidina, ciprofloxacina, claritromicina, clindamicina, eritromicina, gemfibrozil, sulfadimetoxina, sulfametazina, sulfametiazol, sulfametoxazol, sulfatiazol, sulfisoxazol, paroxetina, salbutamol, metoprolol, propranolol, atenolol, Metronidazol, ranitidina, carbamazepina, codeína, cotinina, cafeína, fluoxetina, ketorolaco, diltiazem, primidona, fenitoína, ácidos mefenámico, salicílico, clofibrico

## BIODEGRADABILIDAD DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA.

Las plantas de tratamiento de residuales, los hospitales y la Industria Farmacéutica son las fuentes fundamentales de contaminación por medicamentos del medio ambiente. Las aguas residuales provenientes de la fabricación de fármacos poseen características especiales debido a la naturaleza del proceso productivo. Normalmente las plantas productoras de medicamentos son polivalentes y sus aguas residuales son intermitentes, fluctuantes y poseen una composición variable dependiendo del régimen de producción y los productos fabricados. Por su parte, las aguas residuales hospitalarias son variables también y su composición depende de factores tales como, la cantidad de pacientes y las enfermedades tratadas. No existen en la literatura suficientes datos en relación a la caracterización de aguas residuales procedentes de hospitales y plantas productoras de medicamentos. La tabla 1.2 muestra algunos ejemplos. Como puede apreciarse,

incluso si los datos de DQO y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) pueden variar de un reporte a otro, estos residuales poseen una relación DBO5/ DQO, inferior a 0.5-0.66 que corresponde a una fácil biodegradación. Como puede apreciarse la relación DBO5/ DQO podría llegar a ser tan baja como 0.06 en cuyo caso los tratamientos biológicos, usualmente utilizados no son suficientes para disminuir su poder contaminante por debajo de los límites aceptables. Estos elementos sin indicativos de la importancia del desarrollo y empleo de nuevos métodos de tratamiento.

#### **BIBLIOGRAFIA.**

<b>Título</b>	<b>Autor</b>	<b>Editorial, fecha</b>	<b>Año de la edición más reciente</b>
1. Introducción al estudio del derecho ambiental.	Gutiérrez-Nájera Raquel	Porrua, México 2002.	2002
2. Química ambiental.	Colin Baird.	Reverté, España 2001.	2010
3. Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente.	DOF	DOF, México 2006	2008
4. Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.	DOF	DOF, México 2013.	2013
5. Guía para el manejo de los residuos biológico infecciosos.	Santos-Burgoa C.	Secretaría de Salud, México 2003.	2003
6. Guía de cumplimiento de la norma oficial mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección Ambiental - Salud Ambiental - Residuos Peligrosos Biológico- Infecciosos - Clasificación y Especificaciones de	Castañeda-Rosas L.E.	SEMARNAT, México 2003.	2003



Manejo.			
7. Coagulantes y Floculantes del manual de tratamiento de aguas residuales	.Calgon	México, 2005.	2005

## PREPARACIÓN DE EXTRACTANTES ENCAPSULADOS PARA LA REMOCIÓN DE CADMIO

Evelyn Paola Ruiz Luna<sup>a</sup>, Teresa Imelda Saucedo Medina<sup>a</sup>, Ricardo Navarro Mendoza<sup>a</sup>, Mercy Sugey Dzul Erosa<sup>a</sup>, Mario Ávila Rodríguez<sup>a</sup>, Ma. del Pilar González Muñoz<sup>a</sup> y Eric Guibal<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas. sauceti@ugto.mx

<sup>b</sup>Escuela de Minas de Ales, Francia.

### RESUMEN

La encapsulación consiste en inmovilizar un extractante en el interior de una matriz polimérica, a través de la cual los iones metálicos puedan transportarse hasta el extractante. El alginato de sodio ha sido de los biopolímeros más utilizados para el encapsulamiento. Estos materiales pueden prepararse como cápsulas mononucleares, polinucleares o de tipo matriz, las cuales son coaguladas gota a gota en soluciones de  $\text{CaCl}_2$ . Mediante la gelificación del alginato, el extractante queda atrapado en la estructura macrorreticular de este biopolímero, en forma de pequeñas gotas. Estos materiales permiten extraer diversos iones metálicos dependiendo de la selectividad y especificidad del extractante encapsulado. En este trabajo se prepararon diferentes materiales: perlas de alginato sin extractante (P), microcápsulas mononucleares (MCM), polinucleares (MCP) y tipo matriz (MCTM), con diferentes proporciones de alginato y extractante (Cyanex 921: óxido de trioctilfosfina) para la extracción de  $\text{Cd(II)}$  de soluciones acuosas de  $\text{HCl}$ . Se estudió la estabilidad mecánica de los materiales y la capacidad de extracción de  $\text{Cd(II)}$ , observándose que todos los materiales presentan una buena resistencia mecánica, pero solamente las microcápsulas con extractante presentaron buena afinidad hacia el  $\text{Cd(II)}$ . Con las MCTM se estudió el efecto de la concentración de  $\text{HCl}$  sobre la eficiencia de extracción de  $\text{Cd(II)}$  encontrándose que a una concentración de  $\text{HCl}$  3 M se obtiene la máxima capacidad de sorción. Las isotermas y los estudios cinéticos de extracción mostraron que conforme aumenta la relación de extractante aumenta la capacidad de sorción, obteniéndose una capacidad de sorción máxima para las MCTM (relación 17:3) de  $44.3 \text{ mg Cd g}^{-1}$  microcápsulas en peso seco, un porcentaje de extracción (%E) de 65% y un coeficiente de difusión intraparticular de  $7.53 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

### 1. INTRODUCCIÓN

El cadmio es un metal altamente tóxico con propiedades químicas importantes y es utilizado para muchos fines industriales. Aproximadamente tres cuartas partes del cadmio producido se emplea en la fabricación de baterías, especialmente en las baterías de níquel-cadmio. Una parte importante se emplea en galvanoplastia (como recubrimiento), algunas sales se emplean como pigmentos, como estabilizantes de plásticos como el PVC, entre otros. Esto genera que la presencia del cadmio se encuentre en cantidades importantes (mg/L) en diferentes efluentes industriales, por lo que es importante el desarrollo de técnicas que permitan su recuperación, y así evitar la contaminación del medio ambiente. Se han propuesto técnicas de separación de metales tales como la precipitación, la coagulación-floculación, la separación con membranas, la extracción con solventes y la extracción líquido-sólido. En el caso de la extracción líquido-sólido se han estudiado diversos materiales adsorbentes, incluyendo biopolímeros (quitosano y sus derivados).

Se han desarrollado también técnicas que combinan ventajas de la extracción líquido-líquido y el intercambio iónico: las resinas impregnadas y los extractantes encapsulados. <sup>[1]</sup> La encapsulación consiste en inmovilizar el extractante en el interior de una matriz polimérica a través de la cual los iones metálicos puedan transportarse hasta el extractante. En esta técnica se evita el uso de disolventes, se reducen pérdidas del extractante y se facilita el proceso de separación de fases. Se ha propuesto el encapsulamiento utilizando diversas matrices poliméricas tales como alginato, carragenina, quitosano, gelatina y pectina. El alginato ha sido de los biopolímeros más utilizados. Estos materiales generalmente se preparan mediante la formación de suspensiones de extractante en soluciones de alginato de sodio, las cuales son coaguladas gota a gota en soluciones ácidas de  $\text{CaCl}_2$ . Mediante la gelificación del alginato, el extractante queda atrapado en la estructura macrorreticular de este biopolímero, en forma de pequeñas gotas <sup>[1-3]</sup> o bien, en forma de cápsula mononuclear la cual está constituida por un núcleo central de extractante, rodeado de una capa delgada de biopolímero que inmoviliza al extractante y le da a la partícula la resistencia mecánica necesaria para su aplicación en procesos de extracción líquido-sólido. En este trabajo, se estudió el encapsulamiento del Cyanex 921 (óxido de trioctilfosfina) con geles de alginato de calcio, preparados por coagulación de soluciones de alginato de sodio en soluciones de  $\text{CaCl}_2$ . Primeramente, se prepararon diferentes materiales, perlas de alginato sin extractante (P), microcápsulas mononucleares (MCM), polinucleares (MCP) y tipo matriz (MCTM). Posteriormente, se analizaron las propiedades mecánicas de cada uno de los materiales y su capacidad para la extracción de cadmio en medio acuoso de HCl. El material que presentó una mayor afinidad por el cadmio fue utilizado para la realización de los estudios cinéticos y termodinámicos de extracción de cadmio.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos utilizados fueron grado analítico: alginato de sodio (viscosidad:  $77.12 \pm 0.25$  cps determinada a  $40^\circ\text{C}$  en soluciones acuosas al 1%), cloruro de calcio, sulfato de cadmio pentahidratado, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico. El extractante estudiado fue el Cyanex 921 (óxido de trioctilfosfina) proporcionado por Cytec, Canadá y preparado a una concentración 0.6 M en keroseno con decanol al 10%. El agua empleada para la preparación de las soluciones fue grado MilliQ ( $18\text{ M}\Omega$ ). Se prepararon diferentes materiales, perlas de alginato sin extractante (P), microcápsulas mononucleares (MCM), polinucleares (MCP) y tipo matriz (MCTM) utilizando un encapsulador Buchi, con boquillas de diferente tamaño, el cual permite obtener partículas esféricas de tamaño homogéneo, imponiendo vibraciones y una diferencia de potencial eléctrico. La concentración de alginato utilizado fue de 1% y los diferentes materiales fueron coagulados gota a gota en soluciones de  $\text{CaCl}_2$  0.5 M. Las perlas de alginato y las cápsulas obtenidas se observaron con un microscopio estereoscópico Leica MZ 9.5. Se probó su resistencia mecánica agitándolas suspendidas en agua. Se estudió la difusión del  $\text{Cd}^{2+}$  a través de los materiales y el material que presentó la mayor afinidad por el cadmio se empleó para los estudios cinéticos y termodinámicos. Para evaluar la influencia de la concentración del ácido clorhídrico (HCl) en la eficiencia de extracción, se prepararon soluciones de  $\text{Cd}(\text{II})$  de  $20\text{ mg L}^{-1}$  en medio HCl a diferentes concentraciones (0.1 - 8 M). Posteriormente, se puso en contacto 10 mL de cada solución con 0.1 g de material húmedo. Las isotermas de adsorción de  $\text{Cd}(\text{II})$  se realizaron variando la concentración inicial de  $\text{Cd}(\text{II})$  ( $5 - 250\text{ mg L}^{-1}$  en HCl 3 M), utilizando 10 mL de cada solución con 0.1 g de material húmedo. Para el análisis de los resultados se utilizó el modelo de Langmuir, obteniéndose los parámetros característicos de este modelo ( $q_m$  y  $b$ ) a través de una regresión no lineal, utilizando el programa Mathcad (Versión Plus 6.0 Mathsoft, Inc). Los estudios cinéticos se realizaron poniendo en contacto 5 g de microcápsulas (peso húmedo) con 500 mL de una solución

de Cd(II) de  $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  en HCl 3 M, colectándose periódicamente muestras. Los datos cinéticos fueron evaluados con el modelo Zhu y Sengupta.<sup>[4]</sup>

### 3. RESULTADOS

Se obtuvieron lotes de perlas de alginato sin extractante (P), microcápsulas mononucleares (MCM), polinucleares (MCP) y lotes tipo matriz (MCTM) (Figura 1). Se fabricaron tres tipos diferentes de MCTM variando entre ellas la proporción de alginato/extractante (v/v): MCTM<sub>1</sub> se obtuvo con una proporción de 19:1, MCTM<sub>2</sub> con 18:2 y MCTM<sub>3</sub> con 17:3. Las pruebas de resistencia mecánica mostraron que los materiales comienzan a deteriorarse después de 48 h de agitación. El porcentaje de humedad de los materiales fue del 99% para las perlas, 75% para las MCM y entre 88 – 92% para los tres lotes de MCTM (92% para MCTM<sub>1</sub>, 89% para MCTM<sub>2</sub> y 88% para MCTM<sub>3</sub>). De manera general se observa que conforme se aumenta la proporción de extractante en las MCTM disminuye el contenido de humedad esto es debido a la disminución de la proporción de alginato.

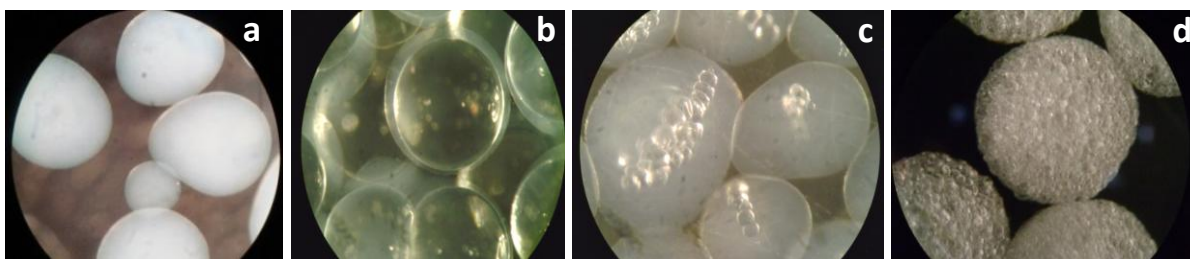


Figura 1. a) Perlas de alginato al 1% sin extractante (P), b) Microcápsulas mononucleares (MCM) de Cyanex 921 con alginato al 1%, c) Microcápsulas polinucleares de Cyanex 921 (MCP) con alginato al 1%, d) Microcápsulas tipo matriz (MCTM) de Cyanex 921 coaguladas en  $\text{CaCl}_2$  0.5 M.

Se realizaron estudios de extracción de Cd(II) con P, MCM, MCP y MCTM obteniéndose que las microcápsulas tipo matriz (MCTM) presentaban una mayor afinidad por el cadmio y este lote fue seleccionado para los estudios termodinámicos y cinéticos. Los estudios de la influencia del ácido clorhídrico realizados con MCTM mostraron que a bajas concentraciones de HCl (0.6 M) se obtienen bajos rendimientos de extracción (<10 %), los cuales se incrementan al aumentar la concentración del HCl, (hasta 85 % para HCl 4 M) y luego disminuyen nuevamente (hasta 50 % para HCl 8 M). La concentración de HCl seleccionada para los estudios posteriores fue de 3 M. Los resultados obtenidos para las isotermas de adsorción de Cd(II) en HCl 3 M con MCTM<sub>1</sub>, MCTM<sub>2</sub> y MCTM<sub>3</sub> se presentan en la Figura 2. Estos resultados muestran una buena concordancia entre los datos experimentales y el modelo de Langmuir (línea continua). Al inicio, se observa un incremento lineal de la cantidad de Cd extraído (q) para valores bajos de concentración de cadmio (menor a  $15 \text{ mg L}^{-1}$ ), al incrementarse la concentración, los valores de q tienden a un valor máximo ( $q_m$ ) el cual corresponde a la saturación de las microcápsulas. La máxima capacidad de sorción de Cd(II) obtenida fue de  $44.3 \text{ mg g}^{-1}$  en peso seco con un valor de b igual a  $0.178 \text{ L mg}^{-1}$  correspondiente a las microcápsulas MCTM<sub>3</sub>. Para MCTM<sub>2</sub> se obtuvo una capacidad de  $36.6 \text{ mg g}^{-1}$  en peso seco y un valor de b igual a  $0.174 \text{ L mg}^{-1}$  y para MCTM<sub>1</sub> se obtuvo una capacidad menor de sorción de Cd(II) de  $31.6 \text{ mg g}^{-1}$  en peso seco con un valor de b igual a  $0.199 \text{ L mg}^{-1}$ .

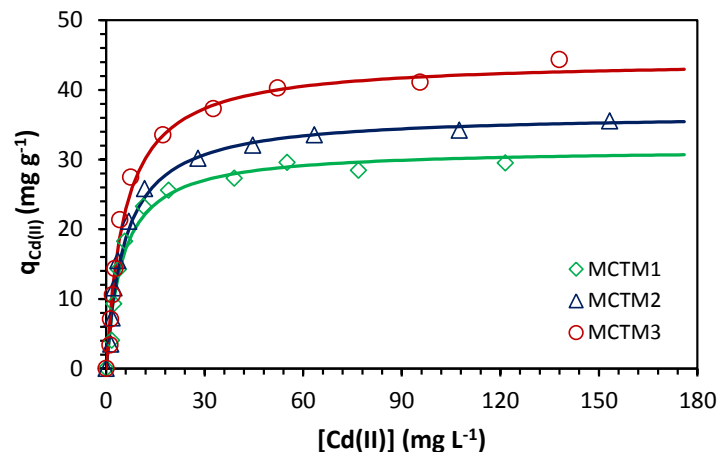


Figura 2. Isoterma de sorción de Cd(II) con microcápsulas tipo matriz.  $[HCl]= 3\text{ M}$ ,  $[Cyanex\ 921]= 0.6\text{ M}$ ,  $m/V= 10\text{ g L}^{-1}$ . La línea continua representa la curva obtenida con el modelo de Langmuir.

Los estudios cinéticos realizados con las microcápsulas tipo MCTM muestran de forma general como la fracción residual disminuye rápidamente en los primeros 90 minutos y después comienza a descender lentamente, hasta que la relación  $C_t/C_0$  permanece constante (a 150 min aproximadamente), lo cual indica que se ha alcanzado la condición de equilibrio (Figura 3), la fracción residual disminuye conforme aumenta la proporción del extractante en los MCTM debido a que a más altas proporciones de Cyanex 921 aumenta la extracción de Cd(II). En la Tabla 1 se presentan los coeficientes de difusión intraparticular (D) obtenidos con el modelo cinético de Zhu y Sengupta<sup>[4]</sup> además de los porcentajes de extracción (%E) obtenidos en el equilibrio. El valor del coeficiente de difusión intraparticular obtenido para MCTM<sub>1</sub> es de  $3.33 \times 10^{-11}\text{ m}^2\text{ s}^{-1}$  siendo éste más bajo que los coeficientes obtenidos con las microcápsulas con MCTM<sub>2</sub> y MCTM<sub>3</sub>. El coeficiente de difusión intraparticular para MCTM<sub>2</sub> es mayor comparado con el sistema MCTM<sub>3</sub> pero presenta un menor porcentaje de extracción (%E) en el equilibrio (51%).

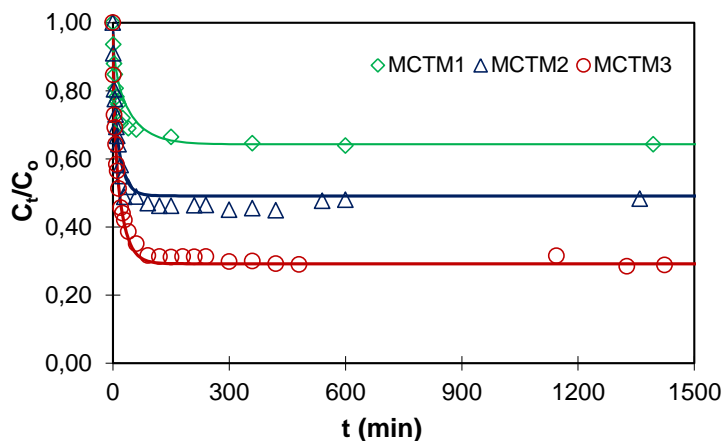


Figura 3. Influencia de la relación alginato/extractante sobre la cinética de extracción de Cd(II) con microcápsulas de alginato tipo matriz.  $[Cd]_0= 60\text{ ppm}$ ,  $m/V= 10\text{ g L}^{-1}$ ,  $[HCl]= 3\text{ M}$ .

Tabla 1. Efecto de la relación alginato/extractante sobre el coeficiente de difusión intraparticular para la sorción de Cd(II).

Tipo de microcápsulas	Relación Alginato/ Extractante (V/V)	Coficiente de difusión intraparticular D ( $10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ )	%E
MCTM <sub>1</sub>	19:1	3.33	36
MCTM <sub>2</sub>	18:2	8.93	51
MCTM <sub>3</sub>	17:3	7.53	71

#### 4. CONCLUSIONES

Las microcápsulas tipo matriz (MCTM) fueron las que presentaron una mayor afinidad para extracción de Cd(II) de soluciones de HCl, siendo posible alcanzar altas eficiencias de extracción a concentraciones de 3 M de HCl. La capacidad de extracción se incrementa al aumentar la proporción de extractante, obteniéndose una capacidad de 44.3 mg Cd g<sup>-1</sup> MCTM en peso seco para las microcápsulas con una proporción de alginato/ extractante de 17:3. Por otro lado, los resultados de las cinéticas de extracción de Cd(II) muestran diferencias significativas en la velocidad y capacidad de sorción, pero en los tres casos se requiere de aproximadamente 150 min para alcanzar el equilibrio. El empleo de estos nuevos materiales ofrece una posibilidad interesante para su aplicación en la recuperación de Cd(II) de soluciones acuosas con altos contenidos de HCl.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. E. Guibal, K. Campos, P. Bunio, T. Vincent, A. Trochimczuk. *Separation Science and Technology*, Vol. 43, pp. 2406-2433.
2. T. Vincent, A. Parodi, E. Guibal. *Separation and Purification Technology*, Vol. 62, 2008, pp. 470-479.
3. T. Vincent, A. Parodi, E. Guibal. *Reactive and Functional Polymers*, Vol. 68, 2008, pp. 4770-4780.
4. Y., Zhu, Sengupta. *Environmental Science and Technology*, Vol. 26(10), 1992, pp. 1990-1998.

## Estudio sobre la integridad celular de *Pseudocrossidium replicatum* durante estrés abiótico

Selma Ríos Meléndez, L. Cárdenas<sup>b</sup>, A. Arroyo<sup>a</sup>, M. A. Villalobos<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada,

<sup>b</sup> Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México

### RESUMEN

Los musgos son plantas no vasculares y algunas especies de ellas se han clasificado como plantas completamente tolerantes a estrés por desecación (Wood, 2007). Dentro de esta clasificación se encuentra la especie de estudio *Pseudocrossidium replicatum* (Mujer en la ciencia 2011), la cual ha mostrado alta tolerancia a estrés salino a nivel de germinación de sus esporas, desarrollo del protonema, y gametóforos adultos (Mujer y ciencia 2014).

En este trabajo se evaluó la viabilidad de los protonemas de *P. replicatum* después de estar expuestos a 10d de estrés salino con o sin un pre-tratamiento de ácido abscísico (ABA). Mediante un estudio de "ion leakage" se calculó el porcentaje de sobrevivencia de los protonemas al término de los diferentes tratamientos salinos. Además, se registraron los fenotipos de los tejidos en condiciones de recuperación en medio control, y mediante la fluorescencia de la clorofila evaluamos el estatus del fotosistema II (FSII) antes, durante y después del tratamiento.

Los resultados obtenidos mostraron que a menor intensidad de estrés salino existe un mayor porcentaje de viabilidad. Sin embargo, las plantas tratadas con concentraciones muy altas NaCl (800 mM) logran recuperar la funcionalidad del FSII pese al evidente daño en la membrana celular y los fenotipos cloróticos observados.

Los datos obtenidos refuerzan nuestra hipótesis de que los mecanismos de reparación celular en esta especie podrían ser parte medular en la transición de la vida acuática y la colonización del ambiente terrestre de las briofitas. Por otra parte el estudio de las estrategias de exclusión y/o compartimentación del Na<sup>+</sup> a nivel celular son un paso importante a seguir.

### 1. INTRODUCCIÓN

La salinidad en las plantas causa toxicidad y estrés osmótico, la mayoría los estudios se han realizado en especies vasculares. Las respuestas a estrés en las plantas induce respuestas fisiológicas; cierre de estomas, arresto del crecimiento y fotosíntesis, recambio de azúcares, síntesis de osmolitos, entre otras, así como respuestas moleculares; expresión de genes y síntesis de proteínas. En conjunto ambos mecanismos brindan protección intracelular estabilizando organelos, membranas y ajuste del potencial osmótico (Dinakar y Bartels, 2013), parte de dichas respuestas son señalizadas por la fitohormona ABA (Komatsu et al., 2013).

En las últimas décadas las plantas no vasculares (haploides en estadio de protonema y gametóforo) han surgido como un nuevo modelo de estudio, en quienes se han reportado especies tolerantes a la deshidratación vegetativa (Wood, 2007). Por otra parte el genoma del modelo de estudio en musgos, *Physcomitrella patens* se encuentra secuenciado completamente y se ha reportado que los componentes involucrados en el reconocimiento de la señalización por ABA se encuentran en su acervo genético (Komatsu et al., 2013). Algunos estudios han reportado que la aplicación exógena de ABA antes del tratamiento de estrés por congelación contribuye a la sobrevivencia en *P. patens* (Nagao, 2006), misma que ha sido reportada como sensible a desecación (Koster, 2010). Por otra parte también se ha reportado que el ABA incrementa el contenido de sacarosa en dicha especie (Nagao, 2006).

Nuestro grupo de investigación esta interesado en el estudio de plantas no vasculares Mexicanas tolerantes a estrés hídrico y salino. Entre nuestros modelos de estudio destaca el musgo *P. replicatum* el cual presenta tolerancia a salinidad durante la etapa germinativa de las esporas y posee la capacidad de incrementar los azúcares solubles totales en respuesta a ABA y NaCl en estado de gametóforo.

En el presente trabajo reportamos el estudio de la viabilidad de los protonemas de *P. replicatum* bajo diferentes tratamientos en medios adicionados con NaCl mediante un estudio de conductividad eléctrica así como el estado del FSII (QY) durante y después del estrés salino.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### Material biológico

Se sembraron tejidos de protonemas de *P. replicatum* sobre membranas de celofán de 6mm de diámetro en medio PpNH<sub>4</sub>, se incubaron en cuarto de cultivo *in vitro* a 16h luz y 8h oscuridad por 10d. Algunas plantas recibieron previamente un tratamiento de ABA 10μM por 24h antes de los tratamientos de estrés por salinidad.

#### Tratamientos de estrés

Protonemas de 10d fueron transferidos a medios adicionados con NaCl 200, 400, 600 y 800 mM por 10d, en las condiciones de cuarto de cultivo antes mencionadas. Posteriormente las muestras se transfirieron a medio control.

#### Evaluación de la viabilidad y FSII

Se determinó la conductividad eléctrica al finalizar 10d en cada uno de los diferentes tratamientos salinos con un conductímetro Hanna 1234, posteriormente las muestras se esterilizaron y nuevamente se tomó lectura de la conductividad total. A la par se monitoreó el estado del fotosistema II mediante la medida indirecta de la fluorescencia de la clorofila con un fluorómetro Fluor Pen 100 durante el estrés y posteriormente en la recuperación. Adicionalmente se hizo registro fotográfico de los fenotipos de *P. replicatum* en ambas etapas evaluadas.

#### Resultados

##### Viabilidad bajo estrés salino

Los datos de conductividad eléctrica obtenidos muestran que a menor intensidad de estrés salino los protonemas de *P. replicatum* exhiben una mayor sobrevivencia (Figura 1). En el tratamiento de NaCl 200 mM se observó sobrevivencia en más del 60% de los tejidos y el estatus del FSII se mantuvo en niveles similares a los detectados en las plantas control en las plantas pre-tratadas con o sin ABA antes del tratamiento de estrés de 10 días (Figura 2).

En el tratamiento con NaCl 400 mM la sobrevivencia fue de 50% (Figura 1) y se observó una disminución en el FSII al final del tratamiento de 10 días en estrés. Interesantemente, cuando las plantas se re-transfirieron a condiciones control recuperan dicha función (d5 de recuperación). No se observó diferencia significativa en las lecturas de FSII obtenidas entre las plantas tratadas con o sin ABA exógeno en NaCl 200 y 400 mM lo que sugiere que *P. replicatum* probablemente induce niveles endógenos de esta fitohormona, o bien que el ABA no tiene una participación en estas dos concentraciones (Figura 2).

Es posible diferenciar el efecto protector del ABA exógeno en el tratamiento de NaCl 600 mM, puesto que la función del fotosistema en plantas no tratadas es completamente abatida a diferencia las plantas tratadas con ABA, donde solo disminuye esta función en un 50% (d10 de estrés). Interesantemente las plantas no tratadas al igual que las pretratadas con ABA son capaces de reanudar la actividad del FSII al d5 de recuperación (Figura 2, 3 y 4).

Con el tratamiento de NaCl 800 mM podemos confirmar el efecto protector de ABA exógeno en esta especie ante estrés salino, ya que solo el lote pre-tratado con ABA fue capaz de reanudar la función del FSII y el crecimiento, a diferencia de las plantas no-pre tratadas (Figura 2, 3 y 4).



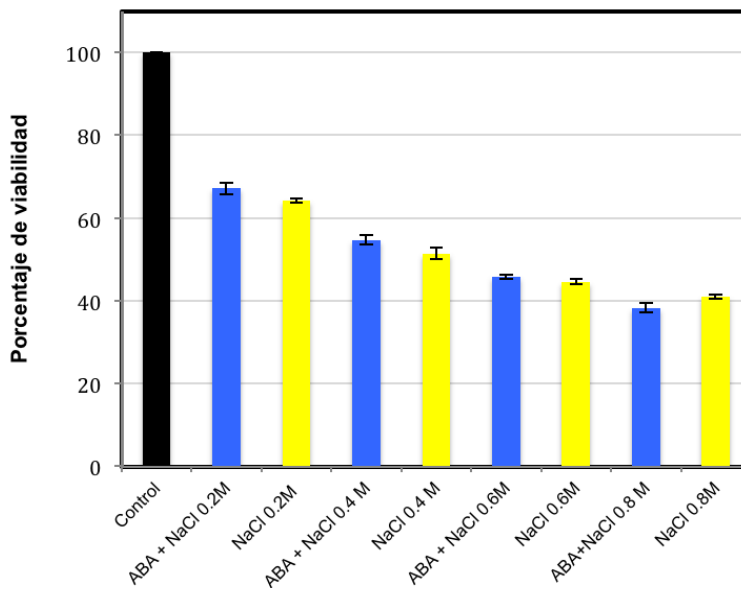


Figura 1 Determinación de la viabilidad de *P. replicatum* bajo estrés salino mediante ensayos de "ion leakage". Representación grafica de los datos de dos experimentos independientes con 3 replicas cada uno. Las barras representan el error estándar.

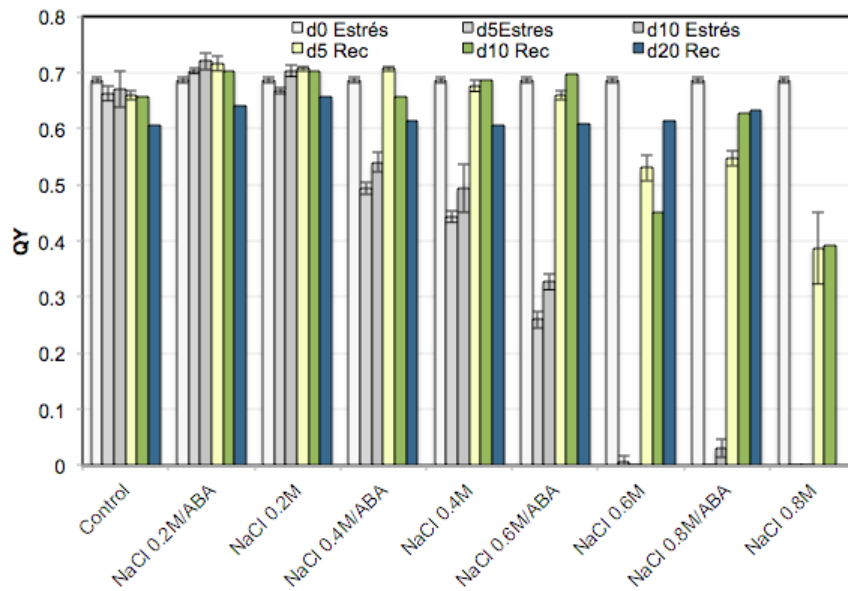


Figura 2 Determinación del estatus de FSII (QY) en *P. replicatum* durante y despues de los tratamientos de estrés salino con NaCl. Representación grafica de los datos de dos experimentos independientes con 3 replicas cada uno. Las barras representan el error estándar.

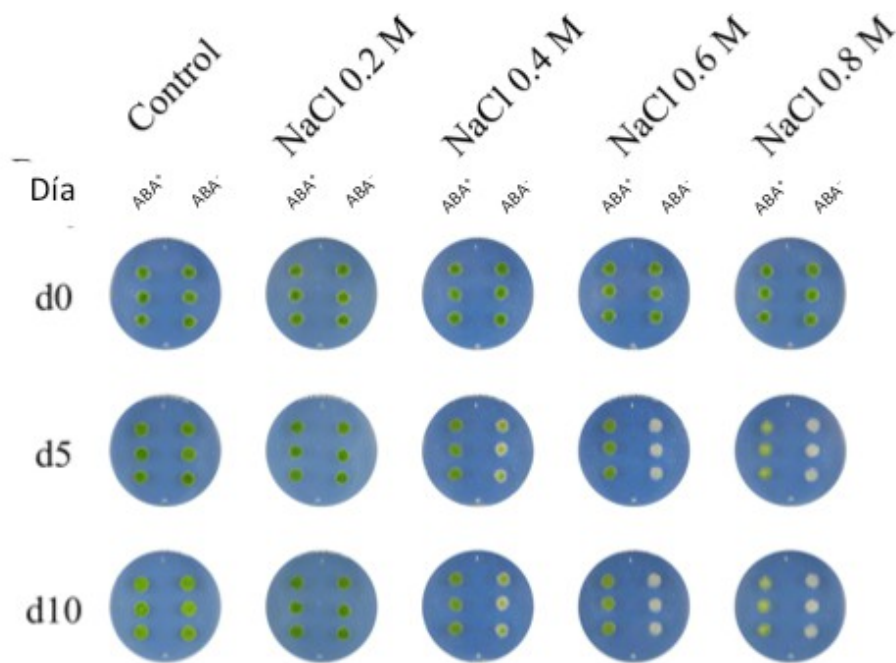


Figura 3 Fenotipos de *P. replicatum* durante 10d de estrés salino por NaCl.

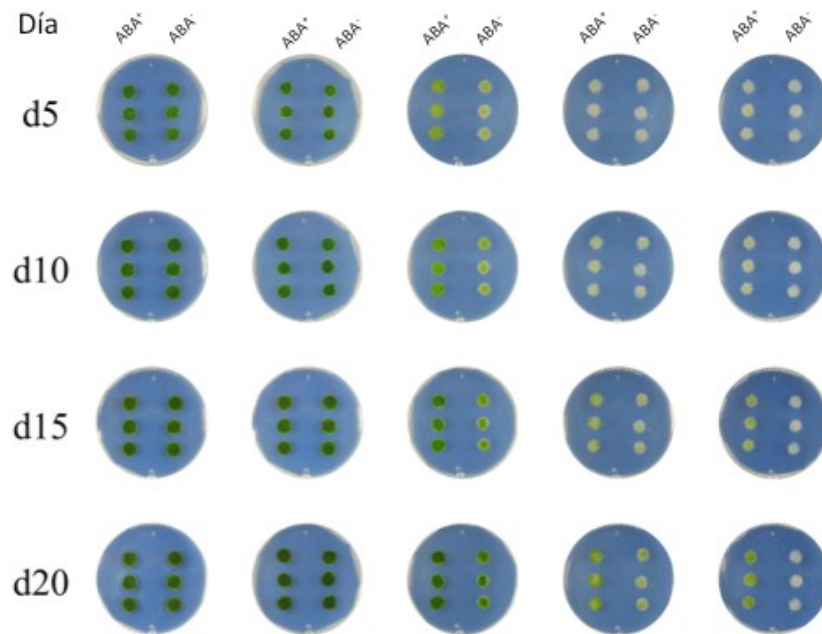


Figura 4 Fenotipos de *P. replicatum* durante la recuperación en medio control.

#### 4. CONCLUSIONES

El tratamiento de salinidad afecta considerablemente la integridad de *P. replicatum* a nivel de la membrana citoplasmática.

*P. replicatum* posee alta capacidad de reparación celular.

*P. replicatum* detecta y responde a ABA exógeno y juega un papel importante en la señalización de la respuesta de protección.

Un paso a seguir es el estudio de la detección y cuantificación de sodio intracelular en los protonemas y gametóforos de *P. replicatum* que nos permitan proponer el mecanismo que le brindan protección y tolerancia a la salinidad.

Agradecemos a CONACYT, SIP 2015, COFAA y al IPN por los apoyos otorgados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. A. Wood, "The nature and distribution of vegetative desiccation-tolerance in hornworts, liverworts and mosses", *The Bryologist*, Vol.110, 2007, pp. 163–177
2. C. Dinakar y D. Bartels, "Desiccation tolerance in resurrection plants: new insights from transcriptome, proteome, and metabolome analysis", *Front. in Plant Sci.* Vol. 4, 2013, pp. 1-14
3. K. Komatsu, N. Suzuki, M. Kuwamura, Y. Nishikawa, M. Nakatani, H. Ohtawa, D. Takezawa, M. Seki, M. Tanaka, T. Taji, T. Hayashi, Y. Sakata, "Group A PP2Cs evolved in land plants as key regulators of intrinsic desiccation tolerance", *Nat. Commun.*, Vol. 4, 2013, pp. 1-9
4. K.L. Koster, R.A. Balsamo, C. Espinoza, M.J. Oliver, "Desiccation sensitivity and tolerance in the moss *Physcomitrella patens*: assesing limits and damage", *Plant Growth Regul.*, Vol. 62, 2010, pp. 293-302
5. M. Nagao, K. Oku, A. Minami, K Mizuno, M. Sakurai, K. Arakawa, S. Fujikawa, D. Takezawa, "Accumulation of theanderoose in association with development of freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*" *Phytochem.*, Vol. 67, 2006, pp. 702-709
6. Ríos S., Morales E, Arroyo, Villalobos M. A., 2011. *Ceratodon stenocarpus*, una briofita adaptada al estrés abiótico. Artículo *in extenso* BCA26 publicado en las memorias del VIII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. ISBN 978-607-95228-2-7.
7. Ríos S., Luna L., Arroyo, Villalobos M. A., 2014, El musgo *P. replicatum* presenta tolerancia a salinidad en diferentes estados de desarroll, Artículo *in extenso* S3-BYQ14 publicado en las memorias del VIII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. ISBN 978-607-95228-5-8

# CONTROL DEL TAMAÑO EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS OBTENIDAS A TRAVÉS DE DESCOMPOSICIÓN TÉRMICA PARA APLICACIONES AMBIENTALES

José de Jesús Ibarra Sánchez<sup>a</sup>, Yolanda Preciado Rojas<sup>a</sup>, Alejandro García Ocampo<sup>a</sup>, Mauricio Salvatori Morales<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidad de la Salle Bajío, León, Gto., [jjis104490@udelasalle.edu.mx](mailto:jjis104490@udelasalle.edu.mx), [ypr104487@udelasallebajio.edu.mx](mailto:ypr104487@udelasallebajio.edu.mx), [agarciao@delasalle.edu.mx](mailto:agarciao@delasalle.edu.mx), [msalvatori@delasalle.edu.mx](mailto:msalvatori@delasalle.edu.mx)

## RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la síntesis de nanopartículas magnéticas (MNPs), específicamente, el control sobre el tamaño de partícula y su polispersidad (distribución de tamaño). Las síntesis se llevaron a cabo a través de la descomposición térmica de acetilacetato de hierro (III) en presencia de ácido oleico, oleilamina y empleando 1-octadeceno como solvente. Posteriormente las MNPs sintetizadas se les determinó el tamaño de partícula a partir de TEM (microscopía electrónica de transmisión), así como su cristalinidad con su espectro de XRD (difracción de rayos X) y su magnetización a través de un VSM (magnetómetro de muestra vibrante). Por otro lado, el coeficiente de correlación para el modelo obtenido fue de 0.97. Posteriormente las MNPs se secaron y se colocaron en un reactor batch de 1 L, donde se mezclaron con una solución de Cr (VI). Esta reacción se llevó a cabo a un pH de 3, 7 y 11. Finalmente las características de las MNPs obtenidas son con una alta cristalinidad, así como una alta magnetización y baja polidispersidad, lo que las hace candidatas para ser usadas en aplicaciones de remediación ambiental, tales como reducción de cromo.

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los materiales a nanoescala que hoy están teniendo un auge es la magnetita. Esto es debido por sus diferentes características, tales como sus propiedades magnéticas y su biocompatibilidad en los sistemas biológicos y ambientales. Algunas de estas aplicaciones son como hipertermia magnética para el tratamiento de los tumores cancerosos, incluidos agentes de contraste para imágenes de resonancia magnética (MRI), y la entrega controlada y dirigida de medicamentos y genes terapéuticos [1-2]. En el presente trabajo se estudió el control de tamaño de las NPs magnéticas y su aplicación a la reducción de cromo hexavalente en un reactor de batch.

## 2. METODOLOGÍA

Las nanopartículas de magnetita fueron preparados por la descomposición térmica de acetilacetato de Hierro en 1-octadeceno. Una mezcla de 10 mmol de acetilacetato de Hierro, 60 mmol de ácido oleico y 10 mL de 1-octadeceno se añadieron a un matraz esférico. La reacción se llevó a cabo de la siguiente manera: La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos a temperatura ambiente. Después, la mezcla se calentó a 50 °C donde se mantuvo durante 5 horas. Posteriormente la reacción se calentó hasta reflujo en los siguientes tiempos: 10 min (S1), 15 min (S2), 20 min (S3), 30 min (S4), 40 min (S5) y 50 min (S6). Finalmente, la mezcla se dejó enfriar lentamente a temperatura ambiente.

El tamaño de partícula y la morfología se estudiaron por microscopía electrónica de transmisión (TEM) usando un microscopio de FXII 200 keV JEOL-2010. Tamaño medio de partícula ( $D_{TEM}$ ) y distribución de tamaño se evaluaron midiendo la mayor dimensión interna de al menos 300 partículas. Distribución de tamaño de partículas se ajustó después a una función logarítmica normal utilizando el método estocástico de la Evolución diferencial en Matlab R2010a®. La fase cristalina se identificó por difracción de rayos X en polvo (XRD). Los patrones de rayos X se realizaron con un modelo Rigaku Miniflex 600 con radiación Cu Ka (1.5406 Å). La caracterización magnética de las muestras se llevó a cabo en un magnetómetro de muestra vibrante (MLVSM9 Maglab 9 T, Oxford Instruments) a temperatura ambiente.

Las adsorciones de Cr (VI) se llevaron a cabo utilizando un reactor batch, empleado soluciones acuosas a diferentes pH (3, 7 y 11) y 25 °C. Se añadieron 120 mg de magnética húmeda (20% de contenido de partículas secas) en 10 mL de solución de Cr (VI) a diferentes concentraciones (10-200 mg/L) y se agitaron a 230 rpm. Después de que se alcanzó el equilibrio, la magnetita se retiró usando un imán. Las concentraciones de As (V) y los iones de Cr (VI) se determinaron mediante titulación.

### 3. RESULTADOS

Las MNPs en todos los casos se obtuvo (Tabla 1), para confirmar esto era necesario identificar la fase de óxido de hierro resultante. Debido a que en cada caso se obtuvo el mismo material, sólo una muestra se analizó mediante XRD. La Figura 1 muestra sólo el espectro de la muestra sintetizada a los 30 min (S4). Los datos muestran siete picos de difracción distintos, y la estructura fue asignado a la magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) (JCPDS no.00-001-1111). Mediante el uso de la ecuación de Scherrer el tamaño de los cristales se estimó en 0.83960 nm. La pequeña desviación presente en todos los casos puede deberse a defectos inherentes al material en su estructura nanocristalina.

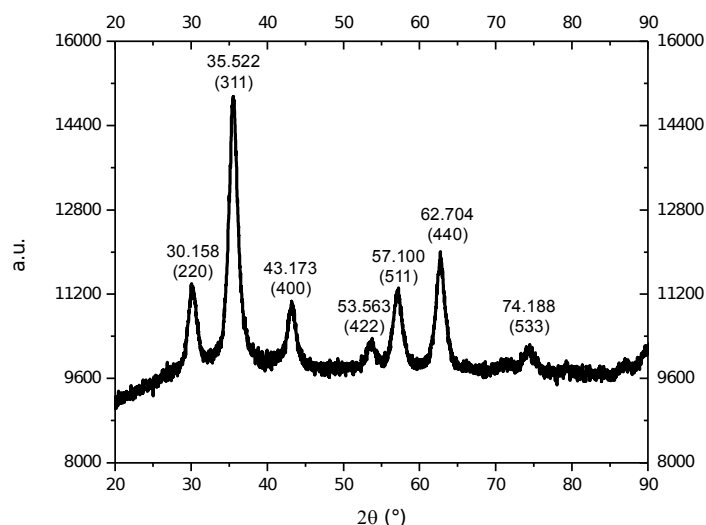


Figura 1. Patrón de XRD para MNPs (Muestra S4).

En la Tabla 1 se muestran los tamaños de partículas obtenidos en diferentes condiciones de reacción. Esta tabla muestra que existe una relación directa entre el tiempo de reacción y el tamaño de partícula, además de que en todos los casos se obtuvo una polidispersidad muy baja, la cual se observa en las micrografías de la Figura 2, donde todas las MNPs sintetizadas tienen una forma esférica. Además, la Figura 3 mostró el comportamiento del tamaño de partícula en función del tiempo, donde se mostró una tendencia asintótica. Los datos obtenidos se ajustaron a una función exponencial por Origin 8.0 ® donde se calculó el coeficiente de correlación de 0.9795. Por lo tanto, este modelo permite el control del tamaño de partícula entre 5 y 12 nm en función del tiempo de reacción.

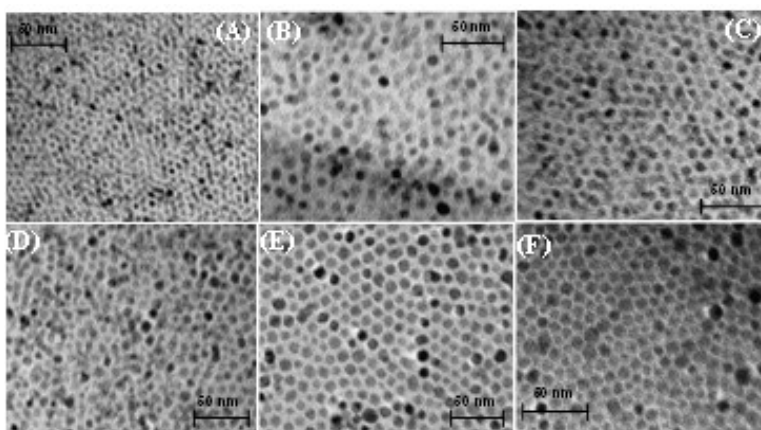


Figura 2. Imágenes de TEM para las muestras: (A) S1; (B) S2; (c) S3; (D) S4; (E) S5; (F) S6.

Tabla 1. Tamaño de partícula y polidispersidad de las MNPs a diferentes tiempos.

Sample	Time (min)	$D_{TEM}$ (nm)	Polydispersity ( $\sigma_P$ )
S1	10	5.0	0.03
S2	15	7.5	0.03
S3	20	8.3	0.04
S4	30	10.0	0.02
S5	40	11.0	0.01
S6	50	12.0	0.01

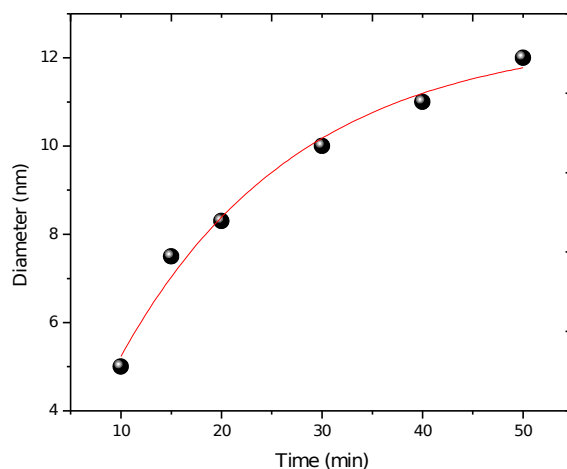


Figura 3. Tamaño de partícula en función del tiempo de reacción.

La Figura 4 muestra el ciclo de histéresis para la muestra S4 obtenida a temperatura ambiente. La muestra exhibió un comportamiento superparamagnético a temperatura ambiente, la cual es típica de las nanopartículas de magnetita de tamaños de menos o igual a 10 nm.

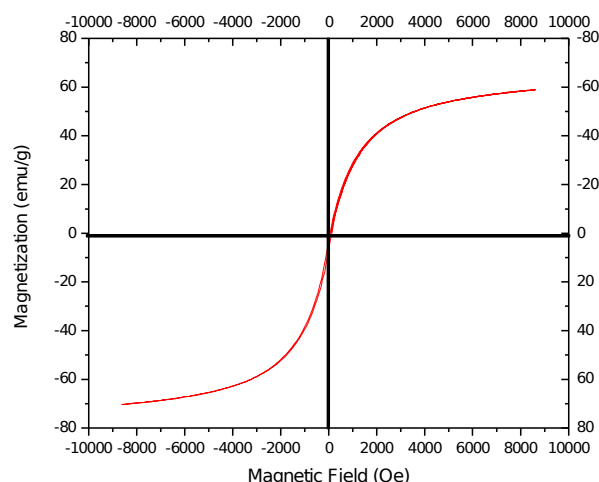


Figura 4. Ciclo de histéresis para MNPs (Muestra M4).

Las isotermas para la adsorción de iones Cr (VI) por MNPs a 25 °C se presentan en la Figura 5. En esta figura se puede observar que la capacidad de adsorción aumenta de forma directa con respecto a la concentración de iones. Los datos de equilibrio se ajustaron mediante modelos de isotermas de adsorción de Langmuir y Freundlich. Éstos modelos son ampliamente utilizados para describir la relación entre la cantidad de analito adsorbido en el adsorbente y su concentración de equilibrio en solución acuosa donde  $q_e$  es la cantidad de adsorbato adsorbida por masa de adsorbente en equilibrio (mg/g),  $C_e$  es la concentración de equilibrio del adsorbato en solución acuosa (mg/L),  $q_m$  es la capacidad de adsorción monocapa en equilibrio (mg/g),  $K_L$  es la constante de equilibrio Langmuir,  $K_F$  es una constante de Freundlich (índice de capacidad de adsorción),  $n$  es una constante de Freundlich (índice de intensidad de adsorción o heterogeneidad de la superficie).

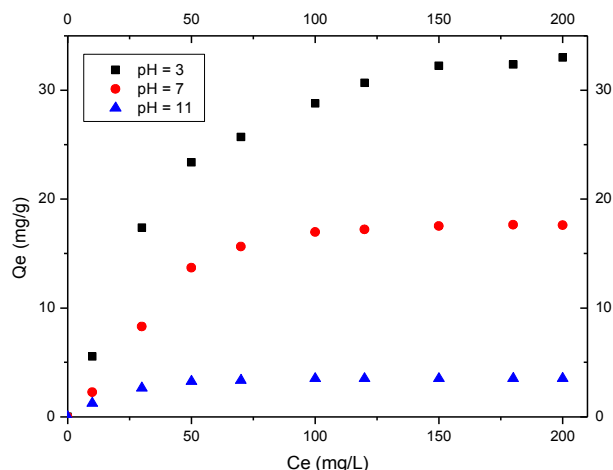


Figura 5. Isotherma de adsorción para Cr (VI) a diferente pH.

Tabla 2. Parámetros de la isoterma de adsorción a diferentes pH's, 25 °C.

pH	Langmuir			Freundlich		
	$K_L$ (L/mg)	$q_m$ (mg/g)	$R^2$	$K_F$	$n$	$R^2$
3	0.02015	43.47826	0.985	2.11277	1.80831	0.890
7	0.01731	24.39024	0.923	0.76644	1.55279	0.849
11	0.07847	3.83141	0.996	0.78114	3.20512	0.799

#### 4. CONCLUSIONES

El control del tamaño se analizó en la síntesis MNPs por descomposición térmica. En esta ruta de síntesis, el tiempo de reacción permite controlar el tamaño de partícula entre 5 y 12 nm. Por otro

lado las MNPs fueron empleadas para la reducción de Cr (VI), donde se investigaron diversos factores que afectan el comportamiento de la absorción de metales tales como el pH, tiempo de contacto, la concentración inicial de los iones metálicos. El pH de la solución juega un papel muy importante en la adsorción de Cr (VI) a partir de una solución acuosa en MNPs y la adsorción óptima producido a pH 3.0.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. King-Chuen Wu, Ching-Li Tseng, Chi-Chang Wu, Feng-Chen Kao, Yuan-Kun Tu, Edmund C So and Yang-Kao Wang, Nanotechnology in the regulation of stem cell behavior, *Science and Technology of Advanced Materials* 14, (2013).
2. Zhang L, Webster T J, Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration, *Nano Today* 4, 66–80, (2009).
3. Taylor, E., Webster, T., Reduction infections through nanotechnology and nanoparticles, *International Journal of Nanomedicine* 6, 1463-1473, (2011).
4. Greulich, C., Kittler, S., Epple, M., Muhr, G., Köller, M., Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs), *Langenbecks Archives of Surgery* 394(3), 495-502, (2009).



## ARREGLO SUPRAMOLECULAR DEL 1-(4-NITROFENIL)-2-m-TOLIL-1H-BENZO[D]IMIDAZOL

Itzia Irene Padilla Martinez, Efrén Venancio García Báez, Minerva Juarez Juarez.

Departamento de Ciencias Básicas-Química, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN. ipadillamar@ipn.mx, efren1003@yahoo.com.mx, mijuju@yahoo.com.mx

### RESUMEN

El reconocimiento molecular es un concepto de la Química Supramolecular que corresponde a la capacidad que tienen las moléculas de reconocerse mutuamente y viene definido por la energía y la información involucradas en el enlace (no covalente) y selección del sustrato por una molécula receptora determinada. La interacción sustrato-receptor debe basarse en la afinidad entre ambos en cuanto a forma, tamaño, conformación, polaridad, polarizabilidad, fuerzas de van der Waals, etc. La afinidad entre dos moléculas en estas propiedades es una expresión de la complementariedad existente entre ellas. Esta afinidad o complementariedad expresa una información física y/o química a transmitirse entre las moléculas involucradas. A su vez, esta información molecular se revierte en el compuesto supramolecular formado.

En este trabajo de investigación se reporta el arreglos moleculares en la red cristalina de un nuevo derivado del bencimidazol 1,2-disustituido. El bencimidazol de interés cristaliza en un sistema triclinico, con grupo espacial P -1. La molécula se definió en una solo unidad asimétrica. Todas las distancias C-C, C-N, N-O están en perfecta concordancia con moléculas orgánicas del mismo tipo ya reportadas. Con respecto a las interacciones intermoleculares existente en la red cristalina, las interacciones C12-H12(anillo aromático del bencimidazol)...N3(anillo del imidazol) y la N13-O13A...Cg(1)(anillo del imidazol) las cuales se propagan en la dirección (0 8 -32).

Existen otras dos interacciones adicionales, una de las cuales es la C14-H14(anillo del nitrobenzeno....Cg2(anillo aromático del bencimidazol) (-x,1-y,-z) con una distancia 2.76 Å. La otra interacción importante es la que involucra al grupo nitro N13-O13A...Cg3 3.254(2) Å, 1-x,1-y,-z. La molécula no es plana, el plano del grupo nitrobenzeno con respecto al plano del bencimidazol forman un ángulo de 65.3°, mientras que con el grupo tolil 28.5°

### 1. INTRODUCCIÓN

En años recientes, investigaciones detalladas de moléculas derivadas del benzimidazol revelaron que estos compuestos constituyen una nueva clase de inhibidores de la topoisomerasa i y ii. las topoisomerasas son enzimas nucleares que controlan y modifican los estados topológicos de ADN. éstas pueden catalizar interconversiones entre varios isómeros topológicos de ADN transitoriamente, rompiendo cadenas simples o dobles. dado que la actividad de las topoisomerasas es esencial para varios procesos celulares tales como la replicación, la transcripción y la condensación de cromosomas; la investigación de las actividades inhibitoras de las topoisomerasas eucariotas se utilizan ampliamente en el desarrollo de fármacos contra el cáncer. algunos de los compuestos sintetizados mostraron una actividad inhibitoria mayor que el etopósido, fármaco utilizando actualmente como parte de la terapia contra el cáncer (pinar et al., 2004)

### 2. TEORÍA

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

El compuesto de interés cristaliza en el sistema triclínico, con grupo espacial P-1. La solución de la estructura se obtuvo por métodos directos empleando ShelxS-97, el refinamiento de la estructura se efectuó con ShelxL-97 programas que viene el conjunto de programas de WinGx. Para el estudio de las interacciones intermoleculares se empleó el programa PLATON y el archivo cif se analizó con el programa Mercury para buscar estas interacciones intermoleculares y realizar dibujos para la publicación. Todos los átomos diferentes de hidrógeno se encontraron por diferencias de fourier, los átomos de hidrógeno se colocaron en base a la hibridación de los átomos participantes empleando el modelo rígido.

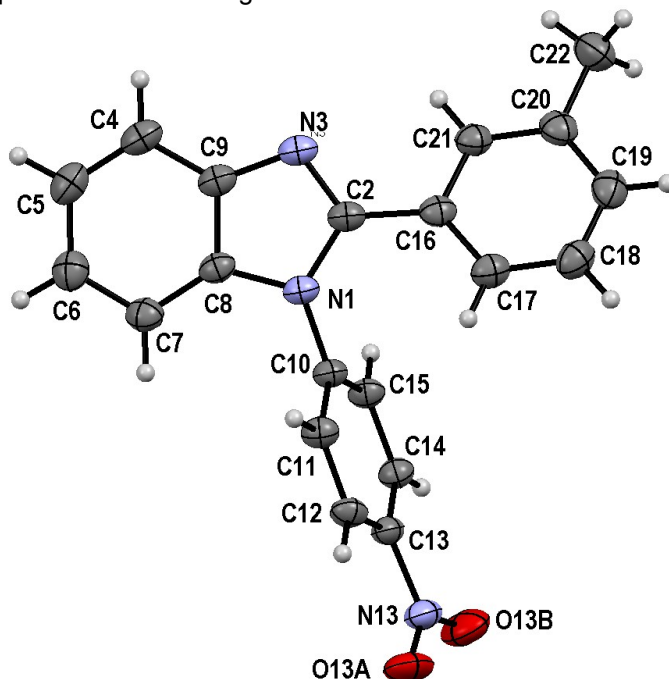


Figura 1. Diagrama Ortep del bencimidazol de interés.

La molécula se definió en una sola unidad asimétrica. Todas las distancias C-C, C-N, N-O están en perfecta concordancia con moléculas orgánicas del mismo tipo ya reportadas<sup>1,4</sup>. La figura 1, se reporta el diagrama Ortep con 30% de probabilidad de las elipsoides de cada uno de los átomos diferentes de H. Con respecto a las interacciones intermoleculares existente en la red cristalina, las interacciones C12-H12(anillo aromático del bencimidazol)...N3(anillo del imidazol) y la N13-O13A...Cg(1)(anillo del imidazol) las cuales se propagan en la dirección (0 8 -32), Figura 2. Existen otras dos interacciones adicionales, una de las cuales es la C14-H14 (anillo del nitrobenzeno...Cg2(anillo aromático del bencimidazol) (-x,1-y,-z) con una distancia 2.76 Å. La otra interacción importante es la que involucra al grupo nitro N13-O13A...Cg3 3.254(2) Å, 1-x,1-y,-z. La molécula no es plana, el plano del grupo nitrobenzeno con respecto al plano del bencimidazol forman un ángulo de 65.3°, mientras que con el grupo toliil 28.5°, figura 3.

Con respecto a las interacciones intermoleculares existe dos interacciones N3...H12-C12 de 2.47 y con N13-O13A...Cg(1) = 3.796(3) Å(1+x,y,z) que van uniendo a las moléculas en la dirección (0 8 -32), figura 2.

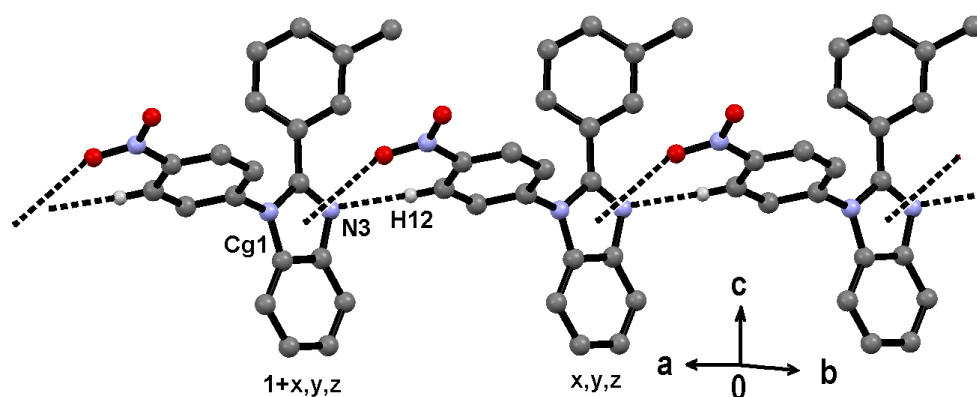


Figura 2. Interacciones intramoleculares C-H...N y N13-O13A...Cg1 a lo largo de la dirección (0 8 -20).

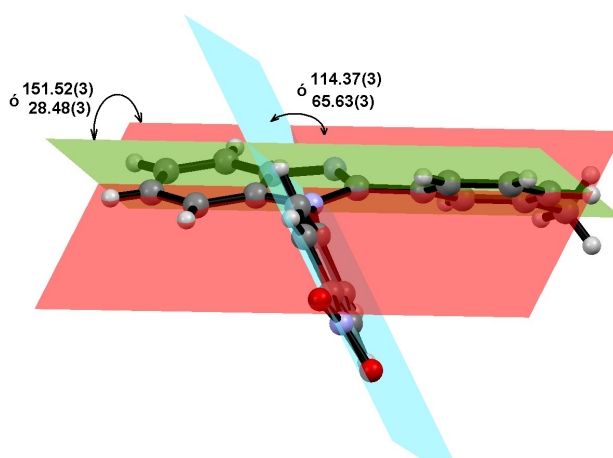


Figura 3. Relación de la desviación de los planos de los sustituyentes de la posición 1(plano azul) y 2(plano verde) con respecto al plano del benzimidazol (plano rojo).

#### 4. CONCLUSIONES

El análisis cristalográfico del benzimidazol de interés mostro que las interacciones intermoleculares del grupo nitro, con N13-O13A...Cg(1) y C14-H14...N3 son las responsables de mantener el arreglo cristalino de las moléculas de benzimidazol en el sólido.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. J. Bernstein, , R. E., Davis, L. Shimon, L. & N.-L. Chang, 1995. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 34, 1555–1573.
2. Farrugia, L. J. (2012). *J. Appl. Cryst.* 45, 849–854.
3. G.M, Sheldrick, (2008). *Acta Cryst.* A64, 112–122
4. J. E. Gonzalez-Padilla, M, C. Rosales-Hernandez, Itzia I. Padilla-Martinez, E. V. Garcia-Baez, S. S. Rojas-Lima and V. Salazar-Pereda, *Acta Cryst.* (2014). C70, 55–59

## ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE NEBULIZACIÓN DE NICOTINA PARA EL ESTUDIO DE ADICCIÓN EN RATAS WISTAR

Bernardo Ángel De Felipe-Lucio<sup>a</sup>, T. Jiménez-Molina<sup>b</sup>, A. Cortés-Sol<sup>a</sup>, E. Morgado<sup>a</sup>, Claudia Juárez-Portilla<sup>a, c</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, [anheruan@gmail.com](mailto:anheruan@gmail.com), [alcortes@uv.mx](mailto:alcortes@uv.mx); [elmorvi@hotmail.com](mailto:elmorvi@hotmail.com)

<sup>b</sup>Facultad de Química Farmacéutica, Universidad Veracruzana, [tmolina@uv.mx](mailto:tmolina@uv.mx)

<sup>c</sup>Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana, [cjuarez@uv.mx](mailto:cjuarez@uv.mx)

### RESUMEN

El consumo de sustancias psicoactivas se ha convertido en un problema de salud, económico y social. Los avances recientes en el entendimiento de las bases neurobiológicas de la adicción a drogas específicas, como la nicotina, han derivado en el desarrollo de modelos animales de estudio en laboratorio. Así, los mecanismos que regulan la transición entre el uso ocasional al uso recurrente de las drogas han sido descritos utilizando los modelos animales. De manera general, se tienen dos tipos de modelo de consumo: la autoadministración y la administración forzada. Esta última a través de la vía intragástrica, intraperitoneal y subcutánea ocasionando estrés en los animales y distando de las vías de administración convencionalmente utilizadas por los humanos. En cada caso se busca expresar los niveles de hiperactividad característicos del consumo de dicha droga dependiendo de la dosis administrada. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue validar y estandarizar el método de nebulización forzada de nicotina, droga cuya vía de consumo es principalmente a través de la inhalación. Se utilizaron ratas Wistar macho (n=7), mantenidas en condiciones de bioterio bajo un ciclo de luz/oscuridad 12/12h (encendido a las 07:00 h), con agua y alimento *ad libitum*. Durante 4 días, la actividad locomotora de los sujetos fue evaluada utilizando la prueba de campo abierto (5 min) en siete condiciones experimentales: 1) administración de 0.35 mg/kg de nicotina vía subcutánea, como control; nebulización durante 15 minutos de 2) agua destilada, solución de nicotina 3) 0.5 mg/ml, 4) 1.0 mg/ml, 5) 1.5 mg/ml, 6) 2.0 mg/ml y 7) 2.5 mg/ml. Los resultados indicaron que, durante los 4 días experimentales, la actividad locomotora aumentó en los sujetos nebulizados con la solución de nicotina 2.5mg/ml, similar a lo reportado con la administración subcutánea de 0.35 mg/kg de nicotina. Esto sugiere que el método de nebulización forzada es un modelo eficaz para la investigación sobre los efectos de la administración de drogas como la nicotina, simulando la administración de esta droga en humanos.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las drogas de abuso son aquellas sustancias psicoactivas que son utilizadas para producir algún tipo de placer, promoviendo la dependencia del individuo a su uso. Se clasifican según sus efectos en: alucinógenas, depresoras o estimulantes (OMS, 1993). De entre ellas, la nicotina es una droga estimulante consumida principalmente por inhalación de tabaco, cuyo uso recreativo termina convirtiéndose en adictivo, representando la principal causa de muertes prevenibles en el mundo (OMS, 2011). Los avances recientes en el entendimiento de las bases neurobiológicas de la adicción a nicotina se deben al desarrollo de modelos animales, donde se emplea la autoadministración o la administración forzada de nicotina. Este último implica una manipulación importante sobre los individuos, provocando estrés y nerviosismo, respuestas que pueden influir y afectar en la experimentación.

El objetivo del presente trabajo es validar el método de nebulización como vía de administración forzada de nicotina y establecer la concentración requerida para promover los mismos efectos hiperactivos que se han observado en otras vías de administración tradicionales. Este método de administración podría reducir el miedo y estrés causado en los animales en comparación con métodos tradicionales, donde existe mayor manipulación y afección física.

Adicionalmente, la administración de nicotina por la vía respiratoria simula de forma más precisa las condiciones humanas de consumo de dicha droga.

## 2. TEORÍA

Una característica de la nicotina es que además de tener efectos estimulantes, también puede actuar como sedante (Gilbert, 1979), dependiendo de la dosis (Rev. en Leshner, 2001). Para el estudio de la nicotina como droga de abuso, se utilizan modelos animales donde se busca simular las condiciones humanas de su consumo. En dichos modelos se espera que la dosis utilizada de nicotina actúe sobre los circuitos neurales relacionados a las drogas de abuso. La activación del sistema límbico por nicotina se manifiesta conductualmente por el aumento de la actividad motora (Reavill y Stolerman, 1990), así como la aparición de algunos signos somáticos como ptosis, fasciculación facial, golpeteo de dientes o incremento en los pestañeos (Hildebrand *et al.*, 1997).

Los métodos de administración de nicotina más utilizados en modelos animales son: vía intragástrica, intraperitoneal y subcutánea. Algunos trabajos que han utilizado la vía de administración subcutánea en ratas han utilizado dosis de nicotina en el rango de 0.1 – 0.5 mg/kg y se ha observado un aumento en la actividad motora que puede durar hasta 80 minutos (Benwell y Balfour, 1992; Ksir *et al.*, 1985; Nisell *et al.*, 1996). Mathieu-Kia y colaboradores (1998) reportaron la activación de estructuras límbicas utilizando una dosis de 0.35 mg/kg de nicotina, manifestándose conductualmente por una hiperactividad. Por otra parte, la vía de administración por inhalación (nebulización), vía de administración común para diversas drogas de abuso, ha sido únicamente reportada por Keith (2013) para el estudio de metanfetaminas.

Una forma de evaluar la actividad motora en ratas es con ayuda de la prueba de campo abierto, donde se mide el tiempo de deambulación (tiempo en movimiento) y el número de cuadros cruzados, durante un periodo de 5 minutos, variables que indican de manera general la motricidad animal (Prud y Belzung, 2003). Además, se cuantifican otras variables como conducta exploratoria, acicalamiento, inmovilidad y defecación. (Bronikowski *et al.*, 2001). En el presente trabajo se consideró el tiempo de deambulación y el número de cuadros cruzados para evaluar la actividad motora después de la administración de nicotina por nebulización.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

### *Alojamiento de animales*

Se utilizaron ratas macho Wistar adultas (n=7), con peso aproximado de 300g, alojadas y mantenidas en el Centro de Investigaciones Biomédicas de Xalapa, Veracruz, México. Las ratas se alojaron en grupo (4 por caja) en cajas de policarbonato (47 x 58 x 19 cm) bajo condiciones de luz-oscuridad 12/12 (encendido a las 07:00 h), con alimento (Purina Rat Chow) y agua *ad libitum*, y temperatura constante de 22±1 °C. Todos los procedimientos utilizados en este experimento están regulados por la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

### *Aparato experimental*

La dosificación de nicotina y vapor de agua se realizó en cajas de policarbonato (37 x 53 x 19 cm) divididas en seis compartimentos triangulares (37 x 25 x 19 cm) con láminas de acrílico transparentes y sellados con silicona líquida. En el centro de la caja se colocó un tubo de policloruro de vinilo de una pulgada de diámetro x 25 cm de altura, de manera que una parte del tubo sobresaliese de la superficie de la caja y que a su vez funcione como punto de unión de las láminas de acrílico, que delimitan los compartimentos en la caja. En el tubo se hicieron verticalmente cuatro orificios de aproximadamente 3 mm de diámetro, separados equitativamente en el largo del tubo, de manera que el vapor se distribuyera por igual en todos los compartimentos. En cada procedimiento la caja se cerró con tapas de plástico removibles, con un orificio en el centro para la salida del tubo principal. El extremo del tubo principal se conectó durante cada nebulización a la manguera del nebulizador de pistón (Hergom 403B), que coinciden en diámetro, y se selló con papel parafina durante cada procedimiento para impedir el escape del vapor.

### *Diseño experimental*

Los animales se asignaron al azar en cada uno de los tratamientos siguientes para recibir nebulización de: solución de nicotina 1) 0.5 mg/ml, 2) 1.0 mg/ml, 3) 1.5 mg/ml, 4) 2.0 mg/ml, 5) 2.5 mg/ml, 6) agua destilada y 7) 0.35 mg/kg de nicotina vía subcutánea como control. Cada sujeto se nebulizó diariamente a las 12:00 h con 6ml de solución de nicotina o agua destilada, según correspondiera, durante 15 minutos. De manera paralela el control fue administrado con 1ml de solución de nicotina vía subcutánea en el área dorsal. Los sujetos fueron trasladados desde las cajas hospederas hasta las cajas de nebulización para recibir su tratamiento y al finalizar se regresaron a sus cajas de alojamiento. Este procedimiento se repitió durante 4 días. Las soluciones de nicotina utilizadas en la nebulización fueron preparadas a partir de tartrato ácido de nicotina (Sigma, N5260) diluida en agua destilada en las concentraciones anteriormente indicadas. Para la administración subcutánea se diluyeron los 0.35 mg/kg indicados de nicotina en solución salina fisiológica.

### *Análisis conductual*

La actividad motora se evaluó por medio de pruebas de campo abierto (5 minutos) en cajas de policarbonato (37 x 53 x 19 cm), marcadas en la base de la caja con líneas negras, formando 12 cuadros de 11 x 11 cm. Al inicio de cada prueba los sujetos fueron colocados en una esquina del campo, en posición paralela a la pared de la caja. Las pruebas de campo abierto se realizaron antes e inmediatamente después de cada nebulización e inyección. Cada prueba fue grabada con una videocámara (Sony DCR-SX40) colocada en la parte superior del campo para su posterior análisis. Se cuantificó la actividad ambulatoria de los sujetos y el número de cuadros que cruzaron en el transcurso de 5 minutos.

### *Análisis de datos*

Se realizó un análisis descriptivo de los datos utilizando un gráfico de dispersión bivariada considerando los promedios y los errores estándar correspondientes a las pseudorréplicas de cada sujeto para cada uno de los tratamientos. La dispersión incluyó el contraste entre pre- y postratamiento. Los análisis se realizaron en el programa estadístico SigmaPlot (v.10.0).

## **4. RESULTADOS**

La dispersión de los promedios muestra que la nebulización con la concentración 2.5 mg/ml de nicotina aumentó el número de cuadros cruzados con respecto al pretratamiento en  $10 \pm 2$  (Fig. 1). Igualmente, el tiempo en movimiento aumentó después de la nebulización con la concentración 2.5 mg/ml, en  $8.4 \pm 2.4$  seg. Con la administración subcutánea de 0.35 mg/kg de nicotina, se observó un aumento de  $10 \pm 2$  en el número de cuadros cruzados con respecto al pretratamiento, así como en el tiempo en movimiento,  $22.3 \pm 8.1$  seg. Estas dos concentraciones fueron las únicas que mostraron, dentro de la nube de dispersión, un posible contraste estadístico, el cual requiere de un mayor número de muestra. Por otra parte, las concentraciones inferiores a 2.5 mg/ml no mostraron contraste después de la nebulización con nicotina, tanto en número de cuadros cruzados, como en tiempo en movimiento. Adicionalmente, se observaron signos somáticos espontáneos y momentáneos, tales como golpeteo de dientes, temblor de cabeza y fasciculación facial, principalmente durante la nebulización de nicotina con la concentración 2.5 mg/ml y algunas veces con 2.0 mg/ml. Asimismo, los sujetos manipulados para nebulización no mostraron reacciones que sugieran un estado de estrés (pelo erizado, defecación, chillidos), contrario a lo observado durante la administración subcutánea.

**Figura 1.** Efecto de la nebulización de nicotina sobre la actividad motriz. El gráfico de dispersión muestra el comportamiento de dos variables (número de cuadros cruzados y tiempo de movilidad) antes y después de recibir el tratamiento de nebulización de nicotina en diferentes concentraciones. Note que con la concentración 2.5 mg/ml de nicotina nebulizada ambas variables aumentan con respecto al pretratamiento, similar a lo observado en el control (0.35 mg/kg de nicotina) utilizando la vía subcutánea. Las líneas horizontales y verticales corresponden al error estándar.

## **5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN**

En este estudio desarrollamos un modelo animal de administración forzada que simula la forma de consumo de nicotina en humanos, utilizando la vía intranasal. Una ventaja que presenta este modelo es la reducción del estrés, como consecuencia de la disminución en la manipulación de los sujetos para la administración de la droga. Nuestras observaciones indicaron que tras la nebulización de nicotina en una concentración de 2.5mg/ml durante las cuatro sesiones, se presentó la hiperactividad característica causada por esta droga (aumento en el número de cuadros cruzados y el tiempo deambulante), similar a lo reportado con la administración subcutánea de 0.35mg/kg (Mathieu-Kia *et al.*, 1998). En el presente estudio se pudo validar el método de nebulización para la administración de nicotina, útil para el estudio de la adicción a nicotina en ratas Wistar. Este aumento en la actividad motriz sólo fue observado con la concentración de 2.5mg/ml, pero no con el resto de las concentraciones estudiadas, indicando la efectividad de esta concentración para producir el efecto hiperactivo en ratas, de manera similar a otros métodos de administración, como la subcutánea (Benwell y Balfour, 1992; Ksir *et al.*, 1985; Nisell *et al.*, 1996). Se ha reportado el incremento de la actividad motriz junto con la activación de estructuras límbicas posterior a la administración subcutánea de nicotina (Mathieu-Kia *et al.*, 1998). Nuestros resultados sugieren la activación de estructuras del sistema límbico, desconociendo el neurocircuito que promueve este incremento en la actividad motriz, abriendo posibilidades a nuevos estudios. Concluimos que el método de nebulización forzada es un modelo eficaz para la investigación sobre los efectos de la administración de drogas como la nicotina, simulando la administración de esta droga en humanos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. C. Ksir, R. Hakan D. P. Hall Jr, K. J. Kellart, "Exposure to nicotine enhances the behavioral stimulant effect of nicotine and increases binding of [<sup>3</sup>H]acetylcholine to nicotinic receptors", *Neuropharmacology*, Vol. 24, No. 6, 1984, pp. 527-531.
2. C. Reavill, I. P. Stolerman, "Locomotor activity in rats after administration of nicotinic agonists intracerebrally", *British Journal of Pharmacology*, Vol. 99, 1990, pp. 273-278.
3. D. R. Keith, C. L. Hart, M. Robotham, M. Tariq, J. Le Sauter, R. Silver, "Time of day influences the voluntary intake and behavioral response to methamphetamine and food reward", *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, Vol. 110, 2013, pp. 117-126.
4. E. Hildebrand, G. G. Nomikos, C. Bondjers, M. Nisell, T. H. Svensson, "Behavioral manifestations of the nicotine abstinence syndrome in the rat: peripheral versus central mechanisms", *Psychopharmacology*, Vol. 129, 1997, pp. 348-356.
5. G. Gilbert, "Paradoxical tranquilizing and emotion-reducing effects of nicotine", *American Psychological Association*, Vol. 86, No. 4, 1979, pp. 643-661.
6. I. Leshner, "Nicotine Addiction. Research Report Series. National Institute on Drug Abuse", *NIH Publication*, Vol.1, 2011, p. 4342.
7. L. Prut, C. Belzung, "The open field as a paradigm to measure the effect of drugs on anxiety-like behaviors: a review", *European Journal of Pharmacology*, Vol. 463, 2003, pp. 3-33.
8. M. Bronikowski, P. A. Carter, J. G. Swallow, I. A. Girard, J. S., Rhodes, T. Garland Jr., "Open-field behavior of house mice selectively bred for high voluntary wheel-running", *Behavior Genetics* Vol. 31, No. 3, 2001, pp. 09-316.
9. M. E. M. Benwell, D. J. K. Balfour, "The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity", *British Journal of Pharmacology*, Vol. 105, 1992, pp. 849-856.

10. M. Mathieu-Kia, C. Pages, M.J. Besson, "Inducibility of c-Fos protein in visuo-motor system and limbic structures after acute and repeated administration of nicotine in the rat", *Synapse*, Vol. 29, 1998, pp. 343-354.
11. M. Nisell, G. G. Nomikos, P. Hertel, G. Panagis, T. H. Svensson, "Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat", *Synapse*, Vol. 22, 1996, pp. 369-381.
12. OMS, "WHO expert committee on drug dependence. Twenty-eighth report", in *Serie de Reportes Técnicos No. 836* (Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 1993).
13. OMS, "WHO report on the global tobacco epidemic, 2011: warning about the dangers of tobacco", in *Serie de Reportes Técnicos No. 3* (Organización Mundial de la Salud, Italia, 2011).



## Densidad, distribución y estructura poblacional del camaleón (*Phrynosoma orbiculare*, Linnaeus 1879) en la Reserva Ecológica San Juan del Monte, Las vigas, Veracruz

Robledo-Catalina María L<sup>a</sup>., Suárez-Domínguez Emilio A<sup>b</sup>.  
Maruri-García Antonio H<sup>c</sup>.

<sup>a</sup> Museo de Zoología, Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz, México,  
m.lourdes.rc@hotmail.com

<sup>b</sup> Museo de Zoología, Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz, México,  
emisuares@uv.mx

<sup>c</sup> Herpetario, Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz, México,  
amaruri@uv.mx

### RESUMEN

El camaleón (*Phrynosoma orbiculare*) es una especie endémica de México que se encuentra bajo la categoría de amenazada (A), según la NOM-059-SEMARNAT-2010; sin embargo, la extracción de esta especie con fines comerciales es común. Este trabajo se realizó con el objetivo de conocer la densidad, distribución y estructura de la población (clases de edad y proporción de sexos) del camaleón dentro de la Reserva San Juan del Monte, municipio de Las Vigas de Ramírez, Veracruz, México. Durante los meses de agosto a noviembre del 2014 se realizaron 180 transectos, que abarcaron nueve hectáreas de muestreo. Se registraron datos como el tipo de microhábitat, temperatura, humedad, altitud y, medidas morfométricas de cada ejemplar para posteriormente ser liberado en el lugar de captura. Se reportaron 15 ejemplares (ocho machos y cinco hembras) de los cuales seis fueron crías, seis juveniles y un adulto (dos no fueron identificados). La densidad fue de 0.02 individuos por hectárea. Se registraron seis ejemplares en el microhábitat suelo con grava, cinco en pastizal y cuatro en suelo rocoso. Este estudio aporta información biológica y ecológica del *Phrynosoma orbiculare*, la cual servirá de base para futuras investigaciones y además, para establecer una estrategia para su conservación en la zona natural protegida.

### INTRODUCCIÓN

El camaleón (*P. orbiculare*), es una lagartija de tamaño mediano, los adultos presentan una longitud hocico-cloaca (LHC) que va de los 7.82 a 8.98 cm (Moreno-Barajas *et al.*, 2013). Es una especie endémica de México, que se distribuye a lo largo de la Sierra Madre Occidental, Eje Neovolcánico, y en el Sur de la Mesa del Centro (Vázquez-Díaz y Quintero-Díaz, 2005). Es considerado una lagartija terrestre de hábitos diurnos, y se alimenta principalmente de hormigas. Las crías nacen a inicios de verano y una hembra puede llegar a tener 19 crías (Guzmán-Guzmán, com pers; García-Vázquez y Mendizábal-Beverido, 2014). La especie *P. orbiculare* está clasificado bajo la categoría de Amenazada según la NOM-059-SEMARNAT-2010, debido a la disminución de sus poblaciones como consecuencia de actividades humanas tales como la transformación de los sitios donde habita y el comercio ilegal, donde comúnmente son vendidos como mascotas y perecen, ya que difícilmente pueden adaptarse al cautiverio (Méndez-De la Cruz *et al.*, 2003; Vázquez-Díaz y Quintero-Díaz, 2005; García-Vázquez y Mendizábal-Beverido, 2014). Por lo tanto este trabajo se realizó con el fin de conocer el estado poblacional de *Phrynosoma orbiculare*, describiendo aspectos ecológicos como: densidad poblacional, distribución y estructura de la población (Clases de edad y proporción de sexos).

## TEORÍA

Hasta la fecha son pocos las investigaciones realizadas con la especie *Phrynosoma orbiculare*, referentes a sus características ecológicas. Sin embargo, existen trabajos realizados referente a morfología y taxonomía, los cuales identifican seis subespecies del complejo *P. orbiculare* así como diferencias morfológicas entre estas (Lawrence-Powell *et al.*, 2002; Moreno-Barajas, *et al.*, 2013). Por otro lado, algunos trabajos de listados herpetofaunísticos reportan que el hábitat más usado por este reptil, es el suelo desprovisto de vegetación, suelo rocoso y pastizal (Riojas-López y Mellink, 2006; Bello-Sánchez, 2008) y que probablemente entra en un periodo de hibernación a finales de verano (Méndez-Zavala, 2010) como sucede con la especie *P. douglassi* (Lahti y *et al.*, 2010).

En la Reserva Ecológica San Juan del Monte, se registraron 15 ejemplares, del camaleón, de los cuales seis fueron crías, seis juveniles, y un adulto; así como también se observó un mayor número de machos (ocho) mientras que de hembras solo se registraron cinco. De esta manera se obtuvo la densidad poblacional de 0.02 individuos por hectárea. Con respecto a su distribución, los camaleones se detectaron principalmente hacia la parte suroeste de la Reserva y se observaron en tres tipos de microhábitat: Pastizal, suelo rocoso y suelo con grava (figura 1).

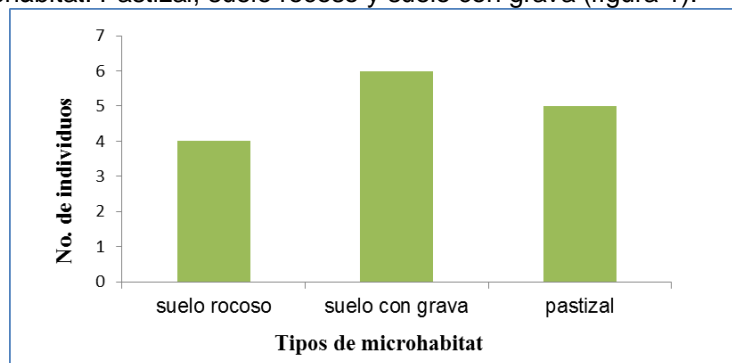


Figura 2. Microhábitat en los que se encontraron ejemplares en el ANPSJM

La densidad obtenida en este estudio fue baja, esto posiblemente se deba al tiempo y temporada de muestreo, debido a que los muestreos se realizaron solo durante 4 meses y en temporadas de lluvias; Castillo-Olivares, (1992), reportó que la mayor actividad de esta especie es de febrero a septiembre, mientras que en octubre, noviembre y diciembre no localizó ningún ejemplar. Esto coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que sólo se registraron ejemplares en el mes de septiembre. Autores como Goldberg, (2011), reportaron que la especie *P. blainvilli*, se reproduce en primavera y Méndez-Zavala, (2010) para *P. orbiculare*, mencionó que las crías nacen a finales de la primavera en el mes de mayo y a principios del verano, y que prácticamente no se observan organismos en invierno. Esto posiblemente se debe que entra en un periodo de hibernación, como lo reporta Lahti y colaboradores, (2010) para *P. douglassi*. Otra variable que posiblemente marque una densidad relativamente baja del camaleón en la Reserva, sea la actividad humana; diversas especies del género son saqueados del medio natural para la comercializarlos como mascotas y estos difícilmente se adaptan al cautiverio (Méndez-De la Cruz *et al.*, 2003; Vázquez-Díaz y Quintero-Díaz, 2005; García-Vázquez y Mendizábal-Beverido, 2014). Los camaleones prácticamente se encontraron distribuidos en zonas abiertas o caminos, estos datos coinciden con los autores (Scott Newbold y MacMahon, 2014), los cuales mencionan que las especies del género *Phrynosoma* prefieren suelos desprovistos de vegetación. El camaleón *P. cornutum* dependen de suelos desnudos, debido a que los campos abiertos le permiten

desplazarse fácilmente ante la presencia de depredadores (Montgomery y Mackessy, 2003). Otro patrón importante que determina el uso de hábitat es la presencia de recursos, como lo reportan McIntyre, (2003) con *P. cornutum* y Riojas-López y Mellink, (2006), con *P. orbiculare*, los cuales reportan que el lagarto cornudo se encuentra en estas áreas debido a la presencia de hormigas, su alimento principal. En contraste, con los resultados de Scott-Newbold y MacMaho (2014), la presencia de hormigas no es un factor importante para la preferencia de hábitat del camaleón (*Phrynosoma platyrhinos*), sin embargo, prefiere suelos desnudos para desplazarse fácilmente y elevar su temperatura corporal. En los sitios de avistamiento del camaleón no se observó presencia de hormigas, estos insectos son muy sensibles a las fluctuaciones de factores ambientales, como la temperatura y la precipitación (Arcila y Lozano-Zombrado, 2003, citado en, Fuster, 2014) posiblemente las colonias de hormigas disminuyen por la precipitación que se presenta en estos meses en el área de estudio, así lo reporta Varela-Hernández, (2013), la presencia de hormigas en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, disminuye considerablemente en los meses donde la precipitación es abundante (mayo-septiembre). Por otro lado el lagarto cornudo de Texas (*P. cornutum*) en el área de vida silvestre Tinker Air Force Base, se adapta a las áreas perturbadas, debido a que estas zonas no afectan a la distribución de esta especie, (Wolf et al., 2013). Esto coincide con los avistamientos de *P. orbiculare* en la Reserva, ya que estos se encontraron principalmente sobre senderos y sitios modificados por actividades humanas. Los camaleones presentan la capacidad de cambiar ligeramente el color de su piel y adaptarse al tono del suelo de su hábitat (García-Vázquez y Mendizábal-Beverido, 2014), esto quizá sea un factor importante por el cual al lagarto cornudo se le encuentra en los sitios antes mencionados, ya que al adaptarse al color del suelo donde se encuentra frecuentemente, es camuflado ante sus depredadores (Wickler, 1968). En cambio si estuvieran sobre la vegetación sería más fácil de detectar.

Por otro lado, durante el muestro se registraron seis crías, seis juveniles, y un ejemplar adulto, estos resultados se obtuvieron durante el mes de septiembre (verano), esta información concuerda con Méndez-Zavala (2010), que reporto que las crías nacen en el mes de mayo e inicios de verano, por lo que se aprecia un número más alto de crías en este periodo. Por lo contrario Castillo-Olivares reportó mayor número de crías y juveniles en los meses de mayo y junio, esto tal vez se deba a el área de estudio, debido a que las diferencias geográficas influyen en la reproducción de la especie, como lo reportan para *P. coronatum* en Baja California Sur, se reproducen en verano, mientras que en el sur de California E.U. la reproducción es en primavera (Goldberg, 2011). Los factores abióticos como la temperatura, influyen en el desarrollo y selección de hábitat de los lagartos cornudos. La proporción de sexos que se obtuvo fue de 1.6M:1H, este resultado coincide con Castillo-Olivares (1992), el cual reporto mayor número de machos en el mes de septiembre. Sin embargo estos resultados obtenidos no concuerdan con los que obtuvieron los autores Montgomery y Mackessy (2003), en la proporción de sexos de *P. cornutum*, ellos reportaron mayor abundancia de hembras que machos, cabe mencionar que estos autores realizaron el estudio en los meses de mayo-octubre y con una especie diferente.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

**Área de estudio:** La Reserva Ecológica San Juan del Monte, se encuentra en la vertiente norte del volcán Cofre de Perote entre la coordenadas geográficas 19°39'00" y 19°35'00" latitud Norte y 97°05'00" y 97°07'30" longitud oeste. Abarca una superficie de 609.62 ha, con un rango altitudinal de 2,327 a 2,600 msnm (SEDEMA, 2012). Presenta un clima templado-húmedo, con lluvias todo el año (Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México). La vegetación característica de la zona es principalmente, bosque de pino, pino-encino y estrato arbóreo y herbáceo.

#### **Densidad y distribución.**

**Densidad:** se tomó en cuenta el número de individuos registrados (observados y capturados) y se dividió entre el área total de la reserva.

**Distribución por microhábitat:** Se ubicaron los microhábitat descritos previamente en (Mendez-Zavala, 2010). Se registró el microhábitat donde se detectó al organismo, y se tomaron los datos de, temperatura, humedad relativa y altitud. Posteriormente se liberaron en el sitio de captura.

#### **Mapa de distribución.**

Se tomaron las coordenadas geográficas (UTM). Dichas coordenadas fueron registradas en el Software Arc Gis 10.1 y colocadas sobre un mapa base.

#### **Estructura poblacional.**

**Clases de edad:** Se obtuvieron los datos morfométricos: longitud hocico cloaca (LHC), longitud cola (LC) y longitud total (LT) de cada uno de los camaleones colectados. De acuerdo a la LT se determinó la clase de edad, Crías (LT) de 25-58 mm; juveniles de 59-99 mm; adultos de 100-180 mm (Méndez-Zavala, 2010).

**Sexo:** se determinó mediante la identificación de dos escamas protuberantes presentes bajo la cloaca en la base de la cola, estas, solo las presentan los machos, por lo tanto, las hembras carecen de ellas (Guzmán Guzmán, *com, pers.*)

#### **4. CONCLUSIONES**

La densidad poblacional de *P. orbiculare* es mayor en el mes de septiembre y menor es los meses de agosto, octubre y noviembre.

El camaleón utiliza tres tipos de microhábitat, pastizales, suelo con grava y suelos rocosos, los cuales se caracterizan por ser sitios abiertos, desprovistos de vegetación.

Se registró un mayor número de crías y juveniles y, menor de adultos; así como mayor número de machos que de hembras.

Este estudio aporta información biológica y ecológica fundamental que ayudará para futuras investigaciones y el desarrollo de acciones para la conservación de la Reserva San Juan del Monte.

#### **BIBLIOGRAFIA**

1. E. A. Bello-Sánchez, Herpetofauna de la Reserva Ecológica San Juan del monte, Las Vigas de Ramírez, Veracruz, México. Xalapa Veracruz. Tesis presentada a la Universidad Veracruzana, Facultad de Biología para obtener el título de Licenciado en Biología 2008. 96 pág.
2. R. M. Castillo-Olivares, Estudio biológico poblacional de *Phrynosoma orbiculare cortezii* Aug. Duméril y Bocourt. (Iacertilla- *Iguanidae*) en Los Molinos, Mpio. De Perote Ver, México. Tesis presentada a la Universidad Veracruzana, Facultad de Biología para obtener el título de Licenciado en Biología, 1992. 42 pág.
3. Enciclopedia Municipal Veracruzana. Gobierno del Estado de Veracruz.
4. U. García-Vázquez y N. Mendizábal-Beverido, Camaleones endémicos de México. Fauna endémica de México, 2014.
5. S. Guzmán-Guzmán, Anfibios y reptiles de Veracruz: Guía ilustrada. Universidad Veracruzana. 2011.
6. M. E. Lahti, D. Beckl, y T. R. Cottrell,. Ecology of the Pygmy Short-Horned Lizard [*Phrynosoma (Tapaja) douglasii*] in Washington. *Northwestern Naturalist*, 91(2) 2010, pp,134-144.
7. G. Lawrence-Powell. A. P. Russell, M. Ryan,.Ontogenetic Scaling of the Cranial Horn Array in *Phrynosoma orbiculare* (Squamata: *Phrynosomatidae*). *Journal of Herpetology*, 36(4) 2002, pp. 578-589.

8. , F. Méndez-De la Cruz, Hernández-Gallegos O. y Rodríguez-Romero F. *Phrynosoma orbiculare*. Elaboración de fichas de 5 especies de lacertilios: PROY-NOM-059-ECOL-2000. Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W033. México. D.F. 2003.
9. R. Méndez-Zavala, Preferencia de micrihábitat y Alimentación del *Phrynosoma orbiculare* en el ANP "San Juan del Monte", Municipio de Las Vigas de Ramírez, Veracruz Tesis presentada a la Universidad Veracruzana, Facultad de Biología para obtener el título de Licenciado en Biología, 2010. 47 pág.
10. R. Moreno-Barajas, F. Rodríguez-Romero, A. Velázquez-Rodríguez, A. y Aragón-Martínez, Variación geográfica en *Phrynosoma orbiculare* (Sauria: *Phrynosomatidae*): Análisis de las subespecies. Acta Zoológica Mexicana (n.s), 29(1), 2013, pp.129-143.
11. R. Moreno-Barajas, F. Rodríguez-Romero, A.S. Velázquez-Rodríguez, R. Méndez- De la Cruz, Taxonomic Assessment of the Subspecific Status of *Phrynosoma orbiculare* (Sauria: *Phrynosomatidae*) In the Southern Portion of Its Distribution. The Southwestern Naturalist, 58(4), 2013, pp. 459-464.
12. M. Riojas-López y E. Mellink, Herpetofauna del Rancho Las Papas, Jalisco llanuras de Ojuelos-Aguascalientes, México. Acta Zoológica Mexicana (n. s.) 22(3), 2006, pp. 85-94.
13. D. Rodríguez-Solís, Impactos ecológicos y sociales del aprovechamiento forestal 2003-2010 en el Área Natural Protegida San Juan del Monte, Veracruz. Tesis presentada a la Universidad Veracruzana, Facultad de Biología para obtener el título de Licenciado, 2014. 73 Pág.
14. SEDEMA: <http://www.veracruz.gob.mx/medioambiente/areas-naturales-protegidas/>
15. J. Vázquez-Díaz, G. E. Quintero-Díaz, Anfibios y Reptiles de Aguascalientes. CIEMA, A. C. 2005.
16. T. A. Scott-Newbold y J. A. MacMahon, Determinants of habitat selection by desert horned lizards (*Phrynosoma platyrhinos*): the importance of abiotic factors associated with vegetation structure. Journal of Herpetology, 48(3), 2014, pp. 306-316.
17. C. E. Montgomery, y S.P. Mackessy, Natural History of the Texas horned lizard, *Phrynosoma cornutum* (*Phrynosomatidae*), in Southeastern Colorado. The Southwestern Naturalist, 48(1), 2003, pp. 111-118.
18. A. A. Fuster, Hormigas (Hymenoptera: *Formicidae*), indicadores de perturbación en un ecosistema forestal, en el Chaco Semiárido Argentino. Facultad de Ciencias Forestales "Néstor René Ledesma". Universidad Nacional de Santiago del Estero, 2014.
19. F. Varela-Hernández, Variación temporal de las comunidades de hormigas en matorral xerófilo con dominancia de *Cephalocereus senilis* y *Stenocereus dumortieri* en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. La Revista Peruana de Entomología 48 (1), 2013, pp. 1 - 8.
20. J. A. Wolf, C. Hellgren, V. Bogosian III y R. W. Moody, Effects of Habitat Disturbance on Texas Horned Lizards: An Urban Case Study. Herpetologica, 69(3), 2013, pp. 265-281
21. W. Wickler, El mimetismo en las plantas y en los animales. Ediciones Guadarrama. Madrid, España, 1968, 251 pág.
22. S. R. Goldber, Reproduction of the cape horned lizard, *Phrynosoma coronatum* (*Squamata: Phrynosomatidae*) from Baja California Sur, Mexico. Bolletín, Southm dcalifinia. 110(2), 2011, pp. 56-58.

## COMPARACIÓN OSTEOLÓGICA DEL CRÁNEO DE MEMBRANA Y DEL COMPLEJO CAUDAL DE CUATRO GÉNEROS DE MOJARRAS MARINAS, (PERCIFORMES: GERREIDAE).

Duarte Ruiz Francisco\*, Márquez Zuñiga Anette\*, Mendoza Vallejo Ernesto\*

\*Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental. Correo-electrónico [mikedr\\_11@hotmail.com](mailto:mikedr_11@hotmail.com), [ani\\_skalari@hotmail.com](mailto:ani_skalari@hotmail.com), [emv19541@hotmail.com](mailto:emv19541@hotmail.com)

### RESUMEN

La Familia Gerreidae representa a un grupo de peces perciformes marinos de distribución circumtropical. Sus especies, reconocidas con el nombre vernáculo de mojarra, constituyen un total de 44, las cuales se distribuyen en 8 géneros (Nelson, 2006). Su historia evolutiva comprende, hasta el momento, la corroboración de la monofilia de algunos de sus géneros como *Eucinostomus* (De la Cruz-Agüero, 2001), la cual ha sido elucidada utilizando caracteres de morfología externa y de estructuras óseas. Mientras aquella de *Diapterus* ha sido abordada desde la perspectiva de secuenciación molecular (Vergara, 2012). El propósito de este proyecto es el contribuir con la descripción osteológica del complejo caudal y el cráneo de membrana en cuatro de los géneros de gerreidos a través de cinco de sus especies, *Diapterus auratus*, *Eucinostomus melanopterus*, *Eugerres plumieri* y *Gerres cinereus*. Las colectas de los especímenes se realizaron en la laguna costera Grande, ubicada en el municipio de Vega de Alatorre, Ver. Tomando en cuenta el desarrollo ontológico de la especie a partir de la tallas juveniles, se determinó que las principales diferencias estructurales se localizan en los huesos maxilar, dentario, articular, opérculo, preopérculo, hiomandibular, cleitrum, coracoides; así como en las vértebras caudales, epurales I y II, uroneural I, urostilo, placas hipurales e hipural V, parahipural y espinal hemal adyacente a la parahipural.

### 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la familia Gerreidae está constituida por ocho géneros, *Diapterus*, *Eucinostomus*, *Gerres*, *Parequula*, *Pentaprion* (con cinco o seis espinas en la aleta anal), *Eugerres*, *Ulaema* y *Xystema*, y 44 especies, distribuidas en la zona intertropical (Nelson, 2006). Sin embargo, algunas de sus especies, particularmente de los últimos tres géneros, son conocidas únicamente por los sintipos, holotipos o lectotipos subsecuentemente designados, sin que su respectivo estatus taxonómico haya sido revisado recientemente y menos aun su distribución geográfica (De la Cruz-Agüero, 2001).

Los gerreidos están ubicados dentro del grupo de los percoideos típicos, por lo que presentan muchos caracteres generales (Gosline, 1971, Johnson, 1984), dificultándose su identificación e incluso el establecimiento de sus relaciones filogenéticas (Benítez-Cortés, 2004).

En América los estudios taxonómicos y sistemáticos de la familia Gerreidae están sustentados a nivel genérico con base en caracteres morfológicos y de pigmentación, como es el caso de *Eucinostomus* (Curran, 1942; Zahuaranec, 1967), *Diapterus* y *Eugerres* (Deckert y Greenfield, 1987). Mientras que pocos han sido los estudios documentados, derivados de los complejos óseos, acerca de la sistemática de los gerreidos (Ortiz-Galindo, 1991, 2009; Álvarez, 2004; Kobelkowsky, 2004).

El presente trabajo aborda aspectos descriptivos de caracteres osteológicos de algunas de las especies y géneros del grupo como inicio para posteriores estudios enfocados a la filogenia y biogeografía del grupo.

## 2. TEORÍA

Los peces de la familia Gerreidae son representados por la siguiente descripción taxonómica, cuerpo elongado o romboidal moderadamente comprimido con escamas ctenoides, línea lateral continua hasta la base de la aleta caudal. Rostro terminado en ángulo, boca notablemente protráctil, este carácter le otorga el nombre a la familia. Perfil inferior de la cabeza cóncavo, cabeza escamada en su mayor parte, mandíbulas delgadas con dientes viliformes. Branquiespinas cortas y delgadas. Aleta dorsal simple y continua o profundamente hendida con fórmula radial VII-IX- 9-10, Aleta anal simple II-III, 7-10; éstas dos se pliegan a lo largo de su base dentro de una vaina escamosa en forma de surco. Aletas pectorales grandes y agudas en su ápice. Aletas pélvicas moderadas (I, 5). Aleta caudal profundamente ahorquillada. Con vejiga natatoria. Cabeza y cuerpo de color plateado y escamas brillantes; algunas especies presentan barras verticales o longitudinales en los costados del cuerpo.

El cráneo de membrana presenta las siguientes regiones: mandibular, conformada por premaxilar, maxilar, dentario, articular y angular. La serie hiopalatina comprende huesos tanto del paladar, como de la suspensión mandibular: palatino, ectopterigoides, metapterigoides, mesopterigoides, cuadrado, simpléctico e Hiomandibular. Región hiobranquial, formada por el aparato hiodeo, serie opercular y el aparato branquial: El aparato hiodeo se encuentra suspendido a partir del hiomandibular, mediante el Interhial, epihial, ceratohial, hipohial, glosohial, urohial y seis radios branquióstegos. La serie opercular está constituida por cuatro elementos laminares, opérculo, preopérculo interopercular y suboperculo. El aparato branquial se encuentra suspendido desde la región ótica del neurocráneo, por el faringobranquial 1, también se encuentran tres farigobranquiales más, 4 epibranquiales, 5 ceratobranquiales, tres hipobranquiales, tres basibranquiales (Kobelkowsky, 2004; Álvarez, 2004). Además, el esqueleto apendicular comprende al basiopterigium, supracleitrum, cleitrum, postcleitrum, escápula, coracoides y actinosteos (obs. pers.).

En el complejo caudal y sus elementos, tanto en número y topología son características del suborden Percoidae, y se encuentra constituido por nueve radios principales dorsales y ocho radios principales ventrales. Con referencia a los radios secundarios, el número de ambas partes es menor a 20, el número de radios dorsales es de 9 a 10 y en la parte ventral es de 8 a 10. Se sostienen por tres vértebras o centros preurales y dos centros urales que se encuentran fusionados y forman el urostilo. También se observa un parahipural con una hipurapófisis o proceso parahipural bien desarrollado; cinco hipurales, 1-2 y 3-4 fusionados; dos pares de uroneurales; tres epurales. Se observa una cresta o arco neural especializado sobre el centro preural 2 y espinas hemales en los centros preurales 2 y 3.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron colectas en el sistema lagunar costero Grande, localizado en el municipio Vega de Alatorre, Veracruz, en el período comprendido entre junio 2014 y febrero 2015. Se capturaron e identificaron especímenes de gerreidos utilizando las claves taxonómicas de la FAO (2002) y Castro-Aguirre *et al.* (1999). Un total de 69 especímenes pertenecientes a 4 géneros de gerreidos, *Diapterus*, *Gerres*, *Eugerres* y *Eucinostomus*. Con el fin de observar las estructuras óseas que componen los complejos del cráneo de membrana y caudal, los especímenes se sometieron al método de diafanización de Taylor y Van Dyke (1985). Cada complejo estructural fue fotografiado con la ayuda de una cámara Nikon 5100 y un estereoscopio electrónico (Leica Mod. Stemi DV4). Las imágenes fueron comparadas intergenéricamente para identificar similitudes y diferencias.

## 4. RESULTADOS

En el cráneo de membrana en su región mandibular, el premaxilar (hueso con un ángulo de 45° aproximadamente con relación al proceso horizontal), presenta variaciones en el ancho de la franja de dientes, así como en la longitud de dentición y ángulo posterior (45° aprox.) de la dentición. En el dentario se observan variaciones intergenéricas en la longitud de la dentición, al igual que el ángulo que se forma con relación al proceso horizontal. El articular presenta un proceso de corona pequeño, y en su parte inferior se une con el cuadrado, pudiéndose observar variaciones en la parte posterior superior en un surco que presenta terminaciones agudas o redondeadas dependiendo del género. Además este hueso tiende al adelgazamiento a partir de la base hacia la parte distal.

En la serie opercular se observa variabilidad en las siguientes estructuras, la opérculo en su parte superior, diferencia de ligera a notablemente cóncava, el preopérculo en la parte del

borde inferior varía de liso o aserrado, además de presentar variaciones en la anchura y el ángulo de curvatura.

En la serie hiopalatina, el hiomandibular, con forma de ángulo recto, presenta su borde inferior desde aserrado a ligeramente liso.

El cleitrum, hueso del esqueleto apendicular, es de forma alargada, cuya parte superior amplía su curvatura y hace la diferencia entre las especies, mientras que en la parte anterior del borde superior se presenta una curvatura, que termina en forma alargada y puntiaguda, con variabilidad en profundidad y ángulo; el coracoides es delgado con forma de ángulo recto y muestra una curvatura en el borde anterior y superior presenta una elongación variable con terminación convexa.

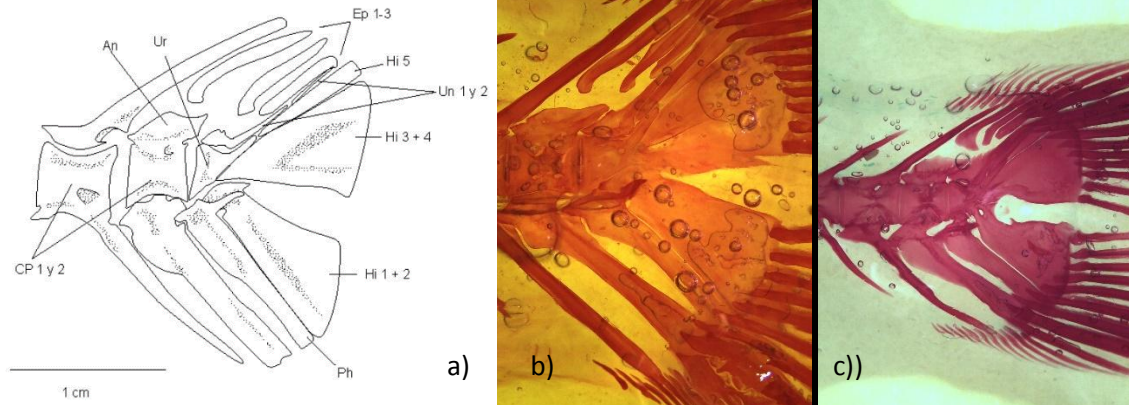


Fig. 1. a) Esquema de complejo caudal de *Diapterus peruvianus* adulto, 187mm LP. An, arco neural, CP, centro preural, EP, epurales, Hi, hipurales, Ph, parahipural, r, radios caudales, Un, uroneural, Ur, urostilo (Tomado de Álvarez, 2004), b) Fotografía de complejo caudal de *D. auratus*. c) Fotografía de complejo caudal de *E. melanopterus*.

Las vértebras o centros preurales presentan diferencias notables en las siguientes estructuras, en el centro preural 1 (CP1) el proceso neural adyacente al centro preural 2 (CP2), presenta variaciones de la elongación y encorvamiento de la estructura ósea (orientada) hacia el esqueleto apendicular, y en el CP2 varía el ensanchamiento y alargamiento del proceso neural en dirección a las epurales.

Las espinas epurales (EP) 1 y 2 presentan variaciones en la forma de la ángulo inferior de éstas, que van desde borde redondeado con encorvamiento posterior ligero, hasta un encorvamiento agudo y forma semejante a una espuela o gancho con orientación posterior. Debajo de las EP, la uroneural 1 (Un 1) presenta una extensión con forma acicular, cuya variante es la longitud, pudiendo llegar a más de la mitad de la uroneural 2 (Un 2). La primera yace sobre el urostilo, formándose un ángulo posicionado a la mitad de la estructura, éste presenta variaciones en cuanto a la agudeza que varía desde una profundidad mínima hasta considerablemente pronunciado y, del cual parte una elongación acicular que se extiende hasta encontrarse con la hipural 5. Esta última varía en cuanto a su grosor y elongación, de corta y delgada a elongada y gruesa.

Las placas hipurales, formadas por la fusión de las hipurales 1-2 y 3-4, presentando curvaturas particulares para cada especie; tanto en sus bordes distales como en los espacios que yacen entre ellas. La parahipural, muestra diferencias en cuanto a la curvatura que presenta en el costado junto a la placa hipural 1, siendo ésta recta, convexa e incluso cóncava. Además de la variación en la elongación presente en la parte posterior dirigida hacia la placa hipural 1, que va desde formas redondeadas a anguladas donde la placa hipural 1 se une a la placa hipural 2 y al urostilo.

La parahipural también muestra una elongación hacia la espina hemal anterior, que varía de mínima a considerable. En la espina hemal adyacente a la parahipural se observan diferencias interespecíficas en cuanto a su grosor en relación con la longitud, la cual supera en todos los géneros revisados a la parahipural. Su forma puede ser recta a curva, mientras que la parte superior, forma una curva que presenta su borde anterior en forma aguda o roma.



#### 4. CONCLUSIONES

El presente trabajo aporta elementos osteológicos novedosos a nivel de cráneo visceral y complejo caudal que permiten ahondar en la diferenciación de los géneros de gerreidos.

En el cráneo de membrana los huesos urohial, lacrimal, suborbital 2, interopercular, presentan la mayor variabilidad morfológica. Lo cual se confirma para la mayoría de éstos, según lo documentado por Kobelkowsky (2004).

En cuanto al complejo caudal, el acomodamiento de las estructuras observadas e identificadas es corroborado con lo previamente descrito por Kobelkowsky, (2004) y Álvarez (2004), con los cuales coinciden y en este último inclusive se observan

Las características y topología de los huesos epural 3 y el arco neural en la parte superior de la preural 2, coinciden con lo documentado por Kobelkowsky (2004) y Álvarez (2004). Se observaron las 2 placas hipurales, coincidiendo su morfología con lo descrito por Álvarez (2004). Complementando dichos estudios se observa que las diferencias determinadas corresponden fundamentalmente a las siguientes estructuras, las epurales, los centros preurales, las uroneurales, la parahipural y la espina hemal adyacente. Siendo las epurales son las estructuras más utilizadas hasta el momento en la descripción de los diferentes niveles jerárquicos dentro de los gerreidos (Álvarez, 2004).

A pesar de los numerosos trabajos acerca de gerreidos, la filogenia de la familia aún no está del todo resuelta, por esta razón, el presente trabajo documenta las estructuras cuya variabilidad podría ser considerada en futuros trabajos de la filogenia y biogeografía del grupo. Entre las estructuras más destacadas que se tienen, encontramos el opercular, el articular, el dentario, el cleitrum y preopérculo. Así como el centro preural 2, las epurales, el urostilo, las hipurales, la parahipural y la espina hemal.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. N. Álvarez. "Desarrollo osteológico de *Diapterus peruvianus* (Cuvier, 1830) (Percoidei: Gerreidae)". Tesis de Maestría en Ciencias con especialidad en Manejo de Recursos Marinos, CICIMAR. Instituto Politécnico Nacional. 2004, 94 p.
2. O. Benítez-Cortés. "Contribución al estudio molecular de los peces de la familia Gerreidae en México. Tesis de Maestría en Ciencias con Especialidad en Manejo de Recursos Marinos, CICIMAR, Instituto Politécnico nacional, La Paz, Baja California Sur, México. 2004. 55 p.
3. J. L. Castro-Aguirre. "Ictiofauna estuarino-Lagunar y Vicaria de México". (Editorial Noriega-Limusa, MX, 1999). Capítulo ,711 p.
4. H.W. Curran. "A systematic revision of the gerrid fishes referred to the genus *Eucinostomus*, with discussion of their distribution and speciation. Tesis de doctorado. University of Michigan. 1942, 183 pp.
5. J. De la Cruz-Agüero. "Sistemática y biogeografía de las especies del género *Eucinostomus* (Teleostei: Gerridae)". Tesis de doctorado en Ciencias Marinas CICIMAR. Instituto Politécnico Nacional. México 2001, pp.11, 12.
6. G.D. Decker, & D.W. Greenfield. A review of the Western Atlantic species of the genera *Diapterus* and *Eugerres* (Pisces: Gerreidae) Copeia. 1987, pp. 182-194
7. W. Gosline. "Functional morphology and classification of teleostean fishes" University Press of Hawaii. Honolulu, HI. 1971, pp.
8. G. D. Johnson. "Percoidei: Development and Relationships. Spe. Publ. No. 1 Amer. Soc. Ichthyol. And Herp. 1984 pp. 464-498.
9. A. Kobelkowsky, "Osteología de la mojarra de mar, *Diapterus auratus* Ranzani (Teleostei: Gerreidae)". Hidrobiológica, Vol. 14, 1, 2004, pp 1-10
10. J. Nelson. "Fishes of the world". (John Wiley & Sons. Inc, Hoboken, NJ, 2006). pp 339-342, 368.
11. J. L. Ortiz-Galindo. "Ontogenia de la mojarra rayada *Eugerres Axilaris*, (Gunther, 1864) Tesis de Maestría en Ciencias con Especialidad en Manejo de Recursos Marinos. CICIMAR-IPN. México 1991. 36pp.
12. J. L. Ortiz-Galindo. "Ontogenia y sistemática filogenética de la familia Gerreidae (Teleostei: Percoidei) Tesis de Doctorado en Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM México. 2009. 139pp.

13. F. Vergara. "Sistemática del género *Diapterus* Ranzani, 1842 (Perciformes: Gerreidae): Análisis morfométricos y moleculares. Tesis de maestría en Ciencias con especialidad en Manejo de Recursos Marinos. CICIMAR Instituto Politécnico Nacional. 2012, 124pp.
14. A. Yáñez-Arancibia. "Taxonomía, ecología y estructura de las comunidades de peces en lagunas costeras y bocas efímeras del Pacífico mexicano". Publ. Esp. Centr. Cien. Mar. Y Limnol. UNAM 2, 1, 1980, 306 pp.
15. B. V. Zahuranec. "The gerrid fishes of the genus *Eucinostomus* in Easter Pacific. Tesis de Maestría en Ciencias, University of California. La Jolla, California, 1967, 164 pp

## **Análisis fitoquímico preliminar de *Tradescantia spathacea* Sw. (hierba del cáncer).**

Pedraza García P<sup>a</sup> y Machuca Rodríguez C<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México, D.F., [ale\\_pao.08@hotmail.com](mailto:ale_pao.08@hotmail.com),  
[catalina.machuca@gmail.com](mailto:catalina.machuca@gmail.com)

### **RESUMEN**

La búsqueda bioguiada de metabolitos biológicamente activos constituye una de las estrategias empleadas para el desarrollo de nuevos fármacos. Entre las fuentes de metabolitos se encuentran las plantas. *Tradescantia Spathacea* es una herbácea de América, principalmente Centroamérica y regiones tropicales. En la república Mexicana, ha sido localizada en los estados de Chiapas, Puebla, Tabasco, Yucatán, Quintana Roo y Veracruz, donde se conoce comúnmente como “Hierba del cáncer, maguey morado, barquilla, zopiloterá” y empleada en actividades anticancerígenas, antivirales, antiinflamatorias, antimicrobianas, bactericidas, fungicidas y últimamente como antimutagénica y antigenotóxica. Entre los estudios químicos de *T. spathacea* se han identificado metabolitos secundarios como flavonoides, antocianinas, taninos, esteroides, cumarinas y carotenos. Sin embargo son pocos los registros farmacológicos de la especie, por lo que la presente investigación profundiza y enriquece los estudios fitoquímicos de la planta, realizando un análisis fitoquímico preliminar de extracto hexánico, hidroalcohólico y acuoso; con el objetivo de determinar los metabolitos secundarios, utilizando métodos basados en la extracción de éstos y la aplicación de técnicas de coloración-precipitación; alcaloides (Mayer); flavonoides (Shinoda); saponinas (Rosenthaler); Lactonas sesquiterpénicas (Liebermann, Burchard); Quinonas (Borntrager); cumarinas (etanol/Hidróxido de amonio); Esteroides (cloroformo/anhídrido acético); Taninos (ferrocianuro de potasio/cloruro férrico) y glucósidos cardiotónicos (Keller Killiani). Obteniendo en extractos acuosos alcaloides, saponinas, taninos y quinonas; en extracto hexánico: alcaloides y en extracto hidroalcohólico ausencia de metabolitos secundarios.

### **1. INTRODUCCIÓN**

Las plantas medicinales han sido un recurso al alcance del ser humano para la curación de sus enfermedades, para conocer los metabolitos secundarios responsables de cortar, aliviar o curar enfermedades se requiere la extracción, identificación y purificación de éstos, el análisis fitoquímico determina los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal, aplicando una serie de técnicas de extracción, de separación y purificación, así como su determinación estructural.

*Tradescantia spathacea* Sw.

Reino: Plantae

Subreino: Fanerógamas

Subdivisión: Angiospermophytina

Clase: Monocotiledónea (Liliopsida)

Subclase: Commelinaceae

Género: *Tradescantia*

Especie: *spathacea*

(Cronquist, 1988; Sterwarr, 1993).

Planta herbácea de hojas lanceoladas, gruesas, suculentas, jugosas, acuminadas, sésiles de 20-25 cm de largo con 3.5 cm de ancho, imbricadas, lisas, de color morado-oscuro en el envés; tallo erecto reclinado, de 20 cm de longitud, plano, pero ranudo, con una densa roseta; vaina de 4 cm de ancho; flores blancas con tres pétalos ovaladas de 5-8 mm de largo, densamente recostado en forma de barquilla, brácteas color púrpura, brotes en medio de la base de las hojas; semillas rugosas o ásperas de 3 mm de largo y de 1-1.5 mm de ancho. (Martínez, 1979; Brouillard, 1981). Habita en climas cálido y semicálido, desde el nivel del mar hasta los 1200 msnm, es cultivada en

huertos familiares, asociada a bosques tropicales subperennifolio y perennifolio y es originaria de América, se da principalmente en Centroamérica y regiones tropicales, en la república Mexicana, ha sido localizada en los estados de Chiapas, Puebla, Tabasco, Yucatán, Quintana Roo y Veracruz (Martínez, 1979).

*T. spathacea*, fue estudiada en Cuba en el siglo XIX debido a las propiedades medicinales que le atribuía la población y los usos que la misma hacía de esta planta en decocción como expectorante, hemostático y en la hemoptisis de la tuberculosis, en 1864 Grodourdy describió los usos dados a esta planta como cicatrizante y para controlar las hemorragias, aplicada localmente como pectoral. (Mahabir, 1995).

Se ocupa como antiinflamatorio, para tratar el cáncer, la garganta y para lavar heridas. Las hojas contienen antocianinas del tipo roneonina (Germosen et al, 1984), presencia de aminoácidos (Yeon et al, 1986), también se ha detectado el flavonoide Rheonín (Idaka et al, 1987). Por cuantificación se ha detectado presencia de flavonoides taninos y esteroides (Carlos et al, 2008). El tamizaje fitoquímico de la hoja ha mostrado la ausencia de alcaloides, flavonoides, saponósidos y taninos (Weninger et al, 1982).

Los estudios químicos de *T.spathacea* desarrollados por González et al (2003) y Domínguez (2002) demostraron que esta planta posee compuestos con estructura de tipo flavónico, además de grupos de cumarinas.

El estudio fitoquímico de esta planta indica presencia de compuestos de cloruro de sodio, cloruro de potasio, ácido hexadecanoico, ácido 9- 12- octadecanoico, hidrocarburos saturados (ceras), carotenos, y un compuesto importante de estructura cumarina hidroxilada 4-(2,4-dihidroxi-fenil)-5-hidroxi-5H-furan-2-ona) que podría ser la responsable de la acción antiinflamatoria y bactericida (Domínguez, 2003).

El extracto etanólico de la planta completa, presenta una ligera actividad antitumoral en ratón con leucemia –p388, inyectada por vía intraperitoneal a la dosis de 100 mg/kg (Weninger et al, 1982). La planta presenta actividades anticancerígenas, antivirales, antiinflamatorias, antimicrobianas, bactericidas, fungicidas y últimamente antimutagénica y antigenotóxica (Domínguez, 2002; González et al, 2003; Ramírez, 2008). El extracto hidroalcohólico (95%) de planta entera seca, por vía intraperitoneal a ratón (400 mg/kg), provoca un efecto tóxico general (Suffnes et al, 1988). El zumo de hoja aplicado sobre piel causó enrojecimiento e irritación cutánea (Lampe y Fagerstrom, 1968).

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

El Área de estudio se encuentra en Localidad Limón Chiquito, situada en el Municipio de Cazonas. Edo de Veracruz. El clima predominante es cálido con lluvias en verano, presenta una temperatura media anual de 25°C. A una altitud media de 54 m.s.n.m., Longitud: -97.28277778 y Latitud: 20.68027778.

El objetivo es realizar el análisis fitoquímico de *T. spathacea* en extracto acuoso y hexánico e hidroalcohólico 70:30.

Colecta del material vegetal y etnobotánica. En el mes de Agosto se visitó la comunidad de Limón chiquito, Cazonas, Veracruz, y se realizó una recolecta de material vegetal, así como una entrevista etnobotánica de *T. spathacea*, con el fin de obtener información de la planta como el uso que se le da, la forma de preparación, la dosis que utiliza la población, frecuencia de uso y efectos adversos.

Extracción. Se prepararon 4 extractos de hoja de *T. spathacea*, dos extractos acuosos, un hidroalcohólico (70%) y un hexánico (70%). Así mismo se obtuvo extracto seco de los extractos acuosos de la planta.

De acuerdo a la entrevista etnobotánica se utiliza 17 g de hojas de *T. spathacea* en 250 ml de agua, para la preparación del extracto acuoso se peso en una balanza granataria 100 g de hoja seca de *T. spathacea* y se coloco en 1470 ml de Agua, para llevar a cabo la cocción del material vegetal, deteniendo el proceso al primer hervor, en el primer extracto y en 5 min de hervor, en el segundo extracto. Para el extracto hidroalcoholico se pesaron 100 g de hoja seca, se trituro y molió el material vegetal y se le agregó 500 ml de etanol 70:30.y el extracto hexanoico se preparo con 74.5 g de hoja seca y molida con 375 ml de hexano 70:30.

Análisis Fitoquímico. Se realizo el análisis fitoquímico preliminar con la determinación cualitativa de metabolitos secundarios, empleando métodos coloridos y de precipitación específicos para la identificación de cada metabolito secundario.

Metabolito Secundario	Prueba de identificación	Resultado Positivo
<b>Alcaloides</b>	Mayer	Precipitado naranja
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	Coloración roja
<b>Saponinas</b>	Rosenthaler	Coloración violeta
<b>Quinonas</b>	Borntrager	Coloración amarilla
<b>Cumarinas</b>	Etanol / hidróxido de amonio	Coloración azul
<b>Esteroides</b>	Cloroformo / anhídrido acético	Coloración verde-azul
<b>Taninos</b>	C6NOFeK4 / FeCl3	Coloración verde-azul
<b>Lactonas sesquiterpénicas</b>	Libermann - Burchard	Coloración verde
<b>Glucósidos cardiotónicos</b>	Keller Killiani	Coloración purpura

De acuerdo al método utilizado para identificar cada uno de los metabolitos secundarios, se obtiene presencia de alcaloides en la mayoría de los extractos, exceptuando el hidroalcoholico, en los extractos acuosos y secos, se identifica la presencia de taninos, sin embargo en el extracto acuoso y seco II sólo se obtienen saponinas, quinonas y taninos; este último también se encuentra presente en extracto acuoso y seco I. Finalmente se identificaron flavonoides en extracto seco II.

Tabla 2. Resultados de Identificación de metabolitos en cada uno de los extractos

Ext.	Alcal.	Flav.	Sap.	Tanin.	Quin.	Cum.	Ester.	Gluc.	Lact.
A. I	✓	✗	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Ac. II	✓	✗	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Hidroalc.	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Hexanico.	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
Seco I	✓	✗	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✗
Seco II	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗

#### 4. CONCLUSIONES

*Tradescantia spathacea* presenta cinco metabolitos secundarios diferentes obtenidos a partir de hojas, de los cuales flavonoides y taninos ya han sido reportados Lopez et al (2008), sin embargo no se obtuvo la presencia de esteroides.

Así mismo Weniger *et al*, (1982) realizó un tamizaje fitoquímico de hoja que muestra ausencia de alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos, lo cual difiere de lo obtenido en nuestro estudio. Sin embargo la presencia de flavonoides y taninos sólo fue positiva en extracto seco II, esto se atribuye a que en el extracto acuoso II, las hojas estuvieron expuestas a un mayor tiempo de cocción, y el extracto seco obtenido puede presentar mayor concentración de metabolitos.

En el caso del extracto hidroalcoholico no se obtuvo presencia de metabolitos, por lo que infiere, que la polaridad del etanol, no es óptima para obtención de metabolitos en *T. spathacea*. De la misma forma para el extracto hexanico, la polaridad es muy alta, por lo que sólo se obtuvo presencia de alcaloides, por lo que se recomienda el uso de solventes con diferente polaridad y en distintas proporciones.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Domínguez, O. (2003). Elucidación estructural y actividad antimicrobiana de los metabolitos presentes en *Rhodo discolor* L. Hér Hance. Tesis Doctoral en Ciencias. Área Biotecnología. Universidad de Colima, Facultad de ciencias Biológicas y Agropecuarias.
2. González, M.; Arriaga, M.; Domínguez, A. Fattel, S., Treviño S. (2003). Antigenotoxic, antimutagenic and ROS scavenging activities of a *Rhodo discolor* ethanolic crud extract. In: *Toxicol In Vitro*. Feb; 17(1):77-83.
3. Lopez, C, Garcia, A., Acosta, M., Barrios, J, (2008). Cuantificación de flavonoides, taninos y esteroides en plantas medicinales de uso tradicional de Tabasco. División Académica de Ciencias Básicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
4. Weniger, B., Haag, M. Antor, R. (1982). Haitian plats used antifertility agents, *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 67-84.

## CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LAS PROTEÍNAS DE RESERVA DE LA SEMILLA DESHIDRATADA DE CAPOMO (*Brosimum alicastrum*)

José Isaías Cruz-Solórzano<sup>a</sup>, Brenda San Pablo-Osorio<sup>a</sup>, Alma Cecilia Domínguez-Murillo<sup>a</sup>,  
J. E. Uría-Silvas<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Tecnología Alimentaria, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C., Av. Normalistas No. 800 Colinas de la Normal, Guadalajara, Jalisco, C. P. 47270, MÉXICO. *jurias@ciatej.mx*

### RESUMEN:

Las proteínas de reservas son de gran importancia tanto por su valor nutricional como por sus propiedades funcionales, ya que pueden ser utilizadas como ingrediente en sistemas alimenticios. Las proteínas además de su estructura, propiedades y condición ambiental del sistema alimenticio en el que se encuentren se ven afectadas por su solubilidad, debido a que las proteínas insolubles tienen un uso limitado en la formulación de alimentos. La semilla de capomo a pesar de ser una fuente importante de nutrientes, se ha utilizado de manera muy restringida, por lo que se considera importante dar a conocer las propiedades funcionales de sus proteínas, lo que daría un mayor valor agregado a la semilla y a los productos derivados. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades funcionales de las proteínas de reserva de la semilla deshidratada de capomo, para lo cual, se determinó la hidrofobicidad superficial ( $S_0$ ), la capacidad de emulsión utilizando aceite de maíz y la solubilidad en función del pH. Se obtuvo un perfil de solubilidad de albúminas y glutelinas diferente al característico a las proteínas de reserva. La  $S_0$  para albúminas se correlacionó inversamente con la solubilidad, y finalmente, en cuanto a la capacidad de emulsión, se obtuvo un índice de actividad emulsificante, para ambas fracciones, el cual aumenta conforme aumenta el pH.

### 1. INTRODUCCIÓN:

El árbol de capomo (*Brosimum alicastrum*) se distribuye desde el norte de México hasta Brasil incluyendo Cuba y Jamaica, su semilla (**Figura 1**) fue utilizada desde la época pre-colombina por los mayas y fue uno de sus principales sustentos de alimentación (Meiners y col., 2009). En México se distribuye en 10 estados entre los que se encuentran el estado de Jalisco en el que existen comunidades cuya actividad económica depende de su comercialización ya sea en forma de pan, harina o como bebida tipo café. La semilla de capomo es una fuente de nutrientes poco explorada, por ello gran cantidad de semilla se desperdicia, pudiendo ser una fuente importante de proteína para el consumo humano, además por las posibles propiedades funcionales que pueda poseer podrían ser utilizadas como ingredientes en la formulación de alimentos.



Figura 1. Semilla de *Brosimum alicastrum*.

Las proteínas de reserva representan la mitad o más del contenido total de proteínas presentes en las semillas. Las proteínas de reserva pueden poseer propiedades funcionales, estas propiedades afectan el comportamiento de las proteínas durante el procesado, almacenamiento, preparación y consumo de un producto alimenticio. La solubilidad puede afectar al resto de las propiedades debido a que las proteínas insolubles se utilizan de forma muy limitada en el campo de la industria de los alimentos (Bernardino-Nicanor y col., 2005). De esta manera el objetivo del presente trabajo fue determinar la funcionalidad de las fracciones proteicas mayoritarias de la semilla deshidratada de capomo.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL:

**Metodología:** Se utilizó harina de semilla deshidratada de capomo de la localidad de Cuzalapa, Jalisco. El fraccionamiento y extracción de proteínas se llevó a cabo por medio del método de Osborne (1924) con algunas modificaciones. El contenido de proteína se determinó utilizando el método Bradford (1976). El perfil proteico se analizó por medio de electroforesis en geles de poliacrilamida al 18% en condiciones desnaturalizantes reductoras y no reductoras de acuerdo al método Laemmli (1970). La caracterización funcional se realizó determinando la hidrofobicidad superficial ( $S_o$ ) de las proteínas en función del pH por espectrofotometría de fluorescencia utilizando como sonda molecular el 8-anilino-1-naftalen sulfonato (Bernardino-Nicanor y col., 2005), la capacidad de emulsión se realizó utilizando aceite de maíz de acuerdo a la metodología de Utsumi y col., (1993) y finalmente, la solubilidad de acuerdo al método propuesto por Deng y col. (2011) con algunas modificaciones.

**Resultados:**

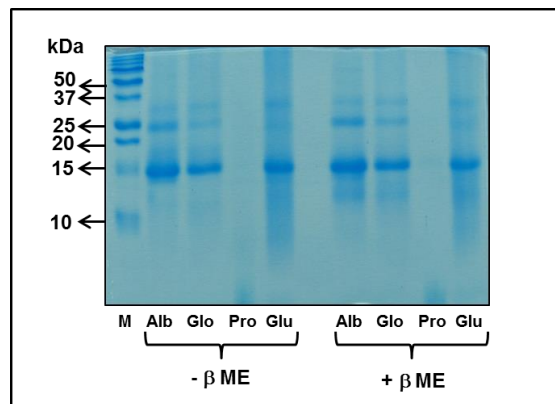
A partir del fraccionamiento proteico en base al método de Osborne (1924), se obtuvieron como fracciones mayoritarias a las glutelinas y albuminas con 60.44% y 23.41%, respectivamente (**Tabla 1**).

**Tabla 1:** Fraccionamiento proteico de la semilla deshidratada de capomo.

<b>FRACCIÓN</b>	<b>%</b>
<b>Albúminas</b>	<b>23.41</b>
Globulinas	15.55
Prolaminas	0.57
<b>Glutelinas</b>	<b>60.44</b>

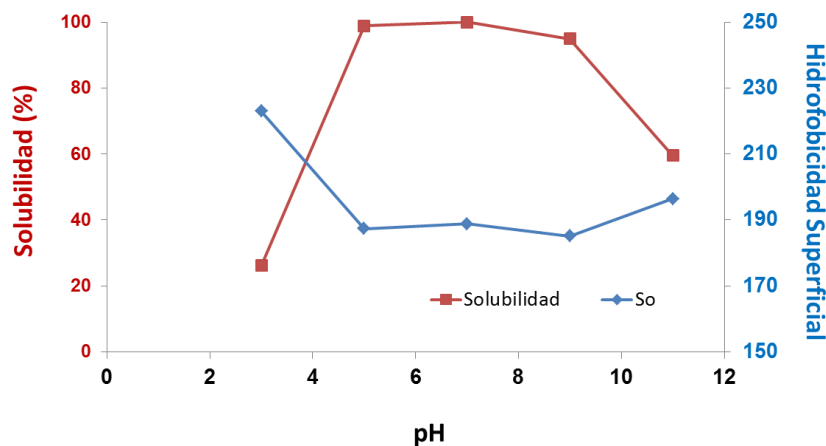
Por medio del análisis de SDS-PAGE (**Figura 2**), se encontró una banda mayoritaria de alrededor de 15 kDa en 3 de las 4 fracciones analizadas, no mostrando en general, diferencias entre dichas fracciones, es decir se aprecia similar perfil de bandeo. En cuanto al análisis bajo condiciones reductoras (presencia de  $\beta$ -mercaptoetanol (+ $\beta$  ME)), en la fracción albúminas (Alb) se puede apreciar una banda de 12 kDa, que no se encuentra en su contraparte no reductora, es decir en la ausencia de  $\beta$ -mercaptoetanol (- $\beta$  ME).





**Figura 2.** Electroforesis desnaturante en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las fracciones proteicas de la semilla de capomo. Alb: Albúminas; Glo: Globulinas; Pro: Prolaminas; Glu: Glutelinas.

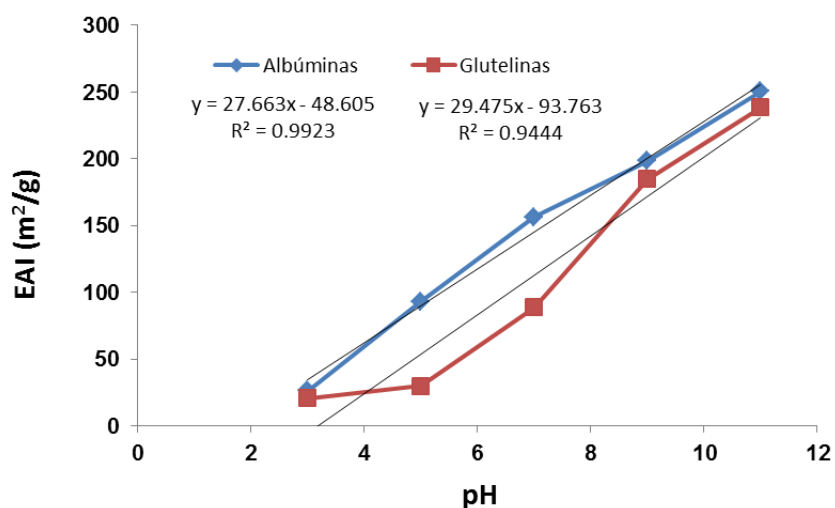
En cuanto a la caracterización funcional, esta se realizó a partir de las 2 fracciones mayoritarias, glutelinas y albuminas, en función del pH. En el caso de la fracción albúminas (**Figura 3**), la máxima y mínima solubilidad fueron a los pH de 7 y 3, respectivamente.



**Figura 3.** Perfil de solubilidad e hidrofobicidad superficial (So) en función del pH para la fracción albúminas de la semilla de capomo.

Como se puede apreciar en la Figura 3, para la fracción albuminas la solubilidad y la So de correlacionan de manera negativa, es decir, a mayor solubilidad, se presenta una menor So. En cuanto a la fracción glutelinas, no se obtuvo una correlación entre las propiedades funcionales, sin embargo, se puede destacar que la mayor solubilidad se presentó a pH 11 (93.04%) y la mínima a pH 3 (16.54%), lo cual corresponde a las condiciones para solubilizar a la fracción glutelinas (condiciones alcalinas).

Finalmente, en cuanto a la propiedad funcional de capacidad de emulsión para ambas fracciones (**Figura 4**) se puede observar que conforme aumenta el pH, aumenta el índice de actividad emulsificante (EAI).



**Figura 4.** Índice de actividad emulsificante en función del pH de las fracciones albuminas y glutelinas de la semilla de capomo.

#### 4. CONCLUSIONES:

- Se obtuvo la caracterización funcional de las 2 fracciones mayoritarias de la semilla de capomo, glutelinas y albuminas, en función del pH.
- Para la fracción albuminas se observó la mayor solubilidad a pH en el rango de 5 a 9, mientras que para las glutelinas y debido a su naturaleza, se requieren condiciones más alcalinas.
- Se observó la mayor hidrofobicidad superficial a pH de 3 para la fracción albuminas.
- A pH más alcalinos las 2 fracciones proteicas evaluadas mostraron una mejor actividad emulsificante.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Meiners, M., Sánchez-Garduño, C. y De Blois, S. (2009). El ramón: Fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. CONABIO. Biodiversitas, 87:7-10.
2. Osborne, T. B., "The vegetable proteins; in monographs in biochemistry", 2nd ed.; New York: Longmans, Green. 1924.

3. Bradford, M., "A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254, 1976.
4. Laemmli U.K., "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4", *Nature*, 227, 680-685, 1970.
5. Bernardino-Nicanor, A., Añon, C., Scilingo, A. y Dávila-Ortiz, G., (2005). Functional Properties of Guava seed Glutelins. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 3613-3617.
6. Utsumi, S., Gidamis, A.B., Kanamori, J., Kang, I. J. y Kito, M. 1993. Effects of deletion of disulfide bonds by protein engineering on the conformation and functional properties of soybean proglycinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 687-691.
7. Deng, Q., Wang, L., Wei, F., Xie, B., Huang, F., Huang, W., Shi, J., Huang, Q., Tian, B. y Xue, S. 2011. Functional properties of protein isolates, globulin and albumin extracted from *Ginkgo biloba* seeds. *Food Chemistry*, 121: 1458:1465.

## Síntesis de Nanopartículas de Cu por Reducción Química

Ma. Del Socorro Aguilar, G. Rosas

Instituto de Investigaciones Metalúrgicas, UMSNH, Morelia Mich. 58000. MEXICO.

E-mail: shamj21@gmail.com, grtrejo07@yahoo.com.mx

**RESUMEN:** En este trabajo, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de Cu mediante un método de reducción química, usando como agente reductor  $\text{NaBH}_4$  y variando la concentración de  $\text{CuCl}_2$ . Los experimentos se hicieron a temperatura de  $40^\circ\text{C}$ ,  $50^\circ\text{C}$  y algunos a temperatura ambiente. La caracterización de las nanopartículas se hizo por microscopía electrónica. Las observaciones indicaron tamaños de partícula promedio de 5nm y una distribución de tamaño de partícula en el rango de 3 a 15 nm, así mismo, las imágenes de alta resolución muestran que las partículas más pequeñas tienen forma esférica y se encuentran libres de maclado, mientras que las más grandes presentan una y dos maclas.

### 1. INTRODUCCIÓN

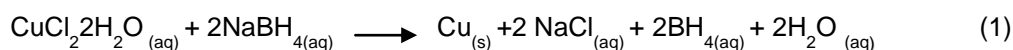
Las nanopartículas son entidades ultrafinas de tamaño nanométrico. "Nano" es un prefijo que denota la potencia  $10^{-9}$  m, es decir, una milmillonésima parte del metro. Esta definición de nanopartículas varía dependiendo de la morfología y dimensión de los materiales, los campos y las aplicaciones en cuestión. En sentido estricto, las partículas mayores a 10nm son consideradas nanopartículas, donde las propiedades físicas de los materiales sólidos cambian drásticamente, y por debajo de ellas se encuentran los puntos cuánticos que dependen de las propiedades cuánticas<sup>[1]</sup>. Los nanomateriales se pueden sintetizar usando una amplia variedad de métodos, que se clasifican en dos grandes categorías<sup>[2]</sup>: La primera, de arriba hacia abajo que consiste en extraer el material de un objeto a mayor escala, para crear nanoestructuras y la segunda de abajo hacia arriba, en el cual los bloques de construcción (átomos, moléculas) se ensamblan en estructuras cada vez más grandes hasta alcanzar un tamaño a nanoescala. Un ejemplo de estos últimos es el método por reducción química.

En los últimos años, un considerable interés se ha centrado en las nanopartículas de metal debido a sus propiedades especiales y potenciales aplicaciones en diversos campos. Entre las diversas partículas de metal, las nanopartículas de cobre han atraído considerable atención debido a sus propiedades conductoras catalíticas, ópticas y eléctricas. Varios métodos han sido desarrollados para la preparación de nanopartículas de cobre, incluyendo la reducción térmica, la síntesis de vapor de metal, métodos de radiación, las técnicas de microemulsión, ablación con láser y la molienda mecánica<sup>[3-5]</sup>.

Este trabajo consistió en sintetizar nanopartículas de cobre mediante reducción química, utilizando como agente reductor borohidruro de sodio y como agente desaglomerante polivinilpirrolidona (PVP). Se evaluó la relación del agente reductor a la sal metálica a diferente temperatura ( $25-50^\circ\text{C}$ ). La caracterización estructural se efectuó por microscopía electrónica de transmisión.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Las partículas fueron preparadas de acuerdo al método de Rivera Betancourt [6], realizando pequeñas variaciones, por ejemplo, el número de revoluciones durante la agitación de las soluciones, la secuencia en la adición del agente desaglomerante y la variación en las concentraciones de sal metálica. La reacción química resumida corresponde a la reacción mostrada en la ecuación 1. El valor de la energía libre de la ecuación 1 es -201.92 kcal lo que significa que es una reacción espontánea.



$$\Delta G = -201.92 \text{ Kcal}$$

a).-Disolución de la sal precursora ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Como primer paso, se pesaron las cantidades de sal de cloruro de cobre ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) y borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), utilizando como agente desaglomerante Polivinilpirrolidona (PVP). Se procedió a diluir los reactivos por separado en agua destilada, iniciando con la sal metálica la cual fue diluida en un matraz Erlenmeyer, así mismo en vasos de precipitado fue diluido el agente reductor y el desaglomerante, ambas diluciones, fueron sometidas a agitación magnética utilizando una parrilla por un tiempo de 20 minutos, calentándose la solución a una de temperatura dentro de un rango de 25 a 50 °C.

b).-Reducción del Cu por especies en solución del  $\text{NaBH}_4$ . Como Segundo paso, se agregó el agente reductor mientras la solución de sal metálica estuvo bajo agitación magnética constante.

c).-Nucleación y crecimiento de las partículas. Como último paso, se agregó el agente desaglomerante variando el tiempo de la adición. Para detener la reacción, se agregaron 30 ml de agua destilada fría, dejando la solución en agitación magnética por 10 minutos. La solución resultante fue utilizada de manera directa para la caracterización por microscopía electrónica de transmisión en un equipo Phillips Tecnai F-20.

## 3. RESULTADOS

Las muestras obtenidas fueron analizadas por microscopía electrónica de transmisión, los resultados nos indican la formación de nanopartículas de cobre. En la figura 1 los incisos a), b) y c) muestran imágenes de campo claro a diferentes ampliaciones.

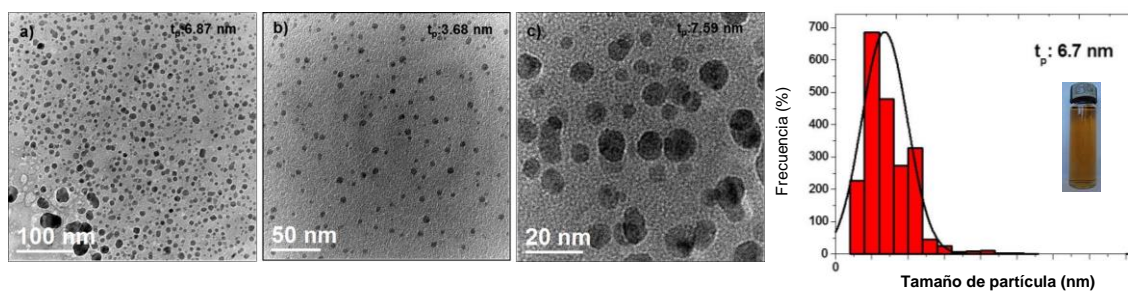


Figura 1. a), b), c) imágenes de campo claro (TEM) que muestran la distribución de tamaño de partícula, d) Histograma que evidencia la presencia de partículas en un rango de tamaño nano-métrico.

En las cuales se aprecia la formación de nanopartículas de Cu que presentan una morfología semiesférica y en el inciso d) la gráfica indica la distribución de tamaño de partícula promedio igual a 7nm, partículas que fueron sintetizadas a temperatura ambiente.

También se obtuvieron partículas con una morfología ramificada lo cual es mostrado en la figura 2, resultado que también es interesante debido a que aunque el tamaño de las partículas se encuentra por encima de los 200nm, en la figura 2, inciso a) puede observarse que el tamaño de las ramificaciones se encuentra dentro del rango nanométrico con una medida de 200nm respecto a la longitud y de 100nm de ancho figura 2, inciso b). El análisis EDS mostrado en c) es el resultado obtenido de estas partículas en el cual se muestran los picos característicos del Cu y algunos picos del Cl lo cual se atribuye a los residuos de la sal que no se alcanzaron a reducir.

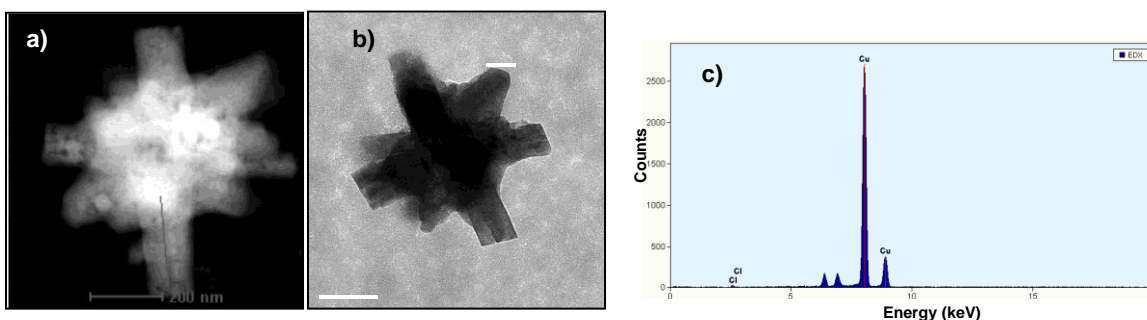


Figura 2. a), b) Imágenes de campo claro a mayores ampliaciones, que muestran una morfología similar a una estrella.

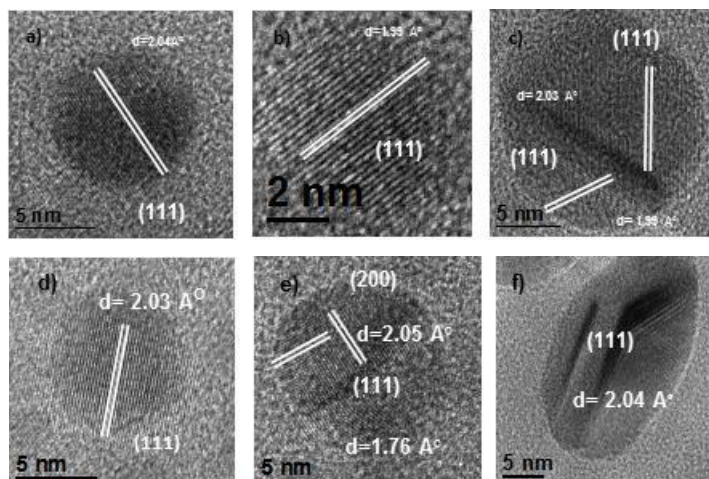


Figura 3 Imágenes obtenidas por HRTEM de los cristales, mostrando los planos (111) y (200) correspondientes al cobre, a),b) y d) muestran una estructura de tipo FCC, c) y e) del tipo STP, y f) presenta múltiple maclado

El análisis de las muestras nos permitió obtener imágenes de alta resolución por medio de las cuales se realizó la medición de los planos que presentan las partículas obtenidas, las distancias interplanares son: 1.99 Å, 2.03 Å y 2.04 Å distancias que pertenecen a los planos (111), figura 2 y haciendo una comparación con la figura 4 que muestra una tarjeta correspondiente a las distancias interplanares del cobre se encontró que las partículas obtenidas en este trabajo corresponden a las distancias interplanares del cobre, lo cual indica que efectivamente se trata de las mismas. En lo que respecta a la estructura, la mayor parte presentan una del tipo cúbica centrada en las caras (FCC, figura 2, a), b) y d)), aunque en poca cantidad otras presentan una estructura de simple macla, es decir, la partícula presenta dos orientaciones las cuales están determinadas por un macla como puede apreciarse en figura 2,c) y también se observó la presencia de pocas estructuras del tipo múltiple maclado (MTP) las que tienen dos o más maclas figura 2,f).

<b>Pattem: 03- 065-9743 Radiation= 1.540600</b>					
	<b>d(Å)</b>	<b>i</b>	<b>h</b>	<b>k</b>	<b>L</b>
<b>Cu</b> Copper	<b>2.082</b>	<b>999</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
	<b>1.803</b>	<b>425</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	<b>1.275</b>	<b>171</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>

Figura. 4 Cu PDF # 03 -065 - 9743

#### 4. CONCLUSIONES

Fueron obtenidas nanopartículas de cobre que presentan morfología semiesférica con un tamaño promedio de 7nm, dentro de un rango de 2 a 20 nm, presentando una mayor frecuencia en tamaños de 5nm, para una relación molar de sal-agente reductor de 0.5, a una temperatura ambiente y agitación magnética a 120 rev/min durante 60 minutos.

También se observó la presencia de nanopartículas que presentan una estructura con una o dos maclas, aunque en su mayoría las partículas muestran una estructura del tipo FCC.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Masuo Hosokawa, Kiyoshi Nogi, Makio Naito, Toyokazu Yokoyama; Nanoparticle technology handbook; 2007 Elsevier B.V.
2. Kelsall, R.W., Hamley, I.W., Geoghegan, M. (eds.) Nanoscale Science and Technology, pp. 32–55. Wiley, New Jersey (2005)
3. HUANG Jun-sheng, REN Shan. Development on nanocrystalline powder copper preparation [J]. Materials Science and Engineering, 2001, 19(2): 76–79. (in Chinese)
4. CHU Guang, TANG Yong-jian, LIU Wei, LUO Jiang-shan, LI Jun, YANG Tian-zu. The preparation technology and application of nanocrystalline copper powder [J]. Metallic Functional Materials, 2005, 12(3): 18–21. (In Chinese)
5. CHEN Qing-chun. Hydrothermal conditions for fabrication of Cu nanorods and nanowires through reduction [J]. Fine Chemicals, 2005, 22(6): 417–419. (In Chinese)

6. Omar E. Rivera-Betancourt "Synthesis and Characterization of Copper Nanoparticles: Architectural Morphologies and Applications In Surface Enhanced Raman Spectroscopy" University Puerto Rico, 2009.



# ESTUDIO DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CLORO EN LA RUTA DE REACCIÓN DE LA CLORACIÓN DE TRAZAS DE FENOL A pH 7

Ana María Núñez Gaytán y María Elena Núñez Gaytán

Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, [amnunez@umich.mx](mailto:amnunez@umich.mx)

## RESUMEN

En este trabajo se muestra un estudio experimental detallado de los productos iniciales que se forman cuando 50 µg/L de fenol es sometido a cloración bajo condiciones parecidas a las que podrían tenerse durante el tratamiento y la distribución del agua potable. Las concentraciones de cloro usadas son 5 y 1 mg/L. El seguimiento de la evolución y transformación del fenol, así como la formación y persistencia de los productos formados se realiza mediante un sistema en línea previamente desarrollado de extracción en fase sólida con la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (EFS-CLAE) usando dos detectores UV y electroquímico durante 5 horas. La cantidad y el tipo de derivados clorados formados depende de la concentración del cloro, concentración de fenol, relación en peso (cloro: fenol), del tiempo de contacto y del pH. La cloración de trazas de fenol con 5 mg/L de cloro está basado en un mecanismo de sustitución electrofílica del anillo aromático siendo los productos iniciales formados los derivados orto y para: 2-clorofenol, 4-clorofenol, 2,4-diclorofenol, 2,6-diclorofenol y el 2,4,6-triclorofenol. Por otra parte, con 1 mg/L de cloro, la cloración de trazas de fenol conduce a la formación de los derivados monoclorados: 2-clorofenol y 4-clorofenol y la posterior oxidación de estos hacia la formación de productos no fenólicos.

## 1. INTRODUCCIÓN

La cloración de los fenoles se efectúa mediante ataque electrofílico del cloro en las posiciones orto y para respecto al grupo -OH. Sin embargo, la naturaleza de los sustituyentes en el anillo aromático y las condiciones del medio afectan la velocidad de reacción, determinando la mayor o menor persistencia de diversos productos clorados. Por eso, es necesario un mejor conocimiento de la transformación química o degradación del fenol y de sus derivados clorados bajo condiciones que se asimilen a las que pueden encontrarse en las plantas de tratamiento del agua<sup>1-2</sup>. La determinación de la naturaleza, de la cantidad y de la persistencia de los productos formados es un primer paso indispensable para mejorar las condiciones de operación en los procesos de desinfección del agua, de modo a minimizar la presencia de compuestos nocivos hasta una concentración no peligrosa para los organismos vivos, e incluso lograr su eliminación completa antes de llegar a la red de distribución doméstica.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

La metodología analítica se basa en el acoplamiento en línea de un sistema de extracción en fase sólida (EFS) para la preconcentración de la muestra y un sistema de análisis por cromatografía de

líquidos con detección UV y electroquímica. La detección de los analitos se efectuó fijando una longitud de onda de 280 nm en el detector UV y potenciales de 850 mV y 900 mV en las celdas de guardia y analítica, respectivamente, del detector coulombimétrico. El sistema de preparación de muestra requiere del empleo de una pequeña precolumna polimérica (20 X 2 mm D.I.), empacada con una fase de estireno-divinilbenceno de 10 µm. Por otra parte, la columna analítica (150 x 4.6 mm D.I.) está empacada con fase reversa Hypersil ODS de 5 µm.

Cloración del fenol.- Los experimentos se realizaron con disoluciones de un buffer de fosfatos ( pH 7) y corresponden a relaciones de cloro:fenol de 20:1 (1 mg/L de cloro, 50 µg/L de fenol) y 100 :1 (5 mg/L de cloro, 50 µg/L de fenol). Los tiempos de reacción estudiados fueron entre 10 min y 5 horas; para cada tiempo establecido se realizó un experimento independiente.

### 3. RESULTADOS

En la figura 1 se muestran los clorofenoles formados y la evolución de sus perfiles de concentración en el tiempo, obtenidos al aplicar una dosis de cloro de 5 mg/L a soluciones de fenol de 50 µg/L en un medio amortiguado de pH 7.

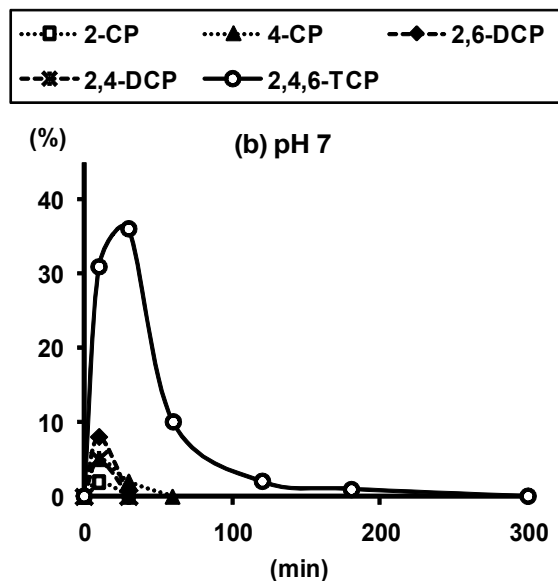


Figura 1. Perfiles de concentración de los clorofenoles formados por cloración de 50 µg/L de fenol con 5 mg/L de cloro.

El dopaje de 5 mg/L de cloro en medio neutro, condujo a la rápida formación y predominancia del 2,4,6-Triclorofenol. Desde los primeros minutos de reacción se consumió el fenol totalmente, los derivados monoclorados residuales fueron despreciables y solamente quedaron pequeñas concentraciones de diclorofenoles en la disolución.

En la figura 2 se muestran los clorofenoles formados y la evolución de sus perfiles de concentración en el tiempo, obtenidos al aplicar una dosis de cloro de 1 mg/L a soluciones de fenol de 50 µg/L en un medio amortiguado de pH 7.

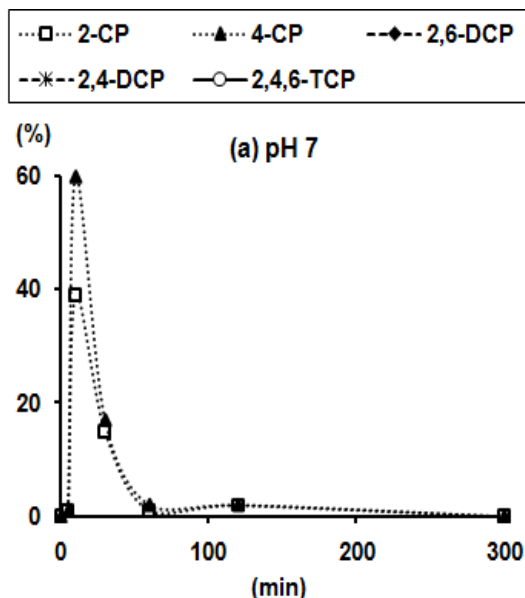


Figura 2. Perfiles de concentración de los clorofenoles formados por cloración de 50 µg/L de fenol con una dosis de cloro de 1 mg/L.

En el medio amortiguado neutro, se formaron rápida y cuantitativamente los monoclorofenoles 2-clorofenol y 4-clorofenol, predominando el derivado “para” sobre el “orto”. La relación molar 2-clorofenol/4-clorofenol en el máximo de concentración de ambos compuestos fue de 2:3, lo que indica que a pH 7 la posición “para” sigue estando más activada que la posición “orto” para la sustitución electrofílica, aunque la diferencia entre ambas es menor que en medio ácido. Por otra parte, a pesar de que no se detectó la formación de ningún derivado clorado superior, los dos monoclorofenoles sufrieron una degradación total al aumentar el tiempo de reacción. Este resultado es de gran importancia porque: 1) confirma indudablemente la existencia de un mecanismo de reacción alterno; 2) este mecanismo está basado en la oxidación del anillo aromático puesto que en ningún momento aparecieron en la solución los diclorofenoles o el 2,4,6-triclorofenol; 3) el fenol inicial fue clorado cuantitativamente a 4-clorofenol (60%) y 2-clorofenol (40%), por consiguiente los sustratos críticos que definen la vía de reacción a pH 7 son los monoclorofenoles. Aparentemente, en el amortiguador fosfato de concentración 0.1 M y pH 7, la oxidación directa de los monoclorofenoles es un poco más rápida que la cloración. Cuando la concentración de cloro es alta (5 mg/L), las dos reacciones son bastante rápidas y la diferencia relativa entre sus velocidades es pequeña por lo que la transformación de los monoclorofenoles

ocurre por las dos vías; sin embargo, al reducir la concentración de cloro aplicado (1 mg/L), ambas reacciones se vuelven más lentas y la diferencia relativa entre ellas se amplifica ocasionando que sólo se manifieste el mecanismo de oxidación que es el más rápido.

#### 4. CONCLUSIONES

El análisis de los perfiles de concentración de los clorofenoles en el medio amortiguado de pH 7 y con las dosis de cloro aplicadas (5 y 1 mg/L), permitió detectar la existencia de dos vías de reacción, cuyo punto común es la formación de 2-clorofenol y 4-clorofenol. Dependiendo de la concentración de cloro, estos compuestos pueden continuar clorándose hasta formar 2,4,6-triclorofenol, el cual posteriormente se oxida y perclora produciéndose ruptura del anillo y formación de productos alifáticos. La ruta alterna, más corta, consiste en la oxidación directa de los monoclorofenoles a especies aromáticas oxigenadas muy reactivas, como dihidroxibencenos y quinonas, que rápidamente se degradan a compuestos alifáticos. Esta vía de transformación del

fenol en agua clorada no ha sido previamente reportada; sin embargo, es la ruta predominante en medios neutros de alta fuerza iónica, tratados con dosis de cloro de 1 mg/L.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. J.P. Croué, J.F. Debroux, G.L. Amy, G.R. Aiken. In: "Formation and Control of Disinfection By-Products in Drinking Water", Ch. 4, P.C. Singer, Ed., AWWA, Denver, COL, 1999.
2. R. Bean. "The chlorination question", Environ. Sci. Technol., 16 (1982) 15A – 18A.

## SÍNTESIS DE $\beta$ -AMINOALCOHOLES DERIVADOS DE EUGENOL Y SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

JAVIER PERALTA CRUZ<sup>1</sup>, ALEJANDRO HERNÁNDEZ TANGUMA<sup>2</sup> y ELIZABETH VELAZQUEZ

RENDÓN<sup>2</sup>  
1 IPN-ENCB, 2 Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Departamentom de Química Orgánica.  
javierperaltacruz@yahoo.com

### RESUMEN:

Se ha demostrado que el eugenol es un antimicrobiano natural presente en los aceites de varias plantas, una de las más representativas es el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), ya que el eugenol representa más del 90% del aceite esencial de esta especie. La actividad antimicrobiana del eugenol está atribuida a la desestabilización de la membrana celular, provocando la liberación de lípidos y proteínas que están ancladas a ésta, afectando sus funciones.

El objetivo del presente trabajo es obtener aminoalcoholes a partir del eugenol extraído de su fuente natural (aceite de clavo). El eugenol se sometió a una epoxidación con subsecuente apertura anular con aminas primarias. Los  $\beta$ -aminoalcoholes obtenidos fueron evaluados inicialmente como antimicrobianos contra bacterias Gram negativas.

El eugenol se obtuvo por destilación por arrastre de vapor a partir de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). El eugenol obtenido fue metilado obteniendo metileugenol. Tanto el eugenol como el metileugenol fueron epoxidados y sometidos a un proceso de aminólisis con diferentes aminas alifáticas. Los  $\beta$ -aminoalcoholes resultantes fueron purificados y caracterizados por espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear y espectroscopía de Infrarrojo.

### 1. INTRODUCCIÓN

El eugenol es conocido como un antimicrobiano natural que ha presentado actividad contra bacterias, hongos y virus. Se ha descrito la actividad antimicrobiana en la bacteria patógena *Helicobacter pylori* a una concentración de 2  $\mu\text{g/ml}$  con inhibición a las 9 horas de exposición, indistintamente de la cepa usada [Niyaz Ahmed et al, 2005].

El sitio blanco propuesto para el eugenol es la membrana citoplásmica de las bacterias [Oyedemi et al, 2008; Devi et al, 2010]. Está comprobado que el eugenol inhibe el Quorum Sensing a una concentración subinhibitoria [Yidan Tang et al, 2012]. El mecanismo de acción involucra una desestabilización de la membrana citoplasmática afectando su integridad y provocando la liberación de las proteínas ancladas a ella, lo que produce alteraciones en toda función relacionada a ésta. En general, las bacterias Gram positivas son menos sensibles al eugenol debido a que presentan una pared celular de mayor tamaño que las Gram negativas y esto disminuye la

posibilidad de rompimiento celular, sin embargo, tanto en Gram positivas como en Gram negativas se observa liberación de lípidos y proteínas durante el tratamiento [Oyedemi et al, 2008].

El eugenol es el componente principal (90-98%) del aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). Es un compuesto de la clase de los fenilpropanoides [Devi et al, 2013] y está formado por un anillo bencénico sustituido en posición 1 por un hidroxilo, un metoxilo en posición 2 y un grupo alilo sobre el carbono 4.

Los grupos funcionales presentes en el eugenol permiten un gran número de transformaciones en la molécula, entre los que destacan la reacción de epoxidación sobre el grupo alilo y la alquilación del hidroxilo.

Debido a que se encuentran con frecuencia bacterias resistentes a los antimicrobianos existentes en la actualidad, se hace de gran importancia la investigación dirigida a el diseño de nuevos fármacos antimicrobianos, así como la implementación de estrategias que reduzcan el uso indiscriminado de estos.

El objetivo de este trabajo es la obtención de  $\beta$ -aminoalcoholes derivados de eugenol, una molécula ya conocida como antimicrobiano, para observar el cambio en la actividad biológica que esta modificación produce.

## 2. TEORÍA

La epoxidación es la reacción por la cual se consigue la oxidación parcial de un alqueno para formar un oxirano por medio de un perácido orgánico (MCPBA, ácido m-cloroperbenzóico), el cual transfiere un átomo de oxígeno al alqueno. La adición es de tipo *syn*. El uso de disolventes orgánicos halogenados favorece la reacción.

El mecanismo de la reacción aceptado fue propuesto por Bartlett, el cual refiere a una reacción concertada en un solo paso. Se lleva a cabo con disolventes no polares que inhiben la formación de iones. La adición es estereoespecífica, aún cuando puedan existir sustituyentes electrodonadores que puedan estabilizar un carbocatión intermedio [Smith y March, 200].

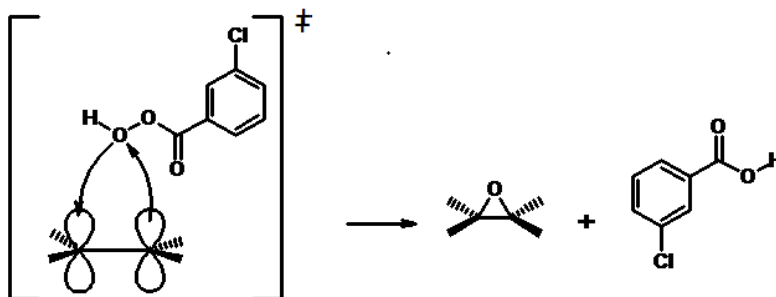


Fig. 1. Reacción de epoxidación. Mecanismo en un solo paso. Se observa del lado izquierdo el estado de transición.

Los epóxidos pueden reaccionar con nucleófilos dando productos de apertura. La apertura puede darse principalmente en dos medios, uno ácido y otro alcalino. Cuando la apertura es en medio ácido, el producto obtenido depende de la naturaleza del epóxido. En forma general, un epóxido que presente un carbono terciario en su estructura dará un producto tipo  $S_N1$ , mientras que uno que presente solo carbonos secundarios dará un producto tipo  $S_N2$ . Cuando el medio es alcalino se observa principalmente el producto  $S_N2$ , y por lo tanto, la apertura se dará por el carbono menos sustituido [McMurry, 2008].

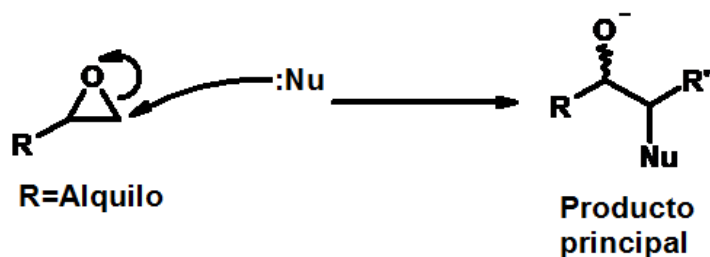


Fig. 2. Reacción de apertura anular de epóxidos por nucleófilos.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se obtuvo eugenol a partir de clavo de olor, el cual fue epoxidado con ácido meta-cloroperbenzóico (m-CPBA) en cloruro de metileno a temperatura ambiente y en agitación. La reacción tomó dos horas, posteriormente se colocó la mezcla de reacción a 0°C durante 12 horas, seguidas de una filtración y evaporación del disolvente. Los epóxidos obtenidos fueron sometidos a un proceso de apertura anular con aminas primarias en cantidades equimolares, mediado por microondas y sin uso de disolventes, siguiendo el esquema de síntesis de la figura 3. Los productos fueron purificados por cromatografía y caracterizados por técnicas espectroscópicas (IR, RMN). Posteriormente el compuesto **4** fue retado contra las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* por el método de Kirby-Bauer y dilución en microplaca.

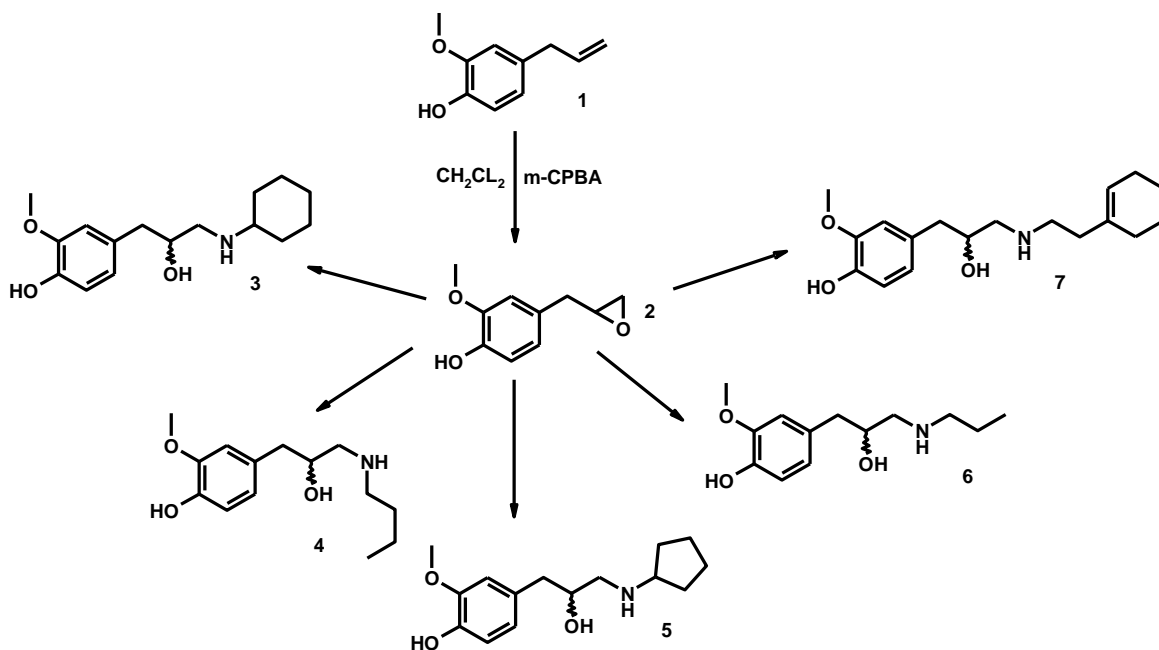


Fig. 3. Ruta de síntesis para la obtención de los aminoalcoholes.

### 4. CONCLUSIONES

Se observó actividad del compuesto **4** contra las bacterias probadas a concentración mínima inhibitoria de 0.015M (0.38% m/v) para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae* y a concentración mínima inhibitoria de 0.0075M (0.19% m/v) para *S. typhi*.

## BIBLIOGRAFÍA

1. S. Oyedemi *et al.*, "The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol,  $\alpha$ -terpineol and  $\gamma$ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*", *Afr. J. Biotech.*, Vol. 8, 7, 2009, pp. 1280-1286.
2. E. Elgendy; S. Khayyat, "Oxidation reactions of some natural volatile aromatic compound: anethole and eugenol". *Russ. J. Org. Chem.*, Vol. 44, 6, 2008, pp. 823-829.



## SINTESIS Y ANALISIS ESPECTRAL DE 6-AMINOQUINOXALINAS

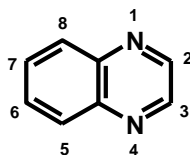
JAVIER PERALTA CRUZ, ALEJANDRO HERNÁNDEZ TANGUMA y  
ELIZABETH VELAZQUEZ RENDÓN

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Departamento de  
Química Orgánica.

javierperaltacruz@yahoo.com

### RESUMEN:

Los derivados de quinoxalinas (1) representan una de las clases de compuestos biológicamente activos que poseen una amplia gama de propiedades farmacológicas, entre las que se destacan su actividad antimicrobiana y antineoplásica<sup>1</sup>. En síntesis orgánica su síntesis y química ha llamado la atención en los últimos años, estudiando así nuevas estrategias de su obtención con métodos no convencionales tales como las microondas.



1

En esta investigación, se abordó la síntesis de derivados 6-aminoquinoxalínicos mediante la aminación reductiva de 6-nitroquinoxalinas con derivados carbonílicos. La síntesis de los núcleos de quinoxalina se obtuvo a partir de la ciclocondensación de *o*-fenilendiamina con  $\alpha$ -dicetonas simétricas bajo irradiación de microondas. La aminación reductiva se realizó en un paso con las 6-aminoquinoxalinas formadas. Las quinoxalinas 6-sustituidas con aminas secundarias fueron purificadas y caracterizadas por espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear y espectroscopía de Infrarrojo.

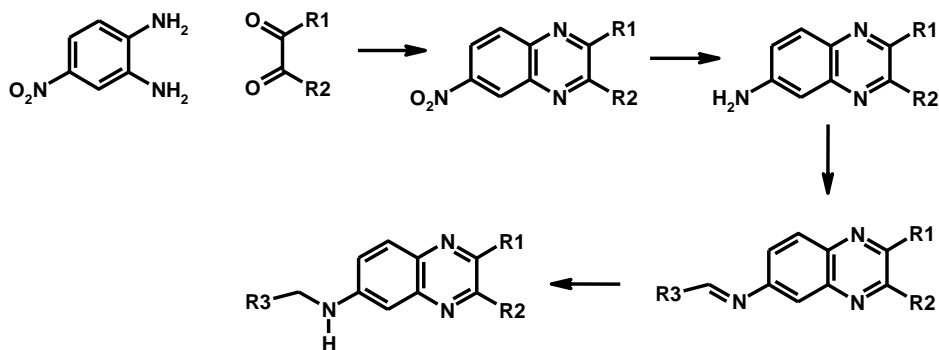
### 1. INTRODUCCIÓN

La quinoxalina (1,4-diazanaftaleno,  $C_8H_6N_2$ ) es un pariente estructural de varios componentes benzoheterocíclicos que contienen nitrógeno y que han tenido interesantes propiedades biológicas con aplicaciones potenciales en el diseño de fármacos.

La síntesis clásica de quinoxalinas consiste en la condensación de *o*-fenilendiaminas con compuestos 1,2-dicarbonílicos, en reflujo con etanol o ácido acético por 2-12h. Sin embargo a través de los años el método de obtención de las quinoxalinas se ha ido desarrollando, de manera que se ha logrado obtener derivados de este núcleo benzoheterocíclico con una notable disminución de tiempos de reacción, altos rendimientos, alta selectividad y productos de reacción más puros bajo la radiación con microondas como alternativa para el calentamiento convencional que además permite que su síntesis sea realizada bajo condiciones libres de disolventes.

La reducción de nitrocompuestos a aminas es un paso esencial en lo que quizá sea la vía de síntesis más importante en la química aromática (esquema 1.) Los nitrocompuestos pueden reducirse de dos maneras generales: a) por hidrogenación catalítica y b) por reducción química vía la transferencia de hidrógeno proveniente de un donador adecuado. Al comparar la reducción

catalítica utilizando hidrógeno molecular con la reducción química vía transferencia de donador de hidrógeno, esta última tiene varias ventajas como el evitar el uso de gases inflamables y la mayor quimioselección que puede obtenerse en las reacciones.



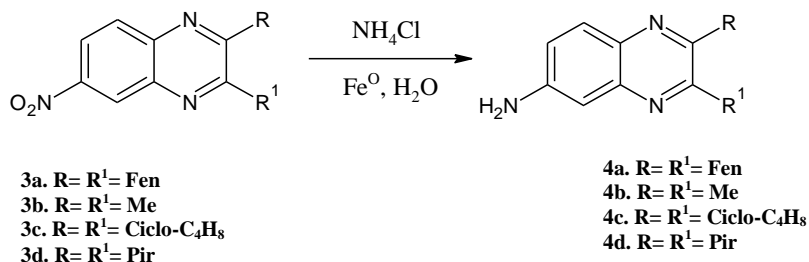
Esquema 1. Método sintético

## 2. TEORÍA

La aminación reductiva de aldehídos y cetonas es un método importante para la síntesis de aminas primarias, secundarias y terciarias. Para llevar a cabo esta transformación utilizando la vía directa la conversión del grupo funcional carbonilo a una amina se da por el tratamiento directo de la mezcla del componente carbonílico y la amina con el adecuado agente reductor en una simple operación sin la previa formación de un intermediario de imina o sal de iminio.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se hicieron reaccionar cantidades equimolares de la 4-nitro-o-fenilendiamina con la  $\alpha$ -dicetona simétrica bajo irradiación de microondas (800 Watts) y con tiempos variables de reacción para la obtención de 6-nitroquinoxalinas. La reducción del grupo funcional nitro de estos compuestos se efectuó mediante calentamiento convencional utilizando  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{Fe}^0$  en solución acuosa. (esquema 2)



Esquema 2. Reducción del grupo nitro.

Finalmente se realizó la aminación reductiva en un paso con el compuesto carbonílico y  $\text{NaBH}_4$  dando como resultado quinoxalinas 6-sustituidas con aminas secundarias. Los productos fueron purificados por columna cromatográfica y caracterizados por técnicas espectroscópicas (IR, RMN).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En la Tabla 1 se muestran los tiempos óptimos de reacción para la formación de los núcleos de quinoxalinas **3A-3D**. Las condiciones en las que se llevo a cabo cada reacción fueron libres de disolventes y catalizadores; así como que el seguimiento de la reacción se llevo a cabo en TLC y la

purificación de los productos se desarrollo por medio de una cromatografía en columna con un sistema Hexano: Acetato de etilo adecuado para cada compuesto.

**Tabla 1.** Tiempos de reacción de 6-nitroquinoxalinas

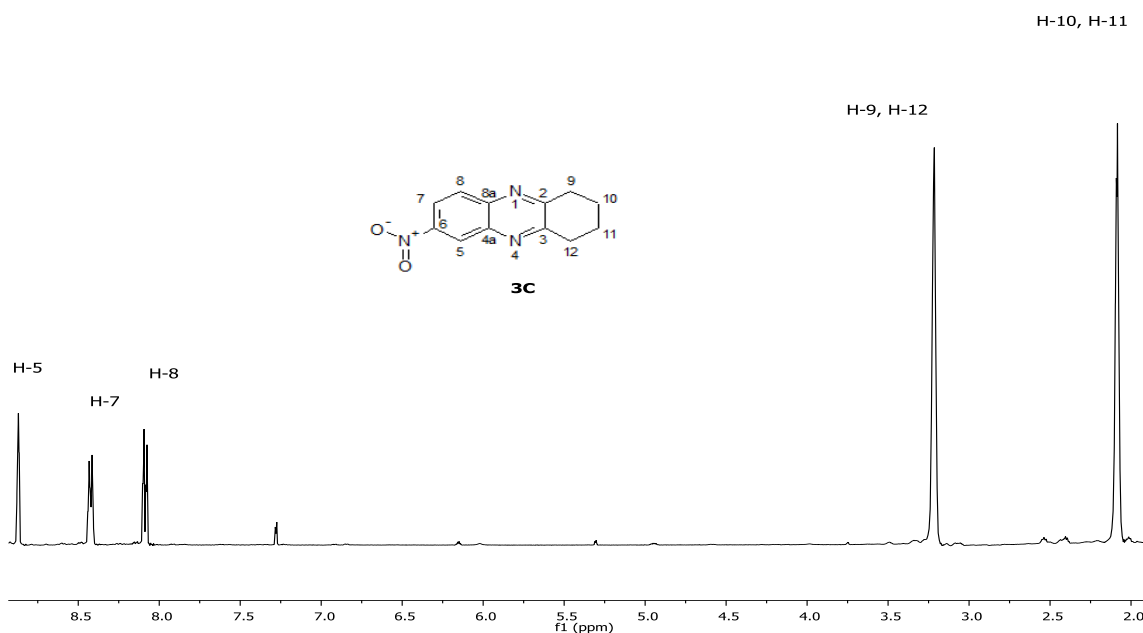
Nitroquinoxalina	Tiempo de reacción	Características físicas
<b>3A</b>	2.15 min	Sólido amarillo
<b>3B</b>	3.15 min	Polvo naranja melocoton
<b>3C</b>	1 min	Sólido amorfo rojo
<b>3D</b>	5min	Polvo amarillo ocre

En la Tabla 2 se muestran los tiempos óptimos de reacción para la formación de las 6-quinoxalinamina, **4A-4D**, a partir de la reducción del grupo nitro de las 6-nitroquinoxalinas. La reacción se llevo a cabo mediante calentamiento convencional a una temperatura de 60°C con el uso de agua ,como disolvente inocuo, y reactivos de bajo costo: cloruro de amonio (NH<sub>4</sub>Cl) y hierro metálico (Fe<sup>0</sup>); el seguimiento de la reacción se llevo a cabo en TLC y la purificación de los productos se desarrollo por medio de una cromatografía en columna.

**Tabla 2.** Tiempos de reacción de 6-quinoxalinaminas

Aminoquinoxalina	Tiempo reacción	Características físicas
<b>4A</b>	1-1.30h	Sólido amarillo
<b>4B</b>	30min	Cristal cubico naranja
<b>4C</b>	2h	Sólido amorfo rojo
<b>4D</b>	2h	Sólido amorfo amarillo narciso

En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figura1)se observa el sistema AMX de los protones aromáticos H<sub>5</sub>, H<sub>7</sub> y H<sub>8</sub>, antes descrito, con los desplazamientos 9,87, 8,42 y 8,08 respectivamente.



**Figura 1.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz) de **3C**.

A campo alto se observan las señales de los protones del sustituyente ciclo-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>. A pesar de ser una molécula no simétrica H<sub>9</sub> y H<sub>12</sub> se muestran como una señal simple a 3.21 ppm, mientras que H<sub>10</sub> y H<sub>11</sub> se muestran como otra señal desplazada a 2.08 ppm, esto se debe a que los desplazamientos de estos metilenos pueden ser tan similares entre sí, que a pesar de que no sean equivalentes las señales se sobreponen y se observan como un singlete.

En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 2) se observan los protones aromáticos H<sub>5</sub>, con desplazamiento 7.63 ppm y los protones H<sub>7</sub> y H<sub>8</sub>, con desplazamientos de entre 6.97 ppm y 6.93 ppm respectivamente. A campo alto se observan las señales de los protones del sustituyente ciclo-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>. H<sub>9</sub> y H<sub>12</sub> se muestran como una señal simple a 2.95 ppm, mientras que H<sub>10</sub> y H<sub>11</sub> se muestran como otra señal desplazada a 1.86 ppm. El grupo amino se encuentra como una señal ancha a 4.12 ppm.

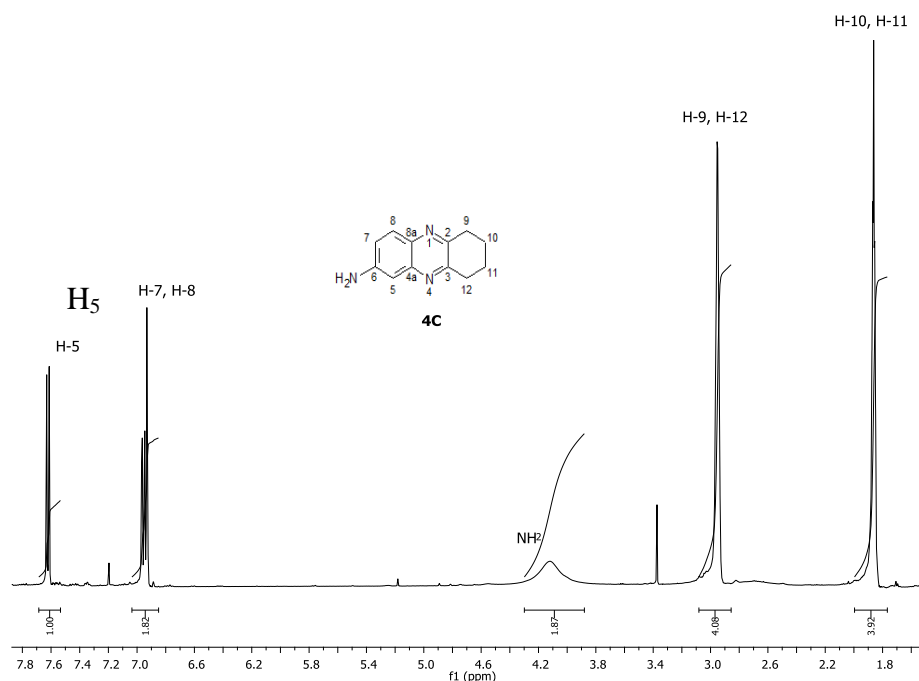


Figura 2. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz) de 4C.

#### 4. CONCLUSIONES

La síntesis vía microondas es una alternativa de activación molecular para reacciones de condensación.

Las 6-aminoquinoxalinas demostraron tener fluorescencia a 254 nm y 365 nm, por lo que podrían tener aplicación como biomarcadores.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. J. J. Morales Castellanos, K. Ramírez-Hernández, N. Gómez-Flores, O. R. Rodas-Suárez, J. Peralta-Cruz (2012). *Microwave-assisted Solvent-free Synthesis and in Vitro Antibacterial Screening of Quinoxalines and Pyrido[2, 3b]pyrazines*. *MOLECULES* 17, 5164-5176.

## DESARROLLO DE UN SIMULADOR DE LA REGULACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO POR RIANODINA e IP<sub>3</sub>

Frida Jessica Hernández Ruiz<sup>a</sup>, Marleni Reyes Monreal<sup>b</sup>, María Eugenia Pérez Bonilla<sup>a</sup>, Arturo Reyes Lazalde<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Biología Interactiva, Escuela de Biología, BUAP, Puebla, Pue, [jess.dfm@hotmail.com](mailto:jess.dfm@hotmail.com), [bonillaeugenia@gmail.com](mailto:bonillaeugenia@gmail.com), [arturoreyeslazalde@gmail.com](mailto:arturoreyeslazalde@gmail.com)

<sup>b</sup>Dirección General de Innivación Educativa, BUAP, Puebla, Pue. [marleni.reyes@yahoo.com.mx](mailto:marleni.reyes@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

El Ca<sup>2+</sup> citoplasmático es un ión muy importante para el funcionamiento celular; sin embargo, la permanencia de altas concentraciones de este ión en el citoplasma causa la muerte de la célula. Por esta razón existen mecanismos que atrapan al Ca<sup>2+</sup> lo más rápido posible. La difusión del Ca<sup>2+</sup> es limitada, por un lado, por moléculas quelantes que lo atrapan y, por otro lado, es almacenado lo más rápido posible en el retículo endoplásmico. Esta regulación de la concentración del calcio provoca la presencia de oscilaciones en su concentración. Los mecanismos bioquímicos de este sistema dinámico están mediados por receptores de rianodina e IP<sub>3</sub>. Las oscilaciones de la concentración de calcio citosólico han resultado ser un fenómeno celular importante y recientemente se han investigado intensamente. Juegan un papel determinante en el procesamiento de información intracelular. En el presente proyecto se diseñó y desarrolló un simulador computacional interactivo para la enseñanza-aprendizaje de la dinámica de la concentración de Ca<sup>2+</sup>. Para este propósito se implementó la solución numérica de un modelo matemático semejante al desarrollado por FitzHugh-Nagumo (FHN). El programa interactivo fue desarrollado en el lenguaje de cómputo Visual Basic Ver. 6.0 para ambiente Windows. El simulador está formado por dos secciones principales: (1) Módulos de lecciones, que permiten al usuario introducirse al tema y (2) Módulo de simulación, que permite al usuario realizar una serie de simulaciones variando las concentraciones iniciales de Ca<sup>2+</sup> extracelulares e intracelulares.

### 1. INTRODUCCIÓN

Curiosamente, la señalización por calcio no ocurre de un modo similar en todas las células, pudiendo distinguirse claramente cómo se produce esta señal en células excitables y en células no excitables [1]. Mientras que en las primeras el estímulo que provoca la señalización por calcio lleva a la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje que permiten entrada de calcio extracelular, en las segundas el estímulo lleva a la producción intracelular de IP<sub>3</sub> que dispara la salida de Ca<sup>2+</sup> desde depósitos intracelulares.

Se han observado oscilaciones de los niveles de Ca<sup>2+</sup> intracelular en células excitables como neuronas, células cardíacas y células beta pancreáticas, oscilaciones que son acompañadas por fluctuaciones del potencial de membrana. Inicialmente se pensó que las oscilaciones eran exclusivas de células excitables, sin embargo en 1986 Woods et al., describieron oscilaciones de Ca<sup>2+</sup> intracelular en hepatocitos (células no excitables) estimulados hormonalmente [2], y ese mismo año, Yada et al., describieron lo mismo en células epiteliales en cultivo. A medida que se extendió el uso de las sondas para calcio intracelular y se desarrollaron técnicas de monitorización de calcio a nivel de célula individual, fue incrementándose el número de tipos celulares en los que se detectaban oscilaciones de calcio en respuesta a los estímulos que movilizan calcio [3]. Actualmente hay descritas oscilaciones de calcio intracelular en multitud de células, desde el huevo

fertilizado, hasta células endoteliales, pasando por células de la hipófisis, cromafines, mastocitos, musculares, hepáticas, precursores neuronales, neuroblastos, astrocitos.

En células excitables, las oscilaciones del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular están reguladas por la frecuencia de los potenciales de acción que se disparan en la membrana, mientras que en células no excitables lo es por la unión de una molécula a su receptor que provoca la generación de  $\text{IP}_3$ , el cual se une a receptores en la membrana del retículo endoplásmico. El receptor de  $\text{IP}_3$ , que está acoplado a un canal que libera calcio del retículo, posee características moleculares que le permiten ser modulable por calcio, de este modo, el receptor activado en presencia de bajos niveles de calcio, incrementa la permeabilidad del canal a calcio, mientras que altos niveles de calcio disminuyen la permeabilidad del canal [4]. Pero además, este comportamiento rítmico es regulable, de modo que la frecuencia de las oscilaciones puede modificarse al cambiar la frecuencia de los potenciales de acción o la concentración de las moléculas con receptores acoplados a la generación de  $\text{IP}_3$ . Así, una codificación por frecuencia de la señal de calcio intracelular permite un mayor rango de respuesta de la célula ante la intensidad del estímulo [4].

Diversos experimentos realizados sobre células secretoras han permitido establecer una relación entre las oscilaciones y los pulsos secretorios. De este modo, se ha sugerido que este comportamiento rítmico podría permitir optimizar el proceso secretorio a la vez que se evitarían los efectos tóxicos de un incremento sostenido de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular [5].

Se han podido medir oscilaciones sincrónicas de calcio intracelular entre las diferentes células de muchos tejidos; por ejemplo, en el hígado se han visto estas oscilaciones sincrónicas entre las diferentes células que componen un lobulillo hepático, la unidad funcional del hígado. Del mismo modo, en una estructura secretora, la sincronización permite que todas las células liberen a la vez y en la misma cantidad la secreción, obteniéndose un funcionamiento perfectamente regulado de la glándula.

La sincronización implica la transferencia de la señal de calcio entre las diferentes células, la llegada simultánea de una señal externa a todas las células o la existencia de ambos fenómenos. Se sabe que existe una transferencia intercelular de la señal de calcio a través de uniones de tipo gap (gap junction), aunque no está claro si lo que pasa a través de estos poros es el propio calcio o algún otro mensajero, como por ejemplo el  $\text{IP}_3$  (el calcio tiene una escasa capacidad de difusión en el interior celular debido principalmente al tamponamiento que ejercen las proteínas ligantes de calcio, mientras que el  $\text{IP}_3$  sí es muy difusible). También se conoce la existencia de mensajeros extracelulares capaces de actuar en un modo autócrino/parácrino disparando la señal de calcio. Así, por ejemplo, en los mastocitos, que no están acoplados entre sí por uniones tipo gap, cuando se dispara la señal de calcio en uno de ellos, y se co-libera junto con los productos proinflamatorios (fundamentalmente histamina) un mediador extracelular soluble (ATP), que llega hasta células cercanas disparando la señal de calcio en ellas e induciendo la consiguiente liberación de estas moléculas proinflamatorias.

Pero la señal oscilatoria de calcio no solo participa en procesos como la secreción y la contracción, sino también en procesos como la expresión génica. Recientemente se demostró que la frecuencia de las oscilaciones de calcio era capaz de regular la eficiencia y especificidad de la expresión génica [6]. Esto pone de manifiesto la importancia de la señal de calcio en todos los procesos celulares, empezando por la regulación génica y terminando por el control de los productos de los genes, las proteínas. Por ejemplo, las células mamotropas de rata (células de la hipófisis productoras de prolactina) poseen en la región promotora del gen que codifica para la prolactina, secuencias de unión a calcio capaces de modular la expresión del gen, mientras que la liberación de secreción a la sangre está controlada por oscilaciones de calcio; de este modo toda la secuencia de eventos relacionados con la actividad de estas células está regulada por la señal de calcio [7].

El  $\text{Ca}^{2+}$  como mensajero intracelular es otro ejemplo de logro evolutivo que ha permanecido congelado en el tiempo, que probablemente se desarrolló muy pronto en la evolución de la vida y

sin el cual es inconcebible imaginar la vida tal y como la conocemos y por ende, es muy importante tanto en células excitables como no excitables [8].

## 2. MATERIAL Y MÉTODO

Se diseñó y desarrolló un programa interactivo para la enseñanza-aprendizaje de la regulación celular del calcio. El programa, que incluye al simulador mismo y las lecciones previas, fue desarrollado con el lenguaje de programación Visual Basic versión 6.0 para ambiente Windows® de 32 y 64bits sistemas operativos Microsoft Windows®. El simulador está basado en las ecuaciones del modelo matemático Two Pool de Goldbeter et. al, 1990.

## 3. RESULTADOS

El simulador está formado por dos módulos principales: (1) Módulo de lecciones y (2) Simulador. El módulo de lecciones contiene diez lecciones que introducen al usuario al tema de los componentes y procesos que en combinación logran mantener niveles bajos de calcio en el citosol (figura 1). Los temas que se tratan son: El calcio celular, el calcio en las células excitables, los canales de calcio, las bombas de calcio, el retículo endoplásmico y sarcoplásmico, las bombas en el retículo sarcoplásmico, receptores de rianodina, el acoplamiento excitación-contracción, el  $IP_3$ , los receptores a  $IP_3$ .

Un ejemplo de lección se muestra en la figura 2, en esta lección se explica brevemente la función de la bomba PMCA y el intercambiador sodio calcio.

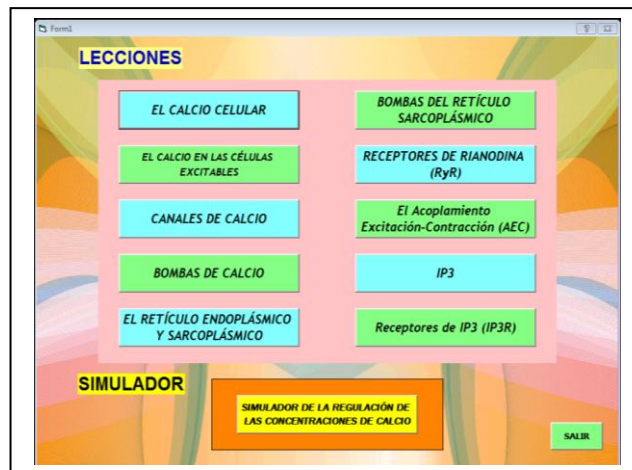


Figura 1. Interfaz donde se muestra el menú principal del programa. El recuadro superior integra un total de diez botones y cada botón conduce a las lecciones especificadas. En la parte inferior, se muestra el botón que lleva al simulador basado en el modelo matemático de Goldbeter *et al.*, 1990.

El ingreso de calcio desde el líquido extracelular está determinado por los canales de calcio voltaje dependientes. La salida de calcio de retículo está determinada por canales de calcio, sensibles a rianodina y los sensibles a  $IP_3$ . Resultado de esta interacción de procesos se produce una oscilación del calcio citosólico (figura 3).

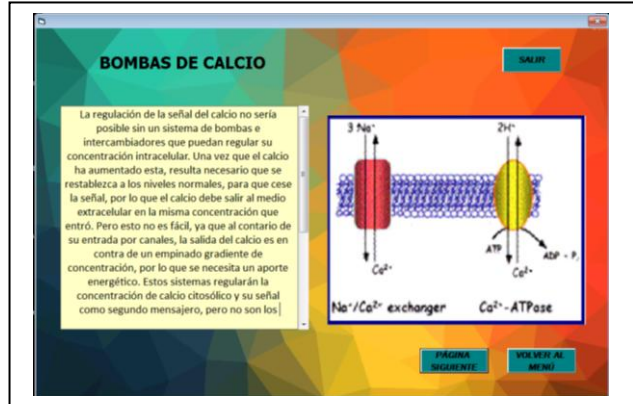


Figura 2. Ejemplo de lección, se muestra la ventana de usuario para la lección correspondiente a las bombas de calcio. En el recuadro de la derecha se muestra el intercambiador calcio/sodio y la ATPasa de calcio. El cuadro de texto introduce al usuario al tema.

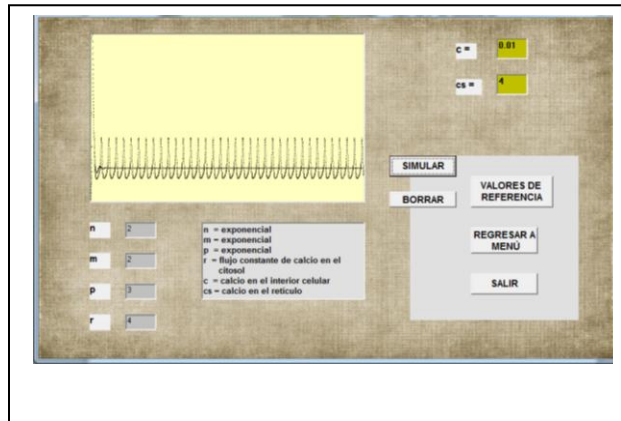


Figura 3. simulaciones para valores de p de 3.5 y 3. se puede observar, primero, una disminución de la frecuencia y amplitud y después el cese de la oscilación de calcio.

#### 4. CONCLUSIONES

Se desarrolló un simulador que permite realizar experimentos virtuales de calcio citosólico. Al modificar los parámetros del modelo matemático, indirectamente se afecta aumentando o disminuyendo la entrada de calcio al citoplasma y la salida de calcio al líquido extracelular y la recaptura del calcio al retículo. Estos cambios modifican las oscilaciones de calcio, aumentando o disminuyendo su frecuencia y su amplitud.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. C. Fewtrell, "Biochemical oscillations and cellular rhythms" *Ann Rev Physiol*, 55, 1993, pp.427-454.



2. N. M. Woods, K. S. Cuthbertson, P. H. Cobbold, "Repetitive transient rises in cytoplasmic free calcium in hormone-stimulated hepatocytes", *Nature*, 319, 1986, pp. 600-602.
3. T. Yada, S. Oiki, S. Ueda, Y. Okada, "Synchronous oscillation of the cytoplasmic  $\text{Ca}^{2+}$  concentration and membrane potential in cultured epithelial cells (Intestine 407)". *Biochem. Biophys. Acta* 887, 1986, pp. 105-112.
4. E. Carafoli, "Calcium signaling: a tale for all seasons". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(3), 2002, pp. 1115-1122.
5. A. Tse, F.W. Tse, W. Almers, B. Hille, "Rhythmic exocytosis stimulated by GnRH-induced calcium oscillations in rat gonadotropes". *Science*, 260, 1993 pp. 82–84.
6. R. E. Dolmetsch, K. Xu, R.S. Lewis, "Calcium oscillations increase the efficiency and specificity of gene expression". *Nature*; 392(6679), 1998, pp. 933-936.
7. C. Villalobos, W. J. Faught, L. S. Frawley. Dynamic changes in spontaneous intracellular free calcium oscillations and their relationship to prolactin gene expression in single, primary mammotropes. *Molecular Endocrinology*, 12(1), 1998, pp. 87-95.
8. F. J. Bermúdez, "Calcium Rhythm", *J Physiol*, 2, 2002, pp. 251-272.

## BIS-GUANIDINAS AROMÁTICAS DERIVADAS DEL 2-AMINOENZOTIAZOL

Alejandro Cruz<sup>1\*</sup>, María Esther Bautista-Ramírez<sup>2</sup> y Efrén V. García-Báez<sup>1</sup>

Instituto Politécnico Nacional-UPIBI, 1) Departamento de Ciencias Básicas, 2) Departamento de ciencia y tecnología farmacéutica, Av. Acueducto s/n, Barrio la Laguna Ticomán, México, D. F, 07340, Mexico., Proyecto SIP- 20140285. e-mail: [aleacruz@ipn.mx](mailto:aleacruz@ipn.mx)

### Resumen

En esta investigación, reportamos la síntesis de compuestos isotioureas, bis-isotioureas y bis-guanidinas derivadas del 2-aminobenzotiazol **1** por reacción de dos equivalentes molares del intermediario ditiometilcarboimidotobenzotiazol **2** con un equivalente molar de diaminas aromáticas y alifáticas en reflujo de etanol, mediante el desplazamiento de dos moléculas de HSMe. La reacción procede para obtener las bis-isotioureas **7**, las cuales reaccionan con aminas alifáticas y anilina para conducir a las correspondientes bis-guanidinas **8**. Las estructuras de los compuestos se asignaron por Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C. Se logró sintetizar un compuesto mixto que contiene los grupos isotiourea y guanidino, el cual se asignó por difracción de rayos-X.

**Palabras clave:** 2-aminobenzotiazol; ditiometilcarboimidato; isotiourea; bis-isotiourea; bis-guanidina.

### Abstract

In this investigation, we report the synthesis of isothioureas, bis-isothioureas and bis-guanidine compounds derived of 2-aminobenzothiazole **1**, from the reaction of dithiomethylcarboimidatebenzothiazole **2** with aromatic or aliphatic diamines in refluxing ethanol, through the displacement of two molecules of HSMe. The reaction proceeds through thiourea and bisisothiourea intermediates **6**, which react with aliphatic and aniline to afford the corresponding bis-guanidines **8**. The structures of compounds were assigned by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Magnetic Nuclear Resonance. One compound that contains guanidine and isothiourea groups was synthesized and its structure studied by X-ray diffraction analysis.

**Keywords:** 2-aminobenzothiazole; dithiomethylcarboimidate; isothiourea; bis-isothiourea; bis-guanidine.

### 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.<sup>2</sup> Por otro lado, este tipo de compuestos se pueden usar como ligantes en la preparación de complejos metálicos con metales del grupo principal, de transición y lantánidos.<sup>3</sup>

Típicamente, la síntesis de compuestos que contienen al grupo guanidina involucra el tratamiento de una amina con especies amidina y carbodiimida.

La adición de una amina a una carbodiimida, es un método conveniente y económico para obtener guanidinas multisustituidas. Sin embargo, sin un catalizador, la reacción de adición requiere de condiciones drásticas.<sup>4</sup> Se ha reportado que complejos imida de titanio y vanadio,<sup>3k,5</sup> son catalizadores altamente activos solo para la adición de aminas primarias aromáticas a carbodiimidas. Se encontró que los complejos metálicos<sup>2, 6-12</sup> son eficientes catalizadores con una amplia gama de aminas incluyendo 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.<sup>7-12</sup> Recientemente, se ha encontrado que complejos hetrobimetálicos, son altamente activos como precatalizadores para la adición de aminas a carbodiimidas.<sup>13</sup> Inclusive, la doble adición de diaminas aromáticas a carbodiimidas 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.

## Metodología

En este sentido, nosotros diseñamos una ruta para la preparación de guanidinas simétricas y no simétricas **4** a partir de la reacción del ditiometilcarboimidatobenzotiazol **2** con aminas primarias, secundarias y aromáticas en reflujo de etanol, mediante el desplazamiento de dos moléculas de CH<sub>3</sub>SH. La reacción procede mediante la formación de la Smetilisotiurea **3** como intermediario, esquema 1. Ahora, utilizando el mismo procedimiento, en este trabajo se reporta la síntesis de compuestos isotiureas, bis-isotiureas y bis-guanidinas derivadas del 2-aminobenzotiazol **1** por reacción del intermediario **2** con diaminas aromáticas y alifáticas. El intermediario ditiometilcarboimidato benzotiazol **2** se obtuvo a partir del 2-aminobenzotiazol **1** en medio básico (20 M NaOH) por reacción con disulfuro de carbono usando DMF como disolvente (Merchant, et al).<sup>7</sup>

Esquema 1. S-metilisotiureas **3**, y guanidinas **4** derivadas del 2-aminobenzotiazol **1**,

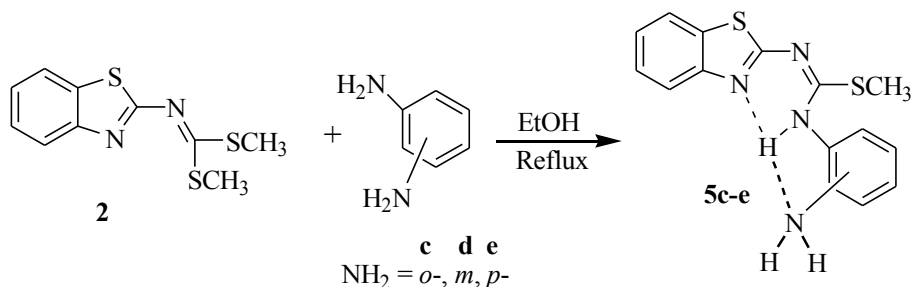
## Resultados y Análisis

La reactividad del compuesto **2** se debe a la facilidad para desplazar dos moléculas de HSMe como grupo saliente, cuando este reacciona con anilinas *o*-XH substituidas en reflujo de DMF para obtener NH-bisbenzazoles **6**<sup>8</sup>, esquema 2. Se propone que la reacción procede mediante los derivados Smetilisotiurea **5a-c**.

Esquema 2. NH-bisbenzazoles a partir de ditiometilcarboimidatobenzotiazol **2** con anilinas *o*-substituidas

Con el propósito de aislar los intermediarios Smetilisotiureas **5a-c**, llevamos a cabo la misma reacción en reflujo de etanol durante 8 horas en lugar de DMF. En estas condiciones, la reacción con *o*-aminofenol y *o*-aminotiofenol dieron los correspondientes NH-bisbenzazoles **6a** y **6b**, respectivamente. Sin embargo en el caso de la *o*-fenilendiamina, el intermediario **5c** precipitó como un sólido blanco y se separó por filtración. Estos resultados se explican en términos de la mayor acidez de los grupos OH y SH comparada con el grupo NH<sub>2</sub>. Esto hace que los grupos fenóxido y el tiolato sean más reactivos que el grupo NH<sub>2</sub>, lo cual puede ser responsable de la estabilidad del intermediario **5c** en comparación con los intermediarios análogos derivados de las anilinas *o*-OH o *o*-SH substituidas.

Con base en los resultados anteriores, se hicieron reaccionar los isómeros *m*- y *p*-fenilendiaminas en las mismas condiciones para aislar los correspondientes Smetilisotiureas **5d** y **5e** (X = NH), esquema 3. El espectro de RMN de <sup>1</sup>H del compuesto **5c** presenta una señal NH ancha en 11.9 ppm en CDCl<sub>3</sub>. El desplazamiento de esta señal a alta frecuencia, es indicativo de la formación de un puente de hidrógeno intramolecular entre el proton NH y átomo de nitrógeno del tiazol, se propone que el protón del nitrógeno de la *o*-anilina también participa en la interacción por puente de hidrógeno con el hidrógeno ácido como se indica en el esquema 3, esta condición hace que el intermediario **5c** sea suficientemente estable para ser aislado. La señal para el SCH<sub>3</sub> 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 <sup>13</sup>C presenta 15 señales, lo que está de acuerdo con la estructura propuesta.



Esquema 3.- Isotiureas **5c-d** por reacción de **2** con fenilendiaminas.

Las S-metilisotiureas aisladas **5c-e** se hicieron reaccionar con un segundo equivalente del compuesto **2** en reflujo de etanol por 24 horas. La reacción con la isotiurea **5c** no produce la correspondiente bis-isotiurea **7c** y el compuesto **2** permanece sin reaccionar. Las reacciones con las isotiureas **5d** y **5e**, produjeron las bis-isotiureas **7d** y **7e** respectivamente, figura 2. Un criterio que explica porque la reacción falla en el caso de la *o*-fenilendiamina, se debe al efecto estérico en la posición *orto* del segundo grupo 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 bis-isotiurea **7c**. Se obtienen los mismos resultados cuando las reacciones anteriores se llevaron a cabo usando 2 equivalentes molares del compuesto **2** y un equivalente molar de la correspondiente feniléndiamina. En RMN de  $^{13}\text{C}$  se observaron 13 y 11 señales para los compuestos **7d** y **7e**, respectivamente.

Figura 1. Bis-isothiureas **7d** y **7e** derivadas del 2-aminobenzotiazol y feniléndiaminas.

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. En la reacción con etiléndiamina, los compuestos observados en RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  correspondieron a la 2-imidazolidinobenzotiazol **8** en mezcla con un equivalente de **2** sin reaccionar. Al parecer los dos nitrógenos de la etiléndiamina son fuertemente básicos que impiden la formación de la correspondiente bisisotiurea y prefieren sustituir los dos grupos SMe del compuesto **2**. El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **8** presenta una señal ancha en 7.9 ppm (2H) y un singulete en 3.54 ppm (4H), 42.4 ppm ( $^{13}\text{C}$ ). En la reacción con la piperazina, los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **9** 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 **9**.

Esquema 4. imidazolidinobenzotiazol **8** y bis-isothiurea **9** obtenidas por reacción del ditiometilcarboimidato benzotiazol **2** con etiléndiamina y piperazina, respectivamente.

La bis-guanidina **10** se obtuvo cuando se hizo reaccionar la bis-isotiurea **9** y dos equivalentes de metilamina en reflujo de etanol. Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **10**, 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 **10**.

Figura 2. Bis-isotiurea **10** a partir de la bis-isotiurea **9**.

La misma reacción se llevó a cabo con un equivalente de la dietiléntriamina y dos equivalentes del compuesto **2**, lo que condujo a un compuesto mixto **11**, el cual contiene un grupo guanidina y un grupo isotiurea. En RMN de  $^1\text{H}$  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 5. Reacción de **2** con dietiléntriamina para obtener un compuesto bifuncional **11**

El compuesto **11** se recristalizó de una solución de etanol y su estructura se estudió por difracción de rayos-X. 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.

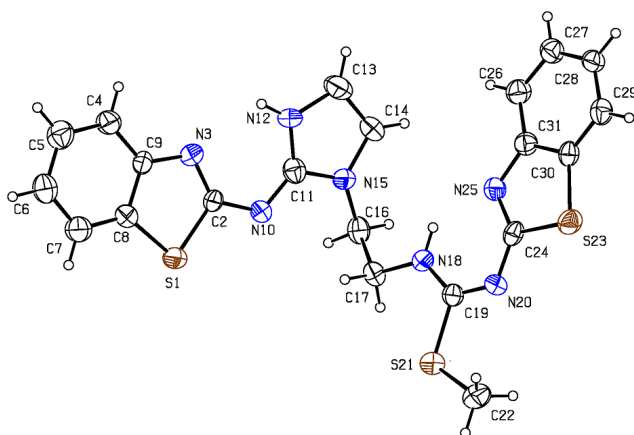


Figura 3. Estructura de difracción de rayos-X del compuesto **11**.  
Tablas de distancias y ángulos de enlace del compuesto **11**.

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

## Conclusiones

Las reacciones del dimetilcarboimidatobenzotiazol **2** con anilinas *m*- y *p*-sustituidas en reflujo de etanol, permitieron aislar las isotioureas correspondientes. En estas condiciones, cuando se hacen reaccionar 2 equivalentes del compuesto **2** con un equivalente de anilinas *m*- y *p*-sustituidas, se obtienen las bis-isotioureas respectivas. Las bis-isotioureas reaccionan con dos equivalentes de metilamina y conducen a las correspondientes bis-guanidinas. En las mismas condiciones, la dietiléntriamina reacciona con dos equivalentes del compuesto **2** para conducir a un compuesto que contiene un grupo guanidina y un grupo isotiourea.

## 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) Dagorne, 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.

## Dípteros Necrófagos en el Jardín Botánico de la FES Iztacala UNAM Tlalnepantla Estado de México

Jocelyn Jacinto-Estanes, María del Pilar Villeda-Callejas, Héctor Barrera-Escorcia, Guadalupe Eugenia Daleth Guedea-Fernández, Osvaldo Cervantes-Zamudio.

Laboratorios de Microscopía y Fotografía Digital. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. [jocsestanes@yahoo.com.mx](mailto:jocsestanes@yahoo.com.mx), [mapili\\_villeda@yahoo.com.mx](mailto:mapili_villeda@yahoo.com.mx), [hbarrerae@hotmail.com](mailto:hbarrerae@hotmail.com), [dalethguedea@hotmail.com](mailto:dalethguedea@hotmail.com), [osvaldocz@hotmail.com](mailto:osvaldocz@hotmail.com)

RESUMEN.- En la entomología, el Orden Dipterae es uno de los más ricos en especies. Algunas familias, de este orden, poseen especial interés desde el punto de vista económico, agrícola, veterinario, médico y/o legal. A la fecha ya se han descrito más de 150 mil especies; tanto en adultos como en las formas juveniles; tienen una alimentación diversa, algunas especies no son apreciadas por sus hábitos alimenticios puesto que son degradadores de materia orgánica, sin embargo son valoradas como apoyo en el ámbito médico legal. Ya que por medio de la identificación de los insectos presentes sobre un cadáver y sus estadios de vida es posible estimar el tiempo de muerte del sujeto; pudiendo determinar el intervalo *Post Mortem* (IPM o PMI) o considerar la fecha del deceso a partir de datos que proporcionan los insectos por las características de desarrollo. Los grupos más importantes de insectos que se alimentan de muertos son los dípteros; principalmente las familias Calliphoridae y Saprothagidae (Sakuma, 2005). En este trabajo se muestra un estudio descriptivo de Dípteros que transitan por el Jardín Botánico de la FES Iztacala, donde se encontraron tres especies *Calliphora vicina*, *Lucilia eximia* y *Lucilia sericata* a las cuales se les hizo un seguimiento y estudio durante su ciclo de vida para determinar los tiempos en los que se desarrollaron, los cuales pueden ser alterados por días lluviosos o con temperaturas bajas

### INTRODUCCIÓN

El orden de insectos Dípterae uno de los más ricos en especies, contribuyendo de 10-15% de especies animales conocidas. Se estima que se han descrito unas 150,000 especies Díptera (Akbarzadeh, et al., 2012). La alimentación de estos insectos, no solamente es variada entre las especies sino también entre los adultos y sus formas juveniles. Ciertos dípteros proporcionan beneficios a la humanidad por varias razones algunas especies son polinizadoras, otras atacan algunos insectos que son destructivos a ciertos cultivos o que afectan la salud, otras más conforman plagas frutícolas y agrícolas y al final, pero no menos importantes son las especies que degradan la materia orgánica, constituyéndose en limpiadores naturales (Méndez E., 1999); Barranco Vega (2003) señala que algunas de las familias de dípteros revisten especial interés desde un punto de vista económico por su utilidad agrícola, veterinaria o médica. En el sentido agronómico, algunas tienen interés porque comprenden especies que constituyen plagas de los cultivos, o por formar parte de la fauna auxiliar que controlan las especies plaga, depredadoras o parasitoides. Su importancia médica y sanitaria radica básicamente en que actúan como agentes de dispersión mecánica de patógenos procedentes de fuentes de infección hacia productos de consumo humano o animal; las larvas de algunas especies pueden causar **miasis** (invasión de tejido animal por larvas, para alimentarse de este) en el ganado bovino, conocidas como "barrenadoras del ganado" (Amat E., 2009).

También tienen valor en el ámbito médico-legal debido a que los insectos están usualmente entre los primeros y más importantes invertebrados que colonizan un cadáver animal o humano, y sigue una secuencia de sucesión predecible en cadáveres. Mediante la identificación de los insectos presentes y sus estadios de vida, es posible estimar el tiempo de muerte del sujeto. Pudiendo así determinar el intervalo *Post Mortem* (IPM o PMI) o estimación de la fecha del deceso a partir de datos que proporcionan los insectos por sus formas de desarrollo. Los grupos más importantes de

insectos que se alimentan de organismos muertos son los dípteros y de ellos principalmente las familias Calliphoridae y Saprothagidae (Sakuma, 2005).

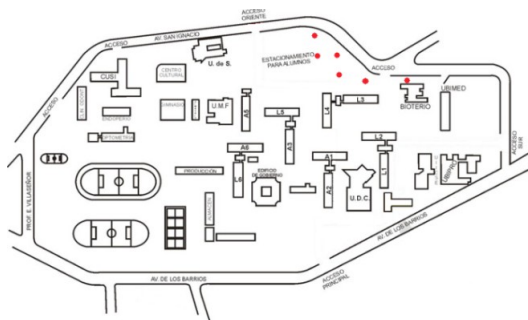
Las bases históricas de la entomología forense datan desde el año 1235 d.C cuando el investigador chino Sung Tz'u escribió que con ayuda de unas moscas se descubrió a un asesino (Castner, 2001); entre los años 1883 y 1898, J.P. Mengin. Publicó una serie de artículos referidos a la Entomología Médico-Criminal. El más famoso fue "Fauna of Cadavers", que sirvió en gran parte para crear una profesión médica y legal (Cats 1992), Salazar (2006), logró determinar la composición de la entomofauna asociada con cadáveres de ratas, para identificar las especies de importancia forense en Carabobo, Venezuela. Castillo, 2001 determinó artrópodos presentes en carroña de cerdos.

**JUSTIFICACIÓN.-** La falta de información en México sobre este tema probablemente se deba a que es una ciencia relativamente nueva con actividades de investigación que se restringen a unos cuantos años atrás y a la carencia de comunicación entre los entomólogos y el sector judicial (Vergara S., 2012) En Tlalnepantla la situación es semejante, y considerando que es un municipio que abarca un espacio muy amplio cubriendo parte del D.,F., México, y otros municipios vecinos del Estado de México ; por lo que es motivante conocer las especies de dípteros saprófagos presentes que existen en la región y sus ciclos de vida, ubicando el trabajo en una zona de acceso ligeramente restringido a poblaciones humanas o animales como es el Jardín Botánico de la Facultad de Estudios Profesionales Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México)

**OBJETIVO GENERAL.-** Describir el desarrollo de especies de dípteros de interés forense encontradas en el Jardín Botánico de la FES Iztacala, UNAM, Estado de México

#### PARTE EXPERIMENTAL

**MATERIALES Y METODOLOGÍA.-** Trampeo. 6 trampas McPhail modificadas y distribuidas al azar en el Jardín Botánico de la FES Iztacala (Figura 1) el cebo fue carne de cerdo; estas fueron revisadas diariamente y el cebo se cambió cada 7 días durante tres semanas, procedimiento que se repitió tres veces en un lapso de tres meses. Durante este tiempo se realizaron cambios en el trampeo colocando jaulas de 15 cm por 10cm con ratones sacrificados en el laboratorio, esto con el objetivo de estandarizar la técnica de captura y la comparación de los resultados obtenidos.

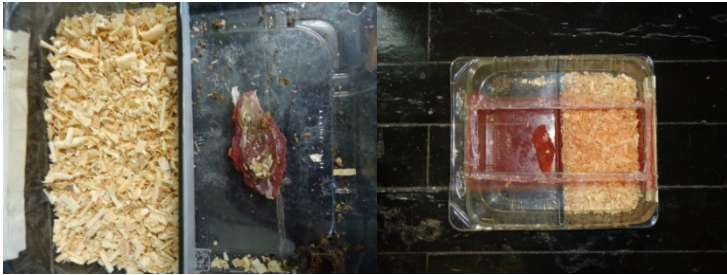


**Fig.1** Ubicación de las trampas. Los puntos en rojo, indican los sitios donde fueron colocadas las trampas dentro del Jardín Botánico de la FES Iztacala

Algunos de los ejemplares adultos obtenidos, fueron sacrificados en una cámara cianurada; las larvas se colocaron en agua a 70° C para su elongación y posteriormente se fijaron en solución Bouin.

Las puestas se colocaron en recipientes de plástico de 15x 10cm dentro de los cuales se instaló el mismo cebo durante su desarrollo larval posteriormente se trasladaron a viruta de madera para que cubrieran su estadio pupal y se obtuvieron los adultos(figura 2).





**Fig. 2.** Cámaras para el desarrollo larval

**DETERMINACIÓN:** Las claves utilizadas para la determinación fueron: Whitworth 2010 y Vélez y Wolff 2008

**Resultados.**-Se encontraron 3 especies de dípteros necrófagos de importancia forense en diferentes periodos: Durante los meses de junio y julio la principal especie encontrada fue *Lucilia. eximia* (Fig. 3a), durante los meses de septiembre se encontraron: *Calliphora vicina* (Fig. 3b) y *Lucilia sericata* (Fig. 3c)

Las condiciones ambientales registradas bajo las que trabajaron fueron de 22° C a 23°C y una humedad relativa de entre 53% a 60% durante el desarrollo del ciclo de vida.

*Lucilia. eximia* : Su distribución es Neártica y Neotropical. Localizándosele desde el sur de Estados Unidos hasta América del Sur, donde es posiblemente de las especies más comunes de Calliphoridae. Los adultos son de apariencia similar a *Lucilia sericata* y *Lucilia coeruleiviridis*, de color azul metálico brillante o verde a todo azul o púrpura con patas de color negro a marrón oscuro. Las moscas adultas se sienten atraídos por la carroña, estiércol, y frutas en descomposición, con el desarrollo de las larvas en los mismos. Los adultos han sido reportados como los primeros en arribar a la carroña en lugares abiertos, y a sus larvas se les encuentran durante las primeras etapas de descomposición (Byrd J. H. y Castner J. L, 2010).

Durante los meses de septiembre- Octubre el muestreo tuvo como principal especie de interés forense a *Calliphora vicina*, la cual se distribuye por todo el; *C. vicina* es una mosca grande, con un rango de 10 a 14mm de longitud. Su cabeza es de color negro, con la parte inferior de las "mejillas" rojas o amarillas. La epicutícula del tórax es negra o azul o verde oscura (Byrd J. H. y Castner J. L., 2010).

Por último se encontró también la especie *Lucilia sericata* la cual lleva un ciclo de vida muy similar al de *Calliphora vicina*.

Históricamente ha tenido una distribución Holártica, pero ahora tiene un rango casi cosmopolita. Casi en todo el mundo es la especie más común de la familia Calliphoridae, y es la más abundante en las temperaturas de la zona del hemisferio norte. En Norte América, se encuentra en todo Estados Unidos y Canadá, siendo la más común en las regiones del oeste.

Esta mosca es brillante metálica azul- verde, amarillo-verde, verde o dorada-bronce. Su larva puede desarrollarse con éxito debido a la gran variedad de sustratos de alimentos pero la carroña es el más adecuado (Byrd J. H. y Castner J. L., 2010).

**CONCLUSIÓN.**-El orden Díptera es uno de los más importantes en el campo de la investigación forense y la aparición de las diferentes especies va a depender tanto de los factores climáticos que existan en el lugar, así como del tiempo de desarrollo, considerando que en días lluviosos o con temperaturas muy bajas los tiempos de desarrollo pueden ser alterados. Además es necesario generar un calendario estacional dentro de los ciclos de vida de las especies que se encontraron para confirmar que solamente estas especies, de dípteros necrófagos, son las únicas que existen en la región. También es de considerar el conocimiento de los ciclos de vida de las diferentes especies de interés forense para establecer los tiempos en los que aparece una especie para ayudar a determinar el intervalo *Post Mortem*

*Este trabajo es el inicio de una investigación más completa, donde se incluirán estudios histológicos y también acerca de otros organismos necrófagos de importancia forense*

#### **Bibliografía:**

1. Amat E. 2009. Contribución al conocimiento de las *Chrysomyinae* y *Toxotarsinae* (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. Revista Mexicana de Biodiversidad. Vol. 8 n°3, 693-708 pp.
2. Barranco Vega Pablo, (2003), Dípteros de interés agronómico. Agromícidos plaga de cultivos hortícolas intensivos. Bol. S.E.A., n° 33 (2003) : 293 – 307.
3. Byrd J. H. y Castner J. L., 2010 Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Segunda edición University Georgia. Pp.: 681.
4. Castillo-Miralbés. 2001. Artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de la Litera (Huesca). Bol. S.E.A. N°28: 133-140pp.

5. CASTNER JL: General Entomology and Arthropod Biology. en: Forensic Entomology. the Utility of Arthropods in Legal Investigations (L). EDIT. BYRD JH, CASTNER JL. CRC PRESS. LLC. E.U.A.. 2001. PP. 1-17]
6. Catts E.P. and Goff M.L.. 1992. Forensic Entomology in criminal investigations. Annu Rev Entomol. 1992; 37:253-272
7. Akborzadeh K., et al (2012). A modified trap for adult sampling of medically important flies (Insecta Diptera) J.Arthropod-Borne Dis, 2012,6(2):119-128
8. Khoobde M., Akborzadeh K., et al (2013). Diversity and abundance of medically-important flies of the Iranian triple Islands; the Greater Tunb, Lesser Tunb and Abu-Musa. ,Iranian Journal of Military Medicin 2013, 14 (4):327-336
9. Liria Salazar Jonathan. 2006. Insectos de importancia forense en cadáveres de ratas, Carabobo – Venezuela Rev. Perú. Med. Exp. Salud publica v.23 n.1 Lima ene.-mar.
10. Luna L. G. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Mc-Graw Hill. State United of America 5:32-46p.
11. Mariani Roxana, Varela Graciela y Demaría Mariana. Entomología forense. Los insectos y sus aportes a la investigación criminal. División Entomología. Facultad Ciencias Naturales y Museo (UNLP) 18pp Bajado el 26/05/2014 de [http://intercambios.jursoc.unlp.edu.ar/intercambios14/pdfs/aportes\\_producciones/Mariani\\_Varela\\_Demaria.pdf](http://intercambios.jursoc.unlp.edu.ar/intercambios14/pdfs/aportes_producciones/Mariani_Varela_Demaria.pdf).
12. Méndez E. 1999. Insectos y otros artrópodos de importancia médica y veterinaria. Instituto conmemorativo gorgas de estudios de la salud. Panamá: 24 pp.
13. Sakuma C. E. 2005. “Caracterización de entomofauna cadavérica y tiempo de desarrollo larvario de Mecapaca, la Paz”. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Medicina Enfermería, Nutrición y Tecnología Médica. La Paz- Bolivia. 7-8 pp.
14. Vélez, M. C.; Wolff, M. 2008. Rearing five species of Diptera (Calliphoridae) of forensic importance in Colombia in semicontrolled field conditions. Papéis Avulsos de Zoología 48 (6): 41-47.
15. Vergara S., 2012. *Dispersión especial de larvas de Lucila sericata y Calliphora coloradensis* (Diptera: Calliphoridae) en etapa de posta alimentación. Revista Colombiana de Entomología. Vol. 38, N° 1, Pág. 1.
16. Whitworth, T. 2010. Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of the West Indies and description of a new species of *Lucilia robineau*–Desvoidy. *Zootaxa*, 2663: 1–35.

## ANOXIA EN LOS QUIMIORRECEPTORES CAROTÍDEOS Y REGULACIÓN GLUCÉMICA: PARTICIPACIÓN DEL BDNF Y AMPA EN EL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO COMISURAL (NTSc)

Cuéllar Pérez José Ricardo<sup>a</sup>, Montero Cruz Sergio<sup>a,b</sup>, Lemus Vidal Mónica<sup>a</sup>, Pineda Lemus Mónica Cristina<sup>b</sup>, Roces de Álvarez-Buylla Elena<sup>a</sup>,

<sup>a</sup>Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Colima, ric\_boy03@hotmail.com; mlv@uacol.mx; rab@uacol.mx

<sup>b</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Colima, che\_colima\_5@yahoo.com.mx; kan\_di22@hotmail.com

**RESUMEN** El sistema nervioso requiere un suministro constante de glucosa para sostener sus requerimientos energéticos y mantener la homeostasis metabólica. Las diferencias regionales en la utilización de glucosa se deben, principalmente, a cambios en el potencial de reposo neuronal y en la función cognitiva. Aunque los mecanismos que participan en la homeostasis glucémica residen, en parte, en la periferia (quimiorreceptores de los cuerpos carotídeos -QRCC), el SNC juega un papel importante en los efectos contrarregulatorios glucémicos. En las respuestas primarias a la hipoxia y el metabolismo energético participan: el NTSc, primer centro de relevo de la información procedente de los QRCC, las vías glutamatérgicas, y el BDNF, relacionado con el crecimiento, diferenciación y supervivencia neuronales. Este estudio analiza el papel del BDNF en el NTSc, sobre la actividad de los receptores glutamatérgicos AMPA en el reflejo hiperglucemiante con retención de glucosa cerebral (RHRGC), después de estimular los QRCC con cianuro de sodio (NaCN, 5 µg/100g) en el seno carotídeo aislado de la circulación cefálica (SCA). El protocolo consistió en 40 ratas Wistar macho (280-300g), anestesiadas con pentobarbital sódico (3 mg/100 g, i.p.): a) control-líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa-100 nL) en el NTSc 4 min antes del NaCN; b) BDNF (1 ng/100nL LCRa)+AMPA (2 µm/100nL LCRa) en el NTSc 4 min antes del NaCN; c) BDNF+NBQX-antagonista de receptores AMPA(2 mM/100nL LCRa) en el NTSc; d) K252a-inhibidor de receptores TrkB (25 ng/100nL LCRa)+AMPA en el NTSc; y e) K252a+NBQX en el NTSc. En los grupos a, b, c, y e, no hubo cambios en la RHRGC; por el contrario, en el grupo d, el K252a+AMPA inhibió el RHRGC. Se sugiere que el efecto inhibitorio sobre el RHRGC producido por el AMPA está modulado por el BDNF.

\* Agradecimiento: CONACYT CB20121-177047

### 1. INTRODUCCIÓN

El control preciso de la captación y gasto de energía es indispensable para mantener la concentración de glucosa sanguínea dentro de rangos fisiológicos. Las señales hormonales procedentes de la ingesta alimentaria convergen en centros nerviosos para iniciar la regulación del metabolismo energético. Estas señales se originan en los órganos periféricos y llegan al SNC para iniciar respuestas metabólicas que constituyen la clave de la homeostasis de nutrientes (glucosa), de forma autónoma. Una caída en los niveles de glucosa en la sangre periférica o central se detecta por sensores a la glucosa tanto centrales como periféricos, entre ellos los receptores del cuerpo carotídeo (CC) (López-Barneo, 2003; Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1975, 1988). Ante un descenso en las concentraciones de glucosa se activan los sensores mencionados para iniciar una cascada de respuestas contrarregulatorias y elevar la concentración de glucosa en la sangre (Koyama, Coker, Stone, Lacy, Jabbour y col., 2000; Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1988).

El BDNF y su receptor TrkB, ampliamente expresados en el SNC y en el periférico (SNP), participa en el metabolismo energético regulación de la glucosa (Krabbe, Bruunsgaard, Erikstrup, Fischer, Krogh-Madsen y col., 2007; Burkhalter, Fiumelli, Allaman Chatton y Martin, 2003). Así mismo, el BDNF activa vías de señalización, semejantes a las utilizadas por la insulina. Es posible que algunas estructuras cerebrales como el hipotálamo y ciertos núcleos del tallo cerebral como el NTS, modulen el metabolismo de la glucosa en los mamíferos, a través del BDNF (Balkowiec, Kunze y Katz, 2000). Los QRCC, que juegan un papel importante en la regulación glucémica *in vivo* y participan en las respuestas contrarregulatorias a la hipoglucemia (Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1988; Koyama y cols., 2000), expresan también BDNF y otros factores de crecimiento (Erickson, Brosenitsch y Katz, 2001 (CGPN) y de ahí al NTS en el tallo cerebral, que constituye el

portal principal para la entrada de la información aferente relacionada con los sistemas cardiorespiratorio y energético al SNC, y coordina respuestas complejas a través de sus proyecciones a múltiples regiones cerebrales, entre ellas, el hipotálamo, y el núcleo motor dorsal del vago (NMDV). Las neuronas glutamatérgicas del tallo cerebral, participan en diversas funciones homeostáticas que incluyen reflejos cardiovasculares y respiratorios, ingesta alimentaria y estrés. Múltiples neurotransmisores y sus receptores intervienen en la respuesta ventilatoria primaria a la hipoxia, y el glutamato y sus receptores NMDA y no-NMDA intervienen en las sinapsis primarias de las vías de señalización sensorial-visceral en el NTS (Sved y Curtis, 1993). La activación de los QRCC durante la hipoxia aguda desencadena respuestas simpáticas y respiratorias coordinadas, con la participación de AMPA y del BDNF en el NTSc. (Housley y Sinclair, 1988).

## 2. TEORÍA

La glucosa, fuente principal de energía para el SNC (Sokoloff, 1960), tiene sensores fisiológicos importantes en sitios extra-craneales, entre ellos, los quimiorreceptores del cuerpo carotídeo (QRCC), que participan de manera importante en la respuesta contrarregulatoria a una hipoglucemia (Koyama y cols., 2000) e hipoxia agudas (Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1994). Por otro lado, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), a través de su receptor TrkB, se expresa en los QRCC y funciona como una sustancia metabotrópica y participa en el mantenimiento del balance energético (Krabbe y cols., 2007). La activación de los receptores AMPA en el NTSc tiene una función preponderante, en la transmisión sináptica excitatoria en los reflejos cardio-respiratorios para llevar a cabo una simpato-excitación refleja (Lin, 2009). Los estudios de Ohtake, y col. (1998) demuestran que los receptores NMDA no intervienen en la respuesta ventilatoria a la hipoxia en ratas neonatas, y sugieren que los receptores ionotrópicos AMPA son los moduladores principales en la respuesta ventilatoria. En experimentos *in vitro*, se describe que el BDNF en sitios post-sinápticos inhibe la transmisión glutamatérgica (corrientes AMPA) de las aferencias quimiorreceptoras periféricas (Balkowiec y cols., 2000). Este trabajo analiza la participación del glutamato y el BDNF en el NTSc sobre la regulación el RHRGC producido por la estimulación anóxica de los QRCC con NaCN aplicado en el seno carotídeo circulatoriamente aislado *in vivo* (SCA). La participación de estos neurotransmisores en el NTSc sobre la captación de glucosa por el cerebro, contribuirá al conocimiento de los procesos que regulan las fuentes de energía en el SNC. En este trabajo analizamos si el BDNF infundido antes de un agonista o antagonista de los receptores AMPA en el NTSc modifica el reflejo hiperglucémico con retención de glucosa por el cerebro (RHRGC) después de un estímulo anóxico con NaCN.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Animales y procedimientos quirúrgicos. Los experimentos se realizaron en ratas Wistar macho (280-300 g), anestesiadas con pentobarbital sódico (Anestosal, México) (3 mg/100 g i.p.) y tramadol (Temgesic, México) (1 mg/kg i.p.) como analgésico. Los animales se mantuvieron a 37°C, ventilados artificialmente a través de una cánula traqueal. Se colocaron catéteres, en la aorta abdominal (desde la arteria femoral) y en el seno yugular (desde la vena yugular externa derecha) sin interrumpir la circulación en estos vasos (Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1988).

Estimulación de los cuerpos carotídeos. El seno carotídeo izquierdo se aisló temporalmente de la circulación cefálica (SCA), y el nervio del seno carotídeo derecho se seccionó. El SCA se expuso al NaCN (5µg/100 g/100 µL sol sal) durante 15-16 s, hasta su lavado por la arteria lingual (Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1988). El NaCN es un estímulo que induce anoxia anoxémica en los QRCC.

Microinyecciones de fármacos en el NTS. La cabeza de la rata se fijó en el estereotáxico (Stoelting), se expuso la superficie del cerebro para introducir una micropipeta de vidrio, previamente cargada con el fármaco a infundir en el NTSc. Las coordenadas utilizadas a partir de lambda (Paxinos y Watson, 1986) fueron: AP = -5.1 mm, L = -0.1 mm, V = 8.3 mm. Al final de cada experimento se identificó el sitio de inyección con azul de metileno, momento en que las ratas se sacrificaron por decapitación. Se sacaron los cerebros y se congelaron para su sección posterior en un criostato (CM-1800, Leica), a 40 µm.

Fármacos. AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hidroxy-5-metiloxazol-4-ácido propiónico (2 µM/100 nL de sol. sal); BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro (1ng/100 nL de LCRa); K252a (25 ng/100 nL de

DMSO 25%); Líquido cefalorraquídeo artificial [LCRa (NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 100 nL] y NBQX (6-nitro-7-sulfamobenzo[*f*]quinoxalina-2,3-diona), 2 mM/100 nL de LCRa.

**Muestras sanguíneas y mediciones.** Las muestras de sangre se tomaron de los catéteres en la aorta abdominal (arterial) y del seno yugular (venosa). La concentración de glucosa se midió en un glucómetro Accu-check. La retención de glucosa cerebral (RGC) se determinó por la diferencia entre glucosa en la aorta abdominal y en el seno yugular (Álvarez-Buylla y de Álvarez-Buylla, 1988; Eidelberg y cols., 1967).

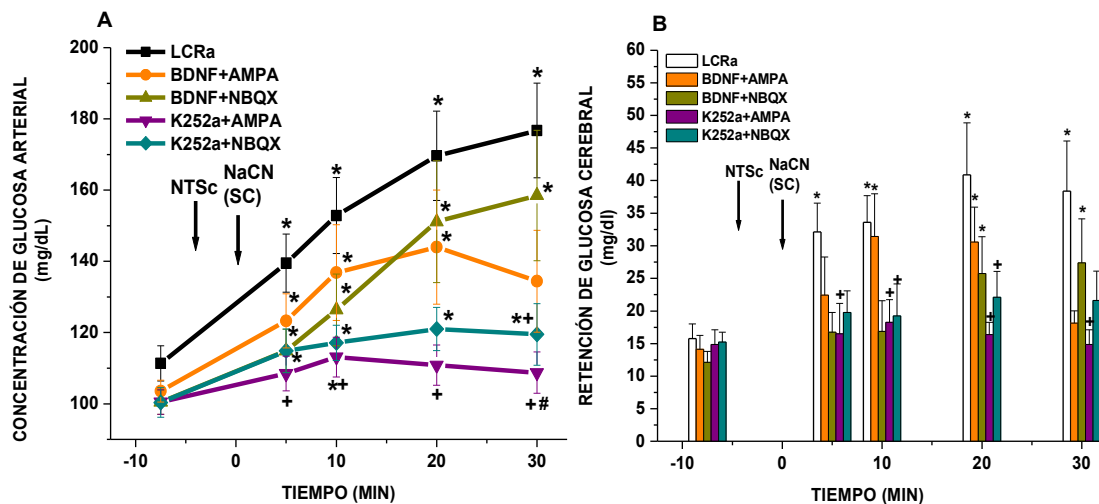
**Análisis estadístico.** Se utilizó la prueba de ANOVA de una vía y la prueba de Scheffé para comparar los datos entre grupos. La significancia se fijó en  $p < 0.05$ .

**Protocolo experimental**

a) **Control** ( $n = 8$ ). Cuantificación de la concentración de glucosa en el plasma de las sangres arterial y venosa, y de la retención de glucosa cerebral en ratas después de una inyección de LCRa (100 nL) en el NTSc 4 min antes de la estimulación de los QRCC con NaCN, inyectado en el seno carotídeo aislado de la circulación SCA; b) **Experimental 1** ( $n = 8$ ). Igual que en el control, pero en este grupo se inyectó BDNF (1 ng/100 nL de LCRa) + AMPA (2  $\mu$ M/100 nL) en el NTSc A 4 y 2 min, respectivamente, antes de la estimulación de los QRCC con NaCN; c) **Experimental 2** ( $n = 8$ ). Igual que en el control, pero en este grupo se inyectó BDNF + NBQX (inhibidor de los receptores AMPA), 2 mM/100 nL) en el NTSc 4 y 2 min antes de la estimulación de los QRCCs con NaCN, respectivamente. d) **Experimental 3** ( $n = 8$ ). Igual que en el control, pero en este grupo se inyectó K252a (25 ng/100 nL de DMSO) + AMPA en el NTSc 4 y 2 min antes de la estimulación de los QRCCs con NaCN, respectivamente. e) **Experimental 4** ( $n = 8$ ). Igual que en el control, pero en este grupo se inyectó K252a + NBQX en el NTSc 4 y 2 min antes de la estimulación de los QRCCs con NaCN, respectivamente.

**Aspectos éticos.** Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con los principios y procedimientos de la Comisión de Bioética del Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas y Facultad de Medicina de la Universidad de Colima

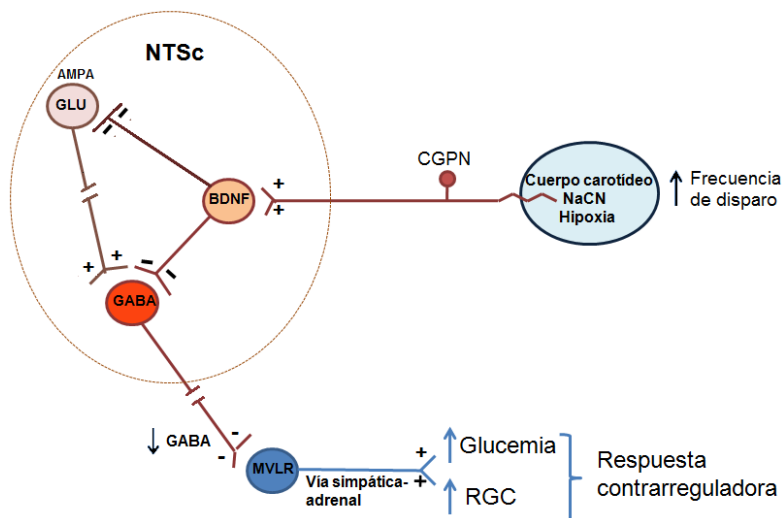
**Resultados.** En las ratas control el LCRa en el NTSc 4 min antes del NaCN, incrementó la concentración de glucosa arterial y la RGC (**Fig. 1A y B**). La microinyección subsecuente de BDNF seguida del agonista o antagonista de los receptores glutamatérgicos a los 4 min, y 2 min antes de la estimulación de los QRCC con NaCN, indujo el RHRGC en forma semejante al grupo control con LCRa. La inyección de K252a+AMPA en el NTSc antes del estímulo con NaCN no indujo RHRGC, mientras que la infusión de K252a+NBQX en el NTSc antes de la estimulación de los QRCC, indujo el RHRGC en forma semejante al grupo control (**Fig. 1A y B**).



**Figura 1. Glucosa arterial retención de glucosa cerebral en respuesta a BDNF.** LCRa (100 nL); BDNF (1 ng/100nL) + AMPA (2  $\mu$ M/100 nL de sol. sal.) ó BDNF + NBQX (2mM/100 nL de LCRa); ó K252a (25 ng/100 nL DMSO 5%) + AMPA; ó K252a + NBQX en el NTSc. \* $p < 0.05$  vs. su propia basal, + $p < 0.05$  vs. el grupo LCRa (ANOVA una vía), # $p < 0.05$  vs. el grupo BDNF+NBQX (ANOVA una vía)

#### 4. CONCLUSIONES

El BDNF en el NTS eleva la actividad simpática, que se bloquea por el K252a, o por inmunoneutralización del BDNF endógeno (Clark y cols., 2011). En este estudio, el BDNF en el NTSc aumentó el RHRGC post-estimulación anóxica de los QRCC, por inhibición de los receptores AMPA, en neuronas GABA del NTSc (Lemus y cols., 2008). El bloqueo de la inhibición GABA en el MVLR, incrementa el flujo simpático adrenal (Braga y cols., 2007) e induce, el RHRGC (Fig. 2).



**Figura 2. Modelo hipotético de la relación entre el NTSc y los neurotransmisores adyacentes para ajustar las respuestas contrarreguladoras**

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarez-Buylla R y Alvarez-Buylla E. (1988). Carotid sinus receptors participate in glucose homeostasis. *Respiratory Physiology*. 72:347-360.
2. Alvarez-Buylla R y Alvarez-Buylla E. (1994). Changes in blood glucose concentration in the carotid body-sinus modify brain glucose retention. *Brain Research*. 654:167-170.
3. Alvarez-Buylla R, de Alvarez-Buylla E, Mendoza H, Montero S y Álvarez-Buylla A. (1997). Pituitary and adrenals are required for hyperglycemic reflex initiated by stimulation of CBR with cyanide. *American Journal of Physiology*. 272:R392-R399.
4. Balkowiec A, Kunze D y Katz D. (2000). Brain-derived neurotrophic factor acutely inhibits AMPA-mediated currents in developing sensory relay neurons. *The Journal of Neuroscience*. 20:1904-1911.
5. Braga VA y Machado BH. (2006). Chemoreflex sympathoexcitation was not altered by the antagonism of glutamate receptors in the commissural nucleus tractus solitarii in the working heart-brainstem preparation of rats. *Experimental Physiology*. 91:551-559.
6. Burkhalter J, Fiumelli H, Allaman I, Chatton J y Martin J. (2003). Brain-derived neurotrophic factor stimulates energy metabolism in developing cortical neurons. *The Journal of Neuroscience*. 23:8212-8220.
7. Clark CG, Hasser EM, Kunze DL, Katz DM y Kline DD. (2011). Endogenous brain-derived neurotrophic factor in the nucleus tractus solitarius tonically regulates synaptic and autonomic function. *The Journal of Neuroscience*. 31:12318-12329.
8. Eidelberg E, Fishman J, Hams ML. (1967). Penetration of sugar across the blood-brain barrier. *Journal of Physiology*, 191:47-57
9. Housley GD y Sinclair JD. (1988). Localization by kainic acid lesions of neurones transmitting the carotid chemoreceptor stimulus for respiration in rat. *Journal of Physiology*. 406:99-114.
10. Koyama Y, Coker R, Stone E, Lacy D, Jabbour K, Williams P y Wasserman D. (2000). Evidence that carotid bodies play an important role in glucoregulation *in vivo*. *Diabetes*. 49:1434-1442.
11. Krabbe KS, Bruunsgaard H, Erikstrup C, Fischer CP, Krogh-Madsen R, Lindegaard B, Nielsen AR, Pedersen BK, Petersen AMW, Pilegaard H, Plomgaard P, Rasmussen P,

- Secher NH y Taudorf S. (2007). Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and Type 2 Diabetes. *Diabetologia*. 50:431-438.
12. Lemus M, Montero SA, Cadenas JL, Lara JJ, Tejeda-Chavez HR, Álvarez-Buylla R y de Álvarez-Buylla ER. (2008). GabaB receptors activation in the NTS blocks the glycemic responses induced by carotid body receptor stimulation. *Autonomic Neuroscience*. 141:73-82.
  13. Lin L. (2009). Glutamatergic neurons say NO in the nucleus tractus solitarii. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 38:154-165.
  14. Ohtake PJ, Torres JE, Gozal YM, Graff GR y Gozal D. (1985). NMDA receptors mediate peripheral chemoreceptor afferent input in the conscious rat. *Journal of Applied Physiology*. 84:853-61.
  15. Paxinos, G. y Watson, C. (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, New York.
  16. Sokoloff L. (1960). Quantitative measurements of cerebral blood flow in man. *Methods in Medical Research*. 8:253-261.
  17. Sved AF y Curtis JT. (1993). Amino acid neurotransmitters in nucleus tractus solitarii: an in vivo microdialysis study. *Journal of Neurochemistry*. 61:2089-98



## MÉTODOS SUAVES DE MONOBROMACIÓN REGIOSELECTIVA

Hernández Fuentes Carlos Felipe<sup>a</sup>, Molina Maldonado Paulina<sup>a</sup>, Ruíz Guerrero María del Rosario<sup>a</sup>,  
Mendoza Hernández Fabian<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>Centro de Investigación e Innovación Tecnológica-Instituto Politécnico Nacional.  
charlos\_552@hotmail.com

<sup>b</sup>Cicata-Legaria, IPN.

### RESUMEN

Se compararon diferentes métodos suaves para la monobromación regioselectiva del anillo aromático 2 -terc- butilfenol, métodos que incluyen dos nuevas vías de bromación no reportados. Se discute la importancia de las diversas fuentes de bromo así como los disolventes utilizados. Los resultados permiten la selección de técnicas alternativas para la monobromación de anillos aromáticos.

### INTRODUCCIÓN

Los productos monohalogenados son de gran importancia en síntesis química y en la industria farmacéutica al ser precursores de numerosas reacciones químicas, en especial el bromo posee ciertas ventajas respecto a otros halógenos por ser un buen agente saliente.

La necesidad de encontrar métodos alternos al clásico para obtener productos monobromados, se debe a los riesgos que genera utilizar el bromo elemental, nocivo para la salud y el medio ambiente, además de la dificultad de obtener exitosamente productos monobromados en una determinada posición.

Como estándar para realizar la monobromación de compuestos aromáticos se emplea 2-terbutilfenol como sustrato, donde se evalúan diversos métodos, algunos reportados e innovaciones a estos, para realizar la bromación en la posición *para*- del anillo.

### PARTE EXPERIMENTAL

En la etapa de experimentación se desarrollaron distintos métodos de bromación, algunos son controles de experimentaciones tomados de literatura y otros son innovaciones a los métodos tradicionales. En todas las reacciones se evaluaron tiempos, reactivos y rendimientos, con el fin de analizar el comportamiento de cada una de ellas y obtener así el método que mejor resultado arroje.

Las reacciones llevadas a cabo para evaluar los diferentes sistemas catalíticos para la monobromación 2 -terc- butilfenol se resumen en la Tabla 1.

Método	Fuente de bromo	Disolvente	Condiciones de reacción	Tiempo	Rendimiento (%)
1	AlBr <sub>3</sub>	Et <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub> (5 mol%)/O <sub>2</sub> / reflujo	40 h	<10

2	AlBr <sub>3</sub>	Et <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub> (5 mol%)/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (200% mol) /H <sub>2</sub> O/reflujo	10 min	99
3	TBAlBr <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub>	Temperature ambiente	5 min	95
4	TBAlBr <sub>3</sub>	Et <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub> (5 mol%)/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (200% mol) /H <sub>2</sub> O/reflujo	5 min	99
5	TBAlBr	CHCl <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub> (5 mol%)/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (200% mol) /H <sub>2</sub> O/reflujo	12 h	50
6	KBr	Et <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub> (5 mol%) / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (200% mol) /H <sub>2</sub> O/HClO <sub>4</sub> /reflujo	60 min	40

Table 1. Reacciones de Bromación de 2-*terc*-butilfenol a diversas condiciones.

Metodo 1:

Para la preparación del compuesto aromático monobromado selectivamente, fueron necesarios 16.68 mmol de 2-*terc*-butilfenol (Sigma Aldrich, 99% pureza), mezclados con 5% mol de metavanadato de amonio (Sigma Aldrich, ≥99%) y 100% mol de tribromuro de aluminio (Sigma Aldrich, ≥98%) disueltos en 26.41 ml de dietil éter, la reacción se llevo a cabo en un matraz de tres bocas y con una fuente continua de oxígeno molecular a temperatura ambiente. La reacción se llevó a cabo durante 18 horas con un rendimiento menor al 10%.

Metodo 2:

16.68 mmol de 2-*terc*-butilfenol (Sigma Aldrich, 99% pureza), se mezclaron con 5% mol de NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, ≥99%) y 110% mol de AlBr<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, ≥98%) en 40 ml de dietil éter (Sigma Aldrich, 99.9%) y 200 % mol de peróxido de hidrogeno a temperatura ambiente y con recirculación (se obtiene 99% de rendimiento). La reacción se llevó a cabo durante 15 minutos.

Metodo 3:

16.68 mmol de 2-*terc*-butilfenol se disociaron en 10 ml de cloroformo (Sigma Aldrich, 99% pureza). Una solución en agitación de 2 mmol de TBAlBr<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, 98% pureza) en 10 ml de cloroformo se añadió rápidamente a temperatura ambiente. La mezcla, de color naranja, se tornó rápidamente en incolora. Se añadieron 20 ml de una solución acuosa de tiosulfato de sodio (Sigma Aldrich, 98% pureza) al 5% con agitación continua. La fase orgánica se decantó, se lavó con agua hasta un pH 7, y se evaporó a continuación. El aceite remanente se recogió en una mezcla de agua y éter. Después de la decantación, la fase etérea se secó y se evaporó el éter.

Metodo 4:

16.68 mmol de 2-*terc*-butilfenol (Sigma Aldrich, 99% pureza), se mezclaron con 5% mol de NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, ≥99%) y 100% mol de TBAlBr<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, ≥98%) en 40 ml de dietil éter (Sigma Aldrich, 99.9%) y 200 % mol de peróxido de hidrógeno a temperatura ambiente y con recirculación (se obtiene 99% de rendimiento). La reacción se llevó a cabo durante 60 minutos.

Metodo 5

16.68 mmol de 2-*terc*-butilfenol (Sigma Aldrich, 99% pureza), se mezclaron con 5% mol de NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, ≥99%) y 100% mol de TBAlBr (Sigma Aldrich, ≥98%) en 40 ml de dietil éter (Sigma Aldrich, 99.9%) y 200 % mol de peróxido de hidrógeno a temperatura ambiente y con recirculación (se obtiene 99% de rendimiento). La reacción se llevó a cabo durante 15 minutos,

Metodo 6:

En un matraz de 3 bocas se mezclaron 16.68 mmol de 2-*terc*-butilfenol (Sigma Aldrich, 99% pureza) con 5% mol de NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> disuelto en (Sigma Aldrich, ≥99%) y 500% mol de KBr (Sigma

Aldrich,  $\geq 98\%$ ) en 13 ml de dietil éter (Sigma Aldrich, 99.9%) y 200 % mol de peróxido de hidrogeno a temperatura ambiente y con recirculación (se obtiene 99% de rendimiento). La reacción se llevó a cabo durante 1 hora.

## CONCLUSIONES

La purificación del producto, por cada uno de los métodos, se realizó por cromatografía de columna y se verificó la pureza de los productos por iR y RMN. De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo es factible sintetizar productos fenólicos *para*-bromados empleando fuentes de bromo menos tóxicas y condiciones diferentes a las tradicionales con rendimientos de hasta un 99%.

De las variantes realizadas, al corroborar la presencia del producto *para*-monobromado mediante el uso de técnicas espectroscópicas de análisis, las que mejor resultado presentan son las reacciones que utilizan  $\text{AlBr}_3$  como fuente de bromo en éter etílico, empleando V(V) como catalizador, así mismo una reacción adicional con buenos resultados, es el emplear  $\text{TBABr}_3$  disuelto en cloroformo, como fuente de bromo.

Los sistemas de reacción en los que se utilizó tribromuro de aluminio ( $\text{AlBr}_3$ ) y tribromuro de tetrabutilamonio ( $\text{TBABr}_3$ ), ambos compuestos tribromados, generan mayores eficiencias a los sistemas que emplean productos monobromados, esto se debe a la facilidad de las sales tribromadas para formar  $\text{Br}_2$ . El medio catalítico es de gran importancia al generar un ion  $\text{Br}_2$  que produce eficientemente las reacciones de bromación.

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 los métodos de bromación regioselectiva, es mejor un medio no polar, lo cual genera atracciones y genera que las moléculas entren en contacto.

La adición de peróxido de hidrógeno como fuente de oxígeno es más eficiente en comparación con el uso de oxígeno molecular.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Berthelot, J., Guette, C. "Bromation régiosélective en série aromatique. I: Monobromation en position *para* de phénols et d'amines aromatiques par le tribromure de tétrabutylammonium". (Canadian Journal of Chemistry, 1989) 2061-2066.
2. Butler, A., & Walker, J. V. Marine. "Haloperoxidases". Chemical Reviews, 1991, 93, 1937-1944.
3. Das, B., Venkateswarlu, K., Majhi, A., Siddaiah, V., & Ravinder, K. "A facile nuclear bromination of phenols and anilines using NBS in the presence of ammonium acetate as a catalyst. Journal of Molecular Catalysis A" (Chemical, 2007)267, 30-33.
4. Diederich, F., & de Meijere, A. "Chapter 6. Cross-Coupling Reactions to sp Carbon Atoms. In K. Sonogashira, Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions" (Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co., 2008.) 217-315.

5. Kikushima, K., Moriuchi, T., & Hirao, T. "Vanadium-catalyzed oxidative bromination promoted by Bronsted acid or Lewis acid." (*Tetrahedron*, 2010) 66, 6906-6911.
6. Nicolau, K. C. "The Battle of Calicheamicin". (*Angewandte Chemie International Edition in English*, 1993) 32, 1377-1385.
7. Park, M. Y., Yang, S. G., V., J., & Kim, Y. H. "Practical and regioselective brominations of aromatic compounds using tetrabutylammonium peroxydisulfate". (*Tetrahedron Letters*, 2004) 45, 4887-4890.
8. Roche, D., Prasad, K., Repic, O., & Blacklock, T. J. "Mild and regioselective oxidative bromination of anilines using potassium bromide and sodium perborate". (*Tetrahedron Letters*, 2000) 41, 2083-2085.

## Germinación y morfología de las semillas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* (Cactaceae)

<sup>1</sup> Ada Magdiel de Guadalupe Espinosa-Rojas., <sup>2</sup>Sofia Loza-Cornejo.

<sup>1</sup>adamagdel\_29@hotmail.com , <sup>2</sup>sofialo@culagos.udg.mx

Centro Universitarios de los Lagos, UDG

### RESUMEN

*Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* es una cactácea globosa que se distribuye en el municipio de Lagos de Moreno Jalisco, sus poblaciones han ido disminuyendo a causa de diversos factores, por ello en la presente investigación se llevó a cabo el estudio de la morfología de las semillas y su respuesta germinativa con el objetivo de proporcionar información sobre la biología y fisiología de la germinación de dicha especie. Los resultados demostraron que el proceso de germinación ocurre relativamente rápido ya que al cuarto día del experimento se rompe el estado de latencia de la semilla y se presenta la ruptura de la testa y emergencia de la radícula. En el crecimiento inicial de la plántula (15 días de edad) ocurrieron cambios notables como el crecimiento de raíces y cambio de coloración en el hipocótilo (verde con tintes rosados), presencia de cotiledones distinguibles con uso de un esteomicroscopio. Las plántulas mostraron 100% de sobrevivencia y crecimiento bajo condiciones de invernadero. Se concluye sobre la eficiencia de respuesta germinativa de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* y crecimiento favorable de plántulas sin la utilización de reguladores de crecimiento u otro tratamiento químico.

### 1. INTRODUCCIÓN

La germinación es un proceso mediante el cual una semilla pasa del estado de latencia a un estado de actividad, es decir, el germen contenido en una semilla adquiere los nutrientes necesarios y se encuentra en condiciones óptimas (temperatura, humedad y luz) para cambiar su morfología y desarrollarse en una planta, iniciándose con la aparición de la radícula a través de la testa, el periodo en el que este proceso da inicio difiere del tipo de planta y del periodo de almacenamiento de la semilla una vez extraída del fruto. La semilla es el órgano fundamental para la reproducción de la mayor parte de las plantas, tiene la capacidad de respuesta germinativa rápida o sobrevivir por largo tiempo en almacenamiento. Contribuye a la propagación, conservación y/o preservación de especies valiosas o en alguna categoría de riesgo (Larrea-Alcázar y López, 2008). Los cambios morfológicos de la semilla (color, tamaño y peso) durante el proceso de germinación varían de acuerdo a la especie de planta y de las condiciones ambientales las cuales afectan directamente el estado de latencia de la semilla, este estado de latencia es de suma importancia en algunas especies para completar su madurez debido a que dentro del fruto no logran llevar a cabo los cambios químicos necesarios para su maduración. Algunas de las semillas poco analizadas pertenecen a la familia de las cactáceas, las especies de Cactaceae tienen como característica principal su adaptación a ecosistemas representativos de zonas áridas ya que no requieren de agua para su supervivencia, se caracterizan por ser suculentas y presencia de espinas en lugar de hojas, poseen flores y frutos de diversos colores y tamaños, así como también sus semillas poseen rasgos morfológicos distintivos de cada especie. El proceso de germinación en semillas de cactáceas se ha llevado a cabo en semillas de la especie *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* cactácea con tallo globoso que se distribuye en el municipio de Lagos de Moreno Jalisco (Figura 1) (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada,1991; Arreola-Nava 1996;

Guzmán y col., 2003), con el fin de aportar información útil a la biología de las especies de esta familia.



**Figura 1.** *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma*

## 2. TEORÍA

Debido a la escasa información y estudios realizados a semillas de algunas especies de cactáceas, esta investigación se basa en el estudio de la germinación de semillas y crecimiento inicial de plántulas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* cuyas poblaciones han disminuido drásticamente. Por lo anterior, se pretende contribuir al conocimiento de la biología (germinación y crecimiento temprano de plántulas) de dicha especie, mediante el análisis de la capacidad germinativa de las semillas y la viabilidad del embrión para desarrollarse en una plántula, sin la adición o tratamiento pre germinativo de la semilla.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó la recolecta de frutos de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* en sus áreas de distribución en Jalisco, México. Las semillas obtenidas de los frutos fueron previamente desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio (cloro comercial al 10%) se lavaron con varios cambios de agua destilada y se sembraron en cajas de petri estériles con papel filtro y agua destilada (Figura 2) se sellaron las cajas de petri con parafilm para evitar la deshidratación y contaminación (Amador-Alfárez y col., 2013). Se llevó a cabo un registro diario de porcentaje de germinación bajo condiciones de laboratorio.



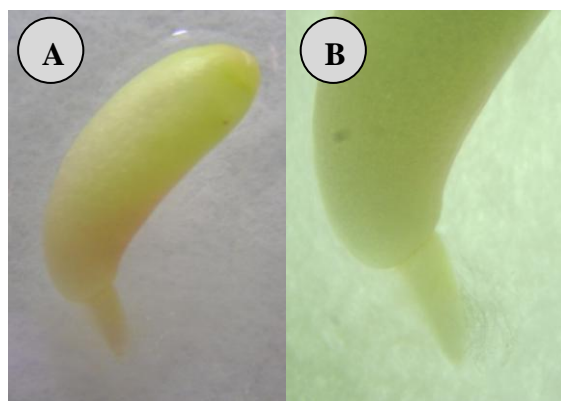
**Figura 2.** Semillas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *Bumamma*. Semillas germinadas después de cuatro días de inicio del experimento.

Al cabo de cuatro días se observaron las primeras semillas germinadas apreciándose la radícula con el rompimiento de la testa, el aumento en tamaño de la raíz primaria y la formación de las raíces secundarias, representando el 27.2% de semillas germinadas, así como también la formación casi indistinguible de los cotiledones (Figura 3).



**Figura 3.** Semillas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma*. Desarrollo de la plántula una vez iniciada la germinación, se aprecia la formación de numerosas raíces secundarias a partir de la radícula.

Luego de 15 días de edad se observó los diversos cambios morfológicos como son: la forma cilíndrica de la plántula, el alargamiento de las raíces secundarias y la formación de los cotiledones en el ápice de la plántula únicamente distinguibles con el estereomicroscópio. A esta edad las plántulas adquieren un color rosa en la base del hipocótilo la cual va desapareciendo conforme aumenta la edad y tamaño (Figuras 4 y 5).



**Figura 4.** Plántulas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma*. (A) Coloración rosada en la base de la plántula; (B) Raíces secundarias en crecimiento.



**Figura 5.** Plántulas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma*. Desarrollo y crecimiento de la raíz durante la germinación, se muestra el aumento en número y longitud de las raíces.

coloración verde y cotiledones casi indistinguibles a simple vista en el primer mes de crecimiento (Figura 6) y a los ocho meses presentan espinas cortas, semirrígidas, color blanquecino. La parte aérea de la plántula tiene una coloración verde con ligeros tintes rojizos cerca de la base del hipocótilo, presenta una raíz principal gruesa y múltiples raíces secundarias blanquecinas. El desarrollo y crecimiento en longitud de las raíces continúa hasta que las plántulas cumplen ocho meses de edad, aumenta la rigidez de las espinas. La plántula completa tiene una altura promedio de 29.85 mm de longitud a los ocho meses de edad.



**Figura 6.** Plántulas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma*. (A) Primeros tubérculos formados a la edad de un mes. (B) Plántulas de *Coryphantha elephantidens* subsp. *bumamma* trasplantadas.

#### 4. CONCLUSIONES

Se concluye sobre la importancia de contribuir al conocimiento de la respuesta germinativa y crecimiento inicial de las plántulas de *C. elephantidens* subsp. *bumamma* con la finalidad de entender los factores que pudieran afectar su crecimiento en condiciones de campo, para un mejor aprovechamiento y conservación de la especie.



## BIBLIOGRAFÍA

1. H.J. Arreola-Nava. "Contribución al conocimiento de las cactáceas de los municipios de Lagos de Moreno y Ojuelos de Jalisco, México". Tesis de Licenciatura, UNAM, 1996, pp. 151.
2. H. Bravo-Hollis y H. Sánchez-Mejorada. "Las cactáceas de México" Vol. 3, 2da. ed. UNAM, México 1991.
3. U. Guzmán; S. Arias; P. Dávila; "Catálogo de cactáceas" mexicanas UNAM, CONABIO, 2003. México, D.F.
4. D.M. Larrea-Alcázar y R.P. López. "Germinación de semillas de *Corryocactus melanotrichus* (K. Schum.) Britton & Rose (Cactaceae): "un cactus columnar endémico de los Andes Bolivianos". Ecol. Boliv. Vol. 43, 2008, pp.1335-140.
5. K.A. Amador-Alfárez, J. Díaz-González, S. Loza-Cornejo, E.Y. Bivián-Castro. "Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae)" Polibotánica. Núm. 35, 2013, pp.109-131

# FORMACIÓN DE ARREGLOS MOLECULARES EN EL ESTADO SÓLIDO DEL HETEROCICLOS DERIVADOS DEL BENCIMIDAZOL

Itzia Irene Padilla Martínez, Alejandro Cruz, Efrén Venancio García Báez.

Departamento de Ciencias Básicas-Química, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN. ipadillamar@ipn.mx, efren1003@yahoo.com.mx, alcralmx@yahoo.com.mx

## RESUMEN

El proceso por el cual se forma un montaje supramolecular se conoce como autoensamblaje molecular. Se ha tratado de distinguir el proceso de autoensamblaje como el medio en el cual cada molécula forma un conjunto definido, la autoorganización entonces es el proceso mediante el cual estos conjuntos crean estructuras de un orden superior, esto puede llegar a ser útil cuando se trata de cristales líquidos.

En este trabajo de investigación, en nuestra molécula de interés, se observa que cristaliza en un sistema monoclinico C con grupo espacial C2/c con dos moléculas independientes definidas en la unidad asimétrica, todas las distancias C-C de sistema aromático y C-N del sistema bencimidazol caen en el rango de sistema similares ya reportados, lo interesante de la estructura supramolecular es que las dos moléculas forman sistemas helicoidales desfasados que se van propagando a lo largo del eje cristalográfico a. Las interacciones causantes de este arreglo supramolecular son las interacciones C-H... $\pi$  y C-H...O(grupo nitro) entre dos moléculas de bencimidazol, también existen interacciones paralelas de los grupo nitro con la densidad  $\pi$  de los anillos de benceno.

## 1. INTRODUCCION

La molécula de bencimidazol es un importante núcleo heterocíclico que se ha utilizado extensivamente en química medicinal. Muchos compuestos que contienen benzimidazol han encontrado aplicaciones comerciales como agentes inhibidores antihelmínticos. Por otra parte, los benzimidazoles puede actuar como ligantes para formar complejos con metales de transición para ser usados como el modelado de sistemas biológicos<sup>1</sup> y pueden ser usados como dispositivos orgánicos emisores de luz<sup>1</sup>. Los complejos de iridio con ligantes 2-fenil-bencimidazol son excelente materiales para la fosforescencia<sup>2</sup>. Recientemente hemos modificado 2-fenil-bencimidazol con grupos multifuncionales de nos aseguren el mejoramiento del transporte de carga de en complejos de iridio 2-fenil-bencimidazol-ciclometalados<sup>2</sup>.

## 2. TEORÍA

Un material cristalino es aquel en el que los átomos se estructuran en redes basadas en la repetición tridimensional de sus componentes. La estructura repetitiva se denomina **celda unitaria**. Los cristales se clasifican según las propiedades de simetría de la celda unitaria. Estas propiedades de simetría también se manifiestan en ocasiones en simetrías macroscópicas de los cristales, como formas geométricas o planos de fractura. El estudio de la cristalografía requiere un cierto conocimiento del **grupo de simetría**. 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.

Por lo general son fuerzas débiles pero, al ser muy numerosas, su contribución es importante. La figura inferior resume los diversos tipos de fuerzas intermoleculares. Pincha en los recuadros para saber más sobre ellas<sup>3</sup>.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Para el compuesto de estudio se seleccionó un cristal adecuado a partir del líquido madre y fue montado en una fibra de vidrio utilizando el método de la gota de aceite. Los datos de difracción se obtuvieron en un difractómetro Nonius Kappa CCD (radiación MoK $\alpha$  grafito monocromado). Las estructuras se resolvieron por métodos directos. Los programas , SAINT, SHELXS-97 y SHELXL-97 se utilizaron para la reducción de datos, resolución y refinamiento de la estructura, respectivamente. Refinamiento de F<sup>2</sup> se realizó empleando todas las reflexiones. Todos los átomos distintos de hidrógeno se refinaron anisotrópicamente: Todos los átomos de H se introdujeron en posiciones calculadas y se refinaron con geometría fija con respecto a sus átomos de enlace. El bencimidazol de interés cristaliza en un sistema monoclinico C con grupo espacial C2/c con dos moléculas independientes definidas en la unidad asimétrica, tal y como se observa en la figura 1.

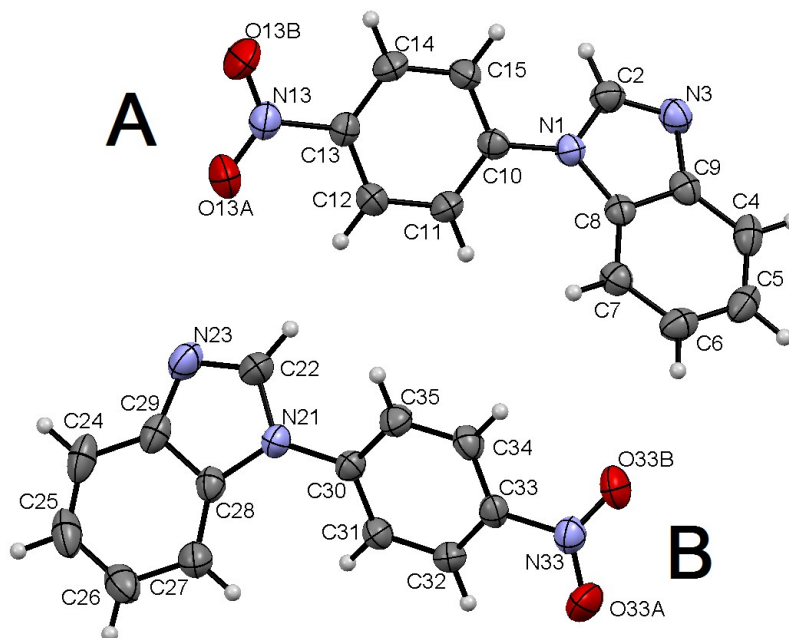
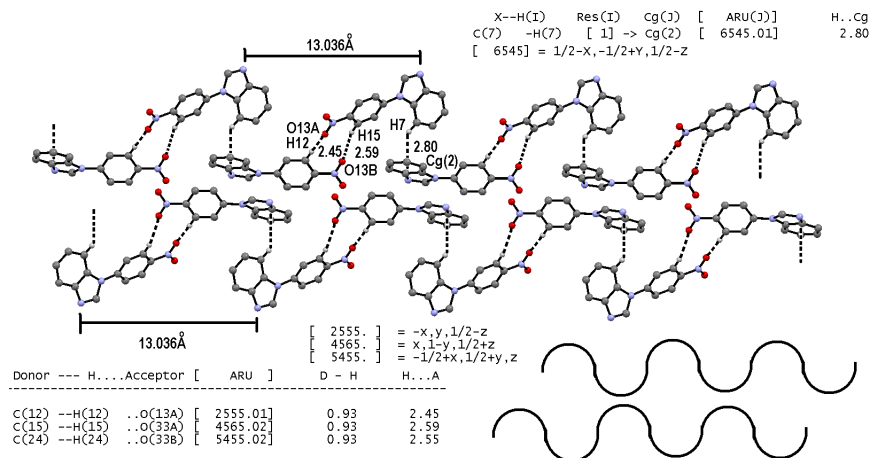


Figura 1. Diagrama Ortep del bencimidazol de interes, mostrando dos moléculas independientes(A/B).

En base a la estructura cristalográfica refinada, se observa que todas las distancias C-C de sistema aromático y C-N del sistema bencimidazol de las dos moléculas independientes están en concordancia con distancias de ejemplos ya reportados en la literatura, lo interesante de la estructura supramolecular es moléculas A forman sistemas helicoidales desfasados que se van propagando a lo largo del eje cristalográfico *a*, figura 2.

Este arreglo se debe a las interacciones intermoleculares del tipo C-H...O, entre el anillo aromático del bencimidazol y el grupo nitro. Estas interacciones se refuerzan por interacciones intermoleculares C-H... $\pi$ .

Las interacciones causantes de este arreglo supramolecular son las interacciones C-H... $\pi$  y C-H...O(grupo nitro) entre dos moléculas de bencimidazol, también existen interacciones paralelas de los grupo nitro con la densidad  $\pi$  de los anillos de benceno, Figura 2.



También en la figura 2 se observa que la unidad de repetición de la hélice que se observa es de 13,03 A.

En la figura 4 se observa que estas hélices se unen a través de interacciones C-H...O con la molécula B para completar la segunda dimensión del arreglo supramolecular.

Donor	H...	Acceptor	[ ARU ]	D - H	H...A	D...A	D - H...A
C(12)	--H(12)	..O(13A)	-x, y, 1/2-z	0.93	2.45	3.350(4)	164
C(15)	--H(15)	..O(33A)	x, 1-y, 1/2+z	0.93	2.59	3.515(4)	173
C(24)	--H(24)	..O(33B)	-1/2+x, 1/2+y, z	0.93	2.55	3.375(4)	149

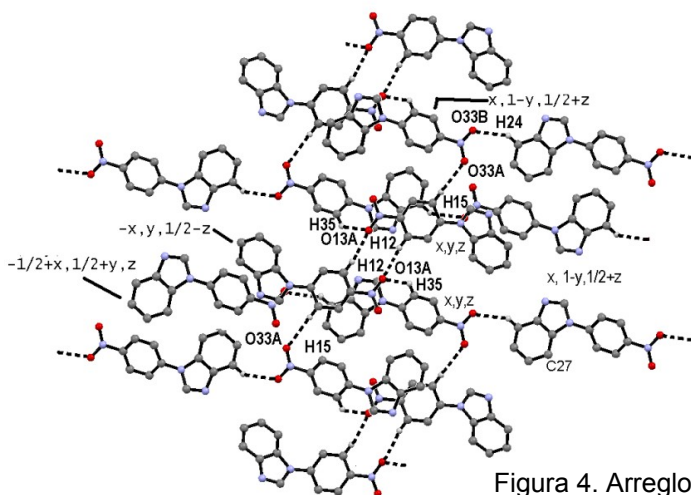


Figura 4. Arreglo supramolecular

Las interacciones intermoleculares Cg...Cg entre los anillos aromáticos de benceno y los anillos del ciclo de imidazol con anillo aromático de benceno también son importantes para mantener el arreglo cristalino del sólido. Como se muestra en la figura 5, estas interacciones se propagan a lo largo del eje b. Otra interacción importante es la interacción de los oxígenos del grupo nitro con el anillo de imidazol.

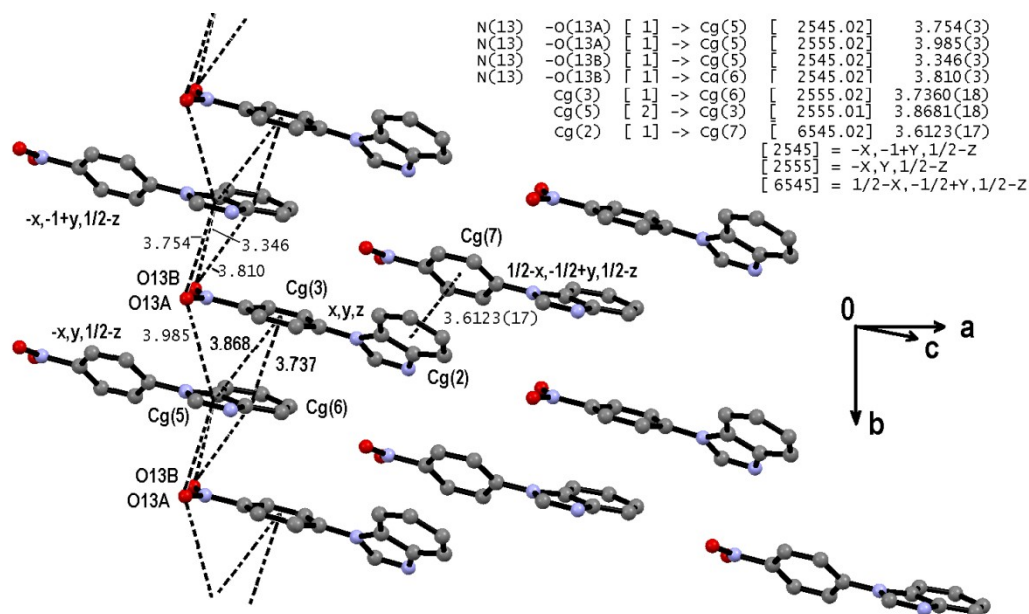


Figura 5. Interacciones intermoleculares  $\pi \cdots \pi$

#### 4. CONCLUSIONES:

El estudio de las interacciones intermoleculares en la red cristalina son importante para mantener el arreglo supramolecular del bencimidazol estudiado, las cuales son del tipo C-H $\cdots$  $\pi$ , C-H $\cdots$ O, C- $\pi \cdots \pi$ ,  $\pi \cdots \pi$ ,  $\pi \cdots$ O, Tambien observamos que las molculas del tipo A searreglan para formar una especie helicoidal, la cual se unen a otras a traves de las molculas de tipo B.

#### BIBLIOGRAFIA:

1. J. E. González-Padilla, M. C. Rosales-Hernández, I. I. Padilla-Martínez, E. V. García-Báez, S. Rojas-Lima and V. Salazar-Pereda *Acta Cryst.* (2014). C70, 55-59.
2. M. Hernández-Juárez, V. Salazar-Pereda, I. I. Padilla-Martínez and E. V. García-Báez *Acta Cryst.* (2012). C68, m367-m369.
3. <http://www.xtal.iqfr.csic.es/Cristalografia/>

## DEGRADACIÓN DE COLORANTES TIPO AZO EMPLEANDO NANOPARTÍCULAS DE TiO<sub>2</sub> EN UN REACTOR TUBULAR

José de Jesús Ibarra Sánchez<sup>a</sup>, Rosalba Fuentes Ramírez<sup>a</sup>, José Antonio Reyes Aguilera<sup>b</sup>, Noé Missael González Mena<sup>c</sup>, Daniel Delgado Anda<sup>c</sup>, Carlos Eduardo Molina Guerrero<sup>b</sup> y María Guadalupe De la Rosa Álvarez<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Ingeniería Química, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Gto., Gto. [chuy\\_lindo3@hotmail.com](mailto:chuy_lindo3@hotmail.com), [rosalba@ugto.mx](mailto:rosalba@ugto.mx)

<sup>b</sup>Departamento de Ingenierías Química, Electrónica y Biomédica, Campus León, División de Ciencias e Ingenierías, Universidad de Guanajuato, León, Gto., [jareyes@fisica.ugto.mx](mailto:jareyes@fisica.ugto.mx), [cmolina@fisica.ugto.mx](mailto:cmolina@fisica.ugto.mx), [gdelarosa@fisica.ugto.mx](mailto:gdelarosa@fisica.ugto.mx)

<sup>c</sup>Universidad Iberoamericana, Campus León, León, Gto., [dan\\_anda@hotmail.com](mailto:dan_anda@hotmail.com), [noe\\_glez\\_9@hotmail.com](mailto:noe_glez_9@hotmail.com)

### RESUMEN

En el presente trabajo, se estudió la degradación fotocatalítica de colorantes tipo azo y contaminantes de agua residual de tenerías en presencia de luz ultravioleta, empleando como catalizadores nanopartículas (NPs) de TiO<sub>2</sub>. El estudio se centró en optimizar la degradación del colorante azul de metileno, empleando un diseño de experimentos 2<sup>k</sup> con dos niveles asistido por Minitab 16®. Ésta fotodegradación se llevó a cabo en un reactor tubular de 500 mL, donde los parámetros que se optimizaron fueron la concentración de las NPs y el tamaño de partícula, manteniendo fija la concentración de colorante, así como el tiempo de residencia en el reactor. La degradación del colorante se monitoreó a partir de los espectros de UV-vis. Finalmente, los datos de absorbancia en función del tiempo obtenidos se ajustaron a un modelo cinético de orden n, usando el método estocástico de evolución diferencial, para determinar el orden de reacción, y la constante de velocidad de reacción. Por último se determinó la eficiencia de degradación en cada corrida. Los resultados muestran que las condiciones ideales para degradar éste colorante, es a partir de concentraciones de 500 ppm de NPs usando un tamaño de partícula de 300 nm.

### 1. INTRODUCCIÓN

Dentro de los compuestos xenobióticos, los colorantes de tipo azo son de importancia debido a que son ampliamente utilizados en diferentes tipos de industrias, como la textil. Durante los procesos de teñido, se desechan ciertas cantidades de colorantes que son vertidos en las aguas residuales. La presencia de colorantes en el agua no solamente es un problema estético, sino que además interfieren en el proceso fotosintético que realizan algunos organismos [1].

Por otro lado, los efluentes de la industria textil presentan un gran potencial de impacto sobre el medio ambiente, debido a los grandes volúmenes de agua residual generados con un alto contenido de materia orgánica y una fuerte coloración. A causa de la gran estabilidad de los colorantes (azo- compuestos), los procesos convencionales para el tratamiento de aguas residuales tales como adsorción, floculación y procesos de lodos activados no son eficientes para la decoloración de los efluentes textiles, ya que no pueden degradar eficientemente los compuestos orgánicos o generan contaminantes secundarios que pueden ser tóxicos para el medio ambiente y que requieren de un tratamiento adicional [2-4].

Una alternativa al tratamiento convencional de las aguas residuales es la oxidación fotocatalítica (fotocatálisis), la cual, ha despertado un gran interés debido a que las investigaciones han mostrado la degradación de contaminantes orgánicos a bajas y medianas concentraciones, con una generación baja en contaminantes secundarios. La fotocatalisis heterogénea consiste en la degradación del contaminante a través de la utilización de catalizadores (óxidos semiconductores), radiación ultravioleta y/o solar, generando con ello radicales, los cuales son responsables de la oxidación de dichos contaminantes [5-6]. En el presente trabajo se empleó TiO<sub>2</sub> como catalizador para optimizar la degradación de azul de metileno.

## 2. METODOLOGÍA

Las NPs de  $\text{TiO}_2$  fueron sintetizadas por un método de bajo impacto ambiental en un previo trabajo reportado [7]. Previamente a la degradación, se preparó una solución de 15 ppm de azul de metileno. Para optimizar la reacción, se variaron las concentraciones de  $\text{TiO}_2$  y el tamaño de partícula empleando un diseño de experimentos  $2^k$ , donde las concentraciones de  $\text{TiO}_2$  usadas fueron 500 y 1500 mg/L y los tamaños de partícula 300 y 560 nm, los cuales fueron obtenidos previamente mediante dispersión dinámica de luz.

Antes de iniciar a la degradación se construyó una curva de calibración para el colorante mediante espectrofotometría de UV-vis (Perkin Elmer 100), empleando estándares de 0, 5, 7, 10, 12 y 15 ppm. Para iniciar la reacción de degradación se agregaron 100 mL de una solución de colorante previamente preparada en un reactor tubular con recirculación de 1 metro de largo y  $\frac{1}{4}$  de pulgada, el flujo empleado fue de 2.3 mL/s. En el recipiente de recirculación se agregó la cantidad indicada de catalizador al tamaño de partícula previamente establecido por el diseño de experimentos. Posteriormente la mezcla reactiva fue irradiada con luz UV a través de una lámpara de UV de 325 nm durante 12 horas de recirculación. Finalmente se analizó el efluente resultante mediante UV-vis, para determinar el porcentaje de degradación.

Para determinar la cinética se tomaron muestras cada hora y se determinó el porcentaje de degradación, para posteriormente elaborar una grafica de concentración en función del tiempo. Por ultimo se ajustaron los datos a un modelo de primer orden empleando el método estocástico de evolución diferencial.

## 3. RESULTADOS

En la Figura 1 se muestran los espectros de difracción de rayos X (XRD) de las NPs que fueron empleadas para la degradación de la muestra. En esta figura se ve claramente que existe una diferencia de cristalinidad en las muestras. Por ejemplo, en la muestra 1 se presenta fase anatasa con respecto a las muestras 2 y 3. Además en la Figura 2 la imagen obtenida por microscopía electrónica de transmisión para la muestra 1, se observa una morfología tipo tetragonal, que es típico de la anatasa, además también se observa una muy baja polidispersidad del material.

La Figura 3 muestra el espectro UV-vis de azul de metileno, que muestra que tiene una absorbancia máxima a una longitud de onda de 664 nm. Además en la Figura 4, se muestra la curva de calibración para el colorante, el cual corresponde al comportamiento de la ley de Lambert-Beer.

La Tabla 1 muestra los porcentajes de degradación de cada corrida realizada, y el porcentaje de degradación de la muestra cuando no se añadió NPs. Se puede ver claramente que con una adición de 500 ppm el porcentaje de la degradación es mayor para las NPs pequeña, esto es debido a que el área de la superficie es mayor. Además, cuando se añadieron 1500 ppm, el porcentaje de degradación es muy similar.

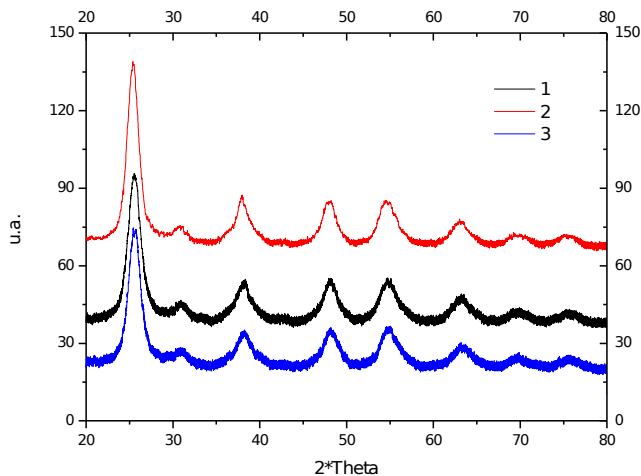


Figura 1. Espectro de XRD de las NPs empleadas.

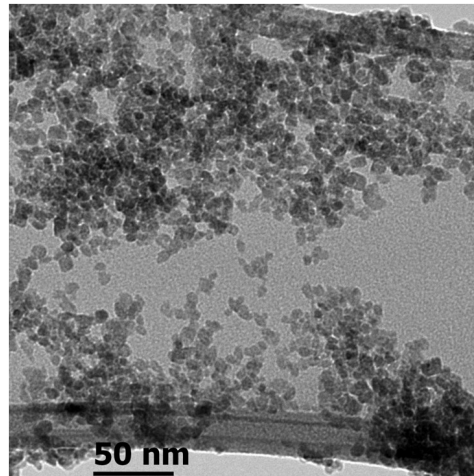


Figura 2. TEM de las NPs empleadas.

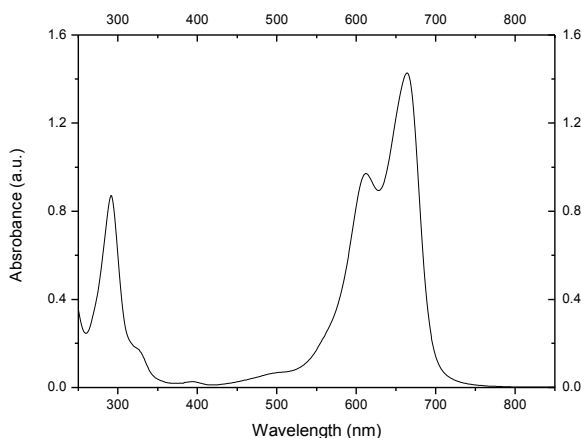


Figura 3. Espectro de UV-vis para el azul de metileno.

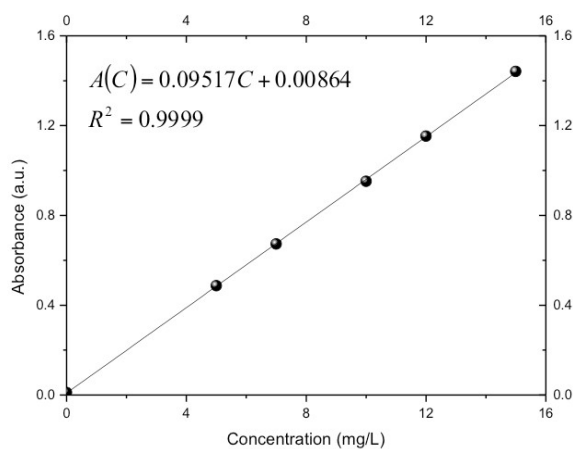


Figura 4. Curva de calibración para el azul de metileno.

Tabla 1. Porcentaje de degradación para cada corrida realizada.

	500 mg/L			1500 mg/L		
	1	2	3	1	2	3
<b>300 nm</b>	98.00	97.92	97.27	98.25	97.47	97.54
<b>560 nm</b>	55.77	56.74	53.80	95.32	95.30	95.09
<b>Sin NPs</b>	5.58	5.68	5.33			

Para analizar el efecto del tamaño de partícula y la concentración sobre los datos de la degradación, se empleo una hoja de cálculo Minitab 16®, donde se obtuvieron las Figuras 5 y 6.

En la Figura 5 se muestra que los efectos son opuestos, es decir, que al disminuir la cantidad de  $TiO_2$ , el porcentaje de la degradación disminuye, pero si las NPs son disminuyen porcentaje aumento, como se menciono anteriormente, éste dato es debido a la mayor área de superficie. Adicionalmente se muestra en la Figura 6 donde los factores de tamaño y cantidad son independientes, sin embargo, para un tamaño de 300 nm es insignificante el cambio, donde caso



contrario se produce con tamaño de 560 nm, donde el aumento de la cantidad de NPs aumenta significativamente el porcentaje de degradación.

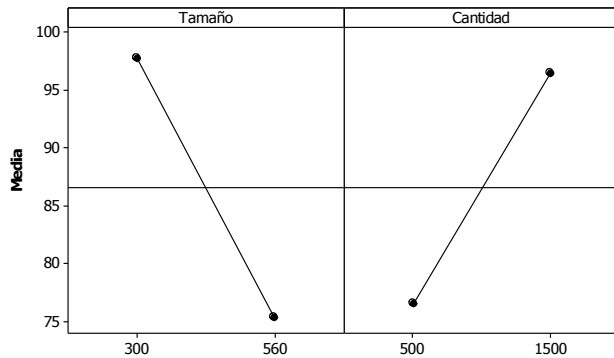


Figura 5. Grafica de efectos principales.

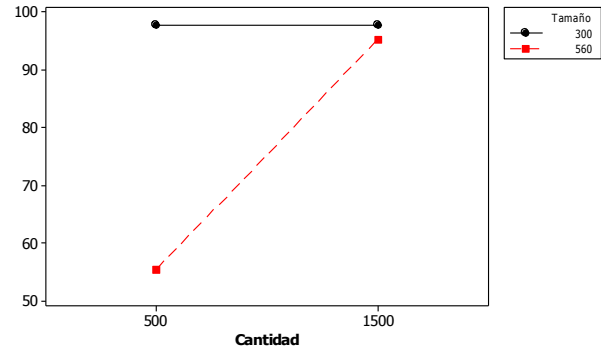


Figura 6. Grafica de interacción.

En la figura 7 se observa el porcentaje de degradación de colorante en función del tiempo, donde se observa un comportamiento de primer orden. Los datos se ajustaron usando Origen 8.0, donde la constante de velocidad de reacción fue de  $0.1682 \text{ hr}^{-1}$ , con un coeficiente de correlación de 0.9999.

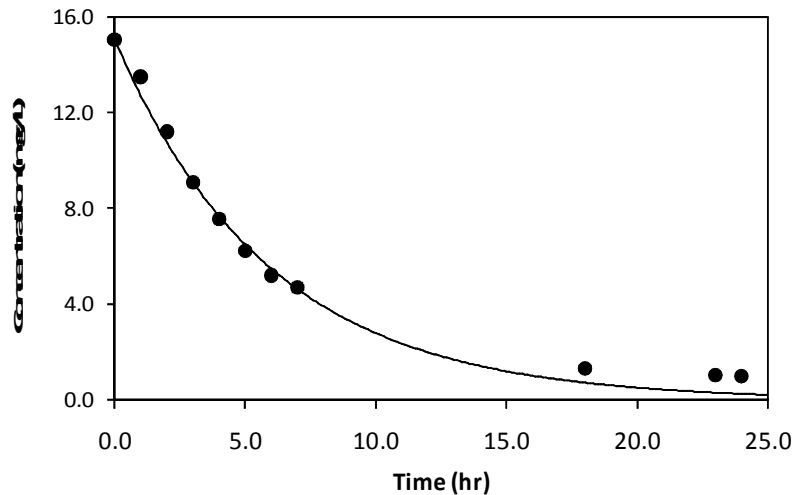


Figura 7. Degradación de azul de metileno en función del tiempo.

#### 4. CONCLUSIONES

Los resultados muestran que las condiciones óptimas para la degradación de colorantes son a una concentración de  $\text{TiO}_2$  de 500 ppm y un tamaño de partícula de 300 nm. Por otro lado, la fotodegradación es eficiente para degradar contaminantes con colorante tipo azo.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Soares GMB, Hrdina R, Pessoa de Amorim MT, Costa-Ferreira M, "Studies on biotransformation of novel disazo dyes by laccase", Proc. Biochem. 37, 581-587, 2002.
2. T. Velegraki, I. Poullos, M. Charalabaki, N. Kalogerakis, P. Samaras y D. Mantzavinos, "Photocatalytic and sonolytic oxidation of acid orange 7 in aqueous solution", Appl. Catal. B, 62, 159-168, 2006.
3. B. Wawrzyniak y A.W. Morawski, "Solar-light-induced photocatalytic decomposition of two azo dyes on new  $\text{TiO}$  photocatalyst containing nitrogen", Appl. Catal. B, 62, 150-158, 2006.

4. A. Pintar, M. Besson y P. Gallezot, "Catalytic wet air oxidation of Kraft bleaching plant effluents in the presence of titania and zirconia supported ruthenium", *Appl. Catal. B*, 30, 123-139, 2001.
5. W. Su, J. Chen, L. Wu, X. Wang, X. Wang y X. Fu, "Visible light photocatalysis on praseodymium (III) - nitrate-modified TiO prepared by an ultrasound method", *Appl. Catal. B*, 77, 264-271, 2008.
6. J. Xing, Z. Shan, K. Li, J. Bian, X. Lin, W. Wang y F. Huang, "Photocatalytic activity of Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/SrNb<sub>2</sub>O<sub>6</sub> heterojunction on the degradation of methyl orange", *J. Phys. Chem. Solids*, 69, 23-28, 2008.
7. J. J. Ibarra Sánchez, R. Fuentes Ramírez, J. A. Reyes Aguilera, S. Figueroa Gerstenmaier, G. Mendoza-Díaz, G. de la Rosa, "Biosíntesis de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> utilizando extractos de alfalfa", *Memorias del XXXV encuentro nacional de la AMIDIQ*, 2682–2685, 2014.

## Evaluación de la concentración de Borohidruro de Sodio para la Obtención de NP's de Au

Ceballos Valle Silvia Angélica°, González Torres Karen Yareli°, Monzón Solórzano María del Carmen°, Valencia Badillo Brenda Valeria°.

° Universidad Tecnológica Fidel Velázquez ( karen0108@livecom.mx )

### RESUMEN

En la presente investigación se sintetizaron nanopartículas de oro (NP's de Au) mediante reacciones de óxido-reducción a temperatura ambiente, utilizando pedacería de oro laminado de 10 K para la recuperación del mismo empleando como agente reductor borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) y como precursor el cloruro de oro ( $\text{AuCl}_4$ ). Con el objeto de evaluar la concentración óptima del borohidruro de sodio para la obtención de nanopartículas de oro de aproximadamente 5 nm. Con estos tamaños, el Au reduce el nivel de toxicidad en aplicaciones médicas. Para ello se diseñaron una serie de experimentos en los que se varió la concentración del agente reductor, de 0.0018g-0.0090 g manteniendo las concentraciones del cloruro de oro constante. La absorbancia de los plasmones de Au fueron medidos en espectrofotómetro UV –visible. Con el uso de ésta técnica se determinó que la cantidad óptima de agente reductor fue de 0.022g.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de metales nobles y, más específicamente, las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico (Auffan y col. 2009). Además, las AuNPs pueden ser producidas en distintos tamaños y formas y pueden ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético, etc.) (Al-Qadi y Remuñán-López 2009). Todo esto hace que las AuNPs despierten un gran interés en multitud de campos, pero especialmente en los sectores biomédico y alimentario.

#### **Aplicaciones de las nanopartículas de oro en medicina**

Aunque pueda parecerlo, la utilización de oro con fines médicos no es nueva, sino que se remonta a la antigüedad, existiendo constatación de la utilización de oro coloidal en China en el año 2500 antes de Cristo. El descubrimiento por Robert Koch del efecto bacteriostático del cianuro de oro frente al bacilo de la tuberculosis, marca el comienzo de su utilización en la medicina moderna siendo introducido en la terapia de la tuberculosis en 1920 (Higby 1982). Hoy en día, las nanopartículas de oro destacan especialmente por sus propiedades fototerapéuticas. En presencia de luz láser las AuNPs se activan y desprenden calor, siendo muy útiles en el tratamiento selectivo de células tumorales (Jain y col. 2008). Por ello, en los últimos años se han realizado notables esfuerzos en la investigación y en la aplicación de las AuNPs para la detección precoz, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer. Además de su extraordinario potencial como agentes fototerapéuticos, las AuNPs pueden utilizarse en la elaboración de partículas nanoestructuradas para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas, así como en terapia génica (vehiculización de plásmidos, DNA, RNA, etc.) (Chen y col. 2008). También destaca el empleo de las AuNPs en la elaboración de sistemas transportadores inteligentes que permiten controlar, en el espacio y en el tiempo, la liberación del compuesto terapéutico asociado, ya sea por activación de un estímulo biológico interno o externo (Han y col. 2006; Hong y col. 2006).

#### **Aplicaciones de las nanopartículas de oro en la producción de alimentos**

Otro importante campo de aplicación de las AuNPs es la industria de los alimentos, donde se las utiliza como parte integrante de nanocompuestos poliméricos. Éstos (que además de AuNPs pueden incluir otras nanopartículas de plata, de óxido de zinc o de óxido de aluminio) se utilizan en la fabricación de envases con propiedades antimicrobianas o para incrementar la resistencia a la abrasión de los envases (Chaudhry y col. 2008). Asimismo, ya se han elaborado indicadores de

tiempo-temperatura a partir de AuNPs (Robinson y Morrison 2010). La empresa Timestrip UK Ltd. ha desarrollado un dispositivo a partir de oro coloidal, que permite establecer si los alimentos procesados y congelados, han sido mantenidos a temperatura adecuada a lo largo de la cadena de producción y distribución. El funcionamiento de este dispositivo adherido al envase, se basa en un fenómeno simple, ya que a temperaturas inferiores a la de congelación, se produce una aglomeración irreversible de las AuNPs dando lugar a una solución transparente. Por otra parte, cuando la temperatura sobrepasa el valor establecido, las AuNPs coloidal se dispersan en la suspensión, dando como resultado un color rojo intenso. Una de las aplicaciones más interesantes de las AuNPs en el sector alimentario es el desarrollo de etiquetas de identificación por radiofrecuencia (RFID). Estos dispositivos permiten monitorizar determinados ítems a lo largo de toda la cadena de suministro, aumentando la eficacia y la rapidez de la distribución de los productos. Para la impresión de estas etiquetas se utilizan materiales con propiedades electrónicas muy particulares, como AuNPs, de plata y de cobre (Subramanian y col. 2005)

## **2. TEORÍA**

### **Nanopartículas de oro**

La peculiaridad de las propiedades ópticas y fototérmicas de las AuNPs proviene de las oscilaciones resonantes de sus electrones libres en presencia de luz («Resonancia localizada de plasmón de superficie»), gracias a la cual las nanopartículas pueden radiar luz (Mie scattering) o absorber luz que se transforma rápidamente en calor. En efecto, las AuNPs emiten un intenso calor cuando son estimuladas con la frecuencia correcta de luz láser u otra fuente de calor (microondas, radiofrecuencia, ultrasonidos...); así una colección de pequeñas AuNPs puede calentar localmente un área de mil veces su tamaño, actuando como auténticos «calefactores nanoscópicos activados por la luz».

### **Ácido agua regia**

#### **Historia**

Agua regia apareció por primera vez en la obra del alquimista medieval europea Pseudo-Geber, que data del siglo XIV. Antoine Lavoisier lo llamó ácido nitromuriático en 1789.

Cuando Alemania invadió Dinamarca durante la Segunda Guerra Mundial, el químico húngaro George De Hevesy disuelve los Premios Nobel de oro de los físicos alemanes Max Von Laue y James Franck en agua regia para evitar que los nazis los confiscaran, ya que, el gobierno alemán ha prohibido aceptar o mantener cualquier Premio Nobel después de que el pacifista Carl Von Ossietzky recibió el Premio Nobel de la Paz en 1935. De Hevesy coloca la solución resultante en un estante en su laboratorio en el Instituto Niels Bohr. Posteriormente fue ignorado por los nazis, que pensaban que era la mezcla tal vez cientos de los productos químicos comunes contenidos en las estanterías. Después de la guerra, De Hevesy volvió a encontrar la solución sin molestias y precipita el oro del ácido. El oro fue devuelto a la Real Academia Sueca de las Ciencias y la Fundación Nobel.

Aquaregis, o nitro-clorhídrico, es una mezcla altamente corrosiva de los ácidos. La mezcla se forma por mezcla recién ácido nítrico concentrado y ácido clorhídrico, por lo general en una relación en volumen de 1:03. Se llama así debido a que puede disolver los llamados metales reales o nobles, oro y platino. Sin embargo, titanio, iridio, rutenio, tántalo, osmio, rodio y algunos otros metales son capaces de soportar sus propiedades corrosivas.

Agua regia se utiliza principalmente para producir ácido cloroáurico, el electrolito en el proceso Wohlwill. Este proceso se utiliza para refinar el oro más alta calidad.

Agua regia también se utiliza en el grabado y en los procedimientos analíticos específicos. También se utiliza en algunos laboratorios para limpiar material de vidrio de compuestos orgánicos y partículas de metal.

Debido a la reacción entre sus componentes resultantes de su descomposición, agua regia pierde rápidamente su eficacia, por lo que sus componentes son por lo general sólo se mezcla inmediatamente antes de su uso.

Agua regia disuelve el oro, aunque ninguno de los ácidos constituyentes lo hará solo, ya que, en combinación, cada ácido realiza una tarea diferente. El ácido nítrico es un oxidante potente, que en realidad disolver una cantidad virtualmente indetectable de oro, la formación de iones de oro. El ácido clorhídrico proporciona un suministro de iones de cloruro, que reaccionan con los iones de oro para producir aniones cloroaurato, también en solución. La reacción con el ácido clorhídrico es una reacción de equilibrio que favorece la formación de aniones cloroaurato. Esto resulta en una eliminación de los iones de oro de la solución y permite a la oxidación adicional de oro que tenga lugar. El oro se disuelve para convertirse en ácido cloroáurico.

A la mezcla de ácido clorhídrico concentrado y ácido nítrico concentrado, se producen reacciones químicas. Estas reacciones dan como resultado los productos volátiles cloruro de nitrosilo y cloro, como lo demuestra la naturaleza fumante y el color amarillo característico de agua regia. A medida que los productos volátiles escapan de la solución, el agua regia pierde su potencia.

### **Reducción de complejos metálicos**

El método de reducción de complejos metálicos, como el  $\text{AuCl}_4$  en soluciones diluidas es, en general, el método de síntesis de dispersiones metálicas coloidales más empleado<sup>3</sup>. La formación de NP's metálicas de tamaño uniforme es lograda, en muchos casos, por la combinación de una muy baja concentración de un soluto de un complejo o sal metálica como precursor, un agente reductor y una monocapa de algún agente protector como un complejante monomérico o un polímero adherido durante el crecimiento de la nanopartícula.

## **3. PARTE EXPERIMENTAL**

\*Preparar agua regia ( $\text{HCl} + \text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ )

\*Oxidar una muestra de oro calculando la concentración que se obtiene a partir de la muestra conocida.

\*Preparar la cantidad necesaria de  $\text{NaBH}_4$  (borohidruro de sodio) para reducir los iones oro obtenido

\*Realizar la técnica empleada para obtener nanopartículas metálicas.

## **EXPERIMENTO 2.**

Para llevar a cabo la segunda síntesis de las NP's de Au, pesamos diferentes cantidades de  $\text{NaBH}_4$  (Borohidruro de sodio). Realizamos los mismos pasos que en el experimento 1, solo que en este se cambiaron las cantidades de borohidruro.

### EXPERIMENTO 3.

Realizamos los mismos pasos que en los experimentos anteriores, solo que en este agregamos 5 mililitros de NaOH (hidróxido de sodio).

### 4. CONCLUSIONES

La obtención a escalas nanométricas de oro fue exitosa, la literatura marcaba que la síntesis debía ser llevada a cabo con Ácido Cloroaúrico. Pese a la limitante de no tener sales de oro se optó por usar  $\text{AuCl}_4$ , que es más sencillo de obtener mediante una solución de agua regia. Obteniendo así que se pueden sintetizar nanopartículas de tamaños nanométricos con el  $\text{AuCl}_4$  y no necesariamente con sales de oro, así podemos utilizar padecería de joyas hechas de este material precioso para poder valorar la viabilidad de los alimentos para el consumo humano.

Se puede deducir que al disminuir la concentración de la solución precursora de  $[\text{AuCl}_4]$ , pero manteniendo la concentración del reductor constante y en exceso, el tamaño de partícula aumenta; esto es debido a que muy rápidamente el agente reductor rodea al soluto en menor concentración, obteniendo núcleos o conglomerados más grandes que se ven favorecidos con un crecimiento cristalino apropiado. De manera semejante, cuando se cuadruplica la concentración de  $[\text{AuCl}_4]$  manteniendo constante la concentración del reductor, se obtienen 4 núcleos cristalinos, probablemente en un primer momento muy pequeño, los que tienden a aglomerarse y formar núcleos mayores similares a los obtenidos a muy bajas concentraciones de soluto precursor.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1) <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/994/1028>
- 2) [http://centrodeartigo.com/articulos-utiles/article\\_103733.html](http://centrodeartigo.com/articulos-utiles/article_103733.html)
- 3) <http://elementos.org.es/oro>
- 4) <http://scifunam.fisica.unam.mx/mir/copit/TS0011ES/Noguez.pdf>
- 5) <http://www.mundonano.unam.mx/pdfs/5-1/Metodologias5-1.pdf>
- 6) <http://joseluismunozmunoz.blogspot.mx/>
- 7) <http://roderic.uv.es/handle/10550/28762>
- 8) [http://www.nisenet.org/sites/default/files/catalog/uploads/spanish/8880/materialsgold\\_sign\\_sp\\_08nov11\\_0.pdf](http://www.nisenet.org/sites/default/files/catalog/uploads/spanish/8880/materialsgold_sign_sp_08nov11_0.pdf)
- 9) [http://eprints.uanl.mx/3580/1/FENOMENOS\\_FISICOS\\_DE\\_LAS\\_NONOPARTICULAS\\_DE\\_ORO.pdf](http://eprints.uanl.mx/3580/1/FENOMENOS_FISICOS_DE_LAS_NONOPARTICULAS_DE_ORO.pdf)
- 10) [http://books.google.com.mx/books?id=xmWImfIMcAAC&pg=PA161&lpg=PA161&dq=longitudes+de+onda+de+las+nanoparticulas+de+oro&source=bl&ots=TRlunKpHsP&sig=WKijFZ-H334JAYggBln\\_QXEqAiY&hl=es-419&sa=X&ei=qyZ1VILyLMGrNvTtgNgN&ved=0CF4Q6AEwCQ#v=onepage&q=longitudes%20de%20onda%20de%20las%20nanoparticulas%20de%20oro&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=xmWImfIMcAAC&pg=PA161&lpg=PA161&dq=longitudes+de+onda+de+las+nanoparticulas+de+oro&source=bl&ots=TRlunKpHsP&sig=WKijFZ-H334JAYggBln_QXEqAiY&hl=es-419&sa=X&ei=qyZ1VILyLMGrNvTtgNgN&ved=0CF4Q6AEwCQ#v=onepage&q=longitudes%20de%20onda%20de%20las%20nanoparticulas%20de%20oro&f=false)
- 11) <http://www.madrimasd.org/blogs/ingenieriamateriales/2012/04/20/380/>
- 12) <http://www.solociencia.com/medicina/09012903.htm>
- 13) Nanociencia y nanotecnología, Takeuchi Naboru, Fondo de Cultura Económica, Colección: La Ciencia para Todos, primera edición 2009.
- 14) Los materiales nanoestructurados, Morán López José Luis y Rodríguez López José Luis, Fondo de Cultura Económica, Primera edición, 2012.

# IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE HIGUERILLA (*Ricinus communis* L) EN LOS MUNICIPIOS DE SILAO DE LA VICTORIA Y ROMITA DE LICEAGA, GTO.

Jesús G. Rostro Rojas<sup>a</sup>, M. Maldonado Santoyo<sup>b</sup>, G. Morales López<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Universidad Politécnica del Bicentenario, Silao, Gto., jro2\_p@hotmail.com, gmoralesl@upbicentenario.edu.mx

<sup>b</sup>Centro de Investigación Aplicada en Tecnologías Competitivas A.C., León, Gto., msantoyo@ciatec.mx

## RESUMEN

La higuera (*Ricinus communis* L.) es una especie exótica en México que crece en varios estados del país de manera silvestre. En el estado de Guanajuato se puede encontrar en la zona del Bajío. La higuera es una planta con diversos usos, los tallos pueden ser utilizados para la fabricación de papel, las hojas y raíces contienen antioxidantes y de las semillas se puede extraer el aceite de ricino para producción de biodiesel. Debido al posible uso comercial de esta especie se realizaron muestreos de higuera en los municipios de Silao y Romita, durante el ciclo verano-otoño de 2014, identificándose ocho ecotipos de higuera, cabe señalar que para la identificación de los ecotipos se consideraron características físicas como color del tallo; color y tamaño de hojas; color, tamaño, y peso de las semillas recolectadas.

## 1. INTRODUCCIÓN

La higuera es una planta común que crece en condiciones silvestres y con un alto grado de rusticidad. Los datos recientes indican el origen de la higuera en el continente africano, posee gran capacidad de adaptación por lo que se encuentra prácticamente en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo, aunque es típica de regiones semiáridas [1].

En México a esta especie se le localiza desde zonas costeras hasta tierra adentro de Veracruz, Colima, Michoacán, en estados del centro del país y otras regiones como Chiapas, Tabasco y Campeche. En Guanajuato se le localiza en todo el Bajío hasta los 2 300 msnm ya que, por ser susceptible a bajas temperaturas, a mas altura no se desarrollan [2].

La higuera es una especie con varios usos; por ejemplo, los tallos pueden ser utilizados para la fabricación de papel, pero las semillas son lo más importante económicamente [3]. Las hojas poseen diversas actividades biológicas, como hepatoprotector [4], insecticida [5], propiedades anticonceptivas [6]; y recientemente se han reportado actividades antioxidantes de los extractos de hojas y raíces [7].

La higuera es pues, una especie promisoría por su alta diversidad genética y capacidad de producción de aceite de excelente calidad como insumo para biodiesel, es una planta herbácea de porte arbustivo, ligeramente leñosa, con tallos y ramas huecas por dentro, de color verde claro a azul grisáceo, en ocasiones rojiza. El fruto de la planta de higuera es una cápsula trilobular que contiene una semilla por lóbulo (tricoco), de 1.5 a 2.5 cm de largo, exteriormente está recubierto por espinas o púas no punzantes, cortas y gruesas (equinado); tiene tendencia a la dehiscencia. La semilla es oval, de tamaño variable entre 5 y 20 mm según la variedad. El tegumento es coriáceo, liso, lustroso, marmoleado rematada por una excrecencia, tóxico por la presencia de ricina y ricinina. El porcentaje de aceite es alrededor de 46% [8].

El objetivo de este trabajo es la identificación de ecotipos de higuera (*Ricinus communis* L.) en los municipios de Silao de la Victoria y Romita de Liceaga, Gto., para su caracterización física a fin de generar información que pueda servir de base para el uso comercial de esta especie en la región.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Los muestreos se llevaron a cabo en los municipios de Silao de la Victoria y Romita de Liceaga, Gto., zona catalogada con buen potencial para el desarrollo de la higuierilla (*Ricinus communis* L.) [2]. Las colectas se realizaron en áreas donde se encontró mayor población de higuierillas durante el ciclo verano-otoño de 2014 e invierno de 2015. En campo se midió tamaño de hoja. El secado de las semillas se realizó en un horno FEIISA modelo 293A a 60°C hasta peso constante para determinar el porcentaje de humedad [9], el pesado de las semillas se hizo en una balanza analítica marca RADWAG, modelo WTB 2000. Las semillas se midieron con un vernier para determinar su tamaño.

## 3. RESULTADOS

Se identificaron y caracterizaron ocho ecotipos considerando las propiedades físicas de cada especie, encontrándose marcados contrastes en tamaño y color de las hojas, los cual se muestra en la Tabla 1. En la Tabla 2 se muestran los resultados del color de tallo y tamaño de semilla.

Tabla 1. Características físicas de los ecotipos encontrados: color y tamaño de hoja.

Ecotipo	Color Hoja	Tamaño de hoja, cm
1	Verde con nervadura roja.	64.0
2	Verde con nervadura blanca.	72.5
3	Verde con nervadura blanca	40.0
4	Rojiza con nervaduras rosas.	37.7
5	Verde con nervadura roja.	30.5
6	Rojiza con nervadura roja.	34.0
7	Verde con nervadura roja	31.0
8	Morada con nervadura morada.	39.5

Tabla 2. Características físicas de los ecotipos encontrados: color de tallo y tamaño de semilla

Ecotipo.	Color de tallo.	Tamaño de semilla, mm.
1	Rojo sin cera.	12.11
2	Verde tallo ceroso.	11.15
3	Verde sin cera.	10.03
4	Café ceroso.	11.08
5	Rojo ceroso.	10.46
6	Rojo ceroso.	10.55
7	Café-rojizo ceroso.	10.92
8	Morado ceroso.	11.89

En la Tabla 3, se muestran los resultados de peso seco de 100 semillas y % de humedad.

Tabla 3. Peso y humedad de semillas.

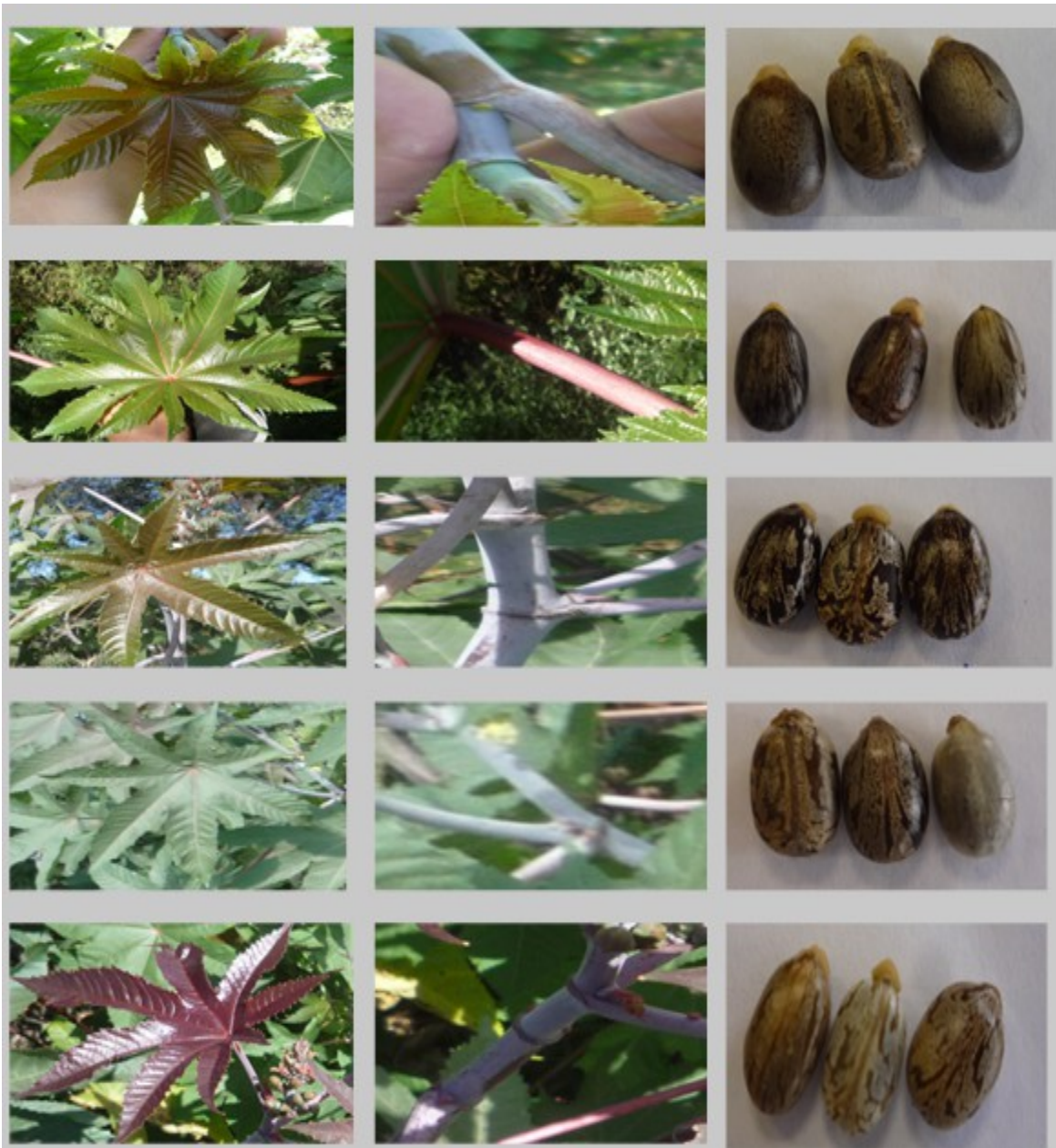
Ecotipo.	Peso 100 semillas, g.	%Humedad
1	18.91	3.22
2	18.73	3.15
3	15.35	3.28
4	16.96	2.75
5	15.06	3.34
6	14.84	3.45
7	15.28	2.86



El color de las semillas se determinó de manera cualitativa [9]. Todas las semillas tienen forma oval de color marmoleado con tonos de café claro a café oscuro, cuentan con una protuberancia en la punta llamada carúncula, y como se observa en la Tabla 2 varían en tamaño de 10.03 mm a 12.11 mm. En la Figura 1a y 1b se puede observar la variabilidad encontrada en los ocho ecotipos.



**FIG. 1a. Variabilidad de hojas, tallos y semillas de tres ecotipos de higuierillas silvestres**



**FIG. 1b. Variabilidad de hojas, tallos y semillas de cinco ecotipos de higuerrillas silvestres**

#### **4. CONCLUSIONES**

Se identificaron ocho ecotipos de higuerrilla, de acuerdo a los resultados de este estudio se pudo establecer una variabilidad en tamaño y color de hojas, en el color de los tallos y color, tamaño, peso y % de humedad de semillas. Cabe señalar que en nuestro estado es posible la explotación de esta especie para su uso comercial, y la importancia de este estudio radica en que es recomendado usar variedades o ecotipos locales, debido a que la experiencia en el estado de Michoacán en 2005 mostró que variedades mejoradas de otro país (Brasil) difícilmente se adaptan a nuestras condiciones por presentar susceptibilidad a plagas y enfermedades, así como la reducción en su rendimiento [2]. La perspectiva de este trabajo es la obtención de aceite de ricino por ecotipo encontrado para poder sugerir acerca de cuál especie es mejor para la explotación de la higuerrilla en la zona.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Robles, S.R. "Producción de oleaginosas y textiles", Limusa, México, 1982.
2. "La Biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado", Volumen 1, Primera Edición, México, 2012.
3. Niembro R. A. "Árboles y Arbustos de México". Editorial Herrero S.A. 1990.
4. Visen, P. K. S., Shukla, B., Patnaik, G. K., Tripathi, S. C., Kulshreshtha, D. K., Srimal, R.C., et al. "Hepatoprotective activity of *Ricinus communis* leaves. *International Journal of Pharmacognosy.*, 30, 241–250, 1992.
5. Upasani, S. M., Kotkar, H. M., Mendki, P. S., & Maheshwari, V. L. "Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids". *Pest Management Science*, 59, 1349–1354, 2003.
6. Okwuasaba, F. K., Das, S. C., Isichei, C. O., Ekwenchi, M. M., Onoruvwe, O., Olayinka, A. O. "The anticonceptive and the effect on uterus of ether extract, 18312-J of *Ricinus communis*". *Phytotherapy Research*, 10, 97–100, 1997.
7. Ghnimi W, Dicko A, Khouja M. L, El Ferchichi O. H, "Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L., *Industrial Crops and Products*", Volume 56, May 2014, Pages 43-51
8. Pabón G.G. 2010. "Estudio de las características botánicas y etnobotánicas de higuierilla (*Ricinus communis* L.)". Cultivos energéticos alternativos. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Pp. 9-23.
9. Goytia-Jiménez M.A., Horacio Gallegos-Goytia C, Núñez-Colín C.A. "Relación entre variables climáticas con la morfología y contenido de aceite de semillas de higuierilla (*Ricinus communis* L.) de Chiapas". *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 2011, 17(1): 41-48.

## **Bacterias heterótrofas de un manantial y dos pozas de Hierve el Agua (Oaxaca): respuesta a 12 antibióticos**

Alma Viani García Pérez <sup>1</sup>, Erika Chávez Ibañez<sup>1</sup>, María Teresa Núñez Cardona<sup>1\*</sup> y María del Carmen Vera Rosales<sup>2</sup>.

\*Jefe de grupo, <sup>1</sup>Departamento El Hombre y su Ambiente, <sup>2</sup>Departamento Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, [mtnunez@correo.xoc.uam.mx](mailto:mtnunez@correo.xoc.uam.mx).

### **Resumen**

La resistencia de los microorganismos a múltiples sustancias es un problema de salud pública observado a nivel mundial, en especial después de la aparición y uso masivo de los antibióticos, lo cual en parte, se debe al uso extendido e inapropiado de estos fármacos. En el presente estudio se analizó la respuesta de bacterias heterótrofas aisladas del agua de un manantial y dos pozas ubicados en Hierve el Agua, Oaxaca y que son utilizadas con fines recreativos. Se hicieron diluciones y se sembraron en agar nutritivo hasta obtener cultivos puros, se les aplicó la tinción de Gram y fueron sometidos a antibióticos específicos para bacterias Gram positivas y Gram negativas. De los tres sitios, en total se obtuvieron 26 cultivos puros, 13 fueron Gram positivos (12 cocos y un bacilo) y 13 negativos (11 bacilos y dos cocos). Se observó la presencia de bacterias Gram positivas resistentes a nueve de los antibióticos ensayados, el mayor número lo fue ante la ceftazidima y dicloxacilina (92% ambos) y penicilina (54%). El mayor número de bacterias Gram negativas resistentes lo fue ante ampicilina y cefalotina (38%) así como a carbenicilina (31%). Todos los cultivos fueron sensibles a trimetoprim-sulfatometoxazol. La presencia de cultivos con forma de cocos, representa que el sistema está impactado por actividades humanas.

### **Introducción**

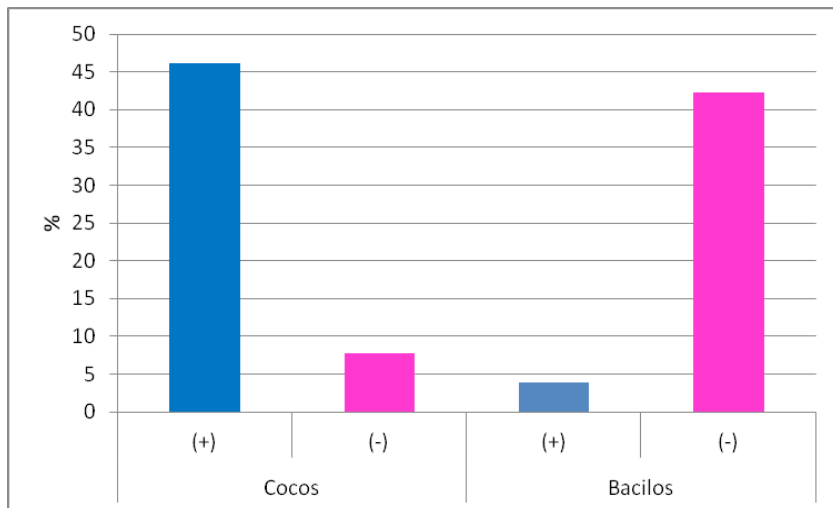
La resistencia a antibióticos por parte de las bacterias es un problema que ha surgido en los últimos años lo cual ocasiona consecuencias impredecibles, dichos microorganismos han desarrollado mecanismos de resistencia los cuales les permiten disminuir la acción de agentes antimicrobianos (Fernández *et al.*, 2003). Este fenómeno es una expresión natural que se ha dado durante la evolución de las bacterias con la finalidad de adaptarse a los cambios ambientales o por la aplicación inadecuada de antibióticos en los seres vivos (clínica, agricultura y veterinaria), causando un problema de salud pública a nivel mundial (Cabrera *et al.*, 2007; Ramos y Alonso, 2011). Por lo anterior en este estudio se realizaron pruebas de resistencia a antibióticos en aislados obtenidos en un sistema de manantiales y pozas conocido como Hierve el Agua; como menciona Baquero (2008) este tipo de ambientes constituyen no sólo una forma de propagación de organismos resistentes a los antibióticos entre las poblaciones humanas y animales así mismo, son la vía por la cual los genes de resistencia se introducen en ecosistemas naturales. Por ello es importante conocer la calidad del agua así como las bacterias presentes para determinar la presencia de organismos patógenos (Pulido *et al.*, 2005).

### **Teoría**

Se colectaron ocho muestras a nivel sub-superficial de un manantial y la poza principal del sistema de pozas en Hierve el Agua, con éstas se hicieron diluciones e inocularon 0.1 ml, en tres medios de cultivo: agar nutritivo, agar nutritivo con agua de mar artificial (200ml/L) y un medio mínimo (agar bacteriológico, 200ml/L agua de mar artificial, 1.0 ml FeCl<sub>3</sub> y 1 g acetato de sodio). Se cuantificaron las UFC en los tres medios de cultivo, se hicieron aislamientos al azar y para conocer sus características morfológicas se aplicó la tinción de Gram. Con los cultivos puros se inocularon cajas Petri conteniendo agar Mueller Hinton y se colocaron sensidiscos con 12 antibióticos para bacterias Gram positivas o negativas, dependiendo de su respuesta la tinción de Gram; los cultivos fueron incubados a 28°C durante 18 horas. Se hicieron mediciones del diámetro de los halos producidos por la inhibición del crecimiento bacteriano, si este era menor a 1.0 cm era resistente, de 1.0 a 1.5 cm intermedio y 1.6 < cm sensible.

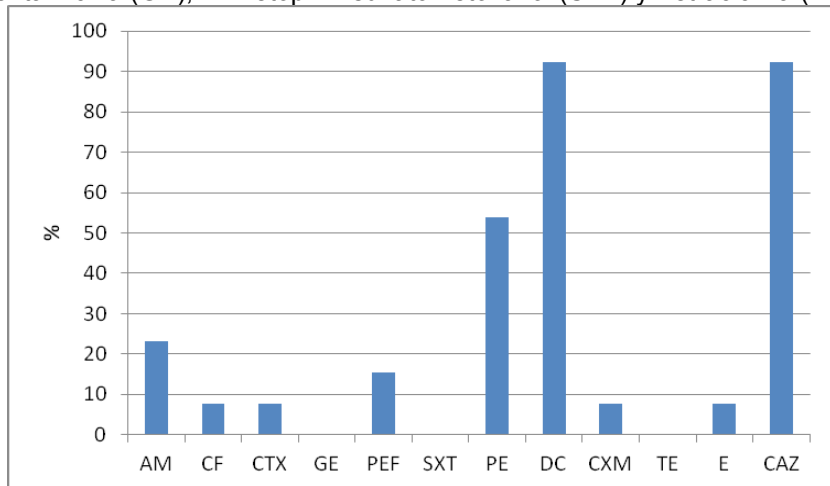
### Parte experimental

En el medio mínimo y medio con agua de mar hubo mayor número de UFC ( $2.6 \times 10^{-3}$  y  $2.510^{-3}$  respectivamente). Los tres medios presentaron en su mayoría colonias color crema (80%); el medio nutritivo tuvo un mayor número de colonias amarillas, mientras que el medio con agua de mar se caracterizó por contar con mayor número de colonias rojas. Se obtuvo un total de 26 cultivos puros, 13 fueron Gram positivos (12 cocos y un bacilo) y 13 negativos (11 bacilos y dos cocos), como se observa en la figura 1, el 23% de los cultivos aislados fueron de la muestra del manantial mientras que el 77% fueron de la poza principal.



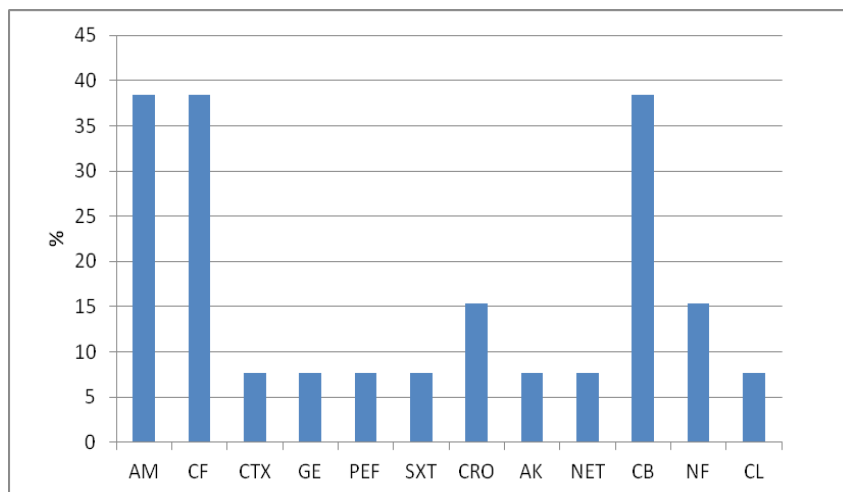
**Figura 1.** Morfología celular de los cultivos puros provenientes de un manantial y poza principal.

Se observó la presencia de bacterias Gram positivas resistentes a nueve de los antibióticos ensayados como se muestra en la figura 2, de los cuales el mayor número lo fue ante la Ceftazidima (CAZ) y Dicloxacilina (DC) (92% ambos) y Penicilina (54%); todos los cultivos fueron sensibles a Gentamicina (GE), Trimetoprim-sulfatometoxazol (SXT) y Tetraciclina (TE).



**Figura 2.** Resistencia a 12 antibióticos para las bacterias Gram positivas aisladas de un manantial y poza principal. AM= Ampicilina, CF= Cefalotina, CTX= Cefataxima, GE= Gentamicina, PEF= Pecloxamicina, SXT= Trimetoprim-Sulfatometoxazol, PE= Penicilina, DC= Dicloxacilina, CXM= Cefuroxima, TE= Tetraciclina, E= Eritromicina y CAZ= Ceftazidima.

Para las bacterias Gram negativas se presentó resistencia a ampicilina (AM), cefalotina (CF) y carbenicilina (CB) (38% cada uno) seguidos por ceftriaxona (CRO) y nitrofurantoina (NF) (15% ambos) y con un menor porcentaje en los antibióticos (figura 3).



**Figura 3.** Resistencia a 12 antibióticos para las bacterias Gram negativas aisladas de un manantial y poza principal. AM= Ampicilina, CF= Cefalotina, CTX= Cefataxima, GE= Gentamicina, PEF= Pecloxamicina, SXT= Trimetoprim- sulfatometoxazol, CRO= Ceftriaxona, AK= Amikacina, NET= Netilmicina, CB= Carbenicilina, NF= Nitrofurantoina y CL= Cloranfenicol.

## Conclusiones

El medio mínimo favoreció el crecimiento bacteriano, lo que indica que son oligotróficas. Se observó la presencia de cocos en el sistema, lo que indica que la presencia de actividades humanas (recreativas); Los cultivos bacterianos mostraron mayor resistencia a ceftazidima (CAZ), dicloxacilina (DC) y penicilina (PE) para bacterias Gram positivas y los negativos a ampicilina, cefalotina y carbenicilina.

## Bibliografía

Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3): 260-265.

Cabrera, C. E., Gómez, R. F., & Zúñiga, A. E. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 38(2):149-158.

Fernández R. F., López, H J., Ponce M. L. M., & Machado B. C. (2003). Resistencia bacteriana. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 32(1): 44-48.

Pulido, M. D. P. A., de Navia, S. L. Á., Torres, S. M. E., & Prieto, A. C. G. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4): 69-79 .

Ramos, Y., & Alonso, G. (2011). Evaluación de la resistencia a agentes desinfectantes de bacterias aisladas de ambientes naturales. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(2):130-137.

## ESPECIACIÓN DE Fe EN PM<sub>10</sub> POR ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN DE RAYOS-X (XAS) Y MICRO FLUORESCENCIA DE RAYOS-X (μ-XRF)

Gladys Morales-López<sup>a,c</sup>, Ma. G. de la Rosa Álvarez<sup>b</sup>, Ma. G. García Jiménez<sup>a</sup>, J.M. Martínez Rosales<sup>a</sup>, D. O. Rocha Amador<sup>c</sup>, M. Delgado Ríos<sup>d</sup>, H. Castillo Michel<sup>e</sup>, J. L. Gardea Torresdey<sup>f</sup>, G. Cruz Jiménez<sup>c</sup>.

<sup>a</sup>Departamento de Química. División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato. México.

<sup>b</sup> División de Ciencias e Ingeniería, Campus León. Universidad de Guanajuato. México.

<sup>c</sup>Departamento de Farmacia. División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato. México.

<sup>d</sup>Departamento de Ciencias Químicas y Biológicas de la Universidad de Ciudad Juárez, Chich. México.

<sup>e</sup> ESRF (European Synchrotron Radiation Facility), Grenoble, France.

<sup>f</sup>Departamento de Química. Universidad de Texas en El Paso, El Paso, Texas.  
cruzg@ugto.mx

### RESUMEN

Se realizó la caracterización de material particulado proveniente del monitoreo de la ciudad de León, Gto., encontrando que el metal en mayor concentración es el hierro. Dado el impacto potencial a la salud humana del hierro presente en material particulado PM<sub>10</sub>, se procedió a la especiación de Fe mediante Espectrometría de Absorción de Rayos X, de los resultados obtenidos de ajustes de combinaciones lineales de las muestras con compuestos modelo se pudo elucidar que el estado de oxidación es Fe (III) y que las posibles especies presentes son Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, a fin de corroborar los resultados obtenidos se utilizó Micro Fluorescencia de Rayos X y se pudo confirmar la presencia de óxidos de hierro en forma de magnetita y en menor composición FeSO<sub>4</sub>, FeS, Fe(SO<sub>4</sub>) y Fe<sup>0</sup>. Las posibles fuentes emisoras de PM<sub>10</sub> son suelo por erosión heólica y polvo por resuspensión, lo cual se obtuvo de ajustes de combinaciones lineales de las muestras con muestras de suelo y polvo.

### 1. INTRODUCCIÓN

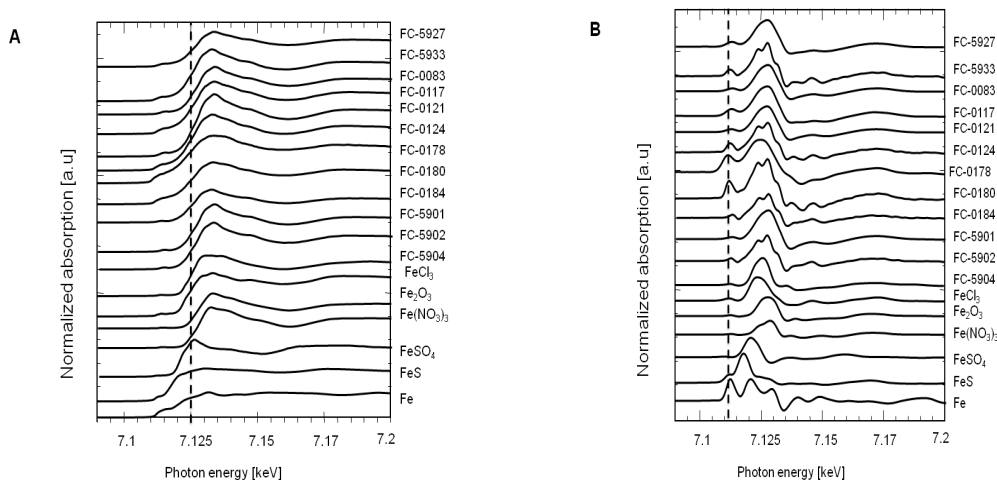
Los efectos de la contaminación atmosférica en la salud humana están bien documentados. En las normatividades ambientales de diversos países se especifican los contaminantes criterio (O<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, CO, Pb y material particulado) que deben ser monitoreados en materia de calidad del aire. La caracterización del material particulado (PM) reviste especial importancia ya que la toxicidad de estas partículas dependerá tanto de su tamaño como de su composición química. Es por ello que las PM han sido sujeto de numerosos estudios epidemiológicos y toxicológicos principalmente para establecer (a) los elementos que son responsables de la toxicidad (Gilli et al. 2007) (b) para elucidar a cerca de los mecanismos de toxicidad del PM (Cho et al. 2009); y (c) para poder establecer las fuentes de emisión (Gladtko et al. 2009). La caracterización del PM debe incluir la cuantificación de metales pesados ya que éstos han sido identificados como los responsables de ciertas afectaciones a la salud humana. De entre los metales pesados, en particular la especiación del Fe, ha cobrado importancia ya que si bien numerosos estudios epidemiológicos indican que la exposición a PM puede causar daños cardiovasculares y cardiopulmonares (Dockery et al. 1993), los mecanismos por los cuales el PM causa efectos adversos a la salud son poco conocidos. A fin de determinar la especiación del Fe se seleccionaron las técnicas de XAS y μ-XRF, ya que requieren un mínimo de preparación de la muestra además de que son pruebas no destructivas. El objetivo del presente trabajo fue conocer las concentraciones de metales en las PM<sub>10</sub> provenientes del monitoreo de la ciudad de León, Gto. Una vez determinado el Fe como el metal mayoritario, se llevó a cabo la especiación de este elemento por medio de XAS y μ-XRF a fin de obtener información que lleve a la posible identificación de la fuente emisora.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

El muestreo de PM<sub>10</sub> se realizó en la ciudad de León, Gto., con equipo manual de alto volumen marca Andersen con filtros de fibra de vidrio. El polvo y el suelo se recogieron con un cepillo y un recogedor de plástico para evitar la contaminación. La preparación de las muestras para la especiación del Fe, fue mínima para ser analizados por XAS y  $\mu$ -XRF, debido a que ambas técnicas son no destructivas, los filtros sólo se cortaron y se montaron en un soporte. Para la XAS se utilizaron como compuestos modelo FeSO<sub>4</sub>, Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y FeCl<sub>3</sub>, utilizando la línea de luz de sincrotrón 7-3 del Stanford Synchrotron Radiation Lightsource (SSRL). El análisis de datos se realizó con la versión de software 3.2 WinXAS. El mapeo de  $\mu$ -XRF para el K-edge del Fe se realizó con un haz incidente de 7,2 KeV durante la operación continua en la línea de luz ID21 en el European Synchrotron Radiation Facility (ESRF), estos datos fueron procesados con software PymCA. Las imágenes de Fe se obtuvieron mediante el ajuste de cada uno mapas.

## 3. RESULTADOS

En la primera parte del estudio, el estado de oxidación de Fe se obtuvo mediante la comparación de los espectros XANES de las muestras de PM<sub>10</sub> con respecto a los espectros XANES de los compuestos modelo. La Figura 1 muestra los espectros de las muestras de PM<sub>10</sub>, los espectros XANES de los compuestos modelo y los espectros de la primera derivada. Los resultados indican que el estado de oxidación del Fe presente en las muestras de PM<sub>10</sub> es Fe (III), que coincide con el valor de la energía del pico de inflexión del pre-borde de la primera derivada.



**Figura. 1** (A) Espectros XANES de muestras y compuestos modelo, (B) Espectros XANES de la primera derivada de muestras y compuestos modelo. La línea discontinua indica la energía asociada al Fe (III).

También se realizó combinación lineal de los espectros XANES de muestras de PM<sub>10</sub> con los espectros XANES de polvo y tierra, los resultados indican un buen ajuste de manera que se puede sugerir que el Fe presente en el PM<sub>10</sub>, proviene de suelo y el polvo generado por resuspensión causada por tráfico. Estos resultados se muestran en la Tabla 1.

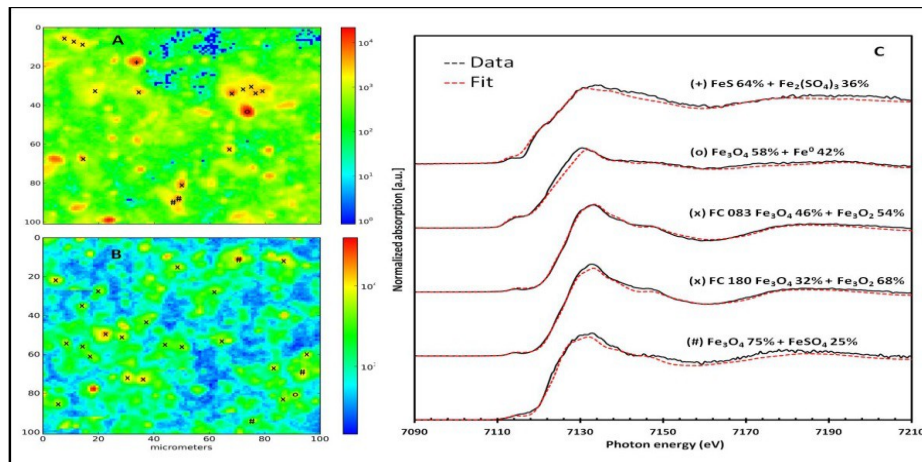
**Tabla 1.** Muestra los porcentajes de polvo y suelo en las muestras obtenidos mediante ajuste de combinaciones lineales de espectros XANES.

Muestra	% Suelo	%Polvo	Muestra	% Suelo	%Polvo
	Cerro de	caseta		del Cerro	caseta
	Jerez			de Jerez	
<b>FC-5927</b>	75.7	24.3	<b>FC-0121</b>	70.4	29.6
<b>FC-5933</b>	70.4	29.6	<b>FC-0124</b>	58.7	41.3
<b>FC-0083</b>	92.4	7.6	<b>FC-0178</b>	29.3	70.7
<b>FC-0117</b>	71.9	28.1	<b>FC-0180</b>	61.6	38.4



<b>FC-0184</b>	100	-	<b>FC-5901</b>	100	-
<b>FC-5902</b>	100	-	<b>FC-5904</b>	97.0	3.0

Para corroborar los resultados obtenidos se utilizó la técnica de  $\mu$ -XANES que tiene la capacidad de analizar el estado químico de cualquier punto de interés en una muestra con una resolución submicrónica incluso de elementos traza contenidos en partes por millón. Los resultados obtenidos por este método fueron consistentes con los obtenidos por XAS, ya que se determinó la presencia de óxido de hierro en forma de magnetita y en menor proporción se encontraron  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{FeS}$ ,  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  y  $\text{FeO}$ . En la Figura 2 se muestran los mapas de distribución de la concentración de Fe y los espectros  $\mu$ -XANES con la composición porcentual de cada compuesto.



**Fig. 2.** Distribución del Fe en muestras: (A) FC-0083 y (B) FC-0180 (la escala azul-roja representa la intensidad de fluorescencia del Fe). (C) Espectros  $\mu$ -XANES de las mismas muestras, los símbolos (+), (o), (x), (#) corresponden a los puntos en (A) y (B) y a los resultados del ajuste de combinaciones lineales con los compuestos modelo señalados.

#### 4. CONCLUSIONES

Se realizó la especiación del Fe presente en material particulado  $\text{PM}_{10}$  proveniente del monitoreo de la ciudad de León, Gto., encontrando que el Fe presente en las muestras analizadas contienen una mezcla de compuestos de Fe (III) y Fe (II) el cual está en menor cantidad, razón por la cual no se pudo identificar por XAS y si se determinó por  $\mu$ -XRF. A fin de elucidar sobre la fuente emisora se realizaron ajustes de combinaciones lineales con las muestras y polvo y suelo, encontrándose mayor porcentaje de composición del suelo en la mayoría de las muestras por lo que se pueden sugerir acciones tendientes a mejorar la calidad del aire de la ciudad, como son la pavimentación de caminos de terracería, reforestación de zonas erosionadas y un mejor control en el tráfico vehicular, así como la publicación continua de la calidad del aire en la ciudad de León, Gto.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Parte de esta investigación se llevó a cabo en el Stanford Synchrotron Radiation Lightsource, una instalación nacional operada por la Stanford University y a cargo del U.S. Department of Energy, Office of Basic Energy Sciences. El Programa de Biología Estructural Molecular es apoyado por el Department of Energy, Office of Biological and Environmental Research, y por el National Institutes of Health, National Center for Research Resources, Biomedical Technology Program.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Gilli G, Traversi D, Rovere R, Pignata C, Schilirò T (2007) Airborne particulate matter: Ionic species role in different Italian sites. *Environ Res* 103: 1-8
2. Cho SH, Yoo JI, Turley AT, Miller CA, Linak WP, Wendt JOL, Huggins FE, Gilmour MI (2009) Relationships between composition and pulmonary toxicity of prototype particles from coal combustion and pyrolysis. *Proceedings of the Combust Inst* 32: 2717-2725

3. Gladtko D, Volkhausen W, Bach B (2009) Estimating the contribution of industrial facilities to annual PM<sub>10</sub> concentrations at industrially influenced sites. *Atmos Environ* 43: 4655-4665
4. Dockery DW, Pope CA, Xu XP, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris BG, Speizer FE (1993) An association between air pollution and mortality in 6 United States cities. *N Engl J of Med* 329:1753–1759

## ACTIVIDAD AMEBICIDA, TOXICA Y CITOTOXICA DE *Heliotropium amplexicaule*

Catalina Leos Rivas<sup>a</sup>, Maria Julia Verde Strar<sup>a</sup>, Maria Azucena Oranday Cárdenas<sup>a</sup>, Ledy Elizabeth Garcia Becerra<sup>a</sup>, Catalina Rivas Morales<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Facultad de Ciencias Biologias. Av. Pedro de Alba s/n Cd Universitaria, San Nicolas de los Garza, Nuevo Leon, Mexico. catalinaleosrivas@yahoo.com

### RESUMEN:

*H. amplexicaule* es una planta perteneciente a la familia Boraginacea con antecedentes de contenido de compuestos con interés farmacológico. En este estudio se investigó la actividad biológica de los extractos metanólicos de raíz, tallo, flor y hojas de *H. amplexicaule*. Los resultados mostraron un efecto amebicida significativo sobre *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS con IC<sub>50</sub> de 2, 8, 36 y 114.2 µg/mL para raíz, tallo, flor y hojas respectivamente. Sobre la línea celular Vero presentaron CI<sub>50</sub> de: 250, 200, 175 y 150 µg/mL para raíz, tallo, hoja y flor respectivamente; ninguno de los extractos mostró toxicidad sobre *A. salina* con una LD<sub>50</sub> > 1,000 µg/ml. El extracto que presento mayor actividad amebicida fue el de raíz con un índice terapéutico de 125.

### INTRODUCCIÓN

Se ha reportado el incremento de resistencia de los microorganismos a los diferentes antibióticos utilizados para su tratamiento, por otro lado también tenemos el problema de los efectos secundarios que producen estos antibióticos los cuales no solo matan a el microorganismo sino que también dañan al hospedero. Desde la antigüedad las plantas medicinales han sido utilizadas por los indígenas para tratar diversos padecimientos, es por eso que basándose en el conocimiento ancestral se trata de rescatar esta práctica no solo para conservar tradiciones sino también para la atención primaria de la población, así como para la obtención de nuevos fármacos que sean eficientes contra los microorganismos pero al mismo tiempo gentiles con el hospedero<sup>1</sup>. México es posee una biodiversidad bastante amplia, en la cual se tienen identificadas más de 5,000 especies con aplicaciones curativas las cuales no han sido validadas científicamente.

Los paracitos son un problema de salud pública, en especial *E. histolytica*, ya que esta es responsable de 40 000 a 100 000 muertes anualmente a nivel mundial, dicho parasito además ha reportado resistencia a el fármaco utilizado en su tratamieto, el metronidazol, además este fármaco tiene una gran cantidad de efectos secundarios debido a que tiene propiedades carcinogénicas, teratogénicas y embriogénicas<sup>2</sup>.

Por lo antes mencionado es por lo que en la actualidad se están estudiando alternativas de origen natural que sean eficaces contra el patógeno pero al mismo tiempo no presenten efectos secundarios o que estos sean mínimos, es por esto que en la actualidad se ha puesto un principal interés en los extractos de plantas con antecedentes etnobotánicos, se tienen reportes de compuestos con actividad antiprotozoario obtenidas de plantas como la emetina, la quinina y la artemisinina, aislados de especies de plantas superiores<sup>2</sup>; para poder validar estos compuestos se lleva a cabo la investigación fitoquímica, la cual tiene como objetivo principal aislar principios activos, identificarlos, determinar su estructura y encontrar sus posibles aplicaciones.

Es este estudio se pone atención en familia Boraginaceae que comprende alrededor de 130 géneros y 2600 especies distribuidas en zonas tropicales, se tiene reportes de compuestos es esta familia como terpenos, alcaloides pirrolizados, flavonoides y naftaquinonas, también se tiene evidencia del uso etnofarmacológico de algunas especies de esta familia para combatir diversas enfermedades como diarreas, infecciones y parásitos intestinales<sup>3,4,5</sup>. En un estudio realizado por Perianayagam *et al*<sup>6</sup> se evaluó la actividad antimicrobiana de compuestos aislados del extracto etanólico de raíz de *Trichodesma indicum* y se encontró que el extracto posee una potente actividad contra *S. aureus*, *B. subtilis* y *C. albicans* con una CMI de 19.2 µg/mL y algunos de los compuestos presentaron actividad antibacterial sobre *S. aureus* con CMI de 2.4 µg/mL. También de esta familia se ha estudiado *Bourreria spathulata* la que de forma tradicional se utiliza para combatir a la malaria en Panamá, dicho uso fue corroborado científicamente por Calderón *et al* observando una IC<sub>50</sub> menor a 10 µg/mL. La planta estudiada en este trabajo es *H. amplexicaule*, de

este género se tiene reporte de poseer alcaloides pirrolizados, flavonoides y derivados aromáticos del geranil, hay aproximadamente 250 especies distribuidas en ambos hemisferios<sup>8</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL

La planta fue colectada en Monterrey, Nuevo Leon, se identificó en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL con número de identificación 25527, la planta fue secada y separada en hojas, flor, tallos y raíz esta se trituro y se obtuvo el extracto metanólico por medio de maceración utilizando 30 g de planta en 250 mL del solvente y se mantuvo en agitación por siete días, el extracto se filtró y se evaporo hasta sequedad con presión reducida en un rotavapor.

### Toxicidad sobre *Artemia salina*

La *A. salina* con 48 h de eclosionada en agua de mar artificial (Instant Ocean) se pusieron en microplacas de 96 pozos (10 artemias/pozo/100 $\mu$ L), a los pozos se les adiciono 100  $\mu$ L de cada una de las concentraciones probadas (0, 100, 300, 500 y 1000  $\mu$ L) de los diferentes extractos, una vez agregadas las concentraciones se incubaron por 24 h<sup>9</sup> pasado este tiempo se contó la cantidad de artemias muertas/total para determinar la viabilidad y la dosis letal 50% (DL<sub>50</sub>), se realizó por triplicado de manera independiente y se calculó la desviación estándar. Según el criterio de toxicidad tomado en cuenta para este trabajo se considera toxica una CL<sub>50</sub> < 500  $\mu$ L, toxicidad débil  $\geq 500 \leq 1000$   $\mu$ L y no toxico > 1000  $\mu$ L.<sup>10</sup>

### Actividad sobre *E. histolytica*

Para determinar la actividad amebicida se realizó de acuerdo a lo descrito por Leos-Rivas *et al*<sup>11,12</sup> para probar los extractos se preparó una solución stock de 40 mg/mL en dimetil sulfóxido (DMSO) y se esterilizaron por filtración, a partir de esta se prepararon cinco concentraciones (2, 20, 60, 100 y 200  $\mu$ L) en 5 mL de medio TYI-S-33 suplementado con 10% suero y 1% Penicilina/Esterptomicina, para el ensayo se emplearon tubos de boro silicato con tapon de rosca 13X100 mm, en estos se inocularon con 1x10<sup>4</sup> cel/mL y se pusieron a incubación a 37°C por 6 d para posteriormente determinarse la densidad con la ayuda de un hemocitómetro, como control positivo se utilizó metronidazol y la Conentración Inhibitoria Media se obtuvo utilizando la prueba Probit<sup>13</sup>.

### Citotoxicidad

Para esta determinación se utilizaron células Vero de riñón de mono verde africano (American Type Culture Collection: CCL-81) cultivadas en medio M-199 (Gibco, cat. 11150-059) con 4% de suero fetal bovino y 1% de Penicilina/Estreptomocina con atmósfera húmeda, 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C, el ensayo se realizó en microplacas de 96 pozos con 3x10<sup>6</sup> celulas/pozo en 100  $\mu$ L del medio anteriormente descrito y fue incubada a 37°C en las mismas condiciones por 24h después de este periodo a cada pozo se le adiciono 100  $\mu$ L de medio de cultivo con los extractos a probar en sus diferentes concentraciones (0, 100, 300, 500 y 1000  $\mu$ L) y se incubaron 24 h más, pasado este periodo de tiempo se le adiciono 10  $\mu$ L del reactivo Cell Titer-Blue (Promega, cat. G8080) a cada pozo y se incubo por 2 h para posteriormente medir la absorbancia a 550 nm en un lector de microplacas (Biotek, Modelo ELX800), el control positivo utilizado fue Triton X-100 2.5%, con los datos obtenidos se determino el porcentaje de viabilidad y la Concentración Inhibitoria 50% (IC<sub>50</sub>).

### Pruebas Fitoquímicas

A los extractos metanolicos se les realizaron la pruebas químicas convencionales para así poder identificar parcialmente los grupos funcionales presentes<sup>14</sup>.

## RESULTADOS

Los resultados se presentan en la Tabla 1 en donde se observa que el extracto que presento una mayor actividad sobre *E. histolytica* fue el de raíz el cual al mismo tiempo mostro una menor toxicidad sobre células vero y según los criterios de toxicidad sobre *A. salina* no presentó toxicidad.

<i>H. amplexicaule</i>	CI <sub>50</sub> <i>E. histolytica</i> ( $\mu$ g/mL)	CI <sub>50</sub> células vero ( $\mu$ g/mL)	DL <sub>50</sub> <i>A. salina</i> ( $\mu$ g/mL)
------------------------	---	--	--

Tallo	8	200	> 1,000
Hojas	114	175	> 1,000
Raíz	2	250	> 1,000
Flor	36	150	> 1,000
Control Positivo	0.0846	25	50

Todos los extractos mostraron actividad sobre *E. histolytica* lo cual concuerda con reportes previos dentro de la familia Boraginaceae como lo reportado para *Turnefortia densiflora* con una IC<sub>50</sub> de 69.1 µL/mL<sup>15</sup> y para *Borago officinalis* con una IC<sub>50</sub> de 33 µL/mL<sup>11</sup>. En cuanto a su toxicidad según el criterio tomado en cuenta<sup>10</sup> ninguno de los extractos es considerado toxico y en cuanto a los valores obtenidos en el ensayo de citotoxicidad sobre células Vero los cuales fueron CI<sub>50</sub> de: 175, 250, 150, y 200 µg/mL para hoja, raíz, flor y tallo respectivamente. Lo que resalta de estos resultados es el extracto metanólico de raíz ya que en este la CI<sub>50</sub> para las células Vero es de 250 µg/mL mientras que la CI<sub>50</sub> para *E. histolytica* es de 2.0 µg/mL, por lo que resulta 125 veces menor la dosis para *E. histolytica* lo cual indica que el extracto es específico, sin embargo se recomienda que el *H. amplexicaule* (heliotropo) sea consumido por periodos cortos debido a que contiene alcaloides del tipo pirrolizidínicos que pueden causar daño en hígado<sup>16</sup>.

Los extractos metanólicos contienen lactonas, fenoles, azúcares, terpenos, esteroides y alcaloides. El potencial terapéutico de plantas de la familia Boraginaceae, ha sido demostrado y atribuido a compuestos fitoquímicos polares como compuestos fenólicos, quinonas y alcaloides<sup>8</sup>.

### CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de *H. amplexicaule* poseen una actividad amebicida relevante con una CI<sub>50</sub> de 114, 2, 36 y 8 µg/mL para hojas, raíz, inflorescencias y tallos respectivamente, baja citotoxicidad para las células Vero y no presenta toxicidad sobre *A. salina*. Estos resultados indican que *H. amplexicaule* tiene potencial para combatir infecciones gastrointestinales causadas por *E. histolytica* y amerita futuros estudios en aplicaciones clínicas para los extractos de esta planta.

### Agradecimientos

Este trabajo es parte de la tesis doctoral de Catalina Leos Rivas con apoyo CONAYT No. 204599 y la Universidad Autónoma de Nuevo León (Proyecto PAICYT-CA1502-07)

### BIBLIOGRAFÍA

1. Chellaiah Muthu, Muniappan Ayyanar, Nagappan Raja and Savarimuthu Ignacimuthu. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2006; 2:43
2. Calzada Fernando, Yépez-Mulia Lilian, Aguilar Abigaíl. In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006; 108: 367–370
3. da Silva Sâmia Andrica S., Agra Maria de Fátima, Tavares Josean F., da-Cunha Emídio V.L., Barbosa-Filho José Maria, da Silva Marcelo S. Flavones from aerial parts of *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth, Boraginaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2009. doi: 10.1590/S0102-695X2010005000006
4. Craig D. Dodson, Frank R. Stermitz. Pyrrolizidine Alkaloids from Borage (*Borago officinalis*) Seeds and Flowers. *J. Nat. Prod.* 1986; 49 (4), pp 727–728
5. Ragaa M. A. Mansour, Nabil A. M. Saleh. The Flavonoids of *Alkanna orientalis*. *J. Nat. Prod.* 1986; 49 (2), p 356.

6. Perianayagam JB, Sharma SK, Pillai KK, Pandurangan A, Kesavan D. Evaluation of antimicrobial activity of ethanol extract and compounds isolated from *Trichodesma indicum* (Linn.) R. Br. root. *J Ethnopharmacol.* 2012 Jun 26;142(1):283-6.
7. Calderón AI, Simithy-Williams J, Gupta MP. Antimalarial natural products drug discovery in Panama. *Pharm Biol.* 2012 Jan;50(1):61-71.
8. Villarreal L., Torres R., Urzúa A., Reina M., Cabrera R., González-Coloma A. Heliotropium huascoense resin exudate: chemical constituents and defensive properties. *J Nat Prod.* 2001; 64(9):1123-6.
9. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* , 1982; 45:31–34.
10. Déciga-Campos M, Rivero-Cruz I, Arriaga-Alba M. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol.* 2007; 110:334–342.
11. Leos Rivas C, Verde Star M J, Osuna Torres L T, Oranday Cárdenas A, Rivas Morales C, Barrón González M P, Morales Vallarta M R, Cruz Vega D E. In vitro amoebicidal activity of Borage (*Borago officinalis*) extract on *Entamoeba histolytica*. *J Med Food.* 2011;14(7-8):866-9.
12. Diamond LS. *Entamoeba histolytica* Schaudin 1903: from xenic to axenic cultivation. *J Protozool.* 1986; 33:1–5.
13. Finney DJ. Probit Analysis. 3rd ed. Cambridge, United Kingdom, Cambridge University Press. 1971.
14. Cannell RJP. Methods in Biotechnology Natural Products Isolation. Totowa, New Jersey, Humana Press. 1998. pp. 356–358.
15. Tapia-Pérez ME, Tapia-Contreras A, Cedillo-Rivera R, Osuna L, Meckes M. Screening of Mexican medicinal plants for antiprotozoal activity—part II. *Pharmaceut Biol.* 2003; 41:180–183.
16. McGuffin M, Hobbs C, Upton R, Goldberg A. American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook. Boca Raton, Florida, CRC Press. 1997.

# IDENTIFICACIÓN DE LA ESTRUCTURA MOLECULAR EN EL PS-OH, PS-CN Y PS-CH<sub>3</sub> POR FTIR

O. Gutiérrez-Arriaga<sup>a</sup>, R. Huirache-Acuña<sup>b</sup>, L.A. Madrigal-Pérez<sup>a</sup>, W.I. Cortés-Cruz<sup>a</sup>, C.G. Gutiérrez-Arriaga<sup>c</sup>, J.J. Guillén-Arroyo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Hidalgo, Cd. Hidalgo; Mich., omar\_ga\_79@hotmail.com, luis-madrigal1@hotmail.com, wal\_ace@hotmail.com, jguillen@itsch.edu.mx

<sup>b</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich., rafael\_huirache@yahoo.it

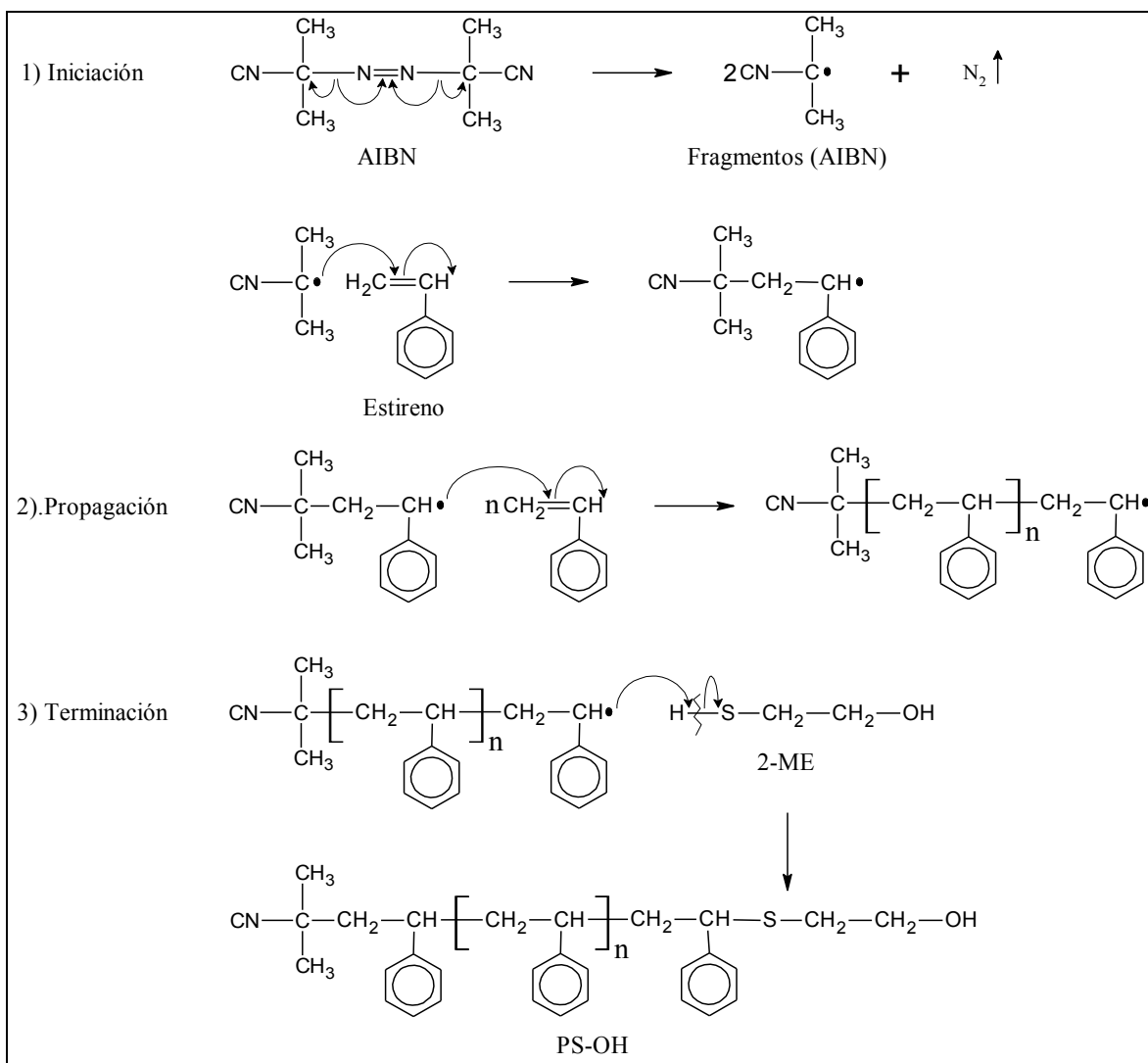
<sup>c</sup>Instituto Tecnológico de Morelia, Morelia, Mich., cesargiovani7@hotmail.com

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se enfoca en la preparación del poliestireno con terminación hidroxilo (PS-OH), nitrilo (PS-CN) y metilo (PS-CH<sub>3</sub>), mediante polimerización en solución vía radicales libres. Las cadenas de PS-OH y PS-CH<sub>3</sub> se prepararon empleando 2-mercaptano etanol (2-ME) y 1-dodecanotiol (1-DDT), respectivamente, como agentes de transferencia de cadena funcional; mientras que el PS-CN se preparó sin emplear agente de transferencia. Estos poliestirenos se purificaron con metanol puro y se secaron hasta peso constante, para posteriormente pulverizarlos y asimismo obtener polvos poliméricos. Por FTIR se determinó el nivel de absorbanza de luz infrarroja, por las estructuras moleculares de los polímeros; asimismo se identificó una banda con vibración de tensión del grupo hidroxilo a 3465 cm<sup>-1</sup>, un cuasi-pico con vibración de tensión del grupo nitrilo a 2260 cm<sup>-1</sup> y un pico con deformación de sombrilla del grupo metilo a 1370 cm<sup>-1</sup>; que diferencian las estructuras químicas de los poliestirenos.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la síntesis de polímeros que se obtienen a partir de monómeros vinílicos como el estireno se emplea la polimerización por adición de radicales libres [1]. Esta polimerización implica la adición de radicales libres al doble enlace carbono-carbono del monómero [2] y consta de tres etapas: I) Iniciación. Se origina a partir de la ruptura de enlace de la molécula *iniciador*, obteniéndose dos fragmentos de este con un electrón desapareado cada uno. Posteriormente estos electrones interactúan sobre el doble enlace carbono-carbono del monómero para establecer un nuevo enlace químico entre el fragmento de iniciador y uno de los carbonos de la molécula de monómero. Las moléculas de iniciador pueden ser peróxido de benzoilo o 2-2' azobisisobutironitrilo (AIBN). II) Propagación. Se origina con la interacción del electrón desapareado, del otro carbono del monómero, con otra molécula de monómero; similarmente como se llevó a cabo con el fragmento de iniciador. Esta etapa tiene como objetivo adicionar un sin número de moléculas monoméricas en la cadena en crecimiento. III) Terminación. En cierto momento el radical libre actúa inestablemente y se aparea sin dar origen a otro radical libre. Por tanto, la cadena polimérica comienza a detener su crecimiento cuando se encuentra con otra cadena polimérica para establecer un nuevo enlace químico entre ambas cadenas. Sin embargo, el crecimiento de la cadena polimérica también puede controlarse, con la ayuda de agentes de transferencia de cadena funcional (2-ME) que detienen o prolongan este crecimiento, y, además, evitan su interacción con otra cadena polimérica [3] (Figura 1).



**Figura 1** Mecanismo de reacción en la síntesis del PS-OH

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

En el presente subcapítulo se describen los reactivos y solvente, que se emplearán experimentalmente. Posteriormente se menciona el procedimiento para la síntesis de los poliestirenos orgánicos, por polimerización en solución, vía radicales libres.

### 2.1. Reactivos y solvente

El gas nitrógeno de alta pureza fue adquirido por la Compañía Infra y se utiliza tal y como se recibe. El 2-2' azobisisobutyronitrilo (AIBN), 2-mercaptano etanol (2-ME), 1 dodecanotiol (1-DDT), tolueno, estireno y metanol; fueron adquiridos por la Compañía SIGMA-ALDRICH y se utilizan tal y como se reciben.

### 2.2. Síntesis de los poliestirenos vía radicales libres

La síntesis del poliestireno con terminación hidroxilo (PS-OH) y poliestireno con terminación metilo (PS-CH<sub>3</sub>), se efectúa adicionando el inhibidor de polimerización gas nitrógeno, iniciador de polimerización AIBN, los agentes de transferencia de cadena funcionales correspondientes 2-ME y 1-DDT, el solvente tolueno y monómero estireno; dentro de un reactor de vidrio con capacidad en

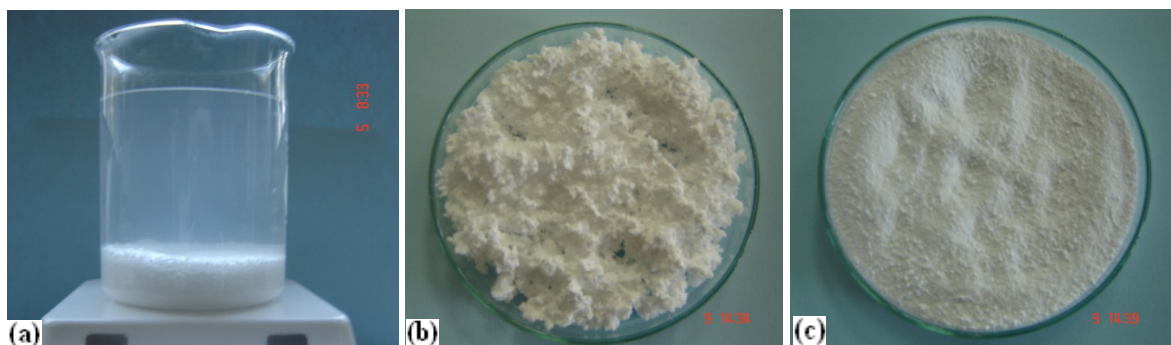


volumen de 1 L, y con suministración y recirculación de agua como medio de calentamiento exterior. La síntesis del poliestireno con terminación nitrilo (PS-CN) se realizó no empleando agentes de transferencia. Al reactor se le introdujo, por la parte superior, una barra de acero con aspas, ensamblada a un mecanismo giratorio. El agua se calentó y recirculo al reactor, con un equipo refrigerante-circulatorio de temperatura programada y controlada (VWR; 1197P). Primeramente se introdujo gas nitrógeno, dentro del reactor, para expulsar el oxígeno de este y, así, evitar la inhibición en el crecimiento de las cadenas poliméricas, por la interacción de los radicales libres del monómero con el oxígeno. El nitrógeno se suministró por una boquilla, que tiene la tapa del reactor, y se expulsó por otra, situada en la misma zona. El estireno se adicionó al último (establecida la temperatura y con la adición previa de inhibidor, reactivos y solvente, en el reactor) para permitir, adecuada y consecutivamente, la etapa de iniciación, propagación y terminación, en la síntesis de los poliestirenos. Esta síntesis duró 5 horas. La temperatura y velocidad de agitación, en el reactor, fue 70°C y 300 rpm; que permanecieron constantes durante la síntesis polimérica. La relación molar de iniciador/agente/monómero fue  $2 \times 10^{-4}/5 \times 10^{-3}/1 \times 10^{-1}$ , respectivamente [4,5]. Los polímeros sintetizados se concentraron en un rotavapor, para hacer más eficiente el proceso de purificado (Figura 2). El solvente es independiente de esta relación.



**Figura 2** (a) Condiciones controladas de operación en la síntesis del polímero, (b) polímero en solución, sintetizado y (c) concentración del polímero

Una vez sintetizado los poliestirenos en solución, se adicionó gota o gota, con una pipeta Pasteur, a la solución precipitante (metanol) para separar el polímero (purificar) del monómero y agente de transferencia residuales. La solución precipitante se mantiene en baja temperatura (4°C) y agitación vigorosa (400 rpm) para optimizar el proceso de purificado y, así, obtener un polímero (precipitado) con alto grado de pureza [4]. El precipitado se separó de la solución, por decantación, y se depositó, en fracciones pequeñas, en una caja Petri, para secarlo hasta peso constante en una estufa de vacío programado y controlado (Fisher Scientific Isotemp; 282A). El polímero secado se disolvió, nuevamente, en tolueno y se repitió el proceso de purificado y secado, en este, para excluir totalmente los residuales. Los poliestirenos purificados y secados, se pulverizaron, en un extractor hermético de acero inoxidable, para generar polvos finos y, por tanto, emplearlos cuantitativamente bien (Figura 3). Los polvos finos se colocaron en un desecador para retirar la humedad, mínima, en los polímeros.



**Figura 3** (a) Proceso de purificado del polímero, (b) polímero seco y (c) polvo de polímero

### 2.3. Herramientas de caracterización

En el presente subcapítulo se describe la herramienta de caracterización que se aplicó a los polvos poliméricos, así como las especificaciones del equipo utilizado.

La espectroscopia IR/ATR se efectuará en un equipo (Bruker; ATR400) constituido de un reflector total atenuado para el haz de la muestra, un sistema óptico de reflexión, una plataforma plana con cristal de ZnSe, un mecanismo de presión manual, un rango de número de onda de  $650$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ . La muestra se coloca, horizontalmente, sobre la plataforma y se gira el mecanismo de presión a  $60\text{ lb/pulg}^2$  sobre esta, para incidir el haz y obtener su espectro.

### 3. CONCLUSIONES

En los espectros de los polvos de PS-OH, PS-CN y PS-CH<sub>3</sub> (Figura 4), se comparan paralelamente los picos o bandas principales, o inexistentes. En el poliestireno con terminación hidroxilo una banda con vibración de tensión ( $\nu$ ) del grupo OH a  $3465\text{ cm}^{-1}$  proveniente del 2-mercaptano etanol; en el poliestireno con terminación nitrilo un incremento mínimo de absorbancia en el cuasi-pico con  $\nu$  del grupo CN por la presencia mayor del fragmento 2-2' azobisisobutironitrilo en la cadena polimérica; y en el poliestireno con terminación metilo un pico con deformación de sombrilla ( $\delta_u$ ) del grupo CH<sub>3</sub> a  $1370\text{ cm}^{-1}$ . La presencia mayor del 2-2' azobisisobutironitrilo, en la cadena polimérica, se debe a la interacción entre cadenas que lo contienen, por la ausencia del agente de transferencia que permite esta interacción. En los tres polvos, la inexistencia de los picos C=C y C-N, a  $1545$  y  $1230\text{ cm}^{-1}$  [6], provenientes del estireno y 2-2' azobisisobutironitrilo respectivamente y, por tanto, la corroboración de la polimerización C-C•, entre moléculas monoméricas, e interacción molecular C-C, entre el fragmento de iniciador y monómero. Asimismo, en el poliestireno con terminación hidroxilo y metilo, la inexistencia del pico H-S, a  $2555\text{ cm}^{-1}$  [7], del 2-mercaptano etanol y 1-dodecanotiol, confirmando la interacción molecular C-S, entre el monómero y agente de transferencia. Sin embargo, se evidencia el desplazamiento insignificante de picos, en ambos poliestirenos, por transferencia de la cadena funcional a estos.

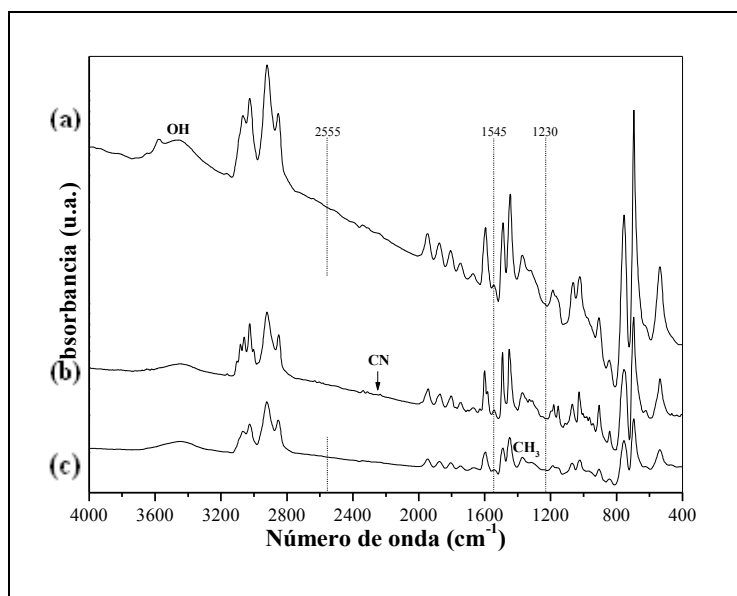


Figura 4 Espectro FTIR: (a) del polvo de PS-OH, (b) PS-CN y (c) PS-CH<sub>3</sub>

La polimerización en solución, vía radicales libres, es una técnica, de procesamiento de materiales poliméricos, adecuada para sintetizar el PS-OH, PS-CN y PS-CH<sub>3</sub>, porque se puede emplear un monómero vinílico, como es el estireno, y porque, en este sistema homogéneo de polimerización, se tiene la ventaja de no consumir bastante energía a consecuencia de la baja temperatura de síntesis. Asimismo, esta técnica promueve la obtención de materiales poliméricos muy puros y con un alto rendimiento, por arriba del 88%, como es el caso de los poliestirenos.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. R.P. Beliles, J.H. Butala, C.R. Stack, S. Makris, "Chronic toxicity and three-generation reproduction study of styrene monomer in the drinking water of rats", *Fundam. Appl. Toxicol.*, Vol. 5, 1995, pp. 855-868.
2. S. Jungin, B. Won, L. Youn-Woo, K. Hwayong, "Kinetics for free radical solution polymerization of heptadecafluorodecyl (meth)acrylate in supercritical carbon dioxide", *Korean Journal of Chemical Engineering*, Vol. 24, 4, 2007, pp. 664-669.
3. L.M. Gugliotta, A. Salazar, J.R. Vega, G.R. Meira, "Emulsion polymerization of styrene. Use of n-nonyl mercaptan for molecular weight control", *Polymer*, Vol. 42, 2010, pp. 2719-2726.
4. S.R. Vásquez-García, R. Salgado-Delgado, J.A. Trejo-O'Reilly, E. Martínez, V.M. Castaño, "Síntesis and caracterización of ethyl acrylate-methyl acrylate oligomers with a hydroxyl end group", *Internacional Journal of Polymer Materials*, Vol. 53, 2004, pp. 735-748.
5. O. Gutiérrez-Arriaga, S.R. Vásquez-García, N. Flores-Ramírez, G. Luna-Bárcenas, G. Barrera-Cardiel, C.A. León-Patiño, "A film of polystyrene hydroxyl end group supported on SiO<sub>2</sub> monoliths: Thermal conductivity and micro-indentation", *Global Journal of Science Frontier Research: B Chemistry*, Vol. 12, 6, 2012, pp. 1-9.
6. X. Kai Fu, Y. Sui, L. Chen, "Preparation of polystyrenylphosphonous acid of low polymerization degree and influence of initiators upon the free radical reaction mechanism", *Chinese Chemical Letters*, Vol. 13, 3, 2002, pp. 219-222.
7. X.H. Zhang, S.F. Wang, "Voltametric behavior of noradrenaline at 2-mercaptoethanol self-assembled monolayer modified gold electrode and its analytical application", *Sensors*, Vol. 3, 2003, pp. 61-68.

# SÍNTESIS DE SOLUCIONES SÓLIDAS DE HIDROXIAPATITA DOPADA CON SILICIO Y SU CARACTERIZACIÓN

B. Moreno Pérez<sup>a</sup>, Z. Matamoros Veloza<sup>a</sup>, J. C. Rendón Ángeles<sup>b</sup>, K. Yanagisawa<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Instituto Tecnológico de Saltillo, Blvd. V. Carranza #2400, Colonia Tecnológico, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, México, E-mail:bnmoreno24@gmail.com

<sup>b</sup> CINVESTAV-IPN, Unidad Saltillo, Industrial, Zona Industrial, C.P. 25903, Ramos Arizpe, Coahuila, México,

<sup>c</sup> Research Laboratory of Hydrothermal Chemistry, Faculty of Science, Kochi University, 2-5-1, Akebono-cho, Kochi 780-8520.

## RESUMEN

En la actualidad existen varias rutas de síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita dopada con silicio (Si-HAp), ya que es uno de los biomateriales con aplicaciones biomédicas potenciales debido a su naturaleza bioactiva durante la formación de hueso. En el presente trabajo, se sintetizaron polvos de soluciones sólidas de Si-HAp mediante el método de síntesis hidrotérmica. Las soluciones sólidas de Si-HAp se prepararon con diferentes contenidos molares (0, 4, 10 y 20% mol de silicio), empleando solución precursora de silicio, la solución acuosa de silicato de tetrametilamonio ( $C_4H_{13}NO_3Si_2$ ). La síntesis se llevó a cabo a temperatura de 150 °C, durante un tiempo de 12 horas en condiciones hidrotérmicas convencionales. Los resultados estructurales obtenidos del análisis por difracción de rayos-x indican que las soluciones sólidas de Si-HAp presentan únicamente la fase de la hidroxiapatita estequiométrica, adicionalmente con el incremento del contenido de silicio en la solución sólida, se evidencia un desplazamiento con respecto a las fases de HAp pura, este desplazamiento de las reflexiones en el patrón de difracción ocurrió hacia menores ángulos  $2\theta$ . Así mismo, estos resultados son corroborados con el análisis por FT-IR, donde se aprecian bandas adicionales en 894 y 470  $cm^{-1}$ , correspondientes a la presencia de grupos silicatos ( $SiO_4^{4-}$ ), lo que indica la sustitución de los grupos silicatos por algunos de los grupos de fosfatos ( $PO_4^{3-}$ ) en la estructura de las soluciones sólidas de Si-HAp.

**Palabras clave: soluciones sólidas, síntesis hidrotérmica, hidroxiapatita**

## 1. INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita sintética (fosfato de calcio hidratado,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) es un material cerámico muy similar a la apatita que constituye los huesos de los organismos vertebrados. Además, las características importantes de la hidroxiapatita son la biocompatibilidad <sup>[1]</sup>; así como su naturaleza química que permite la sustitución con otros iones, que pueden incluir el ion  $Mg^{2+}$  <sup>[2]</sup> y  $SiO_4^{4-}$  <sup>[3]</sup>, mejorando su biocompatibilidad, y con ello se promueve su aceptación y adecuada osteointegración en el tejido óseo <sup>[4]</sup>. La intención de sintetizar HAp dopada con pequeños contenidos (%mol) de silicio es verificar la máxima concentración molar que es capaz de sustituirse sin alterar la estructura y a su vez obtener una solución sólida de Si-HAp con características semejantes a la fase mineral presente en el hueso. Entre las aplicaciones más importantes de la HAp se tienen los recubrimientos de este cerámico sobre diversos biomateriales metálicos <sup>[5,6]</sup>.

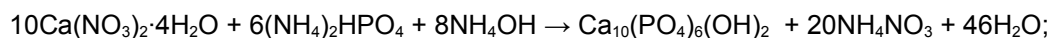
Existen diversos métodos de síntesis para la obtención de HAp entre los cuales se tienen el método por precipitación <sup>[7]</sup> y sol-gel entre otros, sin embargo todos involucran tratamientos térmicos posteriores <sup>[8]</sup>. En contraste, el método hidrotérmico, es una tecnología eficaz para la síntesis de materiales cerámicos. El proceso de cristalización de fases sólidas bajo condiciones hidrotérmicas normalmente es conducido bajo presión autógena, logrando una presión de vapor saturada de la solución en la temperatura específica y composición de la solución <sup>[9]</sup>. Las ventajas del método hidrotérmico respecto a las otras tecnologías de síntesis, son la capacidad de controlar la estequiometría, el tamaño y forma de partícula sin necesidad de realizar tratamientos térmicos adicionales <sup>[10]</sup>. El método hidrotérmico se ha empleado para sintetizar soluciones sólidas de hidroxiapatita <sup>[3]</sup>. El presente trabajo, estudia el efecto de diferentes concentraciones molares de silicio en la cristalización y morfología de las muestras de Si-HAp obtenidas a través del método hidrotérmico.

## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 2.1 Síntesis hidrotérmica

Para la síntesis hidrotérmica de polvos de hidroxiapatita dopada con diferentes concentraciones molares de silicio (Si-HAp), inicialmente se prepararon soluciones acuosas precursoras de nitrato de calcio tetrahidratado  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1 M (Aldrich, 99%), fosfato dibásico de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0.6 M (Aldrich, 98%) y solución de silicato de tetrametilamonio  $(\text{C}_4\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{Si}_2)$  0.6 M (Aldrich, 99.99%). Las concentraciones de las soluciones precursoras utilizadas para la preparación de las soluciones acuosas se determinaron en base a la estequiometría de la reacción, asumiendo que el silicio puede sustituir al fósforo en la estructura de la HAp y manteniendo la relación estequiométrica de acuerdo a la reacción química, manteniendo la relación  $(\text{Ca})/(\text{P}+\text{Si})$  de 1.67 (Tabla 1), de acuerdo a las siguientes reacciones:

a) Ecuación de la reacción química para la hidroxiapatita pura:



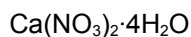
b) Ecuación de la reacción química para las soluciones sólidas de hidroxiapatita dopada con silicio:



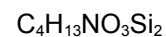
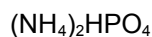
Tabla 1. Fórmula de las muestras de soluciones sólidas de hidroxiapatita y las cantidades molares empleadas para su preparación.

Muestra (%mol)	n $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (1 M)	n $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0.6 M)	n $\text{C}_4\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{Si}_2$ (0.6 M)	Formula química	Relación $\text{Ca}/(\text{P} + \text{Si})$
HAp	10	6	0	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
4Si-HAp	10	5.76	0.24	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5.76}(\text{SiO}_4)_{0.24}(\text{OH})_{1.76}$	1.67
10Si-HAp	10	5.40	0.60	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5.40}(\text{SiO}_4)_{0.60}(\text{OH})_{1.40}$	1.67
20Si-HAp	10	4.80	1.20	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{4.80}(\text{SiO}_4)_{1.20}(\text{OH})_{0.80}$	1.67

La síntesis de los polvos de HAp, se realizó mezclando las soluciones precursoras de calcio y fósforo bajo agitación constante. De la misma manera se llevó a cabo la síntesis de las soluciones sólidas de Si-HAp, mezclando las soluciones precursoras de fósforo y silicio agregando al final la solución precursora de calcio. En ambos casos, el valor de pH se ajustó a 10 con amoníaco concentrado  $(\text{NH}_4\text{OH})$ . Finalmente, se efectuó la reacción en condiciones hidrotérmicas colocando la mezcla de soluciones en un reactor autoclave sellado, a una temperatura de 150 °C en un horno de laboratorio convencional durante 12 horas (Figura 1). Los productos de reacción se lavaron con agua destilada para eliminar el amoníaco remanente; y posteriormente se secaron a una temperatura de 100 °C. Finalmente los polvos fueron llevados a caracterización.



Disolución en agua destilada



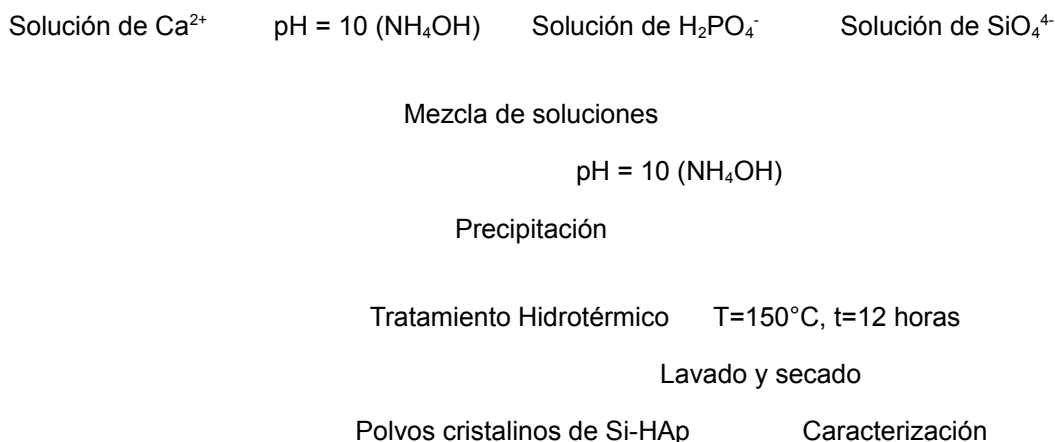


Figura 1. Diagrama de flujo del método para la síntesis de soluciones sólidas de Si-HAp.

## 2.2 Caracterización de polvos

Las fases presentes en las soluciones sólidas fueron determinadas por difracción de rayos-x empleando un difractómetro Philips con una radiación monocromática  $\text{CuK}\alpha$  con una longitud de onda ( $\lambda=1.514 \text{ \AA}$ ). El rango de análisis fue de  $10$  a  $80^\circ 2\theta$ . El tamaño de paso fue de  $0.02^\circ/\text{seg}$ .

Los grupos funcionales presentes en los polvos de HAp y Si-HAp fueron identificados a través de la técnica FTIR, en el rango de  $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ .

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los patrones de difracción de rayos-x de las soluciones sólidas obtenidas mediante la reacción utilizando soluciones precursoras en condiciones hidrotérmicas a  $150^\circ\text{C}$  durante 12 horas se muestran en la Figura 2. Los patrones de difracción indican que las reflexiones pueden ser indexadas de acuerdo a la carta JCPDS # 09-0432 correspondiente a la fase de hidroxiapatita, sin la presencia de otras fases relacionadas con otras fases de óxidos de silicio u otras especies de fosfatos de calcio, por lo que se asume que la sustitución de silicio en la estructura de la hidroxiapatita no afecta la estructura de la HAp. Todos los patrones de difracción de las soluciones sólidas Si-HAp corresponden a la fase de hidroxiapatita pura, no obstante las reflexiones de difracción presentan un pequeño desplazamiento hacia ángulos  $2\theta$  menores, mostrando una disminución en su intensidad, con el incremento del contenido de silicio, reflejando una pérdida de cristalinidad; este fenómeno puede estar asociado a que el silicio promueve la disminución del tamaño de cristal.

Figura 2. Patrones de difracción de rayos-x de las soluciones sólidas de Si-HAp, preparadas hidrotérmicamente a una temperatura de  $150^\circ\text{C}$  durante 12 horas: a) HAp; b) 4Si-HAp (4% molar); c) 10Si-HAp (10% molar); y d) 20Si-HAp (20% molar).

Por otra parte, los espectros del análisis por FT-IR se utilizaron para determinar el efecto de la sustitución de silicio sobre los grupos hidroxilo y fosfato respectivamente en la estructura de la hidroxiapatita. La Figura 3 muestra los espectros de infrarrojo de las soluciones sólidas Si-HAp sintetizadas. Se puede apreciar que las bandas  $3577$  y  $631 \text{ cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento y modos de vibración del grupo hidroxilo. El doblete entre  $1450$  y  $1408 \text{ cm}^{-1}$  se asigna a los grupos asociados al  $\text{CO}_3^{2-}$ , ya que el carbono está presente en la solución de silicato de tetrametilamonio empleada para la preparación de la solución precursora de silicio. Las bandas intensas en  $1085$  y

1025  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a modos de vibración de estiramiento del grupo P-O, mientras que el doblete en 601-561  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde al modo de flexión del enlace O-P-O. Por otra parte en el espectro de las soluciones sólidas Si-HAp se aprecian bandas adicionales en 894 y 470  $\text{cm}^{-1}$  que se pueden asignar a los grupos  $\text{SiO}_4^{4-}$  [3], correspondientes a la presencia del silicio, sustituyendo parte de los grupos de  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{OH}^-$  en su estructura.

Figura 3. Espectros de FT-IR para las muestras de soluciones sólidas Si-HAp, preparadas hidrotérmicamente a una temperatura de 150 °C durante 12 horas de reacción.

#### 4. CONCLUSIONES

Se produjeron exitosamente polvos de soluciones sólidas de hidroxiapatita a través de la síntesis hidrotérmica.

La incorporación silicio en la estructura de la hidroxiapatita se confirmó mediante los análisis de difracción de rayos-x y FT-IR, que confirman que se llevó a cabo la sustitución del grupo  $\text{PO}_4^{3-}$  por el grupo  $\text{SiO}_4^{4-}$ . El análisis de difracción de rayos-x reveló únicamente la presencia de la fase cristalina hidroxiapatita sin la existencia de fases secundarias en la estructura de las soluciones sólidas. Además, la incorporación de silicio promueve la eliminación de los grupos  $\text{OH}^-$  con la finalidad de mantener el balance de carga, ocasionando cambios en la estructura de la hidroxiapatita.

#### 5. FUENTES DE INFORMACIÓN

- [1] Ariadne Cristiane Cabral da Cruz, Márcia Thaís Pochapski, Josélia Borba Daher, Jose Caetano Zurita da Silva, Gibson Luiz Pilatti and Fábio André Santos, "Physico-chemical characterization and biocompatibility evaluation of hydroxyapatites", *Journal of Oral Science*, 48 (4), 2006, 219-226
- [2] F. Ren et al., "Synthesis, characterization and ab initio simulation of magnesium-substituted hydroxyapatite", *Acta Biomaterialia*, 6, 2010, 2787-2796
- [3] A. Aminiam et al., "Synthesis of silicon-substituted hydroxyapatite by a hydrothermal method with two different phosphorous sources", *Ceramics International*, 37, 2011, pp: 1219-1229
- [4] Hench, "Bioceramics: From concept to clinic", *J. Am. Ceram. Soc.*, 74, 1991, pp. 1487-1510
- [5] F.V. Anghelina et al., "Fine structure analysis of biocompatible ceramic materials based hydroxyapatite and metallic biomaterials 316L", *Applied Surface Science*, 285P, (2013), 65-71
- [6] T. Kokubo and S. Yamaguchi, "Novel bioactive titanate layers formed on Ti metal and its alloys by chemical treatments", *Materials*, 3, 2010, 48-63
- [7] Ferraz et al., "Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies", *Journal of Applied Biomaterials & Biomaterials*, 2, 2004, pp. 74-80
- [8] G. Renaudin, P. Laquerriere, Y. Filinchuk, E. Jallot and J. M. Nedelec. "Structural characterization of sol-gel derived Sr-substituted calcium phosphates with anti-osteoporotic and anti-inflammatory properties", *J. Mater. Chem.*, 18, 2008, pp. 3593-3600
- [9] R. E. Riman et al., "Hydrothermal crystallization of ceramics", *Ann. Chim. Sci. Mat.*, 27 (6), 2002, pp. 15-36
- [10] S. Somiya and R. Roy, "Hydrothermal synthesis of fine oxide powders", *Bull. Mater. sci.*, 23 (6), 2000, pp. 453-460

## **POLIQUETOS ASOCIADOS AL BIVALVO *Crassostrea rhizophorae* DE LA LAGUNA DE TÉRMINOS, CAMPECHE.**

María Elena García Garza

Lab. de Biosistemática Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León.

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

### **RESUMEN**

Se estudió la fauna poliquetológica asociada al sustrato biológico *Crassostrea rhizophorae* de la Laguna de Términos, Campeche. Las familias más abundantes y frecuentes fueron Spionidae, Syllidae, Cirratulidae, Serpulidae, Sabellidae, Capitellidae, Phyllodocidae, Eunicidae, Terebellidae, Nereididae y Onuphidae. Se observó que la biodiversidad de poliquetos y la abundancia, aumentan significativamente con el tamaño del bivalvo. Los poliquetos asociados a *Crassostrea rhizophorae* muestran una importante fuente de hábitat y micro hábitat para la biodiversidad de poliquetos dentro de las comunidades de macro invertebrados marinos.

Palabras Clave. Poliquetos, *Crassostrea rhizophorae*, Laguna de Términos

### **INTRODUCCIÓN**

Los anélidos poliquetos constituyen en general uno de los grupos zoológicos más importantes de las comunidades marinas, de fondos blandos y duros. También se han señalado como uno de los grupos más abundantes y diversos formando asociaciones con otros organismos (López & Stotz 1997). Por este motivo, el conocimiento de la poliquetofauna en las diferentes biocenosis del litoral es considerado importante para caracterizar los distintos hábitat bentónicos (Alós *et al.* 1982) e incluso para programas de vigilancia ambiental (Cañete *et al.* 2000), al constituir especies sensitivas o indicadoras de contaminación (Carrasco & Gallardo 1989).

La presencia y las características de sustratos biológicos tienen gran importancia para la biodiversidad de poliquetos. En este sentido, si consideramos que los sustratos biológicos son hospedadores que se comportan como islas para las especies que alojan (Kuris *et al.* 1980), se espera que el número de especies de poliquetos que soporta el sustrato biológico aumente con el tamaño corporal de este, tal como se esperaría para la relación especie-área en biogeografía de islas (Jaksic 2001).

En particular, para los organismos de cuerpo blando, como los poliquetos (Barnes 1987), los sustratos biológicos podrían constituir un refugio en constante crecimiento en cual se realicen aquellos eventos como reproducción, que en vida libre podrían tener menor probabilidad de ocurrencia, por la depredación.

El objetivo de este estudio fue identificar la fauna poliquetológica asociados al sustrato biológico del bivalvo *Crassostrea rhizophorae* de la Laguna de Términos en Ciudad del Carmen, Campeche



## MATERIAL Y MÉTODOS

El área de estudio se localiza en Ciudad del Carmen, Campeche entre las coordenadas (18°41' 6.09" N, 91°45' 9.66" W) situada entre el Golfo de México y la Laguna de Términos. El material biológico examinado fue recolectado de las raíces del mangle en Boca de Pargo en la Laguna de Términos. Los bivalvos fueron removidos de las raíces de mangle; Posteriormente estos fueron relajados bajando la temperatura con agua-hielo, los poliquetos fueron separados de los bivalvos y fijados en formaldehído al 10%. En el laboratorio, el material fue lavado y preservado en alcohol etílico al 80%, para ser identificado a nivel específico.

## RESULTADOS

Se examinaron 250 bivalvos, de los cuales se identificaron 20 especies, pertenecientes a 11 familias. Las de mayor abundancia fueron Spionidae, Syllidae, Cirratulidae, Serpulidae, Sabellidae, Capitellidae, Phyllodocidae, Eunicidae, Terebellidae, Nereididae, Onuphidae. La especie más abundante fue de la familia Spionidae, *Polydora websteri*, ya que este organismo puede establecer relaciones simbióticas del tipo comensal (Wargo & Ford 1993) con los ostiones.

## SECCIÓN TAXONÓMICA

### 1.- Familia **Capitellidae**

- Capitella* sp (Fabricius, 1780)
- Mediomastus ambiseta* (Hartman, 1947)
- Mediomastus californiensis* Hartman, 1947

### 2.- Familia **Cirratulidae**

- Protocirriensis socialis* Blake, 1996

### 3.- Familia **Eunicidae**

- Marphysa aransensis* Treadwell, 1939
- Eunice antennata* (Savigny, 1820)

### 4.- Familia **Nereididae**

- Neanthes micromma* Harper, 1979
- Neanthes succinea* (Frey & Leuckart, 1847)

### 5.- Familia **Onuphidae**

- Diopatra* sp.

### 6.- Familia **Phyllodocidae**

- Nereiphylla mímica* Eibye Jacobsen, 1992

### 7.- Familia **Sabellidae**

- Sabella melanostigma* Schmarda, 1861
- Notaulax paucoculata* Perkins, 1984

### 8.- Familia **Serpulidae**

- Hydroides dianthus* Verrill, 1873
- Hydroides cruciger* Mörch, 1863
- Hydroides sanctaerucis* Kroyer in Mörch, 1863
- Ficopomatus miamiensis* (Treadwell, 1943)

### 9.- Familia **Spionidae**

- Polydora kemp* Hartman 1943

10.- Familia **Syllidae**

*Syllis sp.*

11.- Familia **Terebellidae**

*Enoplobranchus sanguineus* Verrill, 1873

*Amphitritides bruneocomata* (Ehlers, 1887)

## CONCLUSIONES

El sustrato biológico fijo que constituye *Crassostrea rhizophorae* proporcionaría refugios al presentar grietas y orificios, por lo que es un hábitat de fácil acceso para la colonización de poliquetos. De esta forma, *C. rhizophorae* no solo tiene importancia para el hombre como recurso económico (Bustamante & Castilla 1987), sino también para los poliquetos que habitan en él, cuya biodiversidad podría ser perjudicada por la sobreexplotación comercial de *C. rhizophorae*

Los poliquetos que pueden establecer relaciones simbióticas del tipo comensal (Wargo & Ford 1993) con los ostiones, entre ellos se encuentran los espionidos y cirratúlidos, poliquetos perforadores, que habitar sustratos calcáreos de organismos vivos.

La especie mejor representada en abundancia es *Polydora websteri poliqueto perforador*, debido a la relación, simbiótica de tipo comensal, por el ciclo reproductivo que presenta.

Los poliquetos asociados a *C. Rhizophorae*, muestran una importante fuente de hábitat y micro hábitat para la biodiversidad de poliquetos dentro de las comunidades de macro invertebrados marinos.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Alós C, A Campoy & F Pereira. 1982. Contribución al estudio de los anélidos poliquetos endosimbiontes de esponjas. Actas II Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino 3: 139-157.
- 2.- Barnes R. 1987. Zoología de los Invertebrados, 957 p. Interamericana, McGraw-Hill, México.
- 3.- Cañete JI, GL Leighton & EH Soto. 2000. Proposición de un índice de vigilancia ambiental basado en la variabilidad temporal de la abundancia de dos especies de poliquetos bentónicos de bahía Quintero, Chile. Revista de Biología Marina y Oceanografía 35: 185-194.
- 4.- Carrasco FD & VA Gallardo. 1989. La contaminación marina y el valor de la macroinfauna bentónica en su evaluación y vigilancia: Casos de estudio en el litoral de Concepción, Chile. Biología Pesquera 18: 15-27.
- 5.- Jaksic F. 2001. Ecología de Comunidades, 233 p. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- 6.- Loosanoff VL & JB Engle. 1943. Polydora in oysters suspended in the water. Biological Bulletin 85: 69-78.
- 7.- López CA & WB Stotz. 1997. Descripción de la fauna asociada a *Corallina officinalis* L. En el intermareal rocoso de la costa de "Palo Colorado" (Los Vilos, IVRegión, Chile). Revista de

Biología Marina y Oceanografía 32 (1): 17-35.

8.- Wargo RN & SE Ford. 1993. The effect odd shell infestation by *Polydora* sp. and infection *Haplosporidium nelsoni* (MSX) on the tissue condition of oysters, *Cassostrea virginica*. *Estuaries* 16(2): 229-234

9.- Kuris AM, AR Blaustein & JJ Alió. 1980. Hosts as islands. *The American Naturalist* 116: 570-586.

# SINTESIS Y CARACTERIZACION DE AEROGEL MEDIANTE LA TECNICA DE SOL-GEL

<sup>1</sup>Nereida Solano Ramírez, <sup>1</sup>Ismael Soto López, <sup>1</sup>Abraham Jiménez Hernández <sup>1</sup>Iraís Guadalupe Yee Gutiérrez, <sup>1</sup>Lidia Meléndez Balbuena.

<sup>1</sup>Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Issolo2003@yahoo.com.mx

## RESUMEN

Los Aerogeles<sup>1</sup> son sustancias coloidales de muy baja densidad y altamente poroso. Su composición es tan simple y sorprendente ya que el 99% es aire, resultando menos denso que el vidrio y al tacto tiene una consistencia de espuma, pero lo más sorprendente es que es capaz de soportar mil veces su propio peso, tiene apariencia fantasmagórica al grado de que se le conoce como “*Humo Sólido*” ya que su apariencia es casi transparente y ahumada, cuando se logra romper no produce añicos (fragmentos) y puntas, sino que se vuelve un polvo como el talco. La síntesis de los aerogeles consiste en el método de preparación *Sol-GeP*, en el cual se prepara un sol, la gelificación del mismo y la remoción del disolvente para formar el sólido cristalino.

## INTRODUCCIÓN

Los primeros aerogeles datan de 1931. Steven. S. Kistler <sup>4</sup> del *College of the Pacific* de Stockton (California) consiguió demostrar que un “*gel*” contenía una red sólida y continua del mismo tamaño y forma un gel húmedo. La formación de aerogeles comprende dos pasos: la formación de un gel húmedo y el secado del gel húmedo para formar un aerogel.

Si se permite que un gel se seque solo, éste encogerá hasta una pequeña fracción de su tamaño original, esta reducción de tamaño trae consigo una fuerte ruptura del gel. Kistler supuso, que el componente sólido del gel era “*Microporoso*”, y que el punto de contacto entre el líquido y el vapor del líquido en evaporación empleaba grandes fuerzas de tensión superficial que colapsaban la estructura del poro. Kistler <sup>4</sup> descubrió que en la producción del aerogel, hay que reemplazar de algún modo el líquido por aire sin permitir que la superficie del líquido se pierda por el interior del gel. Si se mantiene el líquido bajo una presión siempre superior a la presión de vapor y aumentamos la temperatura, dicho líquido se convertirá en un gas al alcanzar una temperatura crítica sin que se den dos fases de manera simultánea, el agua de los geles acuosos también se puede sustituir con líquidos orgánicos miscibles, por ejemplo sustituyendo el agua por alcohol, al convertir el alcohol en un fluido supercrítico y permitir su evaporación, por otra parte el resultado de una búsqueda de minimizar el tiempo de obtención de aerogeles, fue uno de los mayores avances dentro de la ciencia del aerogel, concretamente en cuanto a la aplicación de la química del sol-gel en la preparación del aerogel de sílice.

El avance fue reemplazar el silicato de sodio que utilizaba Kistler por un alcóxido (tetrametilortosilicato, TMOS). Al hidrolizar TMOS en una solución de metanol se producía un gel en sólo un paso (denominado «*alcogel*»). Con ello se elimina el paso del intercambio de agua por alcohol y la presencia de sales inorgánicas en el gel.

En 1983 Arlon Hunt<sup>3</sup> encontró que el compuesto TMOS, era tóxico, y que podía sustituirse por tetraetilortosilicato (*TEOS*) que es un reactivo más seguro y fácil de conseguir, la calidad y la producción de los aerogeles no disminuye, al mismo tiempo el *Microstructured Materials Group* del Laboratorio de Berkeley descubrió que el alcohol del interior del gel podría reemplazarse por *dióxido de carbono* líquido antes de llevarse a cabo el secado supercrítico sin dañar el aerogel. Esto significa un avance importante en cuanto a la seguridad, ya que el punto crítico del CO<sub>2</sub> (31 °C y 1050 psi) tiene lugar bajo unas condiciones mucho menos agudas que el punto crítico del metanol (240°C y 1600 psi).

Los reactivos más utilizados son el Tetrametilortosilicato<sup>6</sup> (TMOS,  $\text{Si}(\text{OCH}_3)_4$ ) y el ortosilicato tetraetilo (TEOS,  $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_4$ ). Sin embargo, se pueden utilizar otros alcoxilos que contengan varios grupos funcionales orgánicos para que el gel adquiera diferentes propiedades. La química sol-gel basada en alcoxilos evita la formación mayor de los productos derivados de la sal, además de posibilitar un mayor control sobre el producto final.

Los aerogeles son materiales que son considerados como inertes en reacciones catalíticas, la incorporación de un segundo catión a estos materiales les provee características fisicoquímicas que son muy superiores al compararlos con los óxidos puros.<sup>2</sup>

## TEORÍA

Los diferentes materiales de sílice porosa tienen un amplio número de aplicaciones. Una de las rutas de síntesis involucra un proceso sol-gel. La síntesis se inicia con la formación de una suspensión coloidal de partículas sólidas o sol, la cual puede ser posteriormente sometida a una transición de fase mediante desestabilización, precipitación o supersaturación, con el fin de obtener una masa sólida. Uno de los productos obtenidos en esta transición es conocido con el nombre de gel de sílice, donde además de la fase sólida existe un subproducto denominado solvente que puede ser agua o alcohol.

La química sol-gel basada en alcoxilos evita la mayor formación de productos derivados de la sal, además de facilitar mayor control sobre el producto final. Esta reacción se lleva a cabo en etanol; la densidad final del aerogel depende de la concentración de los monómeros de alcóxilo de silicón que hay en la solución. La estequiometría de la reacción precisa dos moles de agua por cada mol de TEOS, en la práctica, esta cantidad de agua tiene como consecuencia una reacción incompleta.<sup>1</sup>

La cinética de la reacción es poco práctica por su lentitud a temperatura ambiente, por lo que a menudo se necesitan varios días para llevarla a cabo totalmente. Para acortar el proceso se añaden catalizadores ácidos o básicos, a medida que progresan las reacciones de condensación, el sol se convertirá en un gel rígido, las reacciones de hidrólisis y de condensación del reactivo a menudo se consideran completas cuando el sol alcanza el punto de gel, el punto de gel no es más que el momento en que las especies de sílice que se encuentran bajo el proceso de polimerización abarcan el volumen del contenedor donde está el sol, en ese momento la columna de sílice del gel contiene una importante cantidad de grupos alcoxilos sin reaccionar. Aún puede darse hidrólisis y condensación hasta que se complete la gelación, la red de sílice será más fuerte si se le da el tiempo suficiente. Una vez madurado el gel y al secarlo sin condiciones de presión y temperatura, se debe extraer todo el agua que queda dentro de los poros, una vez más, el tiempo que se necesita para este proceso depende del grosor del gel. Cuando se utilizan condiciones supercríticas se extrae el líquido remanente dentro del gel, dejando sólo la red de sílice entrelazada, el proceso se puede llevar a cabo mediante la evaporación de etanol por encima de su punto crítico o mediante un intercambio del solvente con  $\text{CO}_2$  seguido de una evaporación supercrítica, este proceso se debe llevar a cabo en una autoclave especialmente diseñada para este fin.<sup>2</sup>

## PARTE EXPERIMENTAL

**1.- Preparar la solución alcalina o sol.** Combinar 0.5 ml de TEOS con 0.5 ml de etanol en un vaso de precipitados de vidrio. Homogeneizar la solución. Etiquetar solución como "solución alcalina" o "solución A".

**2.- Preparar solución catalizadora.** Combinar 5 ml de hidróxido de amonio concentrado con 2.5 ml de etanol en un vaso de precipitados. Etiquetar "solución catalizadora" o "solución B".

**3.- Mezcla de soluciones.** Verter el catalizador (solución B) dentro del alcaloide (solución A) y homogeneizar con una varilla de vidrio hasta que todo se haya combinado totalmente.

**5.- Obtención del alcogel.** Verter el sol dentro de jeringas sin agujas o émbolo, dejar reposar hasta que se forme el alcogel. De este modo, se puede extraer el gel finalizado empujándolo fuera de la jeringa con el émbolo.

#### CONCLUSIONES:

Se logró la síntesis de materiales que han coincidido con lo reportado en la bibliografía y además los análisis por Fisisorción, difracción de RX, Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier<sup>7</sup> y el cálculo de la densidad así lo demuestran.

#### 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).

## BENZOTIAZOLIL UREAS DERIVADAS DE AMINOÁCIDOS

Alejandro Cruz,<sup>1</sup> Gerardo Guerrero Muñoz<sup>1</sup> y María Esther<sup>2</sup> Bautista Ramírez

Instituto Politécnico Nacional-UPIBI, Departamento de Ciencias Básicas, Av. Acueducto s/n, Barrio la Laguna Ticomán, México, D. F, 07340, Mexico., Proyecto SIP- 20140285. e-mail: [alecruz@ipn.mx](mailto:alecruz@ipn.mx)

### Resumen

En esta investigación, presentamos los resultados del estudio de la reacción del ditiometilcarboimidatobenzotiazol **5** con una serie de cuatro aminocarboxilatos quirales en reflujo de etanol. La reacción procede a temperatura ambiente mediante el desplazamiento de una molécula de HSMe para obtener los intermediarios S-metilisotioureacarboxilatos **8**. Las S-metilisotioureacarboxilatos **8** se hicieron reaccionar con yoduro de metilo en DMF como disolvente para obtener S-metilisotioureametilesteres **9**. Los grupos S-metilo de los compuestos **8** y **9** se hidrolizan en medio básico de hidróxido de sodio para obtener las correspondientes ureas **9** y **10**. Las estructuras de los compuestos se estudiaron por resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C y los compuestos **9** se analizaron por difracción de rayos-X.

**Palabras clave:** 2-aminobenzotiazol, ditiometilcarboimidato, isotiourea, hidrólisis, urea

### Abstract

In this investigation, we studied the reaction of dithiomethylcarboimidebenzothiazole **5** with a series of four chiral aminocarboxylates in refluxing ethanol, through the displacement of a molecule of HSMe at room temperature. The reaction proceeds through S-methylisothiourea intermediates **6**, which reaction with methyl iodide in DMF as dissolvent, isothiourea methylesters **4** were isolated. The structures of two compounds were studied by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Magnetic Nuclear Resonance and some of them by X-ray diffraction analysis.

**Keywords:** 2-aminobenzothiazole, dithiomethylcarboimide; isothiourea, hydrolysis, urea

### Introducción

La urea es un grupo funcional presente en muchos compuestos en química orgánica e inorgánica que tiene muchos usos. En el área de química orgánica de síntesis, los científicos se interesan en las ureas como organocatalizadores.<sup>1</sup> La actividad catalítica de estos compuestos se caracteriza por la habilidad de la interacción por puente de hidrogeno del grupo NH para activar electrófilos.<sup>2</sup> Esta habilidad para actuar como formadores de puentes de hidrógeno permite a las ureas funcionar como agentes de reconocimiento de aniones.<sup>3</sup> Por otro lado, las ureas también pueden ser usadas como un base de Lewis en reacciones de catalisis.<sup>4</sup> Su naturaleza coordinativa permite que puedan ser usadas como solvente polar y como un aditivo en catálisis metálica.<sup>5</sup> Sin embargo, hay pocos ejemplos de la aplicación de ureas quirales como ligantes en reacciones asimétricas metal-catalizadas.<sup>8</sup> Se han reportado ureas quirales que tienen propiedades gelificantes,<sup>9</sup> y comportamiento de líquidos iónicos a temperatura ambiente.<sup>10</sup> Se han encontrado propiedades cromatográficas de ureas derivadas de (S)- y (R)-1-( $\alpha$ -naftil)etilamina con (S)-valina, (S)-*ter*-leucina, (S)-prolina y 2-ácido carboxílico-(S)-indolina unidas a 3-aminopropilsilica gel como fase estacionaria.<sup>11</sup>

En vista de la importancia de las ureas quirales, en este trabajo se reporta un método para sintetizar benzotiazolilureas derivadas de aminoácidos a partir del 2-aminobenzotiazol como material de partida. Todos los compuestos se asignaron por las espectroscopías de resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C.

### metodología

Nosotros hemos reportamos una ruta para la preparación de guanidinas simétricas y no simétricas **7** a partir de la reacción del ditiometilcarboimidatobenzotiazol **5** con aminas primarias y

secundarias en reflujo de etanol, mediante el desplazamiento de dos moléculas de CH<sub>3</sub>SH. La reacción procede mediante la formación de la S-metilisotiurea **6** como intermediario<sup>12</sup>.

Esquema 1. S-metilisotiureas **6**, y guanidinas **7** derivadas del 2-aminobenzotiazol **4**,

En este sentido, hicimos una investigación usando nuestra metodología, haciendo reaccionar el ditiometilcarboimidato **5** con aminoácidos quirales en forma de carboxilatos de sodio.

El intermediario ditiometilcarboimidatobenzotiazol **5** se obtuvo a partir del 2-aminobenzotiazol **4** por reacción con disulfuro de carbono en medio básico (20 M NaOH) usando DMF como disolvente (Merchant, et al).<sup>7</sup>

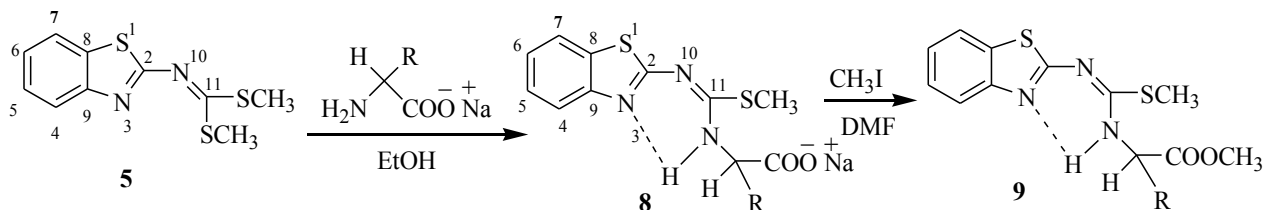
## Resultados y Análisis

En este caso, se utilizaron cuatro aminoácidos hidrofóbicos representativos R = H(glicina)(**a**), Me(alanina)(**b**), Ph(fenilglicina)(**c**), CH<sub>2</sub>Ph(fenilalanina)(**d**), los cuales existen en su forma natural como switerión **B**, esquema 2. 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 2.- Transformación de los aminoácidos a aminocarboxilatos de sodio

En el mismo sistema de reacción anterior, que contiene al aminocarboxilato **C**, se adiciona un equivalente del ditiometilcarboimidatobenzotiazol **5** y se deja en agitación durante 48 horas. En estas condiciones, la reacción procede por la sustitución nucleofílica de un grupo CH<sub>3</sub>SH por el grupo amina del aminoácido respectivo y el compuesto que se obtiene después de la purificación es el respectivo carboxilato de sodio de la S-metilisotiurea **8**, cuya reacción de metilación con ioduro de metilo en agitación de DMF conduce al correspondiente metilester de la S-metilisotiurea **9**.

Las S-metilisotiureacarboxilatos **8a-d** presentan un singulete del grupo SCH<sub>3</sub> 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 3. En los espectros de RMN de <sup>13</sup>C de los S-metilisotiurea-metilesteres **9a-d** se observa que los desplazamientos químicos de estos compuestos no tienen un cambio significativo con respecto de los S-metilisotiureacarboxilatos **8a-d**, con excepción del grupo OCH<sub>3</sub> que se encuentra en 3.75-3.83 ppm (RMN <sup>1</sup>H, tabla 3) y 45-53 ppm (RMN <sup>13</sup>C, tabla 4). Cuando los espectros de los esterres **9a-d** se obtienen en CDCl<sub>3</sub> como disolvente, se observan en RMN de <sup>13</sup>C, tres señales anchas en aproximadamente 171-174, 163-164.4 y 152 ppm que corresponden a los carbonos C11, C2 y C9 respectivamente (Tabla 4), esto se debe a que estos átomos están involucrados en el equilibrio tautomérico que representa el movimiento del átomo de hidrógeno cuando pasa del átomo nitrógeno N14 al N3. La señal del carbono carbonílico se presenta en aproximadamente 169-171 ppm.



Esquema 3. Síntesis de S-metilisotiureacarboxilatos **8a-d** y S-metilisotiureametilesteres **9a-d**.

Tabla 1. RMN de <sup>1</sup>H de los compuestos **8a-d**



Comp.	H4	H5	H6	H7	NH	SCH <sub>3</sub>	H14a	R14a
<b>8a</b>	7.79	7.33	7.18	7.58	10.65	2.44	3.63	3.63
<b>8b</b>	7.75	7.31	7.18	7.63	11.00	2.42	3.92	1.38
<b>8c</b>	7.80	7.32	7.18	7.64	11.44	2.32	4.80	7.2-7.3
<b>8d</b>	7.76	7.32	7.18	7.54	10.74	2.36	4.12	3.1, 7.2

Tabla 2. RMN de <sup>13</sup>C de los compuestos **8a-d**

Comp.	C2	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C11	SCH <sub>3</sub>	NC	C=O	R
<b>8a</b>	163.6	126.1	123.4	121.6	120.4	131.9	151.8	171.3	14.1	48.1	169.4	-
<b>8b</b>	163.2	126.1	123.5	121.5	120.6	131.8	151.7	174.1	13.9	54.9	171.3	20.5
<b>8c</b>	163.6	126.1	123.5	121.7	120.6	131.9	151.9	171.3	14.1	63.9	169.8	139.7
<b>8d</b>	164.4	126.1	123.5	121.6	120.4	131.6	151.6	172.5	14.0	61.2	171.3	56.5

Tabla 3. RMN de <sup>1</sup>H de los compuestos **9a-d**

Comp.	H4	H5	H6	H7	NH	SCH <sub>3</sub>	H14a	R14a	OCH <sub>3</sub>
<b>9a</b>	7.72	7.34	7.21	7.69		2.55	4.23	4.23	3.83
<b>9b</b>	7.72	7.37	7.25	7.69	11.20	2.54	4.49	1.61	3.81
<b>9c</b>	7.80	7.40	7.24	7.72	12.05	2.50	5.47	7.2-7.3	3.79
<b>9d</b>	7.70	7.37	7.20	7.66	11.22	2.36	4.70	3.3, 7.2	3.75

Tabla 4. RMN de <sup>13</sup>C de los compuestos **9a-d**

Comp.	C2	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C11	SCH <sub>3</sub>	NC	C=O	R	OCH <sub>3</sub>
<b>9a</b>	164.8	125.6	123.3	121.0	120.6	132.2	151.0	171.7	14.1	52.7	169.1	-	45.0
<b>9b</b>	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
<b>9c</b>	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
<b>9d</b>	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 **9a** y **9b** se recrystalizaron de etanol, se estudiaron por difracción de rayos-X y se presentan en la figura 2. En el compuesto **9a**, derivado de la glicina (R = H), se observan dos interacciones por puente de hidrógeno del NH de la glicina con el nitrógeno del benzotiazol y con el oxígeno del carbonilo formando un anillo de seis y cinco miembros, respectivamente. Esta condición, hace que toda la molécula se encuentre en un plano, incluyendo los grupos metilo. En la estructura del compuesto **9b**, derivado de la alanina (R = Me) no se observa el puente de hidrógeno del NH con el átomo de oxígeno del carbonilo, lo cual hace que el grupo metilester se encuentre fuera del plano de la molécula.

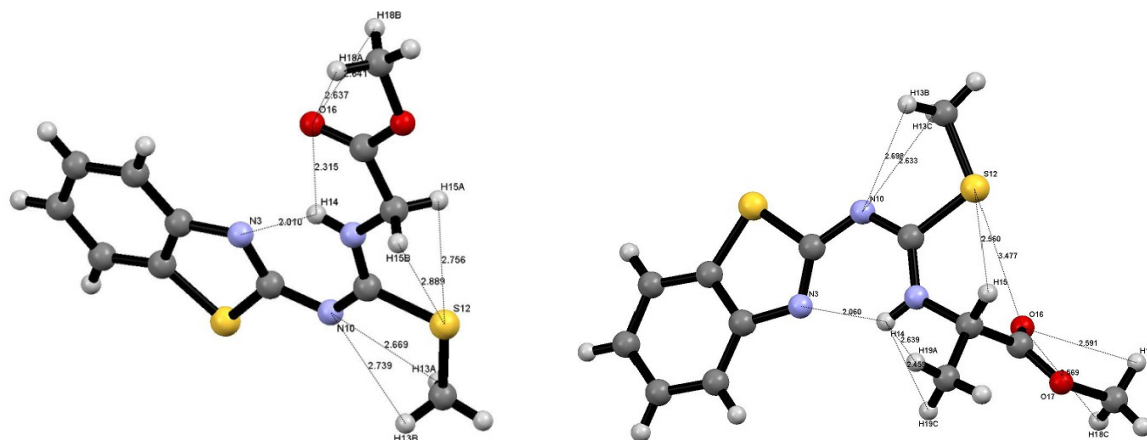


Figura 2. Estructura de difracción de rayos-X del compuesto **9a** (izquierda) y **9b** (derecha)

La hidrólisis con hidróxido de sodio en reflujo de etanol, conduce a las correspondientes ureas **10** y **11**. Los datos de Resonancia Magnética Nuclear de las ureas son muy cercanos

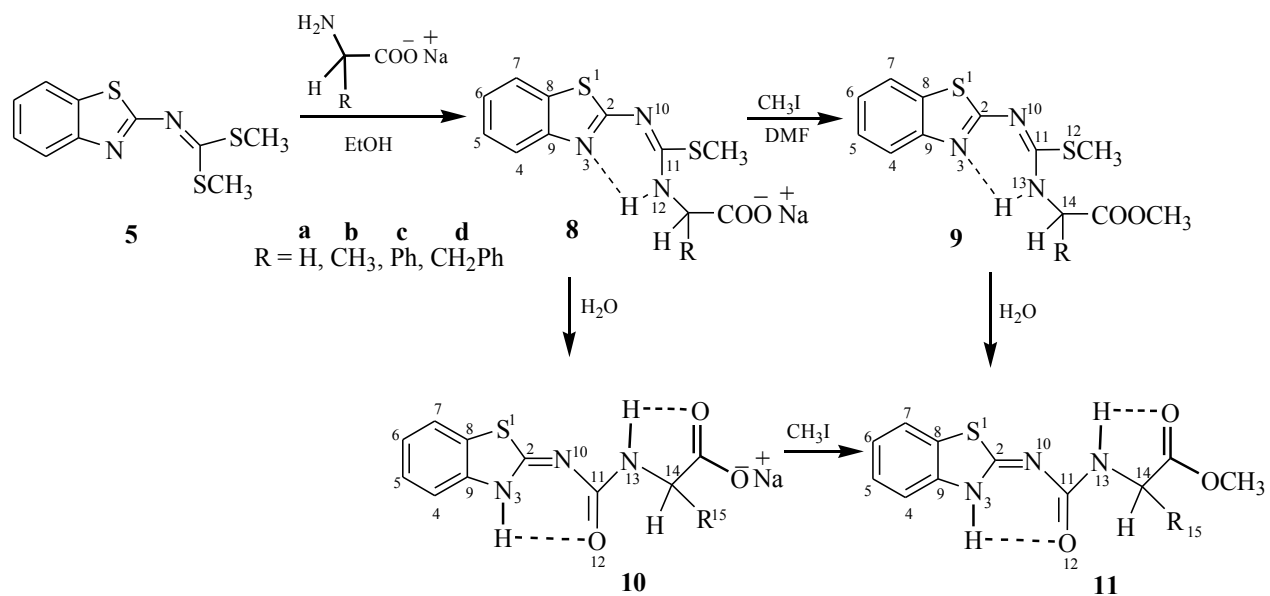


Tabla 5. RMN de  $^1\text{H}$  de los compuestos **10a-d**

Comp.	H4	H5	H6	H7	N3H	N13H	H14a	R15
<b>5a</b>	7.82	7.66	7.63	7.79	9.27	7.62	4.2	4.2
<b>5b</b>	7.80	7.30	7.15	7.60	11.90	7.70	3.95	1.29
<b>5c</b>	7.80	7.30	7.20	7.61	11.86	8.30	5.00	7.2-7.4
<b>5d</b>	7.80	7.30	7.18	7.59	12.00	8.00	4.26	3.1, 7.2

Tabla 2. RMN de  $^{13}\text{C}$  de los compuestos **10a-d**

Comp.	C2	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C11	NC	C=O	R
<b>5a</b>	157.2	126.4	122.1	120.6	123.6	132.4	152.2	169.3	43.5	172.5	-
<b>5b</b>	154.0	126.2	121.7	120.2	122.9	132.1	150.0	161.0	51.4	176.2	20.7

<b>5c</b>	153.4	126.1	121.5	120.0	122.7	132.2	150.0	160.5	60.0	172.5	143,126-128
<b>5d</b>	154.3	126.3	121.7	120.2	122.8	131.6	151.6	161.1	61.2	175.7	57.0, 139.9, 126-130

### Conclusiones

Para que los aminoácidos reaccionen como nucleófilos, su forma neutra se transforma a su forma de carboxilatos de sodio por reacción con hidróxido de sodio. La reacción de los aminocarboxilatos con el ditiometilcarboimidato benzotiazol **5** se efectúa en agitación de etanol a temperatura ambiente para separar los **8**. Por reacción con ioduro de metilo en DMF, los carboxilatos de las S-metil-isotioureas **8** se transforman a sus correspondientes esteres **9** en agitación a temperatura ambiente. La difracción de rayos-X muestra que el carbono carbonílico adquiere diferente conformación dependiendo del aminoácido.

Las reacciones de hidrólisis en reflujo de etanol con hidróxido de sodio de los carboxilatos de las S-metil-isotioureas **8** o sus correspondientes esteres **9**, conducen a las correspondientes ureas **10** y **11** respectivamente.

### Referencias

1. (a) Takemoto, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 4299; (b) Connon, S. J. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 5418; (c) Connon, S. J. *Chem. Commun.* **2008**, 2499. Nagaraju Molletia, Suresh Allua, Sumit K. Rayb, Vinod K. Singh "Bifunctional chiral urea catalyzed highly enantioselective Michael addition of cyclic 1,3-dicarbonyl compounds to 2-enoylpyridines" *Tetrahedron Letters* **2013**, 54, 3241–3244
2. (a) Schreiner, P. R. *Chem. Soc. Rev.* **2003**, 32, 289; (b) Taylor, M. S.; Jacobsen, E. N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, 45, 1520; (c) Akiyama, T.; Itoh, J.; Fuchibe, K. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 999; (d) Doyle, A. G.; Jacobsen, E. N. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 5713.
3. (a) Zhang, Z.; Schreiner, P. R. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 1187. (b) Paulina Hamankiewicz, Jarosław M. Grandab, Janusz Jurczak "Influence of the size and geometry of the anion binding pocket of sugar–urea anion receptors on chiral recognition" *Tetrahedron Letters* **2013**, 54, 5608–5611.
4. (a) Chataigner, I.; Piarulli, U.; Gennari, C. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 3633; For recent reviews, see: (b) Denmark, S. E.; Beutner, G. L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 1560.
5. Mukhopadhyay, T.; Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1982**, 65, 385.
6. (a) Dai, M.; Liang, B.; Wang, C.; Chen, J.; Yang, Z. *Org. Lett.* **2004**, 6, 221; (b) Yang, D.; Chen, Y.-C.; Zhu, N.-Y. *Org. Lett.* **2004**, 6, 1577; (c) Tang, Y.; Deng, L.; Zhang, Y.; Dong, G.; Chen, J.; Yang, Z. *Org. Lett.* **2005**, 7, 593; (d) Tang, Y.; Zhang, Y.; Dai, M.; Luo, T.; Deng, L.; Chen, J.; Yang, Z. *Org. Lett.* **2005**, 7, 885; (e) Tang, Y.; Deng, L.; Zhang, Y.; Dong, G.; Chen, J.; Yang, Z. *Org. Lett.* **2005**, 7, 1657; (f) Chen, W.; Li, R.; Han, B.; Li, B.-J.; Chen, Y.-C.; Wu, Y.; Ding, L.-S.; Yang, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1177; (g) Yang, M.; Yip, K.-T.; Pan, J.-H.; Chen, Y.-C.; Zhu, N.-Y.; Yang, D. *Synlett* **2006**, 18, 3057; (h) Chen, W.; Li, R.; Wu, Y.; Ding, L.-S.; Chen, Y.-C. *Synthesis* **2006**, 18, 3058; (i) Bonizzoni, M.; Fabbrizzi, L.; Taglietti, A.; Tiengo, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 3567; (j) Pan, J.-H.; Yang, M.; Gao, Q.; Zhu, N.-Y.; Yang, D. *Synthesis* **2007**, 16, 2539; (k) Cui, X.; Zhou, Y.; Wang, N.; Liu, L.; Guo, Q.-X. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 163.
7. (a) Theophanides, T.; Harvey, P. D. *Coord. Chem. Rev.* **1987**, 76, 237; (b) Borovik, A. S. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38, 54; (c) Knight, L. K.; Freixa, Z.; van Leeuwen, P. W. N. M.; Reek, J. N. H. *Organometallics* **2006**, 25, 954; (d) Lucas, R. L.; Zart, M. K.; Murkerjee, J.; Sorrell, T. N.; Powell, D. R.; Borovik, A. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 15476; (e) Tzeng, B.-C.; Huang, Y.-C.; Chen, B.-S.; Wu, W.-M.; Lee, S.-Y.; Lee, G.-H.; Peng, S.-M. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 186; (f) Harnung, S. E.; Larsen, E. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 5166; (g) Yoo, H.; Mirkin, C. A.; DiPasquale, A. G.; Rheingold, A. L.; Stern, C. L. *Inorg. Chem.* **2008**, 47, 9727; (h) Shook, R. L.; Gunderson, W. A.; Greaves, J.; Ziller, J. W.; Hendrich, M. P.; Borovik, A. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8888.
8. (a) Gamez, P.; Dunjic, B.; Fache, F.; Lemaire, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1417; (b) Kanai, M.; Tomioka, K. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4275; (c) Gamez, P.; Dunjic, B.; Lemaire, M. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 5196; (d) Touchard, F.; Gamez, P.; Fache, F.; Lemaire, M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2275; (e) Touchard, F.; Bernard, M.; Fache, F.; Delbecq, F.; Guiral, V.; Sautet, P.; Lemaire, M. *J. Organomet. Chem.* **1998**, 567, 133; (f) Touchard, F.; Bernard, M.; Fache, F.;

- Lemaire, M. *J. Mol. Catal., A: Chem.* **1999**, 140, 1; (g) Bied, C.; Moreau, J. J. E.; Man, M. W. C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 329; (h) Doyle, M. P.; Morgan, J. P.; Fettinger, J. C.; Zavalij, P. Y.; Colyer, J. T.; Timmons, D. J.; Carducci, M. D. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 5291; For the use of a catalytic urea ligand and a stoichiometric amount of metal, see: (i) Hernández-Rodríguez, M.; Gabriela Avila-Ortiz, C.; del Campo, J. M.; Hernández-Romero, D.; Rosales-Hoz, M. J.; Juaristi, E. *Aust. J. Chem.* **2008**, 61, 364; (j) Yang, T.; Ferrali, A.; Sladojevich, F.; Campbell, L.; Dixon, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 9140.
9. Jong-Uk Kim\*, Dieter Schollmeyer, Martin Brehmer, Rudolf Zentel "Simple chiral urea gelators, (R)- and (S)-2-heptylurea: Their gelling ability enhanced by chirality" *Journal of Colloid and Inter-face Science* **2011**, 357, 428–433
  10. Xuewei Chen,<sup>a</sup> Xuehui Li,<sup>b,\*</sup> Aixi Hua,<sup>\*</sup> and Furong Wang "Advances in chiral ionic liquids derived from natural amino acids" *Tetrahedron:Asymmetry* **2008**, 19, 1–14
  11. Direct enantiomer separations by high-performance liquid chromatography with chiral urea derivatives as stationary phases a) Naobumi Ôi\*, Hajimu Kitahara, Fumiko Aoki *Journal of Chromatography A*, **1995**, 694,129-134. b) Naoburmi Ôi\*, Hajimu Kitahara, Fumiko Aoki, Naoko Kisu *Journal of Chromatography A*, 1995, 689, 195-201.
  12. Cruz, A.; Padilla-Martínez I. I. and García-Báez E. V. *Molecules*, **2012**, 17, 10178-10191.

## DÍPTEROS DE INTERÉS FORENSE EN LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA (FES IZTACALA)

Villeda-Callejas, María del Pilar; Jacinto-Estanes, Lourdes Jocelyn; Barrera-Escorcia, Héctor; Guedea-Fernández, Guadalupe Eugenia Daleth; Cervantes-Zamudio, Osvaldo

Laboratorios de Microscopía y Fotografía Digital. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México . mapili\_villeda@yahoo.com.mx, [jocsestanes@yahoo.com.mx](mailto:jocsestanes@yahoo.com.mx), [barrerae@hotmail.com](mailto:barrerae@hotmail.com), [dalethguedea@hotmail.com](mailto:dalethguedea@hotmail.com), [osvaldocz@hotmail.com](mailto:osvaldocz@hotmail.com)

### RESUMEN

Se realizó un muestreo para dípteros necrófagos en la FES- Iztacala ubicada en Tlalnepantla de Baz Edo. de México mediante trampas aéreas ubicadas en las zonas verdes, utilizando como cebo carne de cerdo esto con el fin de describir las principales especies de dípteros de interés forense en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala y sus ciclos de vida, para establecer tiempos de desarrollo de estadios inmaduros en diferentes meses del año ( desde finales de febrero hasta mediados de mayo) . Se obtuvieron 4 especies diferentes así como el ciclo de vida de algunas de ellas. El disponer tiempos en diferentes épocas del año ayuda a establecer una posible sucesión en la degradación de materia orgánica, ayudando de esta forma en el intervalo post mortem

### INTRODUCCIÓN

Los insectos constituyen un grupo con una alta variedad morfológica y ecológica desempeñando un rol fundamental en todos los ecosistemas (Hernández-Ortiz & Dzul-Cauich 2008).

Uno de estos roles ecológicos ocurre cuando ocupan la materia animal en descomposición como recurso efímero en espacio y tiempo, que provee de micro-hábitat dinámico a infinidad de artrópodos que colonizan. Durante este proceso los cambios físicos y químicos, producto de la putrefacción, así como los factores medio ambientales, influyen en la diversidad y secuencia de dicha colonización. Los insectos sobresalen por su diversidad, abundancia y relevancia en el proceso de reincorporarla al medio, (Smith 1986).

Desde el punto de vista forense, su importancia radica en la biología de los estadios inmaduros, ya que varias de las especies se alimentan de cadáveres y algunas muestran cierta preferencia por determinadas fases de descomposición en que se encuentra el cuerpo por lo que tienen un gran valor en el ámbito médico-legal, (Smith 1986).

Mediante la identificación de los insectos presentes y sus estadios de vida, es posible estimar el nivel de putrefacción de la materia orgánica en descomposición a partir de datos que nos proporcionan los insectos por sus formas de desarrollo. Los grupos más importantes de insectos que se alimentan de materia en descomposición son los dípteros y de ellos principalmente las familias Calliphoridae y Saprothagidae, (Sakuma 2005).

El orden de insectos Díptera es uno de los más ricos en especies, contribuyendo con el 10-15% de especies animales conocidas. Se estima que se han descrito unas 150.000 especies, (Méndez E. 1999).

En estudios anteriores como el de Flores-Pérez 2005 se realizó una recopilación de la información biológica de diversas especies de insectos de importancia médico-legal destacando familias como

Calliphoridae, Fannidae, Muscidae y Piophilidae además de coleópteros necrófagos en Texcoco, Netzahualcoyotl y Chimalhuacan.

Quiroz 2005 describió la entomofauna asociada a cadáveres de distintos animales encontrando diferentes especies, entre los diferentes cadáveres tomando en cuenta el tipo de vegetación en el Municipio de Mascota, Jalisco México.

Salazar, 2006 logró determinar la composición de la entomofauna asociada con cadáveres de ratas, para identificar las especies de importancia forense en Carabobo, Venezuela.

Trigo, A. 2006 realizó una descripción de las larvas II, III y el pupario de *Comptosomyiops fulvicrura* (Diptera: Calliphoridae) en Medellín Colombia.

Castillo, 2001 determinó artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de la Litera (Huesca). Debido a la importancia forense que representan los Dípteros es necesario conocer acerca de su biología.

Por lo que el trabajo tiene como objetivo: el describir las principales especies de dípteros de interés forense en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, determinando tiempos de desarrollo entre estadios larvarios y adulto y así poder generar una descripción morfológica las especies.

### Objetivos

- Conocer las especies de dípteros necrófagos de interés forense, que se encuentran en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
- Establecer tiempos de desarrollo de estados inmaduros de dípteros necrófagos en los meses de abril-mayo.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Área de estudio

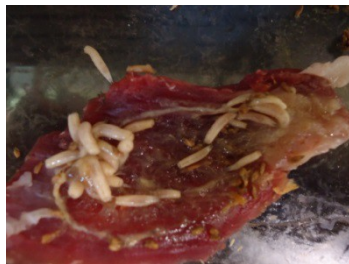
FES-Iztacala, UNAM Av. de los Barrios 1 Los Reyes Iztacala 54090 Tlalnepantla, Estado de México 19°31'32.08" N; 99°11'19.12" O

#### Materiales y método

Para primer muestreo realizado el viernes 28 de febrero del 2014 se colocaron 6 trampas tipo McPhail modificadas utilizando a manera de sustrato 5cm de aserrín y como cebo carne de cerdo y distribuidas al azar en las zonas verdes de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, las cuales fueron revisadas el día miércoles 5 de marzo del 2014. Capturando los adultos que se encontraron en las trampas con mayas colocadas de manera que evitaban su escape. Estos se determinaron a nivel de especie con las claves para determinación taxonómicas de Whitworth, T. 2010 y si es posible hasta especie posteriormente algunos ejemplares fueron relajados en agua caliente y fijados con solución BOUIN para ser después procesados histológicamente.

Las puestas obtenidas de las trampas se colocaron en recipientes de plástico de 15x 10cm dentro de los cuales se colocó el mismo cebo durante los estadios larvales 1, 2 y 3 posteriormente una vez entrando en prepupa se trasladaron a aserrín para que continuarán su desarrollo hasta llegar a estado adulto.

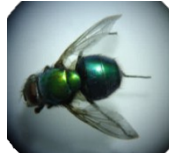
En el segundo muestreo se realizó el 24 de abril se revisaron al día siguiente y se realizó el mismo procedimiento que en el primer muestreo.



Para poder determinar algunas larvas hasta especie, fue necesario realizar la técnica de aclarado con KOH al 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron puestas de las 6 trampas con sus dos repeticiones las cuales fueron colocadas en recipientes plásticos para que continuaran su desarrollo. Las trampas se revisaron el en esta fecha había presencia de moscas adultas las cuales se capturaron y determinaron obteniendo las siguientes especies: *Lucillia sericata* y *Calliphora latifrons*, las larvas fueron colocadas en recipientes plásticos solo con cebo durante sus estadios larvales 1, 2, 3.



Especie	Huevo	Estadios larvales	Prepupa	Pupa
<i>Lucillia sericata</i>	28 de febrero (1 día)	28/02/14- 07/03/14 (5 días )	06/03/14-07/13/14 (1 día)	07/03/14 Total de días : 7
<i>Calliphora latifrons</i>				
<i>Sarcophaga haemorroidalis</i>	Larvposición			
	28 de febrero (1 día)			

Tabla1.- tiempos de desarrollo de estadios inmaduros.

No se logró desarrollar el ciclo completo debido a que las larvas murieron en prepupa y las que lograron entrar a pupa no eclosionaron esto pudo deberse a que según el meteorológico nacional las temperaturas entre el mes de febrero variaron teniendo como mínima una temperatura de 3.9<sup>a</sup> C y una máxima de 23.3°C en marzo de 6.1°C la mínima y la máxima de 23.8°C El tiempo de desarrollo varía según la temperatura. Por encima del límite superior del rango de temperatura, despliegan gran actividad, pero mueren cuando se alcanzan valores límites. Así, el desarrollo se acelera con temperaturas elevadas y se hace más lento con temperaturas bajas, siendo estas últimas las que condicionan el desarrollo cuando se combinan ambas en climas con ritmos circadianos extremos, (Pancorbo M. M. *et al* 2006).

En el segundo muestreo se realizó el 24 de abril se revisaron al día siguiente obteniendo puestas en las 6 trampas así como adultos las cuales fueron determinadas obteniendo las siguientes especies: *Lucilia sericata*, *Sarcophaga haemorroidalis*, y en adultos: *Calliphora latifrons*, *Chrysomya magacephalla*. Temperatura máxima en abril fue de 24.4 y la mínima de 7.7



Los tiempos de desarrollo obtenidos fueron:

Especie	huevo	Estadios larvales I, II, III	prepupa	Pupa	Adulto
<i>Lucilia sericata</i>	24 abril al 25 de abril(1 día)	25 de abril al 06 de mayo (11 días)	6 mayo al 7 de mayo (1 día )	7 de mayo al 12 de mayo (5 días)	12 de mayo Total de días: 18

Tabla 2.- tiempos de desarrollo de estadios inmaduros mes de abril a mayo de 2014

### Conclusión

Se determinaron taxonómicamente 2 familias: Califoridae con 3 especies que son: *Callifora latifrons*, *Lucilia sericata*, *Crhysomya megacephalla*. Sarcophagidae con una solo especie *Sarcophaga haemorroidalis*.

Estableciendo tiempos de 7 días hasta el estado de pupa de las siguientes especies: *Callifora latifrons*, *Lucilia sericata* y *Sarcophaga haemorroidalis*. Y de 18 días hasta estado adulto para la especie *Lucilia sericata*.

El establecer tiempos en diferentes épocas del año ayuda a establecer una posible sucesión en la degradación de materia orgánica, ayudando de esta forma en el intervalo post mortem.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Flores-Pérez L. R, F. M. Pérez-Villegas, S. G. Guiza-Rodríguez. 2005. *Aportaciones a la biología de insectos sarcoprofagos asociados a la descomposición cadavérica*. Universidad Autónoma de Chapingo, México, revista Entomología Mexicana, PP.: 1737-1741.
2. Hernández-Ortiz, V. & J. F. Dzul-Cauich. 2008. *Agro ecosistemas cafetaleros de Veracruz: biodiversidad, manejo y conservación*. Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) e Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT), México pp: 95-105.
3. Méndez E. 1999. *Insectos y otros artrópodos de importancia médica y veterinaria*. Instituto conmemorativo gorgas de estudios de la salud. Panamá: 24 pp.
4. Pancorbo M. M., Ramos R., Saloña M., Sánchez P.2006. Entomología molecular forense. *Ciencia Forense*, 8/2006: 107-130.
5. Quiroz-Rocha G. A., P. A. Martínez –Rodríguez, B. Hernández- Márquez, J. L. Navarrete-Heredia, M. Vásquez-Bolaños. 2005. *entomofauna necrocola en cadáveres de conejo y codorniz, en bosque de pino-encino y bosque mesófilo de montaña, en el municipio de mascota, Jalisco, México*. Revista Entomología Mexicana pp.:1725-1729
6. Sakuma C. E. 2005. “*Caracterización de entomofauna cadavérica y tiempo de desarrollo larvario de Mecapaca, la Paz*”. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Medicina Enfermería, Nutrición y Tecnología Médica. La Paz- Bolivia. Pp: 7-8
7. Salazar L. J. 2006. *Insectos de importancia forense en cadáveres de ratas*, Carabobo – Venezuela Rev. Perú. Med. Exp. Salud publica v.23 n.1 Lima ene.-mar.
8. Smith K. G. 1986. *A manual of forensic entomology*, Trustees of the British Museum (Natural History) and Cornell University Press London, pp: 105.
9. Trigo, A. V. 2006. *Descripción de las larvas II, III y el pupario de Compsomyiops fulvicrura (Diptera: Calliphoridae)*. Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN). Laboratorio de Entomología Forense. Rev. Soc. Entomol. Argent. 65 (1-2): 87-99,
10. Whitworth, T. 2010. *Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of the West Indies and description of a new species of Lucilia Robineau–Desvoidy*. Zootaxa, 2663: 1–



## **EFFECTO DE FLUIDOS BIOLÓGICOS COMO CONTAMINANTES EN LA DETERMINACIÓN PRESUNTIVA DE MANCHAS DE SEMEN**

Graciela Silva Maldonado<sup>a</sup>, María Luisa Muñoz<sup>a</sup>, María Gloria Gómez<sup>a</sup>, Claudia Elena González<sup>a</sup>, Lorena B. Godoy<sup>a</sup>, Eunice Medina<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>Centro de Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería., qfb.gsm.100mail.com.

### **RESUMEN**

Los delitos de origen sexual son uno de los actos delictivos más frecuentes, tanto en México como en el mundo, por ello la validación de un indicio con semen es el área de oportunidad en el cual se basa este trabajo.

La presencia de semen en un acto delictivo puede deliberar una sentencia correctiva al sospechoso o bien anular el acto.

El semen puede ser detectado por métodos presuntivos tales como son: Luz negra, Reacción de Florence, Barberio y Niederland.

Objetivo: Determinar el efecto de fluidos biológicos como contaminantes en la determinación presuntiva de manchas de semen.

Metodología: Se realizaron las técnicas presuntivas antes descritas en manchas de semen contaminadas a diferentes tiempos, sobre superficies de algodón.

Resultados: Se determinó que la mejor prueba presuntiva para determinar semen sin contaminantes es la reacción de Florence, mientras que la Luz negra es la menos confiable.

La reacción de Barberio es la más eficiente en la determinación de manchas de semen contaminadas, sin presentar modificación representativa a diferentes tiempos de experimentación.

Conclusión: La detección eficiente de semen es la prueba irrefutable de un acto delictivo de origen sexual, por lo que su oportuna detección minimiza tiempos en la validación de un "indicio".

La reacción más confiable en casos de muestras de semen contaminadas con fluidos biológicos fue la reacción de Barberio, sin importar la antigüedad de la muestra.

### **1. INTRODUCCIÓN**

La Criminalística es una ciencia natural y penal, que mediante la aplicación de sus conocimientos, metodología y tecnología en el estudio de los indicios o de las evidencias físicas asociativas investiga, descubre y verifica de manera científica un hecho presuntamente delictivo y al o los presuntos autores y sus cómplices; además aporta las pruebas materiales y periciales a los órganos que procuran y administran justicia mediante estudios identificativos y reconstructivos e informes o dictámenes expositivos y demostrativos. (Montiel 2010)

Los delitos sexuales son uno de los actos delictivos con mayor recurrencia (Gobierno del estado de Jalisco 2014) tanto en Jalisco como en toda la república mexicana, se estima que un 60% de la población femenina ha recibido algún tipo de violación sexual. (Procuraduría General del Distrito Federal)

Los indicios que más comúnmente figuran dentro de un delito sexual son los fluidos biológicos, siendo el semen el de mayor importancia, debido a su naturaleza. (Policía Federal de Argentina 2014) El hallazgo de fluido seminal es un indicio suficiente para mantener detenido a cualquier sospechoso, y con ello rendir justicia a la víctima. (Gobierno del Estado de Jalisco 2014)

El líquido seminal se ha estudiado desde XV, cuando se observó por primera vez, por Luis de Hamm, y posteriormente por Leeuwenhok; mas sin embargo su estudio era solo de origen fisiológico y funcional. (Ministerio Público Especializado 2014)

El francés Albert Florence desarrollo las primeras técnicas para determinar fluido seminal a partir de soluciones de yodo. Posteriormente Kirshhoff y Bunsen descubrieron que los rayos ultravioleta le conferían a las manchas de semen un color azulado. En 1953 Fishman y Lerner dan a conocer su método de identificación de líquido seminal con fosfatasa alcalina; lo cual contribuyó de manera científica en la determinación del semen como indicio en un delito de origen sexual. (Ministerio Público Especializado 2014)

## 2. TEORÍA

Las pruebas presuntivas se basan en hacer reaccionar determinado reactivo con algún componente del Semen; excepto la prueba de luz ultravioleta, que se basa en la fluorescencia del fluido seminal (Rivas 2001).

Estas pruebas se fundamentan en reacciones cristalográficas, tales como son la Reacción de Florence, Niederland, y Barberio (Rivas 2001).

- **Reacción de Florence:** Basada en la formación de cristales de peryoduro de colina, lanceolados pero de dimensiones y morfología variable (Rivas 2001). Consiste en la formación de cristales bajo la acción del siente reactivo: yoduro de potasio 1.65 g., yodo 2.54 g., agua destilada 30 ml.  
Se coloca en un portaobjetos una gota del macerado sospechoso y se le agregan dos gotas de reactivo, cubriendo la preparación para examinarla al microscopio; si hay esperma, se forman los cristales. (SOTEMFOR 2012)  
Los cristales de Florence aparecen con frecuencia al instante, sin obedecer a una sola ley, ya que unas veces son voluminosos, otras veces cortos y extremadamente anchos, otros son pequeños, no alcanzan el tamaño de los cristales de hemina, teniendo en cuenta que casi siempre son más grandes que estos. (SOTEMFOR 2012)
- **Reacción Barberio:** Utilizando el ácido pícrico con el macerado aparecen cristales de picrato de espermina en formas de agujas o de conos unidos (Rivas 2001). Para efectuar esta reacción se procede como en la de Florence: una gota del líquido a examinar y dos del reactivo de Barberio, se colocan sobre un portaobjetos, obteniéndose cristales de formas diferentes: agujas, conos, los que están adosados por su base y presentando por transparencia aspecto romboideo, cuyos ángulos obtusos serian truncados; a veces son ovoides y entre éstos y el tejido rómbico se observan todos los intermediarios. (SOTEMFOR 2012)
- **Reacción de Niederland:** Utilizando sulfato de calcio con el macerado aparecen cristales rectangulares y pequeños. (Rivas 2001)

Tabla. Representación gráfica de la metodología.

Prueba presuntiva	Luz ultravioleta	Reacción de Florence	Reacción de Barberio	Reacción de Niederland
Blanco	Se realizó la observación directa de la muestra con luz ultravioleta.	Consiste en humedecer la muestra con SSF suficiente, tomar una gota de esta solución y añadirle reactivo de Florence, para proceder a observar los cristales formados por esta reacción.	Consiste en humedecer la muestra con SSF suficiente, tomar una gota de esta solución y añadirle reactivo de Barberio, para proceder a observar los cristales formados por esta reacción.	Consiste en humedecer la muestra con SSF suficiente, tomar una gota de esta solución y añadirle reactivo de Niederland, para proceder a observar los cristales formados por esta reacción.
Semen + orina				
Semen + heces				
Semen + saliva				
Semen + sangre				

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un examen observacional comparativo, utilizando fluidos biológicos, bajo consentimiento previo de los donadores de los siguientes fluidos:

- Semen: Se obtuvo por masturbación, recolectándolo en un envase de plástico.
- Sangre: Se obtuvo por punción venosa.
- Saliva: Se recibió en un envase plástico de tapa de rosca estéril, evitando posible contaminación.
- Orina: Recolección en cualquier horario, recolectada en un envase plástico de tapa de rosca estéril.
- Heces: Se recolecto en un envase plástico de tapa de rosca estéril, evitando contaminación durante la obtención.

Una vez recolectadas las muestras:

- Se realizaron las manchas con semen en una superficie de algodón y se dejaron secar posteriormente.

2. A cada una de las machas de semen se le realizaron las pruebas presuntivas por separado, utilizando como blanco muestras sin contaminantes biológicos.

Tabla. Muestra: Control (Manchas de Semen respecto al tiempo de análisis)

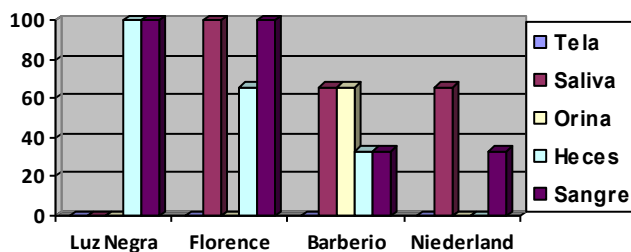
<b>Reacción</b>	<b>Resultados (1 semana de antigüedad)</b>	<b>Resultados (4 semanas de antigüedad)</b>	<b>Resultados (8 semana de antigüedad)</b>	<b>Resultados (10 semana de antigüedad)</b>	<b>Resultados (12 semana de antigüedad)</b>
Luz negra	+++	+++	+++	+++	+++
Florence	+++	+++	+++	+++	+++
Barberio	+++	+++	+++	+++	+++
Niederland	+++	+++	+++	+++	+++

Tabla. Muestras de contaminantes (Blancos)

<b>Muestra (Blanco)</b>	<b>Reacción</b>	<b>Resultado</b>
Saliva	Luz negra	No se observó fluorescencia
	Florence	+++
	Barberio	++
	Niederland	++
Orina	Luz negra	No se observó fluorescencia
	Florence	-
	Barberio	++
	Niederland	-
Heces	Luz negra	Fluorescencia característica
	Florence	++
	Barberio	+
	Niederland	-
Sangre	Luz negra	Fluorescencia característica
	Florence	+++
	Barberio	+
	Niederland	+

En la Tabla se observan las reacciones realizadas a las muestras de contaminantes (Saliva, Orina, Heces y Sangre) donde se indica que la Saliva y la Sangre son los fluidos que reaccionan de forma similar al Semen, mientras que la orina es la que presenta menor sensibilidad a estas reacciones.

Gráfica. Resultados de reacciones positivas en contaminantes (Ref. Tabla 7).



Se puede observar que la reacción menos sensible es la de Florence, debido a que reacciona de forma similar con los contaminantes, la reacción de Barberio resulta ser sensible para cualquier contaminantes, mientras que la reacción de Niederland parece ser más específica.

Tabla. Muestras de contaminantes (Blancos respecto al tiempo de análisis)

<b>Muestra (Blanco)</b>	<b>Reacción</b>	<b>Resultados (1 semana de antigüedad)</b>	<b>Resultados (4 semanas de antigüedad)</b>	<b>Resultados (8 semana de antigüedad)</b>	<b>Resultados (10 semana de antigüedad)</b>
Saliva	Luz negra	-	-	-	-
	Florence	+++	+++	+++	+++

	Barberio	++	++	++	++
	Niederland	++	++	++	++
Orina	Luz negra	-	-	-	-
	Florence	-	-	-	-
	Barberio	++	++	++	-
	Niederland	-	-	-	-
Heces	Luz negra	+	+	+	+
	Florence	++	++	++	++
	Barberio	+	+	+	+
	Niederland	-	-	-	-
Sangre	Luz negra	+++	+++	+++	+++
	Florence	+++	+++	+++	+++
	Barberio	+	+	+	+
	Niederland	+	+	+	+

En la Tabla se muestran los resultados de los análisis a los contaminantes respecto al tiempo, donde se puede notar que a las 12 semanas los resultados no varían, por lo que el tiempo no es un factor determinante en la determinación de contaminantes con técnicas presuntivas para determinación de Semen.

Tabla. Manchas de Semen contaminadas con fluidos biológicos (Saliva, Orina, Heces y Sangre, respecto al tiempo de análisis).

<i>Mancha</i>	<i>Reacción</i>	<i>Resultados (1 semana de antigüedad)</i>	<i>Resultados (4 semanas de antigüedad)</i>	<i>Resultados (8 semana de antigüedad)</i>	<i>Resultados (10 semana de antigüedad)</i>
Semen + Saliva	Luz negra	+++	+++	+++	+++
	Florence	+++	+++	+++	+++
	Barberio	+	+	+	+
	Niederland	-	-	-	-
Semen + Orina	Luz negra	+++	+++	+++	+++
	Florence	+	+	+	+
	Barberio	-	-	-	-
	Niederland	-	-	-	-
Semen + Heces	Luz negra	+++	+++	+++	+++
	Florence	-	-	-	-
	Barberio	+	+	+	+
	Niederland	-	-	-	-
Semen + Sangre	Luz negra	+++	+++	+++	+++
	Florence	++	++	++	++
	Barberio	+++	+++	+++	+++
	Niederland	-	-	-	-

El tiempo no afecta la calidad y eficiencia de las reacciones, por lo que el tiempo no influye en la determinación de manchas de semen contaminadas con fluidos biológicos.

#### 4. CONCLUSIÓN

Los delitos de origen sexual son uno de los actos de violencia más frecuentes en todo el mundo, he aquí la importancia de identificar un indicio de forma oportuna.

En este trabajo se estudiaron las diferentes pruebas presuntivas para determinar Semen en superficies de algodón contaminadas con fluidos biológicos, para ello se realizó cada reacción de forma individual y posteriormente juntas.

Los fluidos biológicos como lo son la Saliva, Orina, Heces y Sangre interfieren de forma importante en la determinación de manchas de Semen; mientras que la antigüedad de las muestras, no interfiere en la determinación de Semen.

La reacción a la luz negra o ultravioleta para manchas contaminadas continua siendo positiva, pero para algunos otros fluidos también es positiva; por lo que no se considera específica ni válida para aprobar una muestra de Semen como positiva.

La reacción cristalográfica más específica aun con contaminantes es la de Barberio, debido a que los cristales se siguen formando eficientemente aun con otro fluido en juego.

La reacción de Barberio es una prueba específica y rápida, por lo que su empleo en la determinación de manchas de Semen resultaría ser eficaz y válida para determinar un indicio.

La reacción menos efectiva con contaminantes es la reacción de Niederland, debido a que no detecta la presencia del Semen cuando se encuentra contaminado.

La reacción de Florence es la más efectiva, para muestras libres de contaminantes, es decir para muestras fiables de semen.

El conocimiento de estas interacciones orienta en la determinación de Semen, lo cual consideramos es uno de los indicios más irrefutables dentro de actos sexuales delictivos.

Los indicios de origen sexual deben ser validados antes de 72 horas, tiempo máximo que se puede detener a un posible culpable, por lo que el empleo de una técnica confiable es la piedra angular para lograr la aprensión de un presunto delincuente.

Mediante este trabajo de investigación se logró conocer cuál es la reacción más eficiente para Manchas de Semen contaminadas con fluidos de origen biológico, marcando la pauta a la optimización de tiempos para determinar uno de los indicios más importantes dentro de la escena criminal para los delitos de origen sexual.

#### **BIBLIOGRAFÍA (ARIAL, bold, 10 pt. justificado a la izquierda)**

1. Anaya Mandal. 2000. News medical [internet]. Fisiología del semen. [citado 2014 Abril]. Disponible en: <http://www.news-medical.net/health/Semen-Physiology-%28Spanish%29.aspx>
2. Calderón y col. 2012. Anatomía principios. Panamericana. 2a ed. México.
3. Cingoloni Tally. 2012. Fisiología humana. Limusa. 2a ed. México.
4. Conacyt [internet]. Delitos sexuales. [citado 2014 Septiembre]. Disponible en: [http://www.conevyt.org.mx/cursos/cursos/sex\\_juv/contenido/revista/sxj\\_18.htm](http://www.conevyt.org.mx/cursos/cursos/sex_juv/contenido/revista/sxj_18.htm)
5. Ganong. 2010. Fisiología médica. Lange. 23a ed. México.
6. Harper. 2010. Bioquímica médica. Panamericana. 23a ed. México.
7. Montiel Sosa J. 2010. Criminalística 1. Limusa. 2a ed. México.
8. Gobierno del Estado de Jalisco [internet]. Delitos sexuales. [citado 2014 Abril]. Disponible en: <http://www.jalisco.gob.mx/es/gobierno/programas/6018>.
9. Guillermo Eduan y col. 2010. Arte criminal. Cuellar. 1a ed. España.
10. Policía Federal de Argentina [internet]. Importancia de los fluidos seminales en la escena del delito y su investigación. [citado 2014 Junio]. Disponible en: <http://cienciaforense.com/Pages/Toxicologia/Fluidos%20Seminales.htm>
11. Procuraduría General del Distrito Federal [internet]. Estadísticas delictivas del periodo actual. [citado 2014 Abril]. Disponible en: <http://pgjdf.gob.mx>.
12. Rivas Souza Mario y col. 2001. Medicina forense. Cuellar. 2a ed. México.

13. Rodríguez García Alfredo [internet]. Medicina forense. [citado 2014 Julio]. Disponible en: [www.justiciaforense.com](http://www.justiciaforense.com)
14. Ministerio Público Especializado [internet]. Apoyos a la investigación criminalística. [citado 2014 Junio]. Disponible en: <http://biblio.juridicas.unam.mx/libros/4/1621/12.pdf>
15. Sherwood Lauralee. 2011. Fisiología humana. MC Graw Hill. 7a ed. Alemania.
16. Tresguerres Jesús y col. 2009. Anatomía y fisiología. Cuerpo humano. MC Graw Hill. 1a ed. México.
17. Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo [internet]. Validación de las técnicas utilizadas para la determinación de la enzima fosfatasa acida, proteína p30 y visualización de células espermáticas, en el laboratorio de química forense de la PGJE. [citado 2014 Junio]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/jspui/bitstream/123456789/4751/1/VALIDA~2.PDF>
18. Universidad de San Carlos de Guatemala [internet]. Asociación de resultados obtenidos en análisis para la detección de semen y espermatozoides y la obtención de perfiles genéticos de sospechosos de violación sexual. [citado 2014 Junio]. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_3310.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3310.pdf)
19. Valledor M. y Carreira JMF. 1993. Calidad en el laboratorio clínico. Panamericana. 1ª ed. Mexico

## REPRODUCCIÓN DE HÁMSTER EN SISTEMA DE POLIANDRIA

<sup>a</sup>Nancy Flores Guillén, <sup>b</sup>Dr. José Luis Contreras Montiel <sup>b</sup>Dra María del Carmen Navarro Maldonado, <sup>b</sup>Alfredo Trejo Córdova, <sup>b</sup>Dr. Demetrio Ambriz García.

<sup>a</sup>Maestría en Biología de la Reproducción Animal., [g\\_n\\_nancy@hotmail.com](mailto:g_n_nancy@hotmail.com)

<sup>b</sup>Departamento de Biología de la Reproducción Animal.. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa., [jlcm@xanum.uam.mx](mailto:jlcm@xanum.uam.mx), [dbr@xanum.uam.mx](mailto:dbr@xanum.uam.mx), [atrejo109@hotmail.com](mailto:atrejo109@hotmail.com), [deme@xanum.uam.mx](mailto:deme@xanum.uam.mx)

**RESUMEN** La reproducción de roedores en el bioterio sigue algunos patrones convencionales, establecidos principalmente para la rata y ratón, donde destaca el apareamiento en parejas establecidas o en sistema de harem (un macho en presencia de varias hembras). Recientemente estudiamos el sistema de reproducción en poliandria (una hembra en presencia de varios machos). Para ello se colocó a la hembra hámster Sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) de 21 días de edad, con 6 machos en una caja de acrílico y permanecieron en condiciones estándar de bioterio. La hembra se apareó libremente hacia los 45 días de edad. Gestó y parió normalmente. Las crías se desarrollaron y se retiraron (destetaron) a los 21 días. En el siguiente ciclo estral de la hembra, volvió a gestar. El parto y lactancia ocurrió normalmente y aún se obtuvo un tercer parto más con crías normales. No se detectaron problemas de competencia entre machos por la hembra receptiva y no se comprometió la sobrevivencia de las crías. Se concluye que es posible obtener crías de hámster siguiendo para ello un sistema de poliandria, como modelo de estudio que así lo requiera.

**1. INTRODUCCIÓN** La utilización de animales en el bioterio para la investigación científica han sido desde hace años de un valor incuestionable, dadas las múltiples aportaciones que a través de ellos se han conseguido para el desarrollo del conocimiento y el bienestar humano, a pesar de las recientes y constantes controversias en relación al mal entendido derecho de los animales, por proteccionistas que dicho sea de paso también gozan de todos los aportes científicos que se han conseguido a través de la historia reciente. Para poder continuar con las investigaciones en diversos campos del conocimiento, los bioterios, o lugares donde se tienen a los animales conocidos para investigación, tienen las condiciones de infraestructura y ambiente necesarias para su mantenimiento y en su caso reproducción. Cada especie animal de las que existen en los bioterios sigue los cuidados y manejo propios de la especie, Es claro que la rata y el ratón fueron de las primeras especies animales en ser incorporadas para este fin, incluso desde el inicio del proceso de la investigación formal con el entonces avance de la microbiología. La reproducción de estas especies es de vital trascendencia para su permanencia, puesto que son especies que cada vez se han ido adaptando a manejos sofisticados que requieren de un control de sus funciones vitales, para seguirlos reproduciendo y propagando. Otros roedores como es el caso del hámster Sirio dorado, que entraron muchos años más tarde a las condiciones de bioterio (año 1920), han seguido parte de los patrones de mantenimiento y reproducción tenidos para la rata y el ratón, sin embargo como se mencionó anteriormente, cada especie tienen sus particularidades, baste aquí señalar que tanto la rata como el ratón, son especies que forman colonias y viven en poblaciones abundantes y mezcladas, en tanto que el hámster prefiere vivir aislado, siendo la hembra la que permanece en un punto fijo y los machos en continuo tránsito para localizar aquellas hembras con las cuales puedan aparearse para luego seguir su trayecto. No gustan de vivir en grupo y mucho menos de una cercana convivencia.

Con respecto a los los sistemas de apareamiento preferentemente para los roedores, varían por especie, así en caso de ratones, es convencional la presencia continua de un macho por tres hembras (sistema de harem), donde el macho se aparea continuamente con las hembras que estén en celo. El parto ocurre entre el grupo y las crías pueden ser reunidas y alimentadas por las hembras, lo que conlleva a que exista una lactancia colectiva y la posibilidad de una mejor sobrevivencia de las crías. Por su parte las ratas prefieren criar su camada de manera aislada, así que en los bioterios, se dejó que macho y hembra permanezcan juntas hasta que se confirmara la ocurrencia del coito, a través de la presencia de espermatozoides o signos de gestación, momento en que se separa a la hembra y se deja sola hasta que ocurra el parto y amamantamiento. En el caso de las hembras hámster son mantenidas convencionalmente en grupos de 6 a 8 hembras dependiendo del espacio vital disponible, en las cajas de acrílico y se aparean con un macho de manera individual, cuando dicha hembra se encuentre en la tarde del proestro o inicio del estro. El apareamiento puede ser controlado, restringido a unos minutos o dejarse la pareja durante toda la noche. A la mañana siguiente luego de comprobar de que ha ocurrido el apareamiento a través de la presencia de espermatozoides en la citología vaginal exfoliativa o la presencia del tapón vaginal, se separa a la hembra, la que puede volver al grupo, pero llegado el momento del parto deberá estar aislada y de igual manera durante la lactancia.

En el sistema de poliandria, aquí propuesto, se considera la presencia de varios machos y la de una hembra receptiva. En sistemas naturales es difícil que ocurra este esquema puesto que los machos en tránsito lo hacen de manera aislada, puesto que previamente delimitaron sus territorios. Por otro lado, en otras especies, cuando de manera libre existe una hembra en celo y la presencia de varios machos sexualmente activos, éstos se disputarán el recurso disponible y competirán por la oportunidad de legar sus genes a la descendencia. Sin embargo en estudios previos hemos visto que el macho hámster en condiciones de bioterio muestra una notoria conducta apacible. Con la finalidad de conocer el comportamiento de machos hámster en presencia de una hembra y su probable camada, en un sistema de poliandria es que se realizó la presente investigación como modelo para estudios en este campo.

**2. MATERIAL Y METODO.** Se colocó un grupo de animales recién destetados (21 días de edad) 6 machos y una hembra en una caja de acrílico, donde recibieron alimento (nutricubos Harlan) a libre acceso, así como agua fresca en abundancia. La cama de viruta se cambió dos veces por semana. Las condiciones del bioterio fueron las siguientes, temperatura promedio 27°C, humedad relativa 60%, fotoperiodo 14 hr luz y 10 hrs oscuridad (4am-6pm). La hembra se revisó con frecuencia después de la pubertad (30 días) para buscar en el orificio genital, la secreción vaginal postovulatoria. Hacia el tercer ciclo estral, (día 45 de vida) la hembra mostró signos de apareamiento, por lo que su manejo fue con mayor delicadeza, se apreció aumento del volumen abdominal, crecimiento de los pezones y finalmente la ocurrencia del parto. Todos los días se revisaron sus crías para conocer su condición, así como de la de los demás miembros de la caja, especialmente buscando si existían signos de competencia, lucha entre machos o de canibalismo de las crías. Se destetaron las crías cuando cumplieron 21 días de edad y la hembra volvió a aparearse en su siguiente ciclo estral. De nuevo ocurrió la gestación, lactancia y destete. Finalmente se dejó un tercer apareamiento, parto, lactancia y destete. Se hizo finalmente una descripción de algunos de los eventos observados en relación a este sistema de producción de hámster en poliandria como propuesta de modelo de estudio.



**3. RESULTADO:Y DISCUSIÓN** En la producción de hámster en sistema de harem, esto es, un macho con varias hembras, las crías no sobreviven, ocurriendo un canibalismo permisivo, al momento del parto (las hámster paren de pie). Alguna de las compañeras sujeta la cría recién parida y de inmediato se la come, por lo que no es fácil ver las crías y curiosamente tampoco hay evidencia de agresión entre adultos. En el sistema de poliandria, (una hembra con varios machos) las crías logran sobrevivir accesiblemente. Además parece no existir una competencia entre machos por la hembra en celo, denotando una armonía entre el grupo. Hemos descrito anteriormente, que en condiciones de bioterio, los machos son sujetos a un ambiente en extremo monótono y la dotación constante del recurso alimento y agua, hace que tengan permanentemente una conducta de aletargamiento. En el presente trabajo se encontró que incluso no mostraron interés por las crías, que viven hasta los primeros 10-12 días en un nido o fuente de calor bien establecido dentro de su caja y posteriormente cuando se dispersan, tampoco mostraron interés por ellas, ni para interaccionar, ni para conductas antagónicas. Los apareamientos de la hembra ocurrieron al primer ciclo estral luego del destete. Se determinó que la hembra aumentó hasta 40 gr de peso corporal, luego del apareamiento y hasta poco antes del parto. Parió en promedio 10 crías, cada una de la cuales tiene al nacer un peso promedio de 1 gr.

Se observaron dos crías muertas de 19 días de edad en la segunda camada y al hacer la necropsia se encontró que las crías estaban deshidratadas, cabe señalar que par esa edad las crías ya difícilmente son atendidas por su madre, además de haber reducido la secreción de leche, pues está preparándose para el destete e incluso para el retorno al ciclo y un nuevo apareamiento. En otro momento se colocaron algunos pellets en el interior de la caja, siendo guardados celosamente por algunos de los machos adultos, las crías se precipitaron también ante este recurso sin ser agredidos por ello por los machos.. En este sistema debe tenerse el cuidado de colocar el bebedero y el alimento cercona del alcance de las crías.

Se desconoce si en el apareamiento de la hembra participó uno o mas machos, así como la paternidad de las crías.

**4. CONCLUSIÓN** Esta evidencia de crianza de hámster en sistema de poliandria pone de manifiesto el que los machos que conforman el grupo pueden vivir armoniosamente en presencia de una hembra que aunque esté en estro no genera agresión ni competencia, con el resto de los compañeros. Este modelo puede ser de utilidad para estudiar aspectos de conducta de estos animales relacionadas con la interacción de varios machos en presencia de una hembra y sus crías, que, como se mostró, no tienen riesgo de sobrevivencia.



## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Chelini, M. Souza, NL., Otta, E. 2011. Breeding system can affect the offspring sex ratio in Syrian hamsters. *Lab Anim.* 45(1) 55-7.
2. Chelini, M. Palme R. Otta, E. 2011. Social stress and re'productive in the female Syrian hamster endocrine and behavioural correlates. *Phy Behavior.* 24(104)984-54.
3. Jian-Xu Zhang, Xiao-Ping Rao, Lixing Sun, Da-Wei Wang, Dingzhen Liu, Chenghua Zhao 2008. Cohabitation impaired physiology, fitness and sex-related chemosignals in golden hamsters. *Physiol Behav*, 93 (2008), pp. 1071–1077

## LA SENSIBILIDAD DEL OVIDUCTO AL CALCIO Y AL OXIDO NITRICO, VARÍA CON LA EDAD EN HEMBRAS HÁMSTER

Tania Jiménez Cabrera<sup>a</sup>, Filiberto Reyes Fernández<sup>b</sup>, María del Carmen Navarro Maldonado<sup>a</sup>,  
Alfredo Trejo Córdova<sup>a</sup>, Demetrio Ambriz García<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Biología de la Reproducción UAM- Iztapalapa, tajicaju@gmail.com,  
dbr@xanum.uam.mx, tecaalfredo@yahoo.com, deme@xanum.uam.mx

<sup>b</sup>Laboratorio de Manejo de la Reproducción UAM- Xochimilco freyes@correo.xoc.uam.mx

**RESUMEN** Hemos descrito recientemente que el hámster (*Mesocricetus auratus*) de edad avanzada (>8 meses), conserva característicamente ovocitos degenerados en el oviducto, simultáneamente a los recién ovulados (potencialmente fértiles), esta condición pone de manifiesto un transporte ovocitario oviductal diferente, comparado al de hembras de menor edad. Con la finalidad de conocer el efecto del Calcio y del Óxido Nítrico en el transporte oviductal, utilizamos el Dinitrato de Isosorbida (DIL, donador de NO y relajante del músculo liso) en tabletas orales (Debisor, Laboratorio Novag), que maceradas y solubilizadas fueron inyectadas a la bursa ovárica. Se utilizaron 16 hembras, que permanecieron en condiciones controladas estándar de bioterio. Las hembras adultas (HA, 4 meses) y las de edad avanzada (senectas, HS de 12 meses), el día de su secreción vaginal postovulatoria (día 1 del ciclo) fueron anestesiadas con Xilacina-Ketamina y sus bursas ováricas exteriorizadas para aplicarles 10µL con 10µM o 1mM de DIL. Al día siguiente los animales fueron sacrificados. Los oviductos perfundidos con PBS y los ovocitos cuantificados al microscopio invertido. Se contaron los cuerpos lúteos en el microscopio de disección. Las HA presentaron aceleración del transporte ovocitario oviductal en dosis de 10µM (efecto del Ca del excipiente), lo cual se revirtió a 1mM (Efecto del NO). Las HS no mostraron aceleración (p<0.01). Se concluye que la sensibilidad al Calcio (excipiente) es mayor en el oviducto de hembras adultas, en tanto que la sensibilidad al Oxido Nítrico, es menor en comparación a las hembras senectas, razón por la cual estas última, podrían conservar ovocitos degenerados.

**1. INTRODUCCIÓN** Para que el transporte oviductal se efectúe eficientemente, influyen numerosos factores, como la frecuencia de batido ciliar en el ámpula, así como la contractilidad muscular y diferentes sustancias producidas por las células oviductales, las cuales utilizadas *in vitro*, en concentraciones equivalentes a las que existen *in vivo*, han demostrado ser importantes reguladores fisiológicos de esta actividad. El transporte oviductal en individuos de la misma especie y mismo estado fisiológico, tiene una duración constante, lo que supone un proceso altamente programado y controlado, sin embargo, cuando dichos individuos se comparan bajo diferentes condiciones fisiológicas, por ejemplo hembras apareadas o senectas, tal proceso puede diferir notablemente (Croxatto, 2002). En este trabajo se compara el efecto de un donador de Óxido Nítrico (NO), Dinitrato de Isosorbida (Debisor), así como el Calcio presente en el excipiente, sobre el transporte ovocitario oviductal en hembras hámster de edad avanzada (12 meses) y de edad adulta (4 meses).

**2. DISEÑO EXPERIMENTAL** Se utilizaron 5 hembras adultas (HA de 4 meses) y 3 hembras senectas (HS, 12 meses), a las cuales se les aplicó intrabursalmente 10µM de DIL. Además, otras 5 HA y 3 HS se les aplicó 1mM de DIL. Fueron alojadas en cajas de acrílico con cama de viruta, agua y alimento *ad libitum*, en condiciones de bioterio, bajo un ambiente controlado a 26°C

promedio, fotoperiodo de 14 hrs luz (4hrs – 18hrs) por 10 hrs de oscuridad. Todas las hembras tuvieron ciclos estrales regulares. Por la tarde del estro, se anestesiaron con 100µl de Xilacina + 100µl Ketamina /120g de peso, para hembras adultas y 100µl de Xilacina + 100µl Ketamina /140g para hembras senectas. Se realizó un abordaje dorso lateral para exteriorizar el paquete graso con el ovario, oviducto y útero. Bajo un microscopio de disección se abrió la bursa con electrocauterio e inyectó 10µl de Debisor (10µM o 1mM) o el vehículo (PBS). Al siguiente día las hembras fueron sacrificadas por dislocación cervical, se extrajeron ovarios, oviductos y úteros. Los oviductos y úteros se perfundieron con PBS y bajo microscopio invertido se cuantificaron los ovocitos encontrados. En microscopio de disección se contaron los cuerpos lúteos ováricos. Los resultados fueron comparados con valores promedio de hembras adultas y senescentes, analizados estadísticamente por ANOVA con  $p < 0.01$ .

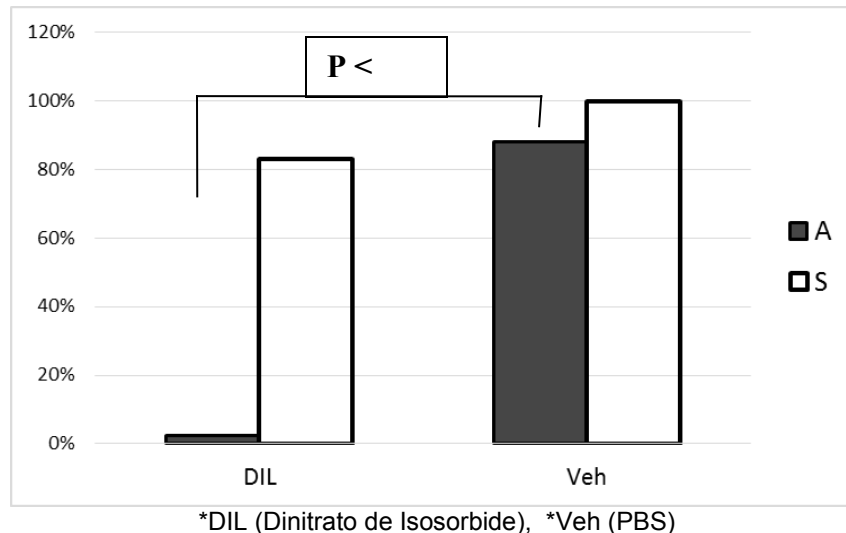
**3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN** La administración intrabursal de DIL (Debisor) a una concentración de 10µM en hembras adultas provocó una aceleración del transporte ovocitario oviductal, evidenciado porque no se localizó ningún ovocito en el perfundido de oviducto, ni de útero. El conteo de cuerpos lúteos determinó la cantidad de ovocitos ovulados que debieron estar presentes. Por el contrario, la inyección intrabursal de 10µM, en hembras senescentes, no mostró efecto (Tabla 1). Lo anterior pone de manifiesto una respuesta sustancialmente diferente ( $p < 0.01$ ) entre hembras adultas y senectas ante el mismo estímulo (Figura 1).

**Tabla 1 Efecto de Dinitrato de Isosorbida (DIL) Debisor 10µM aplicado intrabursalmente sobre el transporte oviductal de hembras hámster Adultas (4 meses) o Senescentes (12 meses).**

Hembras	Tratamiento		Ovocitos		Cuerpos Lúteos	
	Bursa D.	Bursa I.	Ov. D.	Ov. I	O. D	O.I
<b>Adultas</b>						
<b>B<sub>2</sub>(3)</b>	DIL	DIL	0	0	4	6
<b>B<sub>2</sub>(4)</b>	DIL	DIL	0	0	4	8
<b>B<sub>1</sub>(5)</b>	DIL	DIL	0	0	4	5
<b>B<sub>2</sub>(2)</b>	DIL	Veh	0	7	7	8
<b>B<sub>2</sub>(7)</b>	Veh	DIL	8	0	9	8
<b>Senectas</b>						
<b>A<sub>3</sub>(7)</b>	DIL	Veh	6/1*	4/4	6	5
<b>A<sub>3</sub>(5)</b>	DIL	Veh	4/2	6/1	5	7
<b>A<sub>3</sub>(4)</b>	Veh	DIL	6/3	5/1	6	5

\*En hembras senescentes ovocitos fértiles/degenerados. Ov= oviducto. O= ovario.

**Figura 1. Porcentaje de ovocitos recuperados en el oviducto con Debisor (10µM, intrabursal) en hembras Adultas (A) y Senectas (S).**



El efecto de aceleración, en el transporte ovocitario oviductal de las hembras adultas, pudo haber sido causada por acción del excipiente de la tableta, el cual contiene carbonato de calcio, sulfato de calcio, fosfato de calcio divalente y trivalente, lactosa y almidón, y de acuerdo con Al Otaibi, en 2014, el ion calcio es el regulador clave para que la contractibilidad oviductal por el acortamiento de las células del músculo liso se genere y su afluencia en la célula se inicia predominantemente por la despolarización de la membrana celular. Cabe mencionar que la esfera de influencia del NO es probable que se extienda sólo a 100µm de su origen a causa de su naturaleza reactiva y la longitud del oviducto de hámster es de aproximadamente 34mm, siendo la longitud del ámpula de 5mm (Yan et al., 2011), considerando que se ha determinado la ubicación de los OD en el esfínter ámpulo-istmico muy probablemente los niveles de calcio sobrepasaron a los de NO. Trejo (2002), menciona que la ET-1 (endotelina 1) induce la contracción de las células del músculo liso, por el aumento intracelular de  $Ca^{+2}$ , proceso mediado a través del receptor ET-A, poniendo de manifiesto la relevancia del ión calcio en este fenómeno. Respecto a esto, Francis et al., 2003 encontraron que las contracciones espontáneas observadas en el tejido uterino de ratones con 4 días de gestación, eran similares a las de tejido miometrial de codorniz, y estas contracciones eran más grandes y más frecuentes en medios que contenían mayor Ca extracelular (1,2 y 2,5 mM), de esta manera, el contenido de calcio del DIL, aquí utilizado, pudo propiciar la contracción de la musculatura lisa del oviducto, generando la aceleración del tránsito de los ovocitos. También se ha comprobado que existen señales químicas que son secretadas por el epitelio oviductal, como las prostaglandinas y el ATP a través de un aumento en la concentración de calcio libre intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ) (Kerr, 2004).

Se sabe que el transporte oviductal en individuos de la misma especie y mismo estado fisiológico, tiene una duración constante, lo que implica un proceso altamente programado y controlado. Navarro et al., en 2000, reportaron que las hembras hámster nulíparas jóvenes presentan un patrón de segmentación embrionario más rápido que las hembras nulíparas maduras y Trejo en 2002, concluyó que existe una asincronía del desarrollo embrionario más acentuada en hembras adultas múltiparas. También se ha documentado que en hembras adultas hay un aumento de tejido fibroso del oviducto y una modificación en la capacidad de señalización oviductal (Croxatto, 2002). Por consiguiente, puede existir un aumento en la síntesis de óxido nítrico en las hembras senectas, que como menciona Arteaga et al., en 2008, aumenta los niveles de GMPc que conduce a la relajación de la musculatura lisa, como resultado del metabolismo de NO, lo que normalmente contribuye a la quiescencia del miometrio en diferentes especies y que exista una menor sensibilidad al calcio. Vargas et al., en 2009 describen que la vía de señalización intracelular RhoA/Rho-kinasa (ROCK) es una vía que al ser activada, aumenta la sensibilidad al calcio en la contracción de la célula muscular lisa y produce, además, una cadena de eventos celulares como la desregulación del óxido nítrico sintasa, esta vía puede tener mayor relevancia en hembras adultas, y funcionar distinto en hembras senectas.

Lo anterior junto con el resultado obtenido, pone en evidencia que existe un efecto diferencial al estímulo de DIL (Debisor 10µM) entre hembras adultas y senectas, que puede estar mediado por el Donador de óxido nítrico o por el ion calcio; sin embargo no está claro cuál es el mecanismo. Al administrar una dosis de DIL mayor en 100 veces (1mM) en hembras adultas y senectas (Tabla 2) el resultado fue el mismo, para ambos grupos.

**Tabla 2 Efecto de Dinitrato de Isosorbida (Debisor 1mM) aplicado intrabursalmente sobre el transporte oviductal de hembras hámster Adultas (4 meses) o Senectas (12 meses).**

Hembras	Tratamiento		Ovocitos		Cuerpos Lúteos	
	Bursa D.	Bursa I.	Ov. D.	Ov. I	O. D	O.I
<b>Adultas</b>						
B <sub>1</sub> (1)	DIL	Veh	9	6	9	6
B <sub>1</sub> (2)	Veh	DIL	9	4	9	5
B <sub>3</sub> (3)	DIL	Veh	5	5	5	5
B <sub>3</sub> (5)	Veh	DIL	9	5	9	5
B <sub>4</sub> (6)	DIL	Veh	6	8	6	8
<b>Senectas</b>						
A <sub>3</sub> (2)	Veh	DIL	10/1*	6/6	6	9
A <sub>3</sub> (5)	DIL	Veh	3/2	6/1	5	7
A <sub>3</sub> (4)	Veh	DIL	6/3	5/1	6	5

\*En hembras senescentes ovocitos fértiles/degenerados.

Es posible que al aumentar la concentración de DIL, la acción del NO predominará sobre el efecto que pudiera haber tenido el excipiente, ya que de acuerdo con Sauzeau et al., en 2003, el NO ejerce una acción inhibitoria sobre la sensibilización al calcio, y por otro lado pudo ocurrir una saturación de calcio que bloqueó la acción inicial.

Estos resultados pueden estar vinculados a alteraciones en la sensibilidad al [Ca<sup>+2</sup>] y en la producción del NO, que están directamente relacionados a la edad de las hembras, lo que se vio reflejado en la aceleración del transporte ovocitario en hembras adultas activada por Debisor 1µM comparado con la casi nula respuesta de la hembras senectas al mismo estímulo. Lo que nos confirma, que con el avance de la edad, el mecanismo de señalización o la sensibilidad oviductal que participa en el transporte de los ovocitos, cambia. Estas diferencias han sido observadas por Yan et al., en 2011, que encontraron una dinámica diferencial en la [Ca<sup>2+</sup>] dentro de células ciliadas en el epitelio fresco del oviducto, observando un patrón de fluctuación espontánea en los animales jóvenes, pero no en animales adultos, así como una expresión bien regulada de las proteínas de unión gap en hembras jóvenes más no en las adultas. Lo anterior junto con el resultado obtenido en el presente trabajo, pone en evidencia que existe un efecto diferencial al estímulo de DIL (Debisor 10µM) entre hembras adultas y senectas, que puede estar mediado por el Donador de óxido nítrico o por el ión calcio.

#### 4. CONCLUSION

Con el avance de la edad, el mecanismo de señalización o la sensibilidad oviductal que participa en el transporte de los ovocitos se encuentra alterada, lo que puede causar la retención de ovocitos en un estado degenerado por las hembras senescentes.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Arteaga T., López H. y Guerra I. 2008. Efecto de los donadores de óxido nítrico en la inducción de la maduración cervical. *Perinatol Reprod Hum*; 22: 3003-314.

2. Al Otaibi M. 2014. The physiological mechanism of uterine contraction with emphasis on calcium ion. *Calcium Signaling* Vol. 1 No. 2.
3. Croxatto H. B. 2002. Physiology of gamete and embryo transport through the fallopian tube. *Reproduction Biomedical Online* 4:160-9.
4. Francis M, Arkle M, Martin L., Butler T., Cruz M, Opare-Aryee G., Dacke G. and Brown J. 2003. Relaxant effects of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptides on oviduct motility in birds and mammals: possible role of nitric oxide. *General and Comparative Endocrinology* 133, 243–251
5. Trejo C. 2002. Asincronía del desarrollo embrionario temprano en hembras nulíparas (jóvenes y adultas) y múltiparas de hamster sirio dorado (*Merocricetus auratus*). UAM-I Tesis de Maestría.
6. Navarro M. Ma. Del C., Ambríz G. D., Mundo R. E., Trejo C. A., Hernández P. O. y Rosado G. A. 2000. Desarrollo embrionario Temprano en el Hamster Sirio Dorado, *Mesocricetus Auratus* (Mammalia : Rodentia). *Acta Zool. Mex.* 81: 105-115.
7. Sauzeau V., Rolli-Derkinderen M., Marionneau C., Loirand G. and Pacaud P. 2003 RhoA Expression Is Controlled by Nitric Oxide through cGMP-dependent Protein Kinase Activation. *Vol. 278, No. 11, Issue of March 14, pp. 9472–9480.*
8. Vargas M., Rivera P., Ocaranza y Jalil J. 2009. La vía de señalización Rho A/ Kinasa se encuentra activada en el miocardio en ratas con fibrosis cardíaca inducida por isoprotenerol. *Revista Chilena de Cardiología- Vol. 28 N°1.*
9. Yan J, Akutsu H. and Satoh Y. 2011. The morphological and functional observation of the gap junction proteins in the oviduct epithelia in young and adult hamsters. *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, 88(2): 57–64.

## LA ALIMENTACIÓN IRREGULAR TIENE UN EFECTO ANSIOGÉNICO EN RATAS WISTAR

Álvaro Pavón-Rosado<sup>1</sup>, T. Molina-Jiménez<sup>2</sup>, A. Cortés-Sol<sup>1</sup>, C. Juárez-Portilla<sup>1,3</sup> Elvira Morgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, [alvaropavon18@gmail.com](mailto:alvaropavon18@gmail.com); [alcortes@uv.mx](mailto:alcortes@uv.mx); [elmorvi@hotmail.com](mailto:elmorvi@hotmail.com)

<sup>2</sup> Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, [tmolina@uv.mx](mailto:tmolina@uv.mx)

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana, [cjuarez@uv.mx](mailto:cjuarez@uv.mx)

### RESUMEN

El estilo de vida moderno rompe con la relación entre nuestro sistema interno de temporización y el día solar, ocasionando una disrupción en los ritmos circadianos naturales. Este desfase entre las señales temporales internas con las externas produce alteraciones metabólicas, neurales y hormonales en el organismo. El objetivo de este trabajo fue demostrar el efecto ansiogénico que ejerce la ingestión de alimento en horas no habituales. Se utilizaron ratas Wistar hembras (n=18) y machos (n=18), bajo condiciones de bioterio, con ciclo de luz/oscuridad 12/12 h (encendido a las 04:00 h) y agua *ad libitum*. Tanto en machos como en hembras, se explotaron tres condiciones de alimentación durante 26 días: 1) Alimentación fija (AF), donde los sujetos recibieron alimento de 08:00-11:00 h (hora de alimentación no habitual en roedores nocturnos); 2) Alimentación regular (Alr), donde los sujetos fueron alimentados en diferentes horarios diariamente, en intervalos de tres horas (a las 10:00, 06:00, 18:00, 14:00, 22:00, 02:00 reiniciando el ciclo); y 3) *Ad libitum* (AL), sujetos con disponibilidad de alimento las 24 horas. En el día 26 de experimentación, los sujetos fueron evaluados en laberinto elevado en cruz (5 min) y campo abierto (5 min). Los resultados indicaron que en hembras, los grupos AF y Alr presentaron mayores indicadores de ansiedad con respecto al grupo AL, sin modificar su locomoción. Sin embargo, ninguna condición de alimentación produjo diferencias en la prueba de laberinto de brazos elevados en machos. En conclusión, se sugiere que la alimentación a horas no habituales, así como la irregularidad en los periodos diarios de ingestión de alimento, ejercen un estado leve ansiogénico que afecta principalmente a las hembras.

### 1. INTRODUCCIÓN

Se sabe que el ciclo de luz-oscuridad es el sincronizador de conductas y procesos fisiológicos más importante en los organismos, por lo que la distorsión en la sincronización circadiana que permite el ciclo luz-oscuridad ambiental promueve el desarrollo de trastornos del sueño, ansiedad, depresión y síndrome de Bournout (Mittler *et al.*, 2000). Sin embargo, hoy sabemos que las señales temporales que sincronizan la ritmicidad biológica son muy variadas, permitiendo un sistema multioscilariorio (Mrosovsky, 1996), cuyo sincronizador adquiere preponderancia según las necesidades del organismo. En este sentido, el alimento es también un importante sincronizador de los ritmos de equilibrio metabólico y de la regulación de procesos humorales (Salgado-Delgado *et al.*, 2008). De modo que, cuando la fuente de alimento es limitada a ciertas horas del día, ya sea en condiciones naturales o en protocolos experimentales, la conducta de los organismos implicados se organiza en función de la disponibilidad de alimento, es decir, que el alimento funciona como un sincronizador externo que regula procesos bioquímicos, fisiológicos e incluso conductuales (Stephan, 2002; Lowrey y Takahashi, 2004).



Al respecto, en nuestra sociedad actual, los horarios de alimentación temporalmente regular (aquellos que siguen horarios ordenados y previsibles) han sido reemplazados por horarios inusuales e impredecibles a causa de diversos factores como los trabajos en turnos nocturnos, los cambios de zona horaria así como las actividades de ocio y placer. En condiciones de laboratorio, la alimentación normal (nocturna) en ratas puede ser suplantada por horarios cambiantes que pueden ser diurnos o nocturnos pero variando el horario diario de los mismos, de tal manera que esta desincronización induce fenotipos conductuales y metabólicos (Scheer *et al.*, 2009; Salgado-Delgado *et al.*, 2010; Wyse *et al.*, 2011). Sin embargo, no se ha explorado ampliamente el efecto de la alimentación irregular sobre los estados emocionales de los sujetos como la ansiedad. Por tanto, es de nuestro interés explorar los efectos de horarios irregulares de ingestión de alimento sobre la ansiedad experimental en ratas de la cepa wistar.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **Sujetos de estudio**

Se utilizaron 36 ratas de la cepa Wistar (18 machos y 18 hembras) con un peso de 200 a 300 g. Los sujetos fueron alojados (n=6) en cajas de acrílico transparentes (44x33x20 cm), mantenidos en un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 h (con el encendido a las 04:00 h) y con agua y alimento *ad libitum*. El estudio fue realizado en las instalaciones de la Facultad de Biología, de la Universidad Veracruzana, campus Xalapa. La manipulación de los sujetos estuvo mediada por los acuerdos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-199) y bajo vigilancia del comité de Ética y Transparencia de la Facultad de Biología-Xalapa UV.

### **Grupos experimentales**

Después de dos semanas de habituación a las condiciones de bioterio, los sujetos fueron distribuidos de manera aleatoria a tres grupos experimentales (n=6 por género): grupo AL (*Ad libitum*), los sujetos disponían de agua y alimento las 24 h durante los 26 días de experimentación; grupo AF (Alimentación fija), los sujetos tenían agua disponible las 24 h, pero el alimento (300 g) se dio únicamente en horario de 08:00 a 11:00 h diariamente, durante 26 días; grupo Alr (Alimentación Irregular), los sujetos disponían de agua las 24 h y recibían 300 g de alimento en diferentes horarios diariamente (10:00, 06:00, 18:00, 14:00, 22:00, 02:00 h, reiniciando el ciclo) en intervalos de tres horas. Terminado el periodo de alimentación, el remanente fue retirado.

### **Pruebas conductuales**

Los experimentos fueron realizados el día 26 del protocolo durante la fase de luz, comenzando a las 9:00 h. Las sesiones fueron grabadas con una cámara de videograbación (SONY). El registro conductual fue realizado por dos observadores, con la finalidad de validar los resultados obtenidos mediante un programa *ex profeso*. 1) **Prueba de laberinto de brazos elevados**: la prueba consistió en dos brazos de madera abiertos (color blanco) y dos cerrados (color negro) opuestos haciendo cruce. Las dimensiones de ambos brazos son de 50 cm de largo y 10 cm de ancho. Los brazos oscuros tienen paredes de 50 cm que los protegerán. El laberinto tiene una altura de 50 cm sobre el suelo. La rata fue colocada en la plataforma central con la vista hacia los brazos abiertos; la prueba tuvo una duración de 5 min. 2) **Prueba de campo abierto**: Después de pasar a la prueba de laberinto elevado en cruz, los animales fueron sometidos a la prueba de campo abierto. La prueba consistió en colocar a cada sujeto en una caja de acrílico opaca (44x33x20 cm), cuya base estuvo dividida en cuadros de 11 x 11 cm. Se evaluó el número de cuadros cruzados por el animal durante 5 min, tomando como criterio que la rata pasara al menos tres cuartas partes de su cuerpo de un cuadro a otro. Al término de cada sesión individual, los aparatos fueron desodorizados con una solución limpiadora de etanol al 5%.

### **Análisis estadístico**

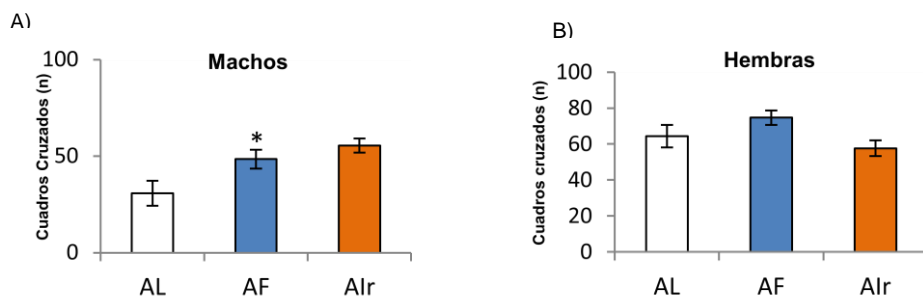
Se realizó un ANOVA de una vía seguido de una prueba *pos hoc* Student-Newman-Keuls utilizando el programa de SIGMASTAT 3.5. Los resultados se presentan como la media  $\pm$  error estándar.

## **3. Resultados**

### **Prueba de campo abierto**

Los datos obtenidos indican que hubo diferencias en la locomoción en los machos [ $F_{(2,15)} = 6.06$ ,  $P < 0.01$ ], pues los grupos AF y Alr incrementan el número de cuadro cruzados ( $P < 0.05$ ;

Figura 1<sup>a</sup>). Sin embargo, en las hembras no existieron diferencias entre los grupos [ $F_{(2,15)} = 2.93$ ,  $P < 0.08$ , NS], aunque se puede observar una tendencia no significativa a incrementar los cuadros cruzados en el grupo AF (Figura 1B).



**Figura 1. Prueba de campo abierto.** En machos, se observó un incremento en la actividad locomotriz en los grupo AF y Alr respecto al AL, mientras que en hembras no se observan diferencias entre los grupos. \* $P < 0.05$  vs AF y Alr, ANOVA de una vía, prueba post hoc Student-Newman-Keuls

### Prueba de laberinto elevado en cruz

El análisis estadístico no indicó diferencias en los grupos de machos en ninguna de las variables evaluadas en la prueba de laberinto elevado en cruz: número de entradas al brazo abierto [ $F_{(2,15)}=1.46$ ,  $P < 0.26$ , NS], porcentaje de entradas al brazo abierto [ $F_{(2,15)}=1.62$ ,  $P < 0.23$ , NS], tiempo total en el brazo abierto [ $F_{(2,15)}=1.17$ ,  $P < 0.33$ , NS] e índice de ansiedad [ $F_{(2,15)}=1.59$ ,  $P < 0.23$ , NS]. Sin embargo, en las hembras se observaron diferencias en las variables de número de entradas al brazo abierto [ $F_{(2,15)}=5.51$ ,  $P < 0.01$ ] y el porcentaje de entradas a los brazos abiertos [ $F_{(2,15)}=4.38$ ,  $P < 0.16$ , NS] pero no en el tiempo total en brazo abierto [ $F_{(2,15)}=2.04$ ,  $P < 0.16$ ] e índice de ansiedad [ $F_{(2,15)}=1.52$ ,  $P < 0.25$ , NS]. Los grupos de AF y Alr tuvieron un menor número y porcentaje de entradas a brazo abierto ( $P < 0.05$ ; Figura 2).

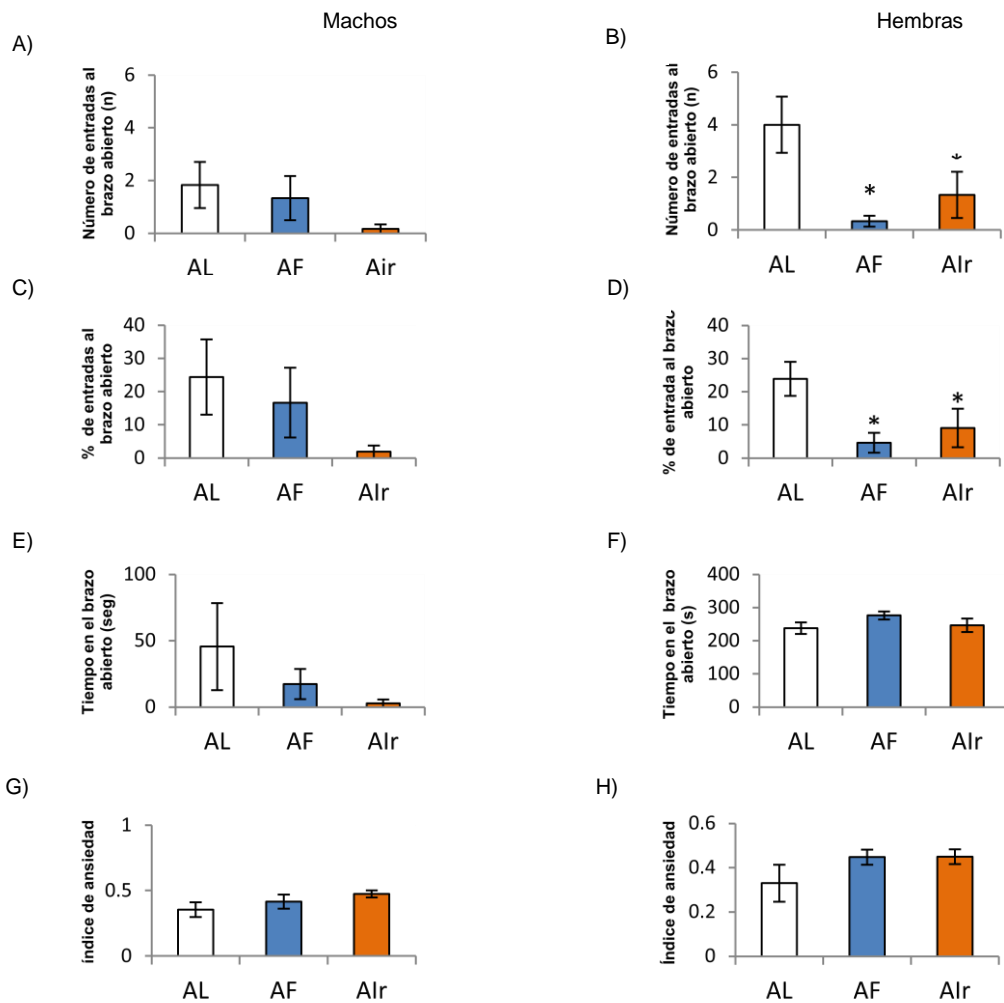
### Discusión:

En el presente estudio se evaluó el efecto ansiogénico que se genera por la ingestión de alimento en horarios irregulares. Los resultados pueden resumirse de la siguiente manera: 1) En campo abierto, los grupos AF y Alr de machos tuvieron un aumento en la actividad locomotriz, efecto que no fue observado en hembras; y 2) las ratas hembra de los grupos AF y Alr tuvieron una reducción en el número de entradas y el porcentaje de entradas al brazo abierto mientras que en machos no hubo cambios en ninguna de las variables evaluadas en la prueba de laberinto de brazos elevados. Estos datos sugieren que los horarios irregulares de alimentación promueven un estado antigénico leve preferentemente en ratas hembra.

La ingestión de alimento es una actividad de vital importancia para los organismos y es regulada por una serie de mecanismos fisiológicos que interactúan para obtener el correcto balance energético y lograr un estado de homeostasis en el organismo (Escobar). Así, el alimento funciona como un sincronizador externo capaz de regular procesos bioquímicos, fisiológicos y conductuales (Escobar *et al.*, 1998; Damiola *et al.*, 2000; Stephan, 2002). En nuestro estudio se encontró que la variación de los horarios de alimentación decrementó las variables de número y porcentaje de entrada a los brazos abiertos en la prueba de laberinto, sólo en ratas hembra. Esto sugiere un estado leve de ansiedad dado que los animales prefieren los brazos cerrados y un incremento en el tiempo en los brazos abiertos es considerado un efecto ansiolítico (Walf y Frye, 2007). Es importante mencionar que las hembras de los grupos AF y Alr se encontraban en fase diestro1 donde los niveles de hormonas esteroides se encuentran en bajas concentraciones. Al respecto, existen estudios que sustentan que las ratas que se encuentran en las fase de proestro-estro (caracterizada por altos niveles plasmáticos de estradiol y progesterona) incrementan la tasa de disparo neuronal del núcleo septal lateral, una estructura implicada en aspectos motivacionales y de hedonismo (Contreras *et al.*, 2000) y tienen un efecto ansiolítico en laberinto de brazos elevados (Marcondes *et al.*, 2001). Por tanto, el efecto ansiogénico observado en estos grupos

pudo ser influenciado por el estado hormonal mostrado de forma indirecta por el estado de diestro continuo en que los animales se encontraban.

Este efecto ansiogénico inducido por la irregularidad en los horarios de ingestión de alimento no fue observado en machos.



**Figura 2. Prueba de laberinto elevado en cruz.** En machos no se observan diferencias en ninguna de las variables evaluadas entre los grupos (A,C,E,G). En las hembras se observó una reducción en el número y el porcentaje de entradas al brazo abierto (B y F), pero no en el tiempo en el brazo abierto e índice de ansiedad (F y H). \*P < 0.05 vs AF y Alr, ANOVA de una vía, prueba *post hoc* Student-Newman-Keuls.

Por otra parte, la prueba de campo abierto, dependiendo de sus características, es utilizada para evaluar estados emocionales o sólo la actividad locomotora de la rata, asociada a algún tratamiento farmacológico o alguna otra manipulación experimental (Saavedra *et al.*, 2011). En nuestros resultados los grupos con alimentación en horarios irregulares (machos) tuvieron un aumento en la actividad locomotora. Sin embargo, estos efectos de hiperactividad no influyeron sobre las variables evaluadas en la prueba laberinto elevado en cruz. En el caso de las hembras no hubo diferencias, aunque se puede observar una tendencia a incrementar la actividad

locomotriz en el grupo AF. Esto puede deberse a un efecto sobre el estado emocional de las ratas macho, más que a un efecto motor (Lagunas *et al.*, 2010).

### **Conclusión:**

Se sugiere que la alimentación a horas no habituales, así como la irregularidad en los periodos diarios de ingestión de alimento, ejercen un estado leve ansiogénico que afecta principalmente a las hembras.

### **Bibliografía**

1. Contreras C.M., Molina M., Saavedra M., Martínez-Mota L., "Lateral septal neuronal firing rate increases during proestrus-estrus in the rat", *Physiol Behav*, Vol. 68, 2000, pp. 279-284.
2. Damiola F., Minh N. L., Preitner N., Kornmann B., Fleury-Olela F. y Schibler U., "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.
3. Escobar C., Díaz Muñoz M., Encinas F. y Aguilar-Roblero R., "Persistence of metabolic rhythmicity during and its entrainment by restricted feeding schedules in rats", *Am J Physiol* Vol. 274, 1998, pp. 1309-1316
4. Lagunes N., Calmarza I.F., Diz Y.C., García L.M.S., "Long-term ovariectomy enhances anxiety and depressive-like behaviors in mice submitted to chronic unpredictable stress", *Horm Behav*, Vol. 58, 2010, pp. 786-791.
5. Lowrey P.L. y Takahashi J.S., "Mammalian circadian biology: Elucidating genome-wide levels of temporal organization", *Annu Rev of Genomics Hum*, 2004, Vol. 5, pp 407-441.
6. Marcondes F.K., Miguel K.J., Melo L.L. y Spadari-Bratfisch R.C., "Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test", *Physiol Behav*, Vol. 74, 2001, pp. 435-440.
7. Mitler M.M., Dinges W.C., Dinges D.F., "Sleep medicine, public policy, and public healths", En: Meir H. Kryger, Thomas Roth, and William C. Dement. Philadelphia, W. B. Saunders, Principles and practice of sleep medicine 3<sup>rd</sup> edition, 2000, pp.580-588.
8. Mrosovsky N., "Locomotor activity and non-photic influences on circadian clocks", *Biol Rev*, Vol. 71, 1996, pp.343-372.
9. Saavedra M., Rivadeneyra-Domínguez E., Rodríguez-Landa J.F., "Alteraciones motoras inducidas por la microinyección intrahipocámpal de metilazoximetanol en ratas macho forzadas a nadir, *Arch Neurociencia*, Vol. 16, 2011, pp. 186-192.
10. Salgado-Delgado R.C., Ángeles-Castellanos M., Buijs M.R., Escobar C., "Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats", *Neuroscience*, Vol 154, 2008, pp. 922-931.
11. Salgado-Delgado R., Nadia S., Angeles-Castellanos M., Buijs R.M., Escobar C., "In a rat model of night work, activity during the normal resting phase produces desynchrony in the hypothalamus", *J Biol Rhythms*, Vol. 25, 2010, pp. 421-431.
12. Scheer F.A., Hilton M.F., Mantzoros C.S., Shea S.A., "Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment", *Proc Natl Acad Sci*, Vol. 106, 2009, pp. 4453-4458.
13. Stephan F.K., "The «other» circadian system: food as a zeitgeber", *J Biol Rhythms*, Vol. 17, 2002, pp. 284-292.
14. Walf A.A. y Frye C.A., "The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents". *Nat Protoc*, Vol. 2, 2007, pp. 322-328.
15. Wyse C.A., Selman C., Page M.M., Coogan A.N., Hazlerigg D.G., "Circadian desynchrony and metabolic dysfunction; did light pollution make us fat?", *Med Hypotheses*, Vol. 77, 2011, pp. 1139-1144.

# DEGRADACIÓN DE POLI (ETILEN TEREFALATO) CON ETILEN CARBONATO E HIDRÓXIDO DE POTASIO

Karina Espinoza Garcia, Aurelio Ramírez Hernandez<sup>1</sup>, Jorge Conde Acevedo<sup>1</sup>, Leticia Guadalupe Navarro Moreno<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad del Papaloapan Circuito Central #200, Colonia Parque Industrial, Tuxtepec, Oax., México C.P. 68301. rubi-aries@hotmail.com, chino\_rah@hotmail.com, Jorgeconde@hotmail.com, Lgnavarrom@hotmail.com.

## RESUMEN

Hoy en día, el consumo de plásticos en hogares y en las industrias a nivel mundial es muy elevado, pero también es elevado el desecho de estos plásticos en depósitos o vertederos ilegales como las calles o baldíos después de su uso. El reciclado químico de los plásticos es una opción para disminuir la contaminación ambiental provocada por estos polímeros como el llamado poli (etilen tereftalato) (PET). Hay una diversidad de métodos de reciclado químico para este plástico, sin embargo, la mayoría de estos requiere de condiciones drásticas de reacción o el uso de sustancias peligrosas para las personas y el medio ambiente. El presente estudio se basa en la obtención de un método de reciclado químico alternativo para la degradación del PET a partir de su reacción con etilen carbonato e hidróxido de potasio a una temperatura de 150°C, caracterizando los productos obtenidos por FT-IR, DSC y TGA, obteniéndose como resultado una interacción química entre el PET degradado y el etilen carbonato.

## 1. INTRODUCCIÓN

El poli (etilen tereftalato) (PET) es un termoplástico que ha jugado un rol muy importante los últimos 15 años en la vida de seres humanos. En el mundo se consumen aproximadamente 26 millones de toneladas de pet al año, de éstas, 20 millones son procesadas por la industria textil (fibras), 4 millones en cintas de audio y video (películas fotográficas) así como en transparencias, 2 millones en productos de empaque y moldeo (botellas y jarras) (1-2). Hoy en día, el pet tiene diferentes destinos después de su uso común, dos estos son, el reciclado físico y el reciclado químico. En las últimas décadas se han hecho investigaciones sobre la búsqueda de alternativas para reciclar al pet a través de mezclas físicas de PET usado con pet nuevo o con otro tipo de materiales con la finalidad de obtener nuevos materiales con propiedades similares o diferentes. Por ejemplo, en la producción de envases para líquidos, en la producción de cemento para la construcción, en mezclas de pet con policarbonato, poly (butylene terephthalate) (pbt) y polietileno para obtener nuevos materiales (3-7). Cabe mencionar que el pet también se recicla de forma física como una herramienta, utensilio y adorno para el hogar. Los métodos de reciclado físico son los más utilizados que los métodos químicos. Dentro del reciclado químico, hay una diversidad de métodos químicos para reciclar el plástico, de los cuales destacan la metanolisis y la hidrólisis (8-11). Sin embargo, uno de los inconvenientes en la mayoría de los métodos de reciclado químico o mezclado físico es el uso o producción de sustancias agresivas para el ser humano y para la naturaleza misma. Por lo cual, el objetivo de este artículo es obtener método químico alternativo para la degradación del pet a partir de una reacción de degradación con etilen carbonato e hidróxido de potasio.

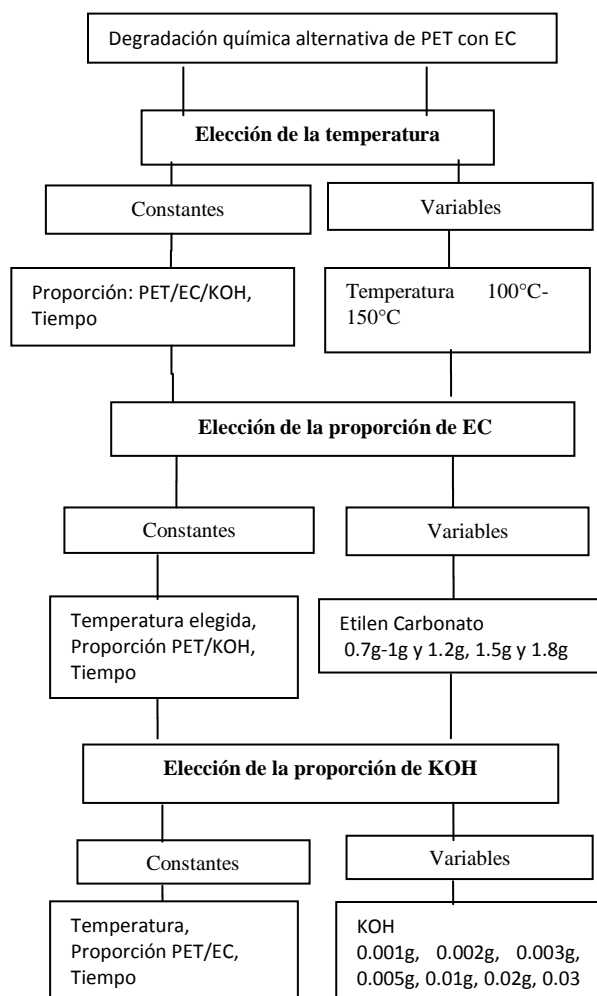
## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1 Material

PET comercial, hidróxido de potasio (grado reactivo Sigma Aldrich), alcohol butílico (grado reactivo Química Meyer), ácido clorhídrico (grado reactivo Química Meyer), plancha de calentamiento marca RCT basic ika y equipo de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) modelo Spectrum 100 Perkin Elmer.

### 2.2 Degradación química

La degradación química del pet se llevará a cabo de acuerdo al diagrama 1. Para ello, en cada experimento se colocará en un vial de vidrio de 10 ml, PET/Etilen Carbonato/KOH en diferentes proporciones como se indica en el diagrama. El vial se colocará en una plancha de calentamiento durante un intervalo de tiempo de 0 a 24 horas con agitación constante. Todo esto para fijar las condiciones óptimas de degradación química del PET.



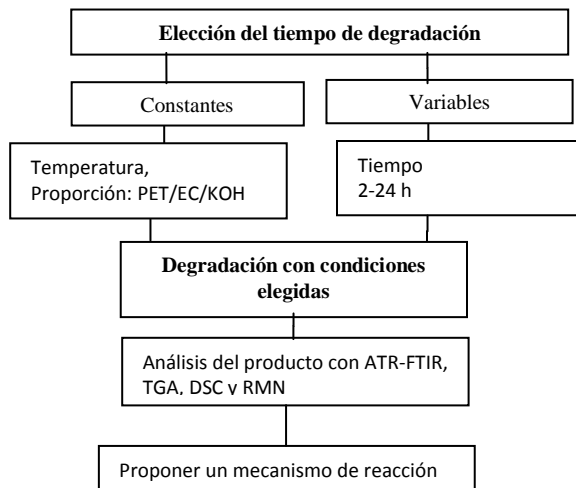


Diagrama 1. Degradación química del PET con EC

### 2.3 Análisis por FT-IR

El análisis de espectroscopia FT-IR se llevó a cabo usando el dispositivo de Reflectancia Total Atenuada (ATR) y un total de 16 barridos.

### 2.4 Análisis térmico.

Los análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y termo-gravimétrico (TGA) se llevarán a cabo simultáneamente para identificar la evolución de las transiciones térmicas, por ejemplo, la temperatura de descomposición y la temperatura de fusión, por mencionar algunas.

### 2.5 Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ .

Permitirá identificar y proponer la estructura del producto degradado.

### 2.6 Espectrometría de Masas.

Permitirá determinar la masa molar del producto degradado obtenido.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Degradación Química

Se llevó a cabo la degradación del PET a una diferentes temperaturas con etilen carbonato e hidróxido de potasio, la reacción experimento cambios de color durante los dos primeras horas, de transparente a blanco y con forme fue aumentando el tiempo, esta cambio a amarillo y finalmente a café oscuro. Todo el PET reacciona y se obtuvo como producto una sola fase, un líquido viscoso de color café oscuro. Para la seleccionar la temperatura óptima de degradación, se realizaron análisis de FT-IR y RMN los cuales se presentan en la siguiente sección.

### 3.4 Análisis por FT-IR

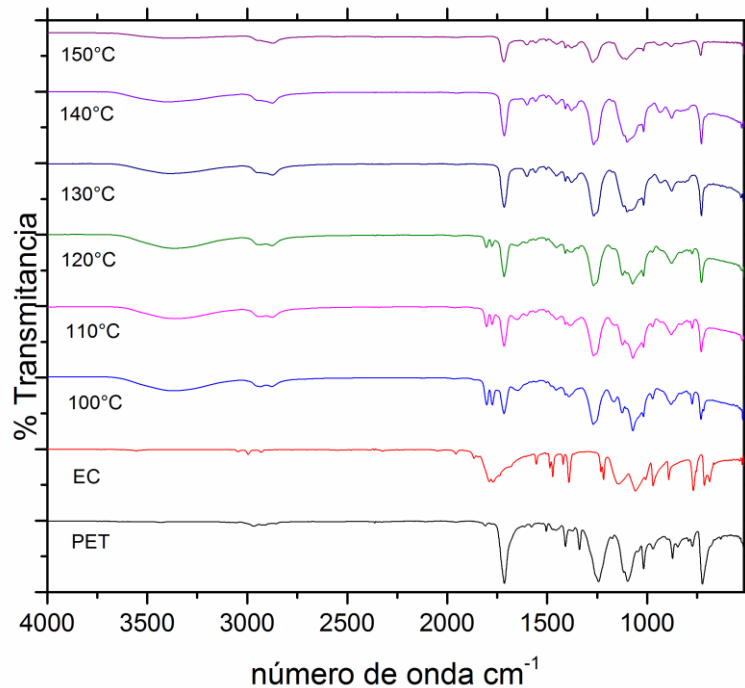


Figura 1. Espectro de FT-IR de las muestras analizadas

En la figura 1 se observa una señal de vibración de alargamiento del enlace (-OH) en  $3400\text{ cm}^{-1}$ , la cual conforme aumenta la temperatura de degradación esta banda de absorción se hace más ancha. La señal de carbonilo del EC ( $1770\text{ cm}^{-1}$  y  $1788\text{ cm}^{-1}$ ) se observa en el intervalo de 100-120°C por lo cual se concluye que a partir de los 130 hay una interacción completa entre el PET y el EC, esto nos indica que inicia la degradación. La señal de carbonilos de PET ( $1714.6\text{ cm}^{-1}$ ) se observa en todo el intervalo de temperatura estudiado, sin embargo su intensidad va disminuyendo al mismo tiempo que aumenta la temperatura de degradación, esto debido a la probable formación de productos secundarios. El mismo efecto se observa en las señales a  $1243\text{ cm}^{-1}$ ,  $1116\text{ cm}^{-1}$ ,  $1097\text{ cm}^{-1}$  y  $1016\text{ cm}^{-1}$  y  $723\text{ cm}^{-1}$ , de las cuales las tres primeras corresponden al enlace C-O del grupo funcional éster y última a la deformación del enlace C-H del grupo metileno ( $\text{CH}_2$ ).

### 3.5 Análisis por RMN

En la figura 2 se observan los espectros de RMN ( $^1\text{H}$ ) de los productos de degradación a diferentes temperaturas, esto con el fin de observar a que temperatura se inicia la reacción de degradación del PET.

Como se puede observar en la figura la aparición de una señal la cual tiene un desplazamiento químico diferente a medida que aumenta la temperatura. De forma contraria ocurre con las señales que se encuentran en 3.93 ppm y 3.81 ppm, pues las intensidades van disminuyendo paulatinamente, mientras que la otra señal aumenta su intensidad respectivamente. Una señal más que va cambiando es la de los aromáticos (8.2 ppm), la cual va aumentando las señales e



intensidades, esto debido a los cambios del ambiente químico del producto debido a la variación de la temperatura. Al observar estas señales se tomó la decisión de que la temperatura mínima para que se inicie la degradación de PET es 130°C, pues es en donde se presentan los cambios en los espectros, los cuales ya no varían al aumentar la temperatura hasta 150°C.

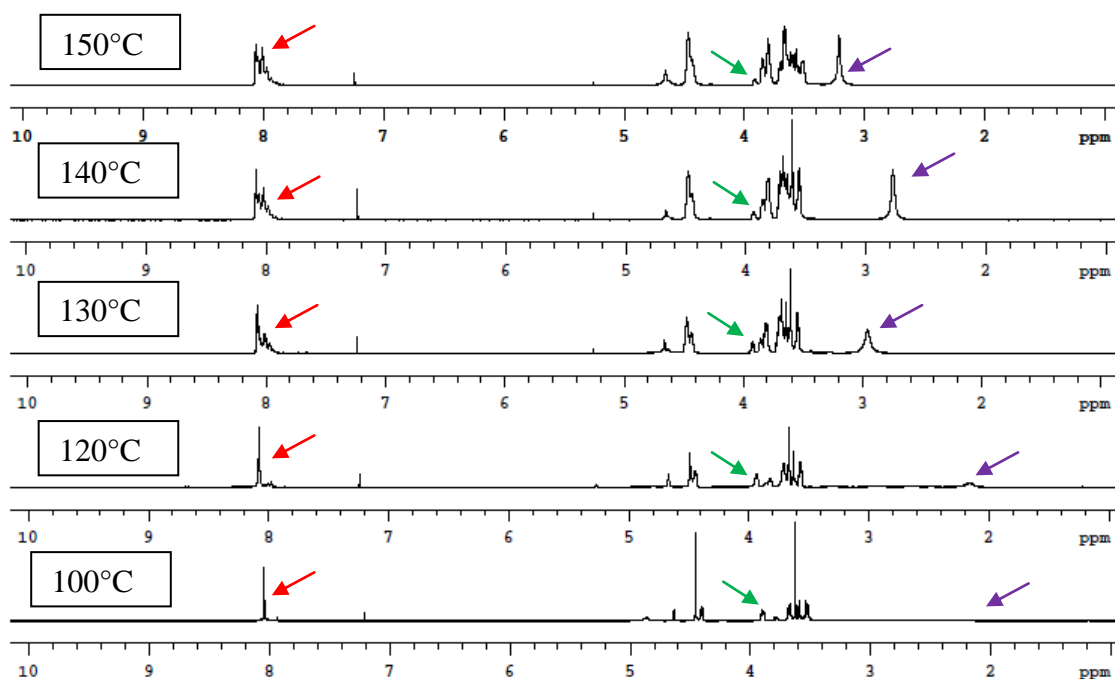


Figura 2. Espectros de RMN  $^1\text{H}$  del producto degradado a 100,120-150°C

### CONCLUSIONES PRELIMINARES

Se llevó a cabo la degradación del PET con etilen carbonato e hidróxido de potasio a diferentes temperaturas de 100°C a 150°C por un tiempo de 24 horas, de las cuales se seleccionó la temperatura de 130°C como la mínima para la degradación del PET de acuerdo a los resultados hasta el momento por FT-IR y  $^1\text{H}$  RMN.

Aun se sigue trabajando para determinar el resto de las condiciones, así como los análisis térmicos, RMN y espectrometría de masas.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Saeid, H. S.; Taheri, S.; Zadhoush, A.; Mehrabani-Zeinabad, A. Hydrolytic degradation of poly (ethylene terephthalate). *J. Appl. Polym. Sci.* 2005. 103: 2304-2309.
2. Genta, M.; Iwaya, T.; Sasaki, M.; Goto, M.; Hirose, T. Depolymerization mechanism of poly (ethylene terephthalate) in supercritical methanol. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2005. 44: 3894-3900.
3. Wu J, Xue P y Mai Y-W, "Effect of Blending on the Morphology and Impact Toughness of Poly (Ethylene Terephthalate)/Polycarbonate Blends", *Polym. Eng. Sci.*, 2000; 40(3): 786-97.
4. Guo Ying Zhang, Jing Wen Ma, Bian Xiao Cui, Xiao Lie Luo, De Zhu Ma, Compatibilizing Effect of Transesterification Copolymers on Bisphenol-A Polycarbonate/Poly(ethylene terephthalate) Blends. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 202(5): 604-6013. 2001.

# ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES NO COVALENTES EN ARREGLOS CRISTALINOS POR PARES MOLECULARES DE DIFERENTES CONFORMACIONES EN BENCIMIDAZOLES DISUSTITUIDOS

Itzia Irene Padilla Martínez, Efrén Venancio García Báez Raquel Nava Ramírez.

Departamento de Ciencias Básicas-Química, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN. ipadillamar@ipn.mx, efrén1003@yahoo.com.mx, raquel0109@yahoo.com.mx

## RESUMEN

Se han reportado, que las magnitudes de las interacciones intermoleculares de moléculas se ven reflejadas en las propiedades fisicoquímicas, por ejemplo, solubilidad, puntos de fusión, densidad, etc. Nuestro interés es realizar el estudio cristalográfico del compuesto derivados de bencimidazoles, para nuestra molécula de interés, estudio revela que cristalizan en un sistema triclinico, con grupo espacial P-1. Se encontraron 4 moléculas independientes en la unidad asimétrica llamadas 2A, 2B, 2C, 2D. En las 4 moléculas del compuesto, todas las distancias C-C de benceno caen en el promedio de 1.385, las distancias C-N caen el promedio N1-C2 1.393 Å, N1-C10 1.434Å, típicas para una hibridación sp<sup>3</sup> del N1 mientras que la distancias N3=C2 1.311Å para el nitrógeno N3 con hibridación sp<sup>2</sup> N3-C9 1.392 Å, N1-C8 1.395 Å. Por otro lado las cuatro moléculas presentan la misma magnitud de interacción anillo aromático posición 1 y anillo aromático posición 2 y anillo del bencimidazol 3 Existen diferencias significativas entre los planos 2 y 3 oscilan aproximadamente entre los 6 grados, mostrando la molécula 2C el ángulo diedro entre el plano1 y el plano 3 es de 66.13° que es la mayor desviación de los planos de las cuatro moléculas (con respecto a la molécula 2A que es de 59.28°). Con respecto a las interacciones intermoleculares de las cuatro moléculas independientes del compuesto en la red cristalina son del tipo Carom—H...O, con los oxígenos de los grupo nitro, la distancia más corta es 2.33 Å entre la molécula 2C y el grupo nitro de la molécula 2B, otra interacción corta es de 2.34 Å entre la molécula 2D con el grupo nitro de la molécula 2A. Se observa una interacción adicional Carom—H...N, el Nitrógeno 3 del anillo del bencimidazol. Se puede concluir que las cuatro moléculas, se acercan entre pares de ellas por medio de interacciones CH...O, CH...N, además las 4 moléculas no son planas

## 1. INTRODUCCIÓN

En años recientes, investigaciones detalladas de moléculas derivadas del benzimidazol revelaron que estos compuestos constituyen una nueva clase de inhibidores de la topoisomerasa i y ii. las topoisomerasas son enzimas nucleares que controlan y modifican los estados topológicos de ADN. éstas pueden catalizar interconversiones entre varios isómeros topológicos de ADN transitoriamente, rompiendo cadenas simples o dobles. dado que la actividad de las topoisomerasas es esencial para varios procesos celulares tales como la replicación, la transcripción y la condensación de cromosomas; la investigación de las actividades inhibitoras de las topoisomerasas eucariotas se utilizan ampliamente en el desarrollo de fármacos contra el cáncer. algunos de los compuestos sintetizados mostraron una actividad inhibitoria mayor que el etopósido, fármaco utilizando actualmente como parte de la terapia contra el cáncer (pinar et al., 2004)

## 2. TEORÍA

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 estudios revelan que cristalizan en un sistema triclínico, con grupo espacial P-1. Se encontraron 4 moléculas independientes en la unidad asimétrica llamadas 2A, 2B, 2C, 2D. En las 4 moléculas del compuesto, todas las distancias C-C de benceno caen en el promedio de 1.385, las distancias C-N caen en el promedio N1-C2 1.393 Å, N1-C10 1.434 Å, típicas para una hibridación sp<sup>3</sup> del N1 mientras que la distancia N3=C2 1.311 Å para el nitrógeno N3 con hibridación sp<sup>2</sup> N3-C9 1.392 Å, N1-C8 1.395 Å, figura 1.

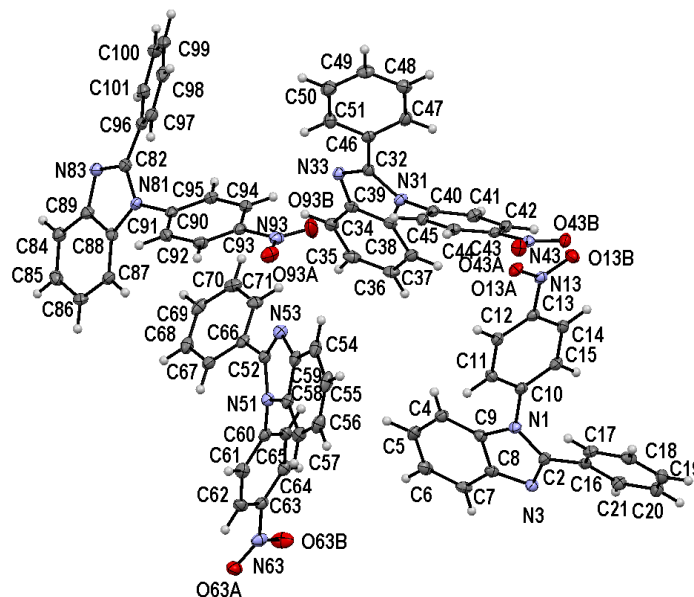


Figura 1 Diagrama ORTEP para las cuatro moléculas independientes localizadas en la unidad asimétrica para el compuesto de interés.

Por otro lado las cuatro moléculas presentan la misma magnitud de interacción anillo aromático posición 1 y anillo aromático posición 2 y anillo del bencimidazol 3. Existen diferencias significativas entre los planos 2 y 3 oscilan aproximadamente entre los 6 grados, mostrando la molécula 2C el ángulo diedro entre el plano 1 y el plano 3 es de 66.13° que es la mayor desviación de los planos de las cuatro moléculas (con respecto a la molécula 2A que es de 59.28°). Con respecto a las interacciones intermoleculares de las cuatro moléculas independientes del compuesto en la red cristalina son del tipo Carom—H...O, con los oxígenos de los grupos nitro, la distancia más corta es 2.33 Å entre la molécula 2C y el grupo nitro de la molécula 2B, otra interacción corta es de 2.34 Å entre la molécula 2D con el grupo nitro de la molécula 2A. Se observa una interacción adicional Carom—H...N, el Nitrógeno 3 del anillo del bencimidazol. Se puede concluir que las cuatro moléculas, se reconocen entre pares de ellas por medio de interacciones CH...O, CH...N, además las 4 moléculas no son planas, ver figura 2

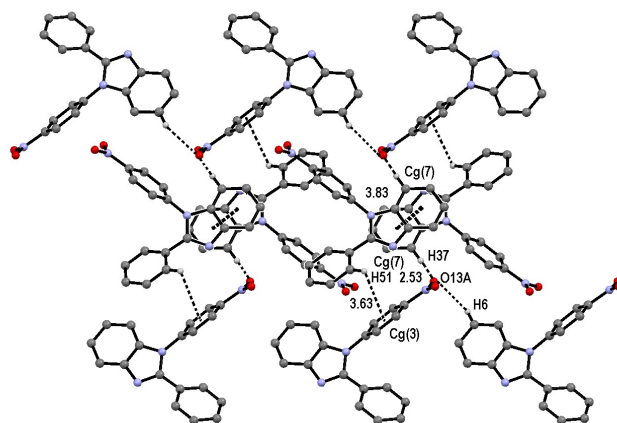


Figura 2 interacciones intermoleculares C-H...Cg, C-H...O(grupo nitro)

Las interacciones C6-H6...O13A =2.80 (1+x,y,z), C7-H7....O43B 2.82 (1+x,y,z) y C36-H36...O43B = 2.52 (1+x,y,z), para este arreglo se reportan dos interacciones C-H...Cg, C14-H14...Cg(19) 2.80, C44-H44...Cg(14)...2.82 ver figura 3.

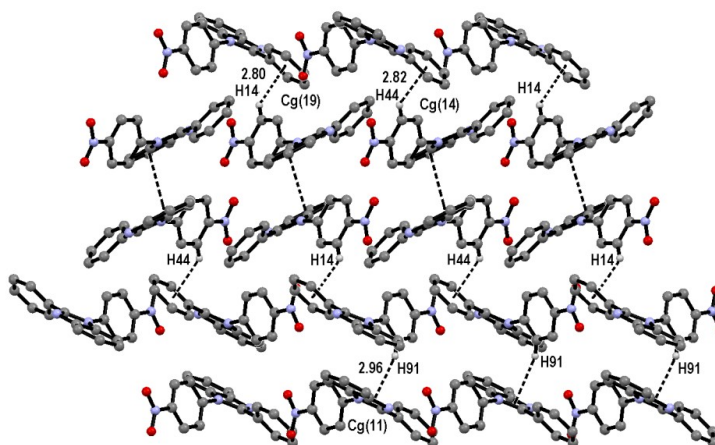


Figura 3. Interacciones intermoleculares C-H...Cg para el primer par de moléculas.

#### 4. CONCLUSIONES

El arreglo cristalino de las moléculas independientes definidas en la unidad asimétrica del bencimidazol de interés es soportado por las diferentes interacciones intermoleculares C-H... $\pi$ , C-H...O, C-H...N y  $\pi$ ... $\pi$ . También es importante mencionar que estas moléculas les gusta agruparse por pares A con B y C con D.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. J. Bernstein, R. E. Davis, L. Shimoni, L. & N.-L. Chang, 1995. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 34, 1555–1573.
2. Farrugia, L. J. (2012). *J. Appl. Cryst.* 45, 849–854.
3. G.M, Sheldrick, (2008). *Acta Cryst. A*64, 112–122
4. J. E. Gonzalez-Padilla, M, C. Rosales-Hernandez, Itzia I. Padilla-Martinez, E. V. Garcia-Baez, S. S. Rojas-Lima and V. Salazar-Pereda, *Acta Cryst.* (2014). C70, 55–59

## EVALUACIÓN DE PROTEÍNAS RELACIONADAS CON LA VÍA DE LOS MIRNAS COMO BIOMARCADORES POTENCIALES DE CÁNCER DE MAMA EN POBLACIÓN ZACATECANA

L. A. Jaime-Martínez <sup>a</sup>, L. A. Ramírez-Bermejo <sup>a</sup>, J. G. Ortiz-Ramírez <sup>a</sup>, M. Sánchez-Martínez <sup>b</sup>, S. Godina-González <sup>a</sup>, J. L. Ayala-Luján <sup>a</sup> y R. A. Martínez-Orozco <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Unidad Académica De Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas., [raptor\\_04@hotmail.com](mailto:raptor_04@hotmail.com), [luis\\_antoniolarb2.0@hotmail.com](mailto:luis_antoniolarb2.0@hotmail.com), [lancelibra@hotmail.com](mailto:lancelibra@hotmail.com), [sgodina@hotmail.com](mailto:sgodina@hotmail.com), [jorgeayala69@hotmail.com](mailto:jorgeayala69@hotmail.com), [rmar@uaz.edu.mx](mailto:rmar@uaz.edu.mx),

<sup>b</sup> Laboratorio de Anatomía Patológica, Hospital General de Zacatecas “Luz González Cosío”, Zacatecas, Zacatecas., [marcoasm2013@gmail.com](mailto:marcoasm2013@gmail.com)

### RESUMEN

El cáncer de mama es la neoplasia más común en mujeres a nivel mundial y ocurre a través de un mecanismo sumamente complejo en el que una gran cantidad de funciones celulares se ven alteradas. Reportes recientes muestran una expresión aberrante de varios miRNAs en los tumores mamarios, razón por la cual es factible pensar que la maquinaria celular involucrada en la biogénesis y función de estos RNAs pequeños, pueda experimentar eventos de desregulación. En este sentido, existen varias proteínas clave para el funcionamiento y biogénesis correcta de los miRNAs, entre las que se encuentran las proteínas de la familia Argonauta y ADAR. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la expresión de las proteínas Argonauta 4 y ADAR1 en tumores mamarios y en tejidos normales mediante la técnica de western blot. Analizamos un total de 55 tejidos, clasificados en 4 grupos de acuerdo a su estatus tumoral (Tejido sin alteración, carcinoma ductal in situ, carcinoma ductal infiltrante y carcinoma lobulillar infiltrante). Los datos obtenidos se evaluaron mediante la prueba de chi cuadrada de Pearson y encontramos que ninguna de las dos proteínas (Argonauta 4 y ADAR1) se asociaban de forma significativa al estatus tumoral. En este sentido, podemos concluir que en nuestra muestra analizada, no existe relación entre los diferentes estadios tumorales y la expresión de estas proteínas de la vía de los miRNAs.

### INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es un problema de salud pública de suma importancia, puesto que en la actualidad es el tumor en mujeres que se diagnostica con mayor frecuencia y además es el causante del mayor número de muertes a nivel mundial. En los reportes correspondientes al año 2000, esta neoplasia ocupó el segundo lugar del total de casos nuevos de cáncer a nivel mundial, representando el 22 %; cifra que aumentó en un punto porcentual en el año 2008. Tomando como base las tasas de crecimiento de los últimos 20 años, se ha proyectado que existirán 1.4 millones de casos nuevos de cáncer de mama para el año 2010 [1-3].

En México el cáncer mamario ha desplazado al cáncer cérvicouterino como la primera causa de muerte en el sexo femenino desde al año 2006 y se ha observado un marcado incremento en la mortalidad relacionada con dicha neoplasia. Solo por citar algunos datos, para el año 2000 hubo 3432 casos de mortalidad, mientras que para el año 2007 la cifra aumentó a 4609, alrededor de un 34 % de incremento en tan solo 7 años. En lo que respecta a la edad de aparición, se tiene registrado que en el grupo de 40 a 49 años ocurren el mayor número de casos [4]. En apoyo a los datos antes mencionados, se ha reportado que en la población mexicana el mayor número de casos de cáncer mamario ocurren 10 años antes (+/- 51 años) con respecto a mujeres de Europa y Estados Unidos de América (+/- 63 años) [5].

La etiología del cáncer de mama se relaciona con la expresión aberrante de genes relacionados con procesos tales como el crecimiento celular, apoptosis, angiogénesis, invasión tisular y metástasis [6], por lo que es importante analizar los diversos factores que se relacionan directamente con la regulación genética.

En este sentido, existe una clase de RNAs pequeños no codificantes que tienen funciones de regulación de la expresión genética, denominados miRNAs. Presentan un tamaño de entre 20 y 30 nucleótidos y se unen a un complejo multiproteico denominado RISC para poder llevar a cabo

su función. En términos generales, regulan la expresión génica de forma post-transcripcional, mediante la unión por enlaces de tipo Watson-Crick al RNAm blanco correspondiente. Cuando ocurre una interacción exitosa miRNA - RNAm blanco, este último pueden ser objeto de degradación mediada por exonucleasas, corte endonucleolítico o bien, la inhibición de su traducción. Se ha descrito que un tercio de los genes humanos son regulados por los miRNAs, lo que nos ratifica la importancia de estos en los procesos celulares [7].

En la biogénesis y función de los miRNAs se ven involucradas varias moléculas entre las que destacan las proteínas de las familias Argonauta y ADAR. Las proteínas Argonauta son el componente principal del complejo RISC, de tal suerte que son indispensables para que ocurra el silenciamiento mediado por los miRNAs [8]. Por su parte las proteínas ADAR son deaminasas de adenosina de RNA y convierten la adenosina en inosina, lo que promueve la modificación en la estructura de los miRNAs y por ende el potencial de silenciar RNAm específicos [9].

Por el hecho de que en cáncer de mama se han visto niveles aberrantes de miRNAs, nosotros consideramos que era factible encontrar alguna desregulación en el nivel de expresión de estas proteínas, idea de la cual se deriva el presente estudio.

## **TEORÍA**

De acuerdo con el Programa de acción para la prevención y el control del cáncer mamario de la Secretaria de Salud, en México diariamente se registran alrededor de 10 muertes por esta neoplasia; por lo que es de suma importancia conocer a mayor detalle los procesos que conllevan a la formación de tumores. Actualmente, el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama se realiza primordialmente mediante estudios histopatológicos y algunos marcadores moleculares como Her2 o el receptor a estrógeno. Sin embargo, en algunos subtipos tumorales, estos estudios no proveen de información suficiente para realizar un tratamiento efectivo, de ahí la necesidad de buscar nuevos marcadores moleculares que permitan la inclusión de una mayor cantidad de fenotipos alterados, que conlleven a una mejora en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama.

Por el hecho de que estudios realizados en diversas neoplasias no mamarias muestran una alteración importante en la función o expresión de las proteínas ADAR 1 y Argonauta 4, consideramos factible que exista una alteración de los niveles de estas proteínas en los tumores mamarios, razón por la cual presentan un potencial importante de uso como marcadores tumorales.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **Obtención de muestras**

Las muestras tumorales mamarias fueron donadas por 52 pacientes que se sometieron a cirugía en el Hospital General de Zacatecas "Luz González Cosío". Dichas muestras quirúrgicas fueron obtenidas antes del tratamiento sistémico, y la inclusión en parafina se realizó en el marco de los procedimientos de diagnóstico. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de dicho hospital (documento No. 003/2003).

### **Extracción de proteínas a partir de tejidos incluidos en parafina.**

La extracción de proteínas totales se realizó mediante el protocolo descrito previamente por Addis y colaboradores [10], con ligeras modificaciones. Brevemente, se tomó el bloque de parafina con el tejido tumoral y se realizaron 5 cortes en microtomo de 10 µm de grosor cada uno, para posteriormente ser colocados en un microtubo y desparafinados con xileno. Una vez realizado este paso, el tejido resultante se rehidrató con una serie de etanol de diversas concentraciones para luego añadir el buffer de extracción, que contiene 20 mM de Tris - HCl, pH 8.8, SDS al 2% y DTT 200 mM. Después de la adición del buffer, las muestras fueron incubadas a altas temperaturas, una primera etapa de 20 minutos a 100 °C y posteriormente 2 horas a 80 °C en agitación constante. El extracto final se alícuotó y se almacenó a -20 °C para su análisis posterior.

### **Western Blot.**

Las proteínas de los extractos totales fueron cargadas a volumen constante y se separaron en geles de poliacrilamida al 8% por SDS-PAGE, para después ser transferidas a una membrana de nitrocelulosa. Una vez realizada la transferencia, las membranas fueron bloqueadas durante

una hora con leche libre de grasa al 3% en PBS pH 7.4/0.1% de Tween 20 (PBS- Tween), seguido de la incubación a 4 °C durante toda la noche con el Ac primario correspondiente, diluido en PBS-Tween. Después de esto, las membranas fueron lavadas con PBS-Tween, para posteriormente ser incubadas durante 2 horas a temperatura ambiente, con el anticuerpo secundario correspondiente. Posteriormente, las membranas fueron lavadas nuevamente y se realizó la visualización de las bandas inmunoreactivas mediante el uso de luminol. La expresión de actina fue usada como control de carga.

#### **Análisis estadístico.**

Los resultados obtenidos se clasificaron en base a la presencia o ausencia de la expresión de ADAR1 en los diversos tumores disponibles. Todos los datos fueron analizados con la prueba estadística de Chi cuadrada de Pearson. El valor que se estableció para  $\alpha$  fue de 0.05, por lo que cualquier valor por debajo de éste se consideró estadísticamente significativo. El análisis se realizó en el programa SPSS versión 18 (IBM, Nueva York, EE.UU).

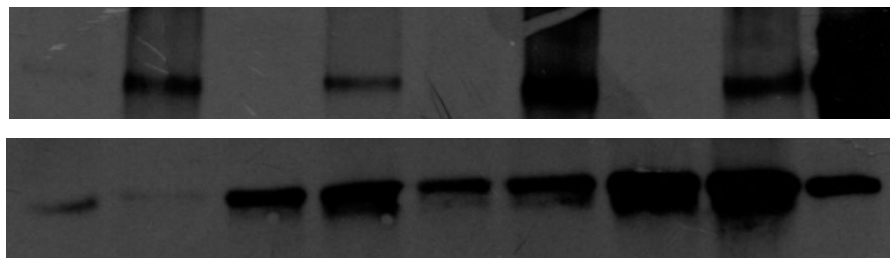
### **RESULTADOS**

Para facilitar el análisis de los datos procedimos a clasificar las muestras tumorales de acuerdo con su perfil histopatológico. Como se muestra en la tabla 1, las muestras obtenidas presentaron 4 perfiles histopatológicos diferentes, tejido sin alteraciones, carcinoma ductal in situ, carcinoma lobulillar infiltrante y carcinoma ductal infiltrante, que representan el 12.76%, 17.02%, 6.38% y 63.82% del total de muestras respectivamente (Tabla 1).

**Tabla 1:** Características clínico-patológicas de las muestras tumorales.

Características	Número de elementos	%
Sin alteración	6	12.76
Carcinoma ductal in situ	8	17.02
Carcinoma lobulillar infiltrante	3	6.38
Carcinoma ductal infiltrante	30	63.82

Una vez realizada la clasificación, procedimos a la extracción de proteínas totales de las muestras tumorales colectadas y analizamos los niveles de expresión de ADAR1 y Argonauta 4. En la figura 1 se muestran auto-radiogramas representativos del análisis de expresión de ADAR1 a los diferentes extractos de los tejidos tumorales obtenidos y como se puede observar, existe una expresión diferencial de esta proteína.



**Figura 1 Niveles de expresión de ADAR1 y  $\beta$ -actina en extractos de muestras tumorales:** Extractos totales de diversas muestras tumorales fueron sometidos a Western blot para la detección de ADAR1 y  $\beta$ -actina. Se observa la expresión diferencial de ADAR1 en las diversas muestras (A). El nivel de expresión de  $\beta$ -actina (B) fue usado como control de carga.

La interpretación de los auto-radiogramas se realizó de manera visual, calificando como positivo a la mínima señal de expresión y negativo a la ausencia de ésta. Con base a los resultados obtenidos, procedimos a realizar una tabla de contingencias con el propósito de establecer si existía alguna relación entre el tipo tumoral de la muestra y el status de expresión de ADAR1 o Argonauta 4, mediante el análisis de Chi cuadrada de Pearson. Para esto incluimos las

proporciones de las muestras que presentaban o no expresión de ambas proteínas en cada uno de los grupos analizados. Tal y como se muestra en las tablas 2 y 3 no existe una relación estadística al comparar las proporciones entre los 4 grupos de estudio con las proteínas correspondientes.

**Tabla 2:** Tabla de contingencias y análisis de Chi cuadrada de Pearson para Argonauta 4

Tipo de tumor	Negativo	Positivo
Carcinoma ductal in situ	5	2
Carcinoma ductal infiltrante	12	12
Carcinoma lobulillar infiltrante	2	2
Tejido sin alteración neoplásica	3	1
Prueba de Chi cuadrada de Pearson		
Chi cuadrada	1.672	
Dif.	3	
Valor de p	<b>0.643*</b>	

**Tabla 3:** Tabla de contingencias y análisis de Chi cuadrada de Pearson para ADAR1

Tipo de tumor	Negativo	Positivo
Carcinoma ductal in situ	5	3
Carcinoma ductal infiltrante	15	15
Carcinoma lobulillar infiltrante	3	0
Tejido sin alteración neoplásica	3	3
Prueba de Chi cuadrada de Pearson		
Chi cuadrada	3.0	
Dif.	3	
Valor de p	<b>0.3913*</b>	

## CONCLUSIONES

Nuestros resultados no muestran una asociación entre la expresión de ADAR1 o Argonauta 4 y los estadios tumorales, como se encontró en otros tumores. Esto pudo ocurrir por la influencia de varios factores, entre los que destacan la cantidad limitada de muestras, ya que nuestra n fue algo reducida. Por esta razón, no tenemos la certeza de que la relación entre la expresión de ADAR y el fenotipo tumoral no existe, por lo que es necesario aumentar el número de muestras para lograr un resultado más contundente. De igual forma, es pertinente analizar los niveles de actividad de ambas enzimas, puesto que otros autores observaron diferencias en estos parámetros, más no en los niveles de expresión [11] Por lo antes descrito, consideramos importante realizar un análisis minucioso de los transcritos de las células tumorales y sus ediciones, o bien, de los niveles de expresión de otras proteínas de la vía miRNA para tratar de establecer como este mecanismo de silenciamiento génico se ve alterado en el cáncer de mama, y eventualmente proponer un nuevo marcador tumoral que permita una mejora en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] D. M. Parkin, "International variation," *Oncogene*, vol. 23, pp. 6329-40, Aug 23 2004.
- [2] D. M. Parkin, *et al.*, "Global cancer statistics, 2002," *CA Cancer J Clin*, vol. 55, pp. 74-108, Mar-Apr 2005.
- [3] A. Jemal, *et al.*, "Global cancer statistics," *CA Cancer J Clin*, vol. 61, pp. 69-90, 2011.
- [4] INEGI. and Secretaría de Salud. (2007). *Base de datos de defunciones 2000 - 2007, proyecciones de la población de México, 2005-2050.* Available: <http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad/>



- [5] S. Rodriguez-Cuevas, *et al.*, "Breast carcinoma presents a decade earlier in Mexican women than in women in the United States or European countries," *Cancer*, vol. 91, pp. 863-8, Feb 15 2001.
- [6] D. Hanahan and R. A. Weinberg, "The hallmarks of cancer," *Cell*, vol. 100, pp. 57-70, Jan 7 2000.
- [7] V. N. Kim, *et al.*, "Biogenesis of small RNAs in animals," *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 10, pp. 126-39, Feb 2009.
- [8] Z. S. Kai and A. E. Pasquinelli, "MicroRNA assassins: factors that regulate the disappearance of miRNAs," *Nat Struct Mol Biol*, vol. 17, pp. 5-10, Jan 2010.
- [9] Y. Nemlich, *et al.*, "MicroRNA-mediated loss of ADAR1 in metastatic melanoma promotes tumor growth," *J Clin Invest*, vol. 123, pp. 2703-18, Jun 3 2013.
- [10] M. F. Addis, *et al.*, "Generation of high-quality protein extracts from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues," *Proteomics*, vol. 9, pp. 3815-23, Aug 2009.
- [11] C. Cenci, *et al.*, "Down-regulation of RNA editing in pediatric astrocytomas: ADAR2 editing activity inhibits cell migration and proliferation," *J Biol Chem*, vol. 283, pp. 7251-60, Mar 14 2008.

## TRIPSINA DE CALAMAR GIGANTE (*DOSIDICUS GIGAS*): PROPIEDADES Y POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO.

A.G. Villalba-Villalba<sup>a</sup>, E. Márquez-Ríos<sup>b</sup>, M. Ezquerra-Brauer<sup>b</sup>, W. Torres-Arreola<sup>b</sup>, M.E. Cruz-Campas<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidad Estatal de Sonora, villalba13@gmail.com, martincruzcampas@hotmail.com <sup>b</sup>Universidad de Sonora, marquez@uson.mx, meb@uson.mx, wtorresa@uson.mx

### RESUMEN

La importancia de las enzimas como herramienta biotecnológica se ha incrementado en los últimos años (Haard, 1994), así como también la demanda por enzimas con propiedades específicas; además se ha generado el interés por diversificar las fuentes de obtención de éstas biomoléculas. El ambiente marino contiene una gran diversidad de material genético, por lo tanto, representa un enorme potencial como fuente de enzimas de interés comercial (Haard, 1994). Alrededor del 50-60% de la producción pesquera es usada para consumo humano directo, mientras que millones de toneladas de subproductos derivados de esta actividad son eliminados, ya que son considerados desecho (Morrisey y Okada, 2007). La actividad de las enzimas digestivas (proteasas) en cefalópodos como el calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es inusualmente alta, además estos animales cuentan con un sistema digestivo especializado para un procesamiento rápido de los alimentos (Seed, 1983). Se purificó tripsina del hepatopancreas de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), por fraccionación con sulfato de amonio (30-70% de saturación), filtración en gel y cromatografía de afinidad. La tripsina mostró PM de 23.5 kDa de acuerdo al análisis SDS-PAGE, mostró una sola banda de actividad en el zymograma. La enzima exhibió máxima actividad a pH 8.5 y 40 °C, usando BAPNA como sustrato.  $K_m$  y  $k_{cat}$  mostraron valores de  $0.085 \pm 1.45$  mM y  $1.76 \pm 0.12$  s<sup>-1</sup>, respectivamente.

### 1. INTRODUCCIÓN

La importancia de las enzimas como herramienta biotecnológica se ha incrementado en los últimos años, así como también la demanda por enzimas con propiedades específicas; además se ha generado el interés por diversificar las fuentes de obtención de éstas biomoléculas.

El ambiente marino contiene una gran diversidad de material genético, por lo tanto, representa un enorme potencial como fuente de enzimas de interés comercial (Haard, 1994). Alrededor del 50-60% de la producción pesquera es usada para consumo humano directo, mientras que millones de toneladas de subproductos derivados de esta actividad son eliminados, ya que son considerados desecho (Morrisey y Okada, 2007). La actividad de las enzimas digestivas (proteasas) en cefalópodos como el calamar gigante (*Dosidicus gigas*) es inusualmente alta, además estos animales cuentan con un sistema digestivo especializado para un procesamiento rápido de los alimentos (Seed, 1983). Las proteasas del sistema digestivo (Hepatopáncreas, HP) del calamar gigante son principalmente cistein, metalo y serina proteasas (Raksakulthai y Haard 1999). La pesquería del calamar gigante es una de las principales en México, con una producción en promedio de 72, 144 toneladas de 2004 a 2013 (SAGARPA, 2015), el cual es normalmente vendido (filete) en la presentación fresco-congelado o cocido-congelado (Luna-Raya et al, 2006). Sin embargo, el sistema digestivo no es utilizado (aproximadamente 5,770 toneladas), representando además una fuente de contaminación. Este material constituye hasta el 8% del peso

corporal total del calamar, el cual contiene 20% de proteína cruda (Ezquerro-Brauer et al, 2002). Proteasas extraídas del tracto digestivo del calamar *Illex illecebrosus*, han sido utilizadas de manera experimental en procesos de la industria alimentaria tales como, elaboración de salsa de pescado, salado y fermentado de carnes, ablandamiento y maduración de quesos (Lee et al 1982). Una de las enzimas serina proteasas más importantes en peces e invertebrados es la tripsina (endopeptidasa), la cual hidroliza el enlace peptídico del lado carboxilo de los aminoácidos arginina y lisina, mostrando pesos moleculares entre 22 a 28 kDa (Whitaker, 1994). Tripsina ha sido aislada de varias especies de peces, por ejemplo *Siniperca chuatsi*, *Balistes capriscus*, *Sepia officinalis*, *Lutjanus vitta*, *Diapterus rhombeus*, *Salaria basilisca*, *Pterygoplichthys disjunctivus* (Lu et al 2008, Jellouli et al 2009, Balti et al 2009, Khantaphant y Benjakul 2010, Silva et al 2011, Ktari et al 2012, Villalba-Villalba et al 2013) y caracterizada en base a sus propiedades físico-químicas, sin embargo la información de tripsina de cefalópodos es escasa. El objetivo de este trabajo fue purificar y caracterizar la tripsina del sistema digestivo del calamar gigante (*Dosidicus gigas*) para generar información básica que contribuya a dilucidar el potencial biotecnológico de dicha enzima.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención de la muestra

Los calamares se capturaron en el Golfo de California ((27°55'N110°54'N). Inmediatamente después de la captura fueron almacenados en hielo y transportados al Laboratorio de Alimentos Marinos de la Universidad de Sonora en Hermosillo, Sonora, México. El tiempo transcurrido desde la captura hasta el eviscerado fue menos de 12 h.

### Preparación del extracto crudo de enzimas

El HP (100 g) se homogeniza con 200 ml de buffer Tris-HCl 50 mM, pH 7.5 por 2 min y centrifugado a 18,000xg por 30 min a 2-4 °C. Después de la centrifugación, los lípidos fueron removidos manualmente y el sobrenadante se filtró; el extracto crudo (EC) sin lípidos se almacenó a -80 °C hasta el momento de los análisis.

### Purificación de la enzima

El EC se fraccionó con sulfato de amonio al 30 y 70% de saturación, cada vez se centrifugó a 20,000 xg por 20 min a 4°C. El precipitado se disolvió en 20 ml de buffer Tris-HCl 50 mM a pH 7.5 (buffer A), y se inyectó en una columna de Sephadex G-75 (1.6 cm x 120 cm), la muestra de eluyó con buffer A con un flujo de 0.3 ml/min, se colectaron 3 ml por fracción. Las fracciones con actividad tipo tripsina fueron mezcladas e inyectadas en una columna de Benzamidina-Sepharose 4 Fast Flow (1.1 cm x 15 cm), equilibrada con el buffer A. Las fracciones retenidas fueron eluidas con cambio de pH de la fase móvil de 7.5 a 3.0, usando buffer Glicina-HCl 50 mM, pH 3.0 (antes de la elución adherir 200 µL Tris-HCl 1 M, pH 9.0 en cada tubo o fracción). Las fracciones eluidas se mezclaron para futuros análisis.

### Determinación de la concentración de proteína

Se utilizó el método de Bradford, usando albúmina de suero bovino como estándar.

### SDS-PAGE y Zymograma

Los ensayos de electroforesis se realizaron según la metodología descrita por Laemmli, 1970, usando 14% en el gel de separación. Para el zymograma las muestras no se calentaron ni se sometieron a condiciones desnaturizantes y reductoras.

### Actividad amidasa

La actividad tipo amidasa se evaluó siguiendo la metodología de Erlanger et al (1962), usando 1 mM de BAPNA como sustrato. Las unidades de BAPNA hidrolizado (U) se calcularon con la siguiente ecuación:  $U = A_{410}/\text{min} \times 1000 \times 1 / 8,800 \times \text{mg enzima}$ .

#### pH óptimo y temperatura óptima

El efecto del pH sobre la actividad de la tripsina fue evaluado usando un buffer universal de pH 4 a 11 a 25 °C por 15 min (Stauffer, 1989). Para el análisis del efecto de la temperatura sobre la actividad de la enzima, el extracto fue incubado a 20, 25, 30, 35, 40, 50, 55, 60, 65 y 70 °C por 15 min en buffer Tris-HCl 50 mM a pH óptimo.

#### Estabilidad al pH y a la temperatura

Se evaluó midiendo la actividad residual a varios pH's (de 4 a 11) por 60 min a 25 °C, usando un buffer universal (Stauffer, 1989). La estabilidad a la temperatura se evaluó incubado la enzima a varias temperaturas (25, 35, 45, 55 y 65 °C) por 60 min para después medir actividad residual.

#### Parámetros cinéticos

Las constantes  $K_m$  y  $k_{cat}$  fueron evaluadas usando varias concentraciones de BAPNA como sustrato (0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 mM).

### 3. CONCLUSIONES

Este trabajo describe las principales características fisicoquímicas, bioquímicas y cinéticas de una serin-proteasa obtenida del hepatopancreas del calamar gigante (*Dosidicus gigas*). En base a los resultados obtenidos, se concluye que la enzima aislada y purificada es tripsina, la cual mostró alta actividad en un rango de pH de 6.5 a 11 y temperaturas de 25 a 40 °C. Por lo que, el hepatopáncreas de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) puede ser una fuente importante de tripsina para usarse como herramienta biotecnológica.

### BIBLIOGRAFÍA

1. N.F. Haard, "Speciality enzymes from marine organism", Food Technol, 52, 1994, pp. 64-67.
2. M. T. Morrisey, T. Okada: 'Marine enzymes from seafood by-products, In: Maximising the Value of Marine By-Products (edited by F. Shahidi)', 2007, Pp. 374-396. New York, USA: CRC Press.
3. R. Seed "Structural organization, adaptive radiation, and classification of molluscs. In the mollusca, metabolic biochemistry and molecular biomechanics" (P. Hochachka, ed) Academic Press, New York, 1983, pp 1-54.
4. R. Raksakulthai y N.F. Haard, "Purification and characterization of aminopeptidase fractions from squid (*Illex illecebrosus*) hepatopancreas" , J of Food Biochem, 23, 1999, pp. 123-144.
5. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2015) <http://www.sagarpa.gob.mx/Paginas/default.aspx>
6. M. C. Luna-Raya, J.L. Urciaga-García, C.A. Salinas-Zavala, M. A. Cisneros-Mata, L.F. Beltrán-Morales, "Diagnosis of giant squid consumption in Mexico and Sonora" Economy, Society and Territory ,2006, VI:535-5
7. J.M. Ezquerro-Brauer, N.F. Haard, R. Ramirez-Olivas, H. Olivas-Burrola, C.J. Velazquez-Sanchez, "Influence of harvest season on the proteolytic activity of hepatopancreas and mantle tissues from jumbo squid (*Dosidicus gigas*)" J Food Biochem, 26, 2002, pp. 459-475.

8. Y.Z. Lee, B.K. Simpson, N.F. Haard, S"upplementation of squid fermentation with proteolytic enzymes" J. Food Biochem, 6:1, 1982, 27-134.
9. J Whitaker, "Principles of Enzymology for the Food Sciences", 2nd ed. Marcel Dekker, New York, 1994.
10. B. Lu, L. Zhou, Q. Cai, "Purification and characterization of trypsins from the pyloric caeca of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)" Food Chem, 110, 2008, pp. 352-360.
11. K. Jellouli, A. Bougatef, D. Daasi, R. Balti, A. Barkia, M. Nasri, "New alkaline trypsin from the intestine of grey triggerfish (*Balistes caprisucus*) with high activity at low temperature: purification and characterization", Food Chem 116, 6, 2009, 44-650.
12. R. Balti, A. Barkia, A. Bougatef, N. Ktari, M. Nasri, "A heat-stable trypsin from the hepatopancreas of the cuttlefish (*Sepia of officinalis*): purification and characterization" Food Chem, 113, 2009, pp.146-154.
13. S. Khantaphant, S. Benjakul, "Purification and characterization of trypsin from the pyloric caeca of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*)", Food Chem, 120, 2010, pp. 658-664.
14. J. Silva, T. Espósito, M. Marcuschi, K. Ribeiro, R. Cavalli, V. Oliveira, R. Bezerra, "Purification and partial characterization of a trypsin from the processing waste of the silver mojarra (*Diapterus rhombeus*)", Food Chem, 129, 2011, pp. 777-782.
15. Ktari N, Khaled H, Nasri R, Jellouli K, Ghorbel S, Nasri M Trypsin from zebra blenny (*Salaria basilisca*) viscera: Purification, characterization and potential application as a detergent additive. Food Chem, 130, 2012, pp. 467-474.
16. Villalba-Villalba AG, Ramírez-Suárez JC, Valenzuela-Soto EM, García-Sánchez G, Carvallo-Ruiz G, Pacheco-Aguilar R (2013) Trypsin from viscera of vermiculated sailfin catfish, *Pterygoplichthys disjunctivus* Weber, 1991: Its purification and characterization. Food Chem 141(2): 940-945
17. U. Laemmli, "Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T4", Nature, 227, 1970, pp. 680-685.
18. B.F. Erlanger, N. Kokowski, W. Cohen, "The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin", Arch Biochem Biophys, 95, 1961, pp. 271- 278.
19. C. Stauffer, "Effect of pH on activity, Enzyme Assays for Food Scientist" Stauffer C (eds) Van Nostrand Reinhold, 1989, New York, pp 63-117.

## EFICIENCIA DE PLATA SOPORTADA EN MEMBRANA MODIFICADA SOBRE MESOFILOS EN FRESAS

Martha Liliana Palacios-Jaimes<sup>1</sup>, Imelda García-Argueta<sup>a</sup>, Marcela Hernández-Sánchez<sup>a</sup>, Rosa María Gómez-Espinosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, Km 14.5 Carretera Toluca-Atlacomulco, San Cayetano-Toluca, Estado de México, C.P. 50200.

<sup>a</sup> Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México. mlpalaciosmx@yahoo.com.mx, gai\_mx@hotmail.com, dra.m.hernandez@gmail.com

\* e-mail: rosamarigo@gmail.com

### RESUMEN

La utilización de membranas se ha ido imponiendo en diferentes sectores industriales: tratamiento de aguas, industria alimentaria, industria farmacéutica, etc. Dentro de la industria alimentaria el asegurar la calidad de los alimentos implica tener implementado un plan de limpieza y desinfección que coadyuve, conjuntamente con las buenas prácticas de la persona manipuladora, a reducir al mínimo el peligro de contaminación y por lo tanto permita garantizar la inocuidad de los productos. En el presente trabajo se evaluó la capacidad antimicrobiana de una membrana modificada de polipropileno con partículas de plata soportadas (MM-Ag), frente a organismos mesófilos en una muestra de alimentos. Para este análisis se decidió desinfectar una muestra de fresas con la MM-Ag durante un tiempo de retención y agitación; encontrándose que después de poner en contacto la membrana con la muestra durante 30 min a 900 rpm se obtiene un conteo de 9 UFC de un original de 45 UFC, la membrana resulta ser reutilizable encontrándose los mismos resultados para este tipo de organismos.

**Palabras clave:** membrana, polipropileno, plata, mesófilos, alimentos.

### 1. INTRODUCCIÓN

La utilización de membranas se ha ido imponiendo en diferentes sectores industriales: tratamiento de agua, industria alimentaria, industria farmacéutica, etc. Permite obtener efluentes sin contaminantes, reciclar el agua de proceso y recuperar productos valiosos que pueden ser reutilizados en el proceso o en otras aplicaciones. Todo ello, lleva consigo mejoras en el propio proceso de producción: Una reducción de los costes, aumento de la calidad de los productos obtenidos y minimización de los residuos generados<sup>1</sup>. Dentro de la industria alimentaria el asegurar la calidad de los alimentos implica tener implementado un plan de limpieza y desinfección que coadyuve, conjuntamente con las buenas prácticas de la persona manipuladora, a reducir al mínimo el peligro de contaminación y por lo tanto permita garantizar la inocuidad de los productos<sup>2</sup>. Actualmente existen diversos productos desinfectantes para eliminar diferentes tipos de microorganismos, y todos ellos con cierto grado de efectividad<sup>3</sup>. La eficiente actividad antimicrobiana de la plata ha sido estudiada y se conoce desde tiempos antiguos, las partículas de plata son empleadas en la fabricación de materiales en contacto con los alimentos, eliminando hasta en un 90% el crecimiento de microorganismos en los alimentos, siendo una alternativa a otros métodos de conservación de alimentos que emplean la radiación, tratamiento térmico, almacenamiento a baja temperatura, o a la introducción de aditivos antimicrobianos.

## 1. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Modificación de membrana de polipropileno (MM): El procedimiento de modificación de la membrana se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado por Palacios<sup>4</sup>. El mecanismo propuesto se ilustra en la Figura 1.

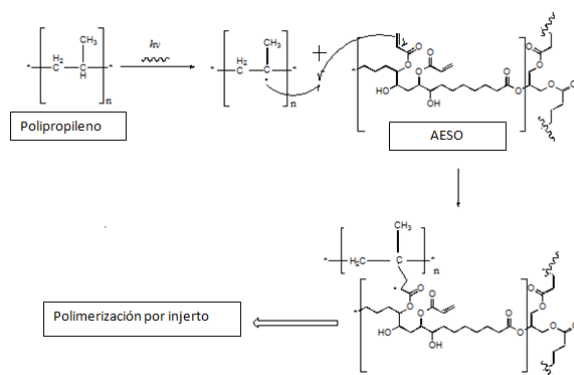


Figura 1. Mecanismo de modificación de membrana de polipropileno.

Caracterización de la membrana modificada: La MM fue caracterizada por microscopía electrónica de barrido que revela un engrosamiento de las fibras y poros definidos, el análisis fue acoplado a un análisis de espectroscopia de dispersión de energía, el cual nos revela la presencia de carbono y oxígeno elementos provenientes del aceite de soja acrilatado epoxidado (Figura 2 y 3). En el análisis de infrarrojo se muestra la presencia de una banda en  $1736\text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde a la vibración de enlace  $C=O$  y una banda en  $3500\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración del enlace  $O-H$  del monómero, confirmando el injerto del monómero de AESO sobre la superficie de la membrana (Figura 4).

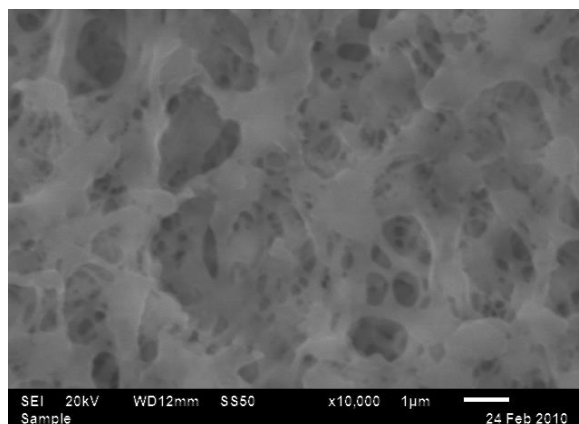


Figura 2. MEB de la MM 4 con AESO al 30% y DMF.

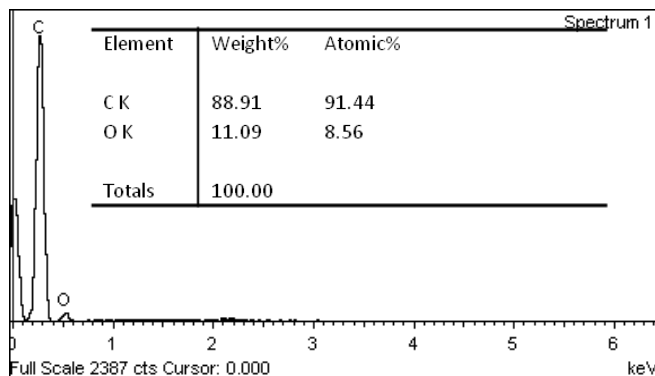


Figura 3. EDS de la MM 4 con AESO al 30% y DMF.

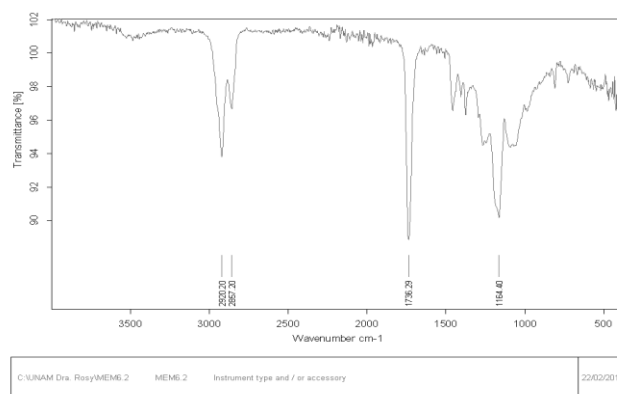


Figura 4. IR-ATR de la MM 4 con AESO al 30% y DMF.

Síntesis de partículas de plata sobre la membrana modificada (MM-Ag): Modificada la superficie de la membrana, las partículas metálicas de Ag son depositadas utilizando el método de impregnación de iones metálicos por medio de una reducción química, partiendo de la sal del metal,  $\text{AgNO}_3$  y donde el agente reductor es  $\text{NaBH}_4$ .

Conforme aumenta la concentración de la sal y del agente reductor las partículas de plata se ven incrementadas en su distribución sobre la superficie de la membrana, al igual que su concentración. Este comportamiento se observa hasta la concentración más elevada 1M, en donde las partículas se dispersan mejor y se aprecian en una cantidad mayor, tanto en forma de aglomerados como puntos dispersos, lo anterior se pudo comprobar a través de la caracterización de la membrana a través de MEB y EDS (Figura 5 y 6).



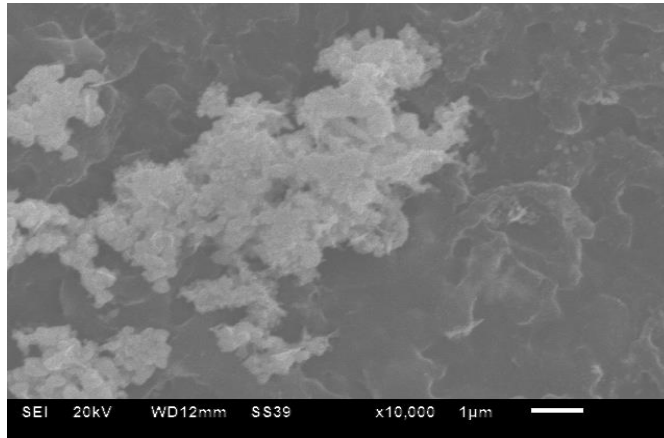


Figura 5. MEB de la MM-Ag 1 M.

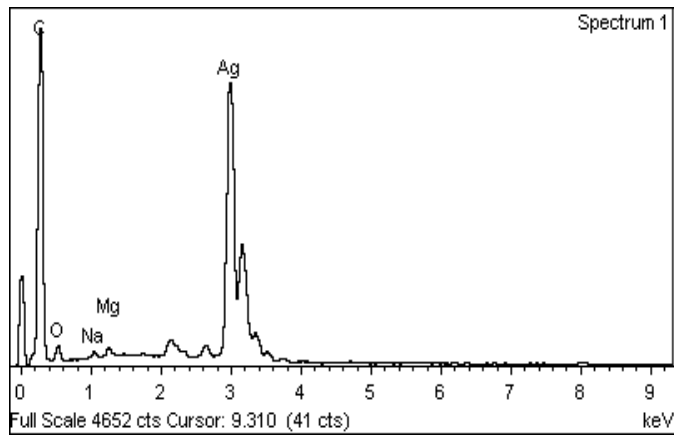


Figura 6. EDS de la MM-Ag 1M.

Determinación de mesófilos en una muestra de alimentos: Se realizó la medición de organismos mesofílicos a través el método de conteo en placa (NOM-181-SSA1 -1998) <sup>5</sup>. Para este análisis se decidió desinfectar una muestra de alimentos con la MM-Ag durante un tiempo de retención y agitación.

## **1. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

Los resultados de evaluación de organismos mesofílicos después del proceso de desinfección en un alimento al poner en contacto la membrana con la muestra de fresas durante 30 min a 900 rpm se obtuvo un conteo de 9 UFC de un original de 45 UFC.

Además, es importante mencionar que la membrana puede ser reutilizable realizando un retrolavado, reportando los mismos resultados respecto a este parámetro después de haber sido empleada.

## **2. CONCLUSIONES**

La membrana modificada de polipropileno con partículas de plata logro ser empleada para desinfectar un lote específico de alimentos, al poder disminuir la cuenta de organismos de tipo mesofílicos hasta en un 80%.

La membrana resulta ser reutilizable teniendo los mismos resultados antibacterianos, siendo muy significativo debido a que podremos utilizar varias veces las membrana después de haber sido utilizada, manteniendo la plata dentro del soporte polimérico, viéndose en ventaja con respecto a la plata coloidal comercial, la cual no puede reutilizarse y a lo largo de su uso resulta un contaminante más al ambiente.

## **1. BIBLIOGRAFÍA**

<sup>1</sup>Mulder, M., Basic Principles of Membrane Technology, Cap. 1-4, Kluwer Academic Publishers. 1998.

<sup>2</sup> F. Bravo, El manejo higiénico de los alimentos: acorde a la NOM-251-SSA1-2010, Limusa. 2da. Edición, 2010.

<sup>3</sup>. G. Wildbrett, Limpieza y desinfección en la industria alimentaria, Acribia, 2000.

<sup>4</sup>Palacios, M. Cortes, F. González, D. Gómez, R. J Appl Polym Sci 2012, 124.

<sup>5</sup>NOM-181-SSA1 -1998. Medición de organismos mesofílicos a través el método de conteo en placa

# Diseño, síntesis y caracterización de nanopartículas mesoporosas de sílice multifuncionales para aplicaciones biomédicas.

Rodrigo Rubio-Govea, Flavio F. Contreras-Torres, Nancy Ornelas-Soto\*

Laboratorio de Nanotecnología Ambiental, Centro del Agua para América Latina y el Caribe,  
Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Monterrey, Nuevo León.

\*correspondencia: [ornel@itesm.mx](mailto:ornel@itesm.mx)

## RESUMEN

La liberación controlada de sustancias bioactivas a través de nanopartículas mesoporosas de sílice (NMSi) es de amplio interés en el campo biomédico, como por ejemplo, sistemas de liberación controlada específicos para miocardio en terapia génica. En el diseño de NMSi multifuncionales se han tomado en cuenta los procesos de síntesis (e.g., método sol-gel), tamaño de partícula (ca. 10 – 600 nm), tamaño de poro (ca. 2 – 15 nm), funcionalización química (i.e., silanización), modificación (e.g., péptidos y biomoléculas) y expresión genética (e.g., SERCA2a). En el presente trabajo se presentan y se discuten: (i) los métodos condensación y funcionalización post-síntesis (i.e., grafting) con alcoxisilanos (e.g. APTES), (ii) la remoción del surfactante por medio del método de extracción química (e.g.,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), y (iii) la funcionalización química con BSA. La caracterización de las NMSi pristinas y modificadas ha sido llevada a cabo por medio de microscopia SEM, adsorción de  $\text{N}_2$  y espectroscopias FT-IR y DRX.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, uno de los mayores desafíos que las industrias farmacéuticas deben superar es el diseño de nuevas técnicas de liberación de fármacos. Por lo anterior, la liberación controlada de sustancias bioactivas en un sitio específico es uno de los campos emergentes con mayor alcance en la ciencia de los materiales. Entre las propuestas más interesantes que se han presentado, se encuentra la metodología de sistemas de liberación controlada (DDS, por sus siglas en inglés) a través de la cual es posible obtener un aumento de la actividad en el tejido u órgano deseado minimizando los efectos secundarios de la droga [1].

Dentro de los diversos materiales que han sido investigados para ser utilizados en DDS se ha encontrado que los nanomateriales a base de sílice (dióxido de silicio,  $\text{SiO}_2$ ) son buenos candidatos debido a sus características intrínsecas como son el total control del tamaño de partícula (5 – 1000nm) y tamaño de poro, alta área superficial ( $> 800\text{m}^2/\text{g}$ ), gran volumen de poro ( $> 0.9\text{cm}^3/\text{g}$ ), biocompatibilidad, baja toxicidad [2]. En particular, el control en el tamaño del poro permite obtener nanopartículas mesoporosas de sílice (NMSi) las cuales fácilmente pueden ser funcionalizadas con biomoléculas para agregar especificidad hacia receptores celulares específicos; entre las biomoléculas utilizadas para la modificación destacan péptidos, enzimas, proteínas y ADN [3].

El presente trabajo se enfoca en el diseño, síntesis, funcionalización y caracterización de NMSi para su utilización como DDS en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca (estudios futuros). Se espera que las NMSi con la superficie modificada por péptidos específicos para el corazón le

permitan tener mayor especificidad hacia el tejido cardiaco al igual que una mejor capacidad de transfección del material genético que sobreexpresen proteínas deseadas.

## 2. TEORÍA

La síntesis de las NMSi se lleva a cabo por el método sol-gel, el cual está basado en la catálisis en medio amoniacal de ortosilicatos y alcoxisilanos en presencia de algún surfactante—empleado para formar micelas que funcionan como direccionadoras de poros. En general la síntesis se realiza por medio de la condensación de un ortosilicato (i.e., ortosilicato de tetraetilo, TEOS) en presencia del surfactante bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB).

Para realizar la síntesis por medio de la condensación de TEOS según el método reportado por Lin y Haynes [4] utilizando CTAB como surfactante, primero se disuelve el CTAB en una solución de hidróxido de amonio a la cual posteriormente se agrega una solución etanólica de TEOS. Una vez que se obtienen las nanopartículas estas son puestas en una solución de nitrato de amonio bajo agitación constante, con el propósito de extraer el CTAB de los poros. La obtención de NMSi de diferentes tamaños se puede realizar por medio de la variación de la concentración de hidróxido de amonio que es utilizado en la síntesis.

Una etapa importante posterior a la síntesis de las nanopartículas obtenidas de la condensación de TEOS es la funcionalización y modificación de su superficie, en la cual se puede utilizar una combinación de grupos funcionales con lo cual es posible producir un sistema multifuncional, en el que las características de cada fracción funcional juegan un papel importante en el funcionamiento de las NMSi en sistemas de liberación controlada [5]. Para llevar a cabo la funcionalización de las NMSi es necesario realizar dos pasos secuenciales. Primero se realiza la funcionalización de la superficie con (3-aminopropil)trietoxisilano (APTES) con lo cual se añaden grupos terminales amino y después se realiza una hidrólisis de los grupos alcoxisilanos que no reaccionaron.

Posteriormente se lleva a cabo la modificación de la superficie con biomoléculas. Para realizar esto se utiliza el método de carbodiimidas, en el cual se utiliza el hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) en presencia de N-hidroxisuccinimida (NHS), en donde el EDC reacciona con grupos carboxílicos para formar una O-acilisourea intermedia que es desplazada fácilmente por el ataque nucleofílico de los grupos amino primarios de las biomoléculas. Después la amina primaria forma un enlace amida con el grupo carboxilo original, y un subproducto de EDC se libera como un derivado de urea soluble.

## 3. PARTE EXPERIMENTAL

*Reactivos.* Ortosilicato de tetraetilo (TEOS,  $\geq 99\%$ ), 3-aminopropiltrietoxisilano (APTES,  $99\%$ ), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB,  $\geq 99\%$ ), isotiocianato de fluoresceína (FITC,  $\geq 90\%$ ) y nitrato de amonio ( $\geq 99.5\%$ ) fueron comprados de Sigma-Aldrich. Etanol anhidro ( $\geq 99.5\%$ ), hidróxido de amonio (25–30 %  $\text{NH}_3$ ) y ácido clorhídrico (37%) fueron comprados de Fermont. Se utilizó agua milliQ ( $18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$ ). Todos los químicos son de grado reactivo y fueron utilizados sin realizarles ninguna purificación adicional.

*Instrumentación.* Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo JSM-7800F de JEOL, difractómetro de rayos X Empyrean de PANanalytical, espectrofotómetro de infrarrojo Spectrum 400 FT-IR de PerkinElmer.

*Síntesis.* La síntesis de las NMSi se realizó de acuerdo al procedimiento reportado por Lin y Haynes [5]. Para la síntesis de las NMSi con un tamaño promedio de 250 nm, primero se disolvieron 0.96 g de CTAB en 500 mL de una solución etanólica de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1.024 M) y se puso bajo agitación magnética a 700 rpm a temperatura ambiente. Una vez que la solución se volvió transparente se agregaron 13.33 mL de una solución etanólica de TEOS (0.88 M) y se dejó bajo

agitación a 700 rpm por 1 h. Después la solución se dejó en reposo por 12 h. Para remover el CTAB de los poros, las NMSi se centrifugaron a 3500 rpm por 7 min, se decantó el sobrenadante y se resuspendieron en 50 mL de una solución etanólica de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (0.075 M) y se pusieron bajo agitación por 1 h a 60 °C, el lavado con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  se realizó por triplicado. Después de la última extracción las nanopartículas se lavaron con etanol (x3) y se secaron a 45 °C.

**Funcionalización con APTES.** Para funcionalizar la superficie de las NMSi se realizaron ligeras modificaciones al métodos reportados por Szegedi et al. [6]. Brevemente, para poder funcionalizar las NMSi con APTES es necesario tener grupos silanol ( $-\text{Si}-\text{OH}$ ) en la superficie, para lo cual las NMSi se resuspendieron en HCl (0.5 M, 4 mg/mL) y se dejaron bajo agitación a 700 rpm por 1 h, después se centrifugaron a 3500 rpm por 7 min y se lavaron con etanol hasta obtener un pH neutro. Posteriormente las NMSi se resuspendieron en etanol (4 mg/mL) y se agregó a cada solución APTES con una relación estequiométrica de (0.797 g APTES/g NMSi) y se dejó bajo agitación por 5 h a 40 °C, después se centrifugaron a 3500 rpm por 7 min y se lavaron con etanol para remover la fracción de APTES que quedó sin reaccionar, el lavado se realizó por triplicado.

**Caracterización.** La obtención de los espectros de FT-IR de las NMSi prístinas y funcionalizadas con APTES se realizó en el espectrofotómetro Spectrum 400 FT-IR de PerkinElmer. La medición se realizó por medio de la técnica de ATR de las muestras en sólido. La morfología de las NMSi fue estudiada con el microscopio electrónico de barrido de emisión de campo JSM-7800F de JEOL con un voltaje de aceleración de 15 kV. Para conocer el grado de porosidad y el tamaño promedio de los poros se realizó la determinación del área superficial de las NMSi prístinas por medio de la isoterma de adsorción de nitrógeno utilizando un adsorptómetro Autosorb-1 de Quantachrome, el área superficial fue calculada por el método de Brunauer–Emmett–Teller (BET) y el promedio del tamaño de poro se calculó por medio del método de Barrett–Joyner–Halenda (BJH). La difracción de rayos X de las NMSi prístinas y modificadas se llevó a cabo utilizando el difractor de polvos de rayos X Empyrean de PANalytical utilizando irradiación de  $\text{Cu K}\alpha$ .

#### 4. RESULTADOS

La figura 1a muestra los resultados obtenidos de la microscopía electrónica de barrido en la cual se puede observar que las NMSi presentan una morfología esférica las cuales tienen un tamaño promedio de  $265 \pm 56$  nm; la figura 1b muestra la distribución de tamaños.

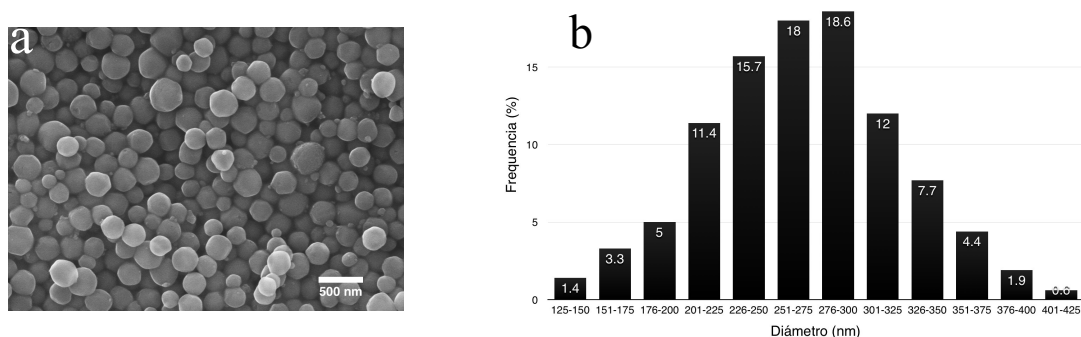
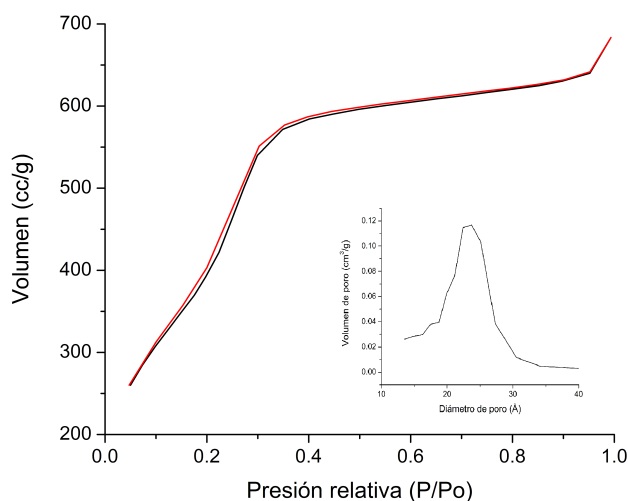


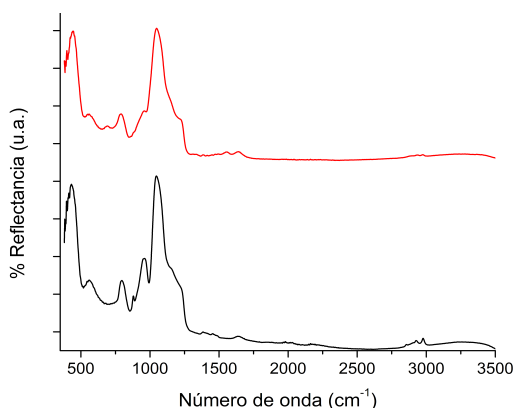
Figura 1. a) Imagen SEM y b) distribución de tamaño de las NMSi prístinas.

En la figura 2 se muestran los resultados obtenidos del análisis de la adsorción de  $N_2$ . Las NMSi presentaron una isoterma del tipo IV, la cual es característica de los materiales mesoporosos y presentan un área superficial de  $1436 \text{ m}^2/\text{g}$ . De igual manera en el inset de la figura 2 se puede observar que el tamaño promedio de poros es de  $24.5 \text{ \AA}$ .



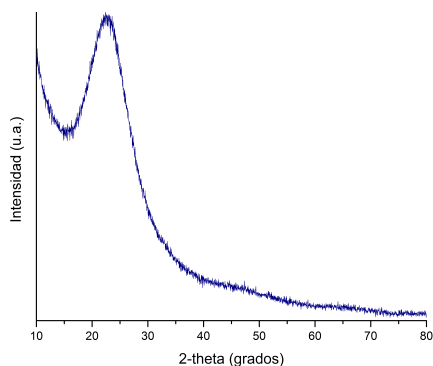
**Figura 2.** Isotherma obtenida de la adsorción de  $N_2$  y distribución de tamaño de poros.

Análisis de infrarrojo de las NMSi prístinas y funcionalizadas con APTES fueron realizadas para comprobar que la modificación química en la superficie de las partículas. En la figura 3 se muestran los espectros obtenidos en donde se puede observar una banda ancha característica de los grupos hidroxilo alrededor de los  $3400 \text{ cm}^{-1}$ , y de igual manera se presenta otra banda pequeña al rededor de los  $800 \text{ cm}^{-1}$  la cual es característica de los grupos silanol ( $-\text{Si}-\text{OH}$ ). Así mismo en el espectro de las NMSi funcionalizadas con APTES (rojo) se puede observar alrededor de los  $1650 \text{ cm}^{-1}$  dos picos pequeños característicos de aminas primarias y alrededor de los  $1385 \text{ cm}^{-1}$  se observa el pico característico del enlace  $\text{C}-\text{N}$  con lo cual se comprueba la presencia de APTES en las NMSi.



**Figura 3.** Espectros FT-IR de las NMSi prístinas (negro) y funcionalizadas con APTES (rojo).

En la figura 4 se puede observar el patrón de difracción de rayos X en el cual se presenta un pico ancho a los 22 grados característico de NMSi coloidales amorfas.



**Figura 4.** Patrón de difracción de rayos X de las NMSi prístinas.

## 5. CONCLUSIONES

Se presenta un método para la obtención de nanopartículas mesoporosas de sílice por medio de la hidrólisis y condensación de ortosilicato de tetraetilo utilizando bromuro de hexadeciltrimetiamonio como direccionador de poro. Las partículas sintetizadas presentan alto grado de porosidad debido a su área superficial de  $1436 \text{ m}^2/\text{g}$ . El tamaño promedio calculado de las partículas es de  $265 \pm 56 \text{ nm}$ . La efectiva funcionalización de la superficie de NMSi con (3-aminopropil)triétoxisilano fue observada por la espectrofotometría IR. Por lo anterior las nanopartículas sintetizadas presentan buenas características para ser empleadas en estudios futuros de desarrollo de sistemas de liberación controlada en donde es importante la obtención de materiales altamente porosos. Además la funcionalización permite añadir grupos funcionales amino con lo cual se forma un intermediario para la obtención de acarreadores versátiles a los cuales se les puede agregar un moléculas bioactivas específicas que pueden ser utilizadas para dirigir la carga a su lugar objetivo, reduciendo así la aparición de efectos secundarios.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] V. Mamaeva, C. Sahlgren, M. Lindén, "Mesoporous silica nanoparticles in medicine—recent advances." *Advanced drug delivery reviews*, vol. 65, no. 5, 2013, pp. 689–702.
- [2] I. I. Slowing, J. L. Vivero-Escoto, C.-W. Wu, V. S.-Y. Lin, "Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers." *Advanced drug delivery reviews*, vol. 60, no. 11, 2008, pp. 1278–1288.
- [3] M. Qhobosheane, S. Santra, P. Zhang, W. Tan, "Biochemically functionalized silica nanoparticles," *The Analyst*, vol. 126, no. 8, 2001, pp. 1274–1278.
- [4] Y.-S. Lin, C. L. Haynes, "Impacts of mesoporous silica nanoparticle size, pore ordering, and pore integrity on hemolytic activity." *Journal of the American Chemical Society*, vol. 132, no. 13, 2010, pp. 4834–4842.
- [5] J. M. Rosenholm, C. Sahlgren, M. Lindén, "Multifunctional Mesoporous Silica Nanoparticles for Combined Therapeutic, Diagnostic and Targeted Action in Cancer Treatment," *Current Drug Targets*, vol. 12, pp. 1166–1186.
- [6] X. Lin, N. Zhao, P. Yan, H. Hu, F.-J. Xu, "The shape and size effects of polycation functionalized silica nanoparticles on gene transfection." *Acta biomaterialia*, vol. 11, 2015, pp. 381–392.

# SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOMATERIALES ADSORBENTES CON APLICACIÓN POTENCIAL A LA ADSORCIÓN DE CONTAMINANTES: SÍNTESIS E HINCHAMIENTO

Ma. Elena Calixto-Olalde<sup>a</sup>, Jerónimo Rodríguez Becerra<sup>a</sup>, Juan Fernando Barrón Romero<sup>a</sup>, José Francisco Louvier Hernández<sup>b</sup> y Norma González Rojano<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Ingeniería en Materiales, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Irapuato, Gto. <sup>b</sup>Instituto Tecnológico de Celaya, <sup>c</sup>Centro Nacional de Metrología [macalixto@itesi.edu.mx](mailto:macalixto@itesi.edu.mx), [jero.rodriguez@hotmail.com](mailto:jero.rodriguez@hotmail.com), [ngonzale@cenam.mx](mailto:ngonzale@cenam.mx), [jlouvier@iqcelaya.itc.mx](mailto:jlouvier@iqcelaya.itc.mx)

## RESUMEN

La contaminación del agua es sin duda uno de los aspectos más preocupantes en la degradación de medios naturales, siendo considerado un problema de carácter mundial. Por lo cual, surge la necesidad de buscar procesos innovadores, y de bajo impacto ecológico, así como económicos y eficaces, siendo los hidrogeles poliméricos naturales o sintéticos los más factibles para esta aplicación, considerando que tienen magníficas propiedades físicas, entre las cuales destaca su **capacidad de adsorción** que refleja una respuesta favorable para la eliminación de metales pesados como resultado de los grupos poliquelatógenos (-OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH) capaces de enlazarse a las partículas contaminantes mediante un proceso de atracción electrostática entre el hidrogel y el contaminante, quedando así las partículas atrapadas dentro de él. Por lo cual, este trabajo tiene como objetivo sintetizar mediante la técnica de redes poliméricas interpenetradas materiales adsorbentes basados en quitosano/polialcohol vinílico/montmorillonita y utilizando el éster del ácido cítrico como agente de entrecruzamiento para el quitosano y el proceso de criogelación para entrecruzar el polialcohol vinílico. La preparación de las perlas se realizó por coservación en hidróxido de sodio 1.5M, utilizando una relación quitosano a éster del ácido cítrico de  $8 \times 10^{-3}$ , durante 4 horas. El PVA fue utilizado en un porcentaje molar del 8 %. Los resultados obtenidos indican que la incorporación de PVA permite obtener hidrogeles con mayor estabilidad dimensional, al obtenerse perlas menos frágiles con respecto a las preparadas con quitosano puro y como resultado de poseer una estructura de poros interconectados permite una mayor velocidad de adsorción de agua, así como una reducción en el tiempo para llegar al hinchamiento en equilibrio. La razón de hinchamiento es 200 % mayor que el obtenido con el quitosano puro entrecruzado con glutaraldehído. En conclusión, Éste material presenta propiedades de adsorción potenciales para la recuperación de metales pesados.

## 1. INTRODUCCIÓN

El quitosano es un polímero natural que tiene la capacidad de retener metales pesados por medio de los grupos amino que posee a lo largo de su estructura. Sin embargo, su estabilidad dimensional es muy reducida, por lo que tiene que combinarse con otros reactivos que eviten que se disgregue en las condiciones adversas en que puede llegar a ser empleado. En el presente proyecto se propone la adición de polialcohol vinílico, un polímero inocuo, el cual favorecerá la estabilidad del quitosano debido a las propiedades elásticas que presenta, así como la arcilla montmorillonita, la cual tiene como propósito aumentar las propiedades mecánicas del material compuesto y su capacidad de adsorber agua, lográndose así un contacto más elevado entre el quitosano y los contaminantes presentes en el agua. El proceso de entrecruzamiento del quitosano se efectúa (Chávez, 2013) por medio de la formación de enlaces entre los grupos hidroxilo presentes en las moléculas de los agentes reticulantes como el éster del ácido cítrico, con los grupos aminos encontrados en las cadenas de quitosano. El entrecruzamiento del material favorece su estabilidad dimensional, sin embargo, se debe lograr un grado de entrecruzamiento mínimo que garantice que la esfera no se disgregará, y que a la vez permanezcan disponibles la mayor cantidad posible de grupos amino en el quitosano, ya que son estos los responsables de adsorber a los contaminantes contenidos en las aguas residuales, y por ende, a mayor cantidad de sitios activos existentes, la adsorción de metales pesados y otras sustancias sería más elevada, lo anterior considerando la aplicación posterior que tendrá. Las variables involucradas en el proceso de elaboración de las esferas de quitosano son la temperatura y tiempo de reacción de entrecruzamiento, concentración de polímero (quitosano y polialcohol vinílico), arcilla. Las variables de respuesta serán la velocidad de adsorción de agua del material compuesto (lo cual está



directamente relacionado con el grado de entrecruzamiento, debido a que entre menor sea, más capacidad de adsorción de agua presentaría el material compuesto), así como la eficiencia en la eliminación de contaminantes, la cual será determinada al colocar las esferas en agua sintética durante un lapso determinado y posteriormente evaluar la disminución en la concentración de contaminantes presentes.

## 2. TEORÍA

Un material compuesto nano o nanocompuesto es aquel que posee un refuerzo de tamaño nanométrico distribuidas en la fase matriz, generalmente tiene dimensiones, ya sea internas o externas de aproximadamente 100 nm o menos, (Shukla, Mishra, Arotiba & Mamba, 2013). Las propiedades de éstos materiales son una función de sus componentes, por lo cual se describe los componentes para el nanocompósito quitosano/polialcohol vinílico/MMT (QT/PVA/MMT).

El quitosano es un polímero natural biodegradable con gran potencial para su uso en aplicaciones amigables con el medio ambiente debido a su biocompatibilidad y baja toxicidad (Sinha *et al.* 2004). Se obtiene de la desacetilación química de la quitina, la cual es el segundo polisacárido más abundante, siendo principalmente encontrado en las conchas y exoesqueletos de crustáceos como el cangrejo y el camarón. Debido a su disponibilidad de grupos amino a lo largo de la cadena polimérica, los cuales están cargados negativamente, puede ser sometido a la quelación con iones metálicos presentes en agua residuales (Sinha *et al.*, 2004). El quitosano se puede moldear en diversas formas, tales como, membranas, microesferas, perlas de gel y en forma de películas, (Vieira & Beppu, 2006), agregando un valor extra sus propiedades y aplicaciones. Figura 1-(A).

El polialcohol vinílico (PVA) es un polímero) sintético, hidrofílico, biocompatible, no tóxico, no cancerígeno y semicristalino, el cual contiene una gran cantidad de grupos hidroxilo, los cuales pueden formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, haciéndolo soluble en esta (Parparita, 2014). Para su aplicación en la formación de hidrogeles, el PVA puede ser entrecruzado sin la presencia de agentes de entrecruzamiento (lo que reduce la posibilidad de un posible aumento en la toxicidad de los materiales preparados por esta vía), a través de un método físico que involucra la formación de cristales. Este entrecruzamiento físico proporciona una mayor resistencia mecánica que la de los hidrogeles que contienen PVA entrecruzado químicamente, debido a que una carga mecánica puede ser distribuida a lo largo de los cristales de la estructura tridimensional. Algunas de las propiedades de los hidrogeles de PVA entrecruzado por congelamiento son un elevado grado de hinchamiento en agua, elasticidad y alta resistencia mecánica (Hassan & Peppas, 2000). Figura 1-(B)

Los minerales naturales, tales como los filosilicatos naturales, conocidos comúnmente como arcillas (Wang & Wang, 2007), incluidas la bentonita, la caolinita, la montmorillonita y la sepiolita se usan como adsorbentes de bajo costo (Örnek *et al.*, 2007). La mica, y la atapulgita (Chen *et al.*, 2013) también han sido usadas.

Actualmente, se han centrado en la preparación de compuestos de polímero/arcilla para mejorar las propiedades de hinchamiento, mejorar la resistencia del gel y reducir el costo de producción de materiales adsorbentes, (Chen *et al.*, 2013). Las arcillas modificadas muestran mayor capacidad de adsorción que las arcillas originales, (Wang & Wang, 2007). La montmorillonita es una especie natural de tipo mineral de arcilla en capas, (Chen *et al.*, 2013). Su estructura en capas consiste en un sándwich de una hoja octaédrica de alúmina entre dos láminas de sílice tetraédricos (Kumar Behera, Oh & Park, 2010). Entre sus propiedades a destacar La montmorillonita tiene una alta capacidad de intercambio catiónico, capacidad de hinchamiento y una alta área superficial, (Chen *et al.*, 2013). A su vez, posee una carga negativa, la cual se desarrolla permanentemente debido a la sustitución isomorfa, (Behera *et al.*, 2010). Las fuerzas de enlace que unen a las diferentes unidades estructurales (láminas más interlamina) son más débiles que las existentes entre

los iones de una misma lámina, por eso es que las arcillas tiene una clara dirección paralela de exfoliación. Figura 1-( C).

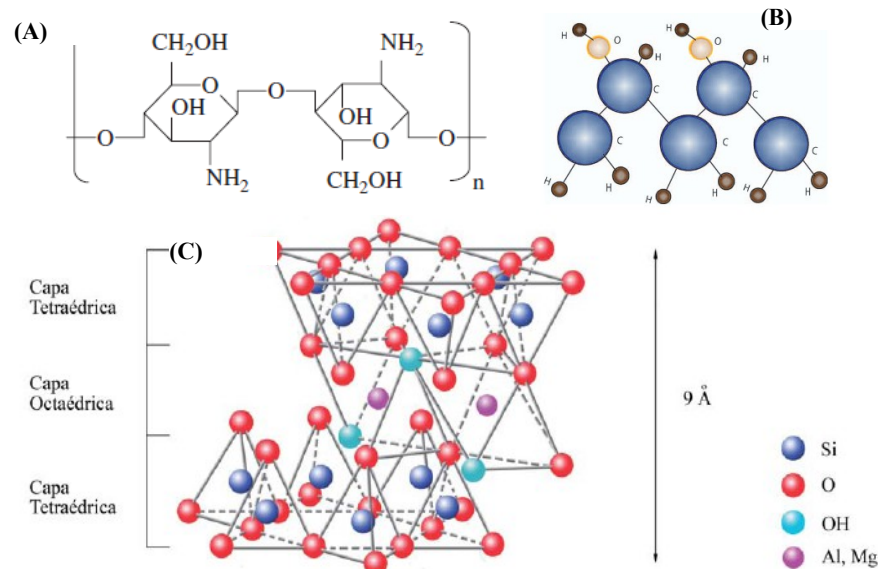


Figura 1: Estructuras químicas de los componentes del nanocompósito. (A) Quitosano imagen tomada de Vieira, R. S. & Beppu, M. M. (2006), (B) Estructura química del polialcohol vinílico (Baker, Walsh, Schwartz & Boyan, 2005). (C) Estructura química de la montmorillonita 2:1 imagen tomada de Franco Urquiza, Ingenierías Julio-Septiembre 2009, Vol XII, No.44.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

El nanocompósito fue preparado mediante la técnica de redes poliméricas interpenetradas, El PVA fue disuelto en agua a 80°C durante una hora, posterior a esto se mezcló con el quitosano en tal proporción que se utilizó una relación en porcentaje molar de QT/PVA de 92/8. La MMT, se utilizó al 1% respecto al volumen total de mezcla, para lograr una buena dispersión se dejó en agitación en agua con agitación magnética durante 4 horas y posterior a esto se sometió en baño de ultrasonido durante 40 minutos. En agitación magnética se adicionó la suspensión de MMT a la mezcla QT/PVA. Finalmente la solución fue goteado mediante jeringa sobre una solución de NaOH 1.5M para llevar a cabo la formación de las perlas por coaservación. Las perlas en reposo se dejan durante 24 horas en la solución de NaOH para favorecer su estabilidad dimensional. Después de esto, las perlas son lavadas con agua destilada hasta pH neutro y entrecruzadas con el éster del ácido cítrico empleando una relación de  $8 \times 10^{-3}$  moles de quitosano por 3 moles de ácido cítrico, en presencia de alcohol etílico para propiciar la formación del éster de ácido cítrico, lo cual se realiza *in situ* junto con la reacción de entrecruzamiento del quitosano (Chávez, 2013). El tiempo de reacción fue de 4 horas a temperatura ambiente. El entrecruzamiento del PVA, se realizó por criogelación a -20°C. Finalmente las perlas son lavadas y liofilizadas para su posterior caracterización.

#### Hinchamiento

El hinchamiento de las perlas se realizó en agua destilada a temperatura ambiente, la fórmula utilizada de acuerdo con Yuan et al, 2007 es la siguiente:

$$E_{sw} = [(W_{sw} - W_0) / W_0] \times 100$$

Donde:

$E_{sw}$  es el hinchamiento de la esfera

$W_{sw}$  es el peso de la esfera hinchada

$W_0$  es el peso de la esfera seca por liofilización

**Los resultados obtenidos** de la síntesis dieron como resultado la buena formación de perlas con una excelente estabilidad dimensional. La incorporación del PVA disminuye en gran medida la fragilidad del quitosano razón por la cual se utilizó el PVA para ser interpenetrado con el PVA. El

aspecto físico de las esferas indica una distribución uniforme del quitosano y el PVA a lo largo de todo el material, siendo la causa principal de esto las interacciones por puente de hidrógeno existentes entre los grupos funcionales de ambos componentes (grupos  $-OH$  y  $-NH_2$  en el quitosano y grupos  $-OH$  en el PVA), como se pueden observar en la Figura 2.



Figura. Esferas de QT-PVA-MMT, entrecruzadas con éster de ácido cítrico, hinchadas con agua destilada.

Los resultados de hinchamiento indican que la incorporación del PVA modifica el comportamiento de hinchamiento del nanocompósito con respecto al del quitosano puro, esto debido a que el PVA es un polímero soluble en agua y la mezcla de quitosano con PVA incrementa la absorción de agua debido al aumento de grupos hidrofílicos ( $-OH$ ) en el quitosano. El hinchamiento se incrementa con el aumento en la cantidad de PVA que se agrega al quitosano. Además de la incorporación de microporos interconectados que posee el PVA como hidrogel obtenido mediante criogelación, los resultados obtenidos están de acuerdo con los resultados obtenidos por El-Hefian *et al* en 2010, en películas de quitosano mezclado con PVA a diferentes proporciones, El entrecruzamiento del QT con el éster del ácido cítrico también favorece el hinchamiento de las esferas al ser 200 % mayor que el obtenido con el quitosano puro entrecruzado con glutaraldehído, (resultados no mostrados).

### 3. CONCLUSIONES

La síntesis del nanocompósito QT/PVA/MMT en forma de perlas presenta una gran estabilidad dimensional proporcionada por el PVA, lo cual da como resultado perlas menos frágiles con respecto a las preparadas con quitosano puro. Así mismo, la incorporación del PVA incrementa la capacidad de hinchamiento y velocidad de adsorción de agua del nanocompósito debido al incremento de grupos hidrofílicos ( $-OH$ ) y su interpenetración dentro del QT, lo cual favorece una estructura de poros interconectados. (micrografías no mostradas). Los resultados obtenidos hasta el momento permiten fortalecer su aplicación como material adsorbente. Resultados que serán presentados de manera posterior.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Baker, M. I, Walsh, S. P., Schwartz, Z. & Boyan, B. D. (2012). A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. *Society for Biomaterials*, 1-7. Doi: 10.1002/jbm.b.32694
2. Chávez H., A. J. (2013), *Obtención de películas de quitosano a partir de la quitina proveniente de desechos de la industria cangrejera*. (Tesis inédita de doctorado). Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.
3. Chen, D., Li, W., Wu, Y., Zhu, Q., Lu, Z. & Du, G. (2013). Preparation and characterization of chitosan/montmorillonite magnetic microspheres and its application for the removal of Cr (VI). *Chemical Engineering Journal*, 221(2013), 8–15.

4. El-Hefian, E. A., Nasef, M. M. & Yahaya, A. H. (2010). The Preparation and Characterization of Chitosan/Poly (Vynil Alcohol) Blended Films. *E-Journal of Chemistry*, 7(4), 1212-1219
5. Părpăriță, E., Cheaburu, C. N., Pațachia, S. F. & Vasile, C. 2014. Polyvinyl alcohol/chitosan/montmorillonite nanocomposites preparation by freeze/thaw cycles and characterization. *Acta Chemica Iasi*, 22(2), 75-96. Doi: 10.2478/achi-2014-0008
6. Sinha, V. R., Singla, A. K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K. & Dhawan, S. (2004). Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 274, 1-33. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2003.12.026.
7. Vieira, R. S. & Beppu, M. M. (2006). Dynamic and static adsorption and desorption of Hg(II) ions on chitosan membranes and spheres. *Water research*, 40(2006), 1726 – 1734.
8. Yuan, Y., Chesnutt, B. M., Utturkar, G., Haggard, W. O., Yang, Y., Ong, J. L. & Bumgardner, J. D. (2007). The effect of cross-linking of chitosan microspheres with genipin on protein release. *Carbohydrate Polymers*, 68, 561-567. Doi: 10.1016/j.carbpol.2006.10.023
9. Wu, F.-C., Tseng, R.-L. & Juang, R.-S. (2010). A review and experimental verification of using chitosan and its derivatives as adsorbents for selected heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 91, 798-806. Doi: 10.1016/j.jenvman.2009.10.018
10. Wang, L. & Wang, A. (2007). Adsorption characteristics of Congo Red onto the chitosan/montmorillonite nanocomposite. *Journal of Hazardous Materials*, 147(2007), 979–985.
11. Chatterjee, S., Lee, M. W. & Woo, S. H. (2009). Adsorption of congo red by chitosan hydrogel beads impregnated with carbon nanotubes. *Bioresource Technology*, 101(2010), 1800–1806.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto. Acuerdo 05-02EX-14

## HONGOS DE CHIAPAS: Guía de campo

Chanona-Gómez, F.<sup>a</sup>, Álvarez-Gutiérrez, Peggy Elizabeth<sup>b</sup>, Pérez-Luna, Yolanda<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas,  
fredpeluche2006@hotmail.com

<sup>b</sup>Cuerpo Académico de Investigación y Desarrollo Agroindustrial. Universidad Politécnica de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez Chiapas, peggy.alvarez@hotmail.com, yluna18@yahoo.com.mx

### RESUMEN

Los hongos son organismos complejos que se encuentran ampliamente distribuidos en la Tierra. Presentan una importante actividad ecológica por ser los únicos descomponedores primarios que pueden atacar y degradar a la madera, esta capacidad les permite tener aplicaciones industriales en el área ambiental y de alimentos. Se calcula que en la Tierra hay más de 1, 500,000 especies de hongos, para México 120,000 y para Chiapas se estiman 20,000 especies de las cuales solamente se tienen registradas 611 especies. Dado que se han descrito menos del 5% de las especies de Chiapas, el objetivo de este trabajo fue describir las principales especies de ascomicetos, basidiomicetos, líquenes y micorrizas de Chiapas. Por lo que se presenta la descripción de la micodiversidad chiapaneca descrito en forma científica y a la vez es una guía práctica para cualquier persona interesada en estos organismos. Como resultado de este trabajo se presenta las características y potencial biotecnológico de los hongos, aspectos etnobotánicos y la propuesta para turismo alternativo a través del conocimiento de estos organismos, además de la descripción completa de 32 especies de ascomicetos que incluyen seis comestibles, seis tóxicas y una lúdica, además de un nuevo registro para el estado y 129 Basidiomicetes, de los cuales 41 son comestibles, 11 tóxicos, nueve nuevos registros para Chiapas y mas de 7 son medicinales o con potencial biotecnológico. Adicionalmente se describen las principales especies de líquenes, sus características y la diversidad liquémica del estado. Finalmente se describen las principales características, la clasificación y la taxonomía de los hongos micorrícicos arbusculares aislados en Chiapas. Así mismo se enumera la diversidad de macromicetos en diferentes áreas protegidas y parques de Chiapas y claves dicotómicas para la identificación de hongos tóxicos.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos independientes de los demás reinos (*Plantae*, *Animalia*, *Bacteria*, *Arquea*, *Protista*), se clasifican dentro del Reino Fungi o Reino de los hongos; se caracterizan por ser seres vivos que carecen de clorofila (no pueden producir sus propios alimentos), su nutrición es por absorción, se originan a partir de esporas, pueden tener reproducción sexual o asexual, poseen estructuras filamentosas llamadas hifas (que en conjunto se conoce como micelio), no poseen raíces, flores y frutos, contienen quitina y/o celulosa en las paredes celulares, glucógeno como materia de reserva, se desarrollan sobre algún substrato orgánico (vivo o muerto) y la mayoría posee un cuerpo fructífero o esporoma.

El hábitat de los hongos es muy variado. Pueden encontrarse en ambientes acuáticos, selvas tropicales, bosques, prados, jardines, desechos agroindustriales (bagazo de maíz, de caña, etc.), llanuras, caminos, etc. Pueden crecer casi en cualquier lugar, con la condición de que exista un sustrato orgánico los requerimientos mínimos necesarios para su desarrollo (humedad, pH).

México está situado en una particular posición geográfica entre dos grandes regiones biogeográficas (Neártica y Neotropical) con una gran variedad de climas y peculiar orografía (Guzmán, 1994) lo que produce un complejo mosaico de diferentes tipos de vegetación (45 tipos) y alrededor de 22, 000 especies de plantas vasculares (Rzedowski, 1991) así como alta diversidad de especies fúngicas, tanto microscópicas como macroscópicas (macromicetos) existentes en todo el largo y ancho del País.

Se ha calculado que a nivel mundial el Reino Fungi posee alrededor de 1 500 000 especies; sin

embargo solo se conoce el 4 % del total (Hawksworth, 1991). Guzmán (1994 y 1997) estimó para México entre 120, 000 y 140, 000 especies de hongos. Dicha estimación la realizó con base a la diversidad de plantas vasculares que prosperan en nuestro país, se conocen aproximadamente 6,300 es decir, el 4.5%. García *et al.* (2001) años después calculó que para México existen aproximadamente 200 000 especies de hongos, de las cuales se conocen alrededor de 7000 especies (entre ellas 200 especies comestibles), por lo que el porcentaje de conocimiento para los hongos oscila en un 3.5 % lo que implica que nuestro conocimiento en la diversidad fúngica es aún incipiente.

Para el estado de Chiapas, se estiman alrededor de 20,000 especies de hongos (Chanona, 2006), aunque se han reportado solo 441 (Andrade y Sánchez, 2005). Esto corresponde al 2.2 % de la micobiota de Chiapas. De estos hongos reportados 22 géneros pertenecen al grupo de los *Ascomycetes* y 122 pertenecen a los *Basidiomycetes*. Diversos autores han realizado nuevos hallazgos para la micobiota del estado que junto con contribución de esta guía se registra hasta la fecha de publicación de este documento un total 602 especies para Chiapas.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

La zona de estudio fue el territorio del estado de Chiapas localizado al sureste de México, colinda al norte con el estado de Tabasco, al oeste con Veracruz y Oaxaca, al sur con el Océano Pacífico y al este con la República de Guatemala. Al norte 17°59', al sur 14°32', de latitud norte, al este 90°22', al oeste 94°14' de longitud oeste. A través de exploraciones micológicas a lo largo de diez años con la finalidad de conocer y determinar la composición micoflorística de la zona de estudio. Los muestreos se realizaron mediante caminatas en putnos aleatoriso recorriendo diversas áreas en los meses de mayo a septiembre. Para la colecta y toma de datos de campo de los ejemplares se utilizaron las técnicas propuestas por Guzmán (1977). La identificación se realizó mediante un análisis macro y microscópico basándose en el concepto de morfoespecie.

## 4. RESULTADOS

### POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

El consumo de hongos, o micofagia, pudo haber tenido su origen entre los primeros hombres y mujeres nómadas, quienes colectaron semillas, hojas, frutos, tallos de plantas y muy probablemente cuerpos fructíferos de hongos como alimentos. El conocimiento de las especies comestibles de las tóxicas en estos primeros micófagos sin duda cobró varias vidas antes de que el método empírico que utilizaron para distinguir entre unos y otros fuera probado. Este conocimiento se ha transmitido a lo largo de miles de generaciones entre los pobladores de las regiones en donde persiste la micofagia, sin embargo y por inverosímil que parezca hasta hace algunos días el desconocimiento o descuido en la selección de hongos sigue cobrando vidas humanas en Chiapas y en el resto del mundo. En Chiapas, las especies que han causado más problemas en materia de salud en las personas por su toxicidad son *Amanita verna* y *Amanita pantherina* siendo *Chlorophyllum molybdite*, *Psilocybe coprofila* y *Scleroderma areolatum* otras especies que requieren atención.

En este libro se documentan 52 especies de hongos comestibles, de las cuales 5 especies corresponden a los ascomicetes y 47 a los basidiomicetes comestibles. Entre ellos se encuentran desde especies de gran valor culinario hasta las que tienen una comestibilidad mediocre o que solamente se pueden consumir en algunas etapas de desarrollo.

Las especies de ascomicetes comestibles que se presentan en esta edición en Chiapas son: *Clavaria vermicularis*, *Cookeina tricholoma*, *Cookeina venezuelae*, *Daldinia concentrica*, *Hypomyces lactifluorum*, *Cookeina sulcipes*. Las especies de basidiomicetes comestibles descritas o mencionadas en este libro para Chiapas son: *Auricularia auricula*, *Auricularia cornea*, *Agaricus bisporus*, *Amanita caesarea*, *Amanita vaginata*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Cantharellus cinnabarinus*, *Clavariadelphus truncatus*, *Clitocybe gibba*, *Coprinus cumatus*, *Dacryopinax*

*SPATHULARIA, Gomphus floccosus, Helvella crispa, Helvella infula, Helvella lacunosa, Hydno-polyporus palmatus, Hydnum repandum, Laccaria amethystina, Laccaria laccata, Lactarius chiapanensis, Lactarius indigo, Lactarius salmonicolor, Laetiporus sulphureus, Laccaria amethystina, Leccinum aurantiacum, Lepista nuda, Lycoperdon perlatum, Lycoperdon umbrinum, Macrolepiota procera, Panus crinitus, Pisolithus tinctorius, Pleurotus djamor, Pleurotus ostreatus, Ramaria cianocephala, Russula delica, Russula lutea, Schizophyllum commune, Sparassis crispa, Strobilomyces floccopus, Suillus granulatus, Tremella fuciformis, Ustilago maydis.* De estos *Boletus edilus* y *Cantarellus cibarius* están incluidas en la Norma Oficial Mexicana (NOM) 059 de SEMARNAT 2010 como especie amenazada y sujeta a protección especial respectivamente (SEMARNAT, 2010).

Los hongos han sido utilizados por su poder curativo. Entre los valores medicinales de los hongos se incluyen el antibacterial, antiviral, regulador de la presión sanguínea, fortalecedores del sistema cardiovascular y respiratoria o reductor de los niveles de colesterol, tónico para el sistema nervioso central, aumentadores activadores del sistema inmunológico, antitumorales, antioxidantes, efectos en contra de la arterosclerosis, antiinflamatorios, en el tratamiento de cirrosis por hepatitis, antienviejecedores, dipsoterapéuticos, hemostáticos, hipoglucémicos, hipolipidémicos, pisortrópicos, purgantes, vasoconstrictores entre otros (López Ramírez, 1986; Cruz, 2000). Los hongos medicinales que aquí se reportan son *Auricularia auricula, Auricularia cornea, Agaricus bisporus, Auricularia mesenterica, Ganoderma lucidu, Geastrum mirabile, Geastrum striatum, Geastrum triplex, Laetiporus sulphureus, Pisolithus tinctorius, Pleurotus djamor, Pleurotus ostreatus, Pycnoporus sanguineus, Schizophyllum commune*. Sin embargo, muy probablemente un gran número de las especies de hongos de Chiapas pueden tener propiedades medicinales aún desconocidas debido a la escasez de estudios al respecto.

#### PROPUESTA DE MICOTURISMO

A pesar de tener ANP y contar con una enorme riqueza de flora y fauna, el turismo nacional y extranjero se ha enfocado en gran parte a las principales ciudades abordando poco el turismo ecológico o ecoturismo. Dentro del ecoturismo pueden hacerse actividades relacionadas con la conservación y uso adecuado de nuestros recursos naturales como la flora y fauna, además de aquellas relacionadas íntimamente con los hongos observación en campo y toma de fotografías, seminarios y pláticas temporales sobre el uso de los hongos, diversidad, que permitan obtener beneficios económicos a corto plazo tanto para la administración de las Áreas Naturales como para los habitantes de las zonas aledañas a dichas áreas protegidas; por lo que se sugiere realizar los primeros proyectos a nivel nacional de turismo alternativo micológico o también conocido como Micoturismo.

En el libro hongos de Chiapas (Figura 1) se reportan como nuevos registros para Chiapas. 5 *Ascomycetes* y 16 *Basidiomycetes*. *Ascomycotina: Clavaria vermicularis, Hypomyces lactifluorum, Xylaria longipes, Peziza hemisphaerica, Peziza leucomelas. Basidiomycotina: Boletellus ananas, Calocera viscosa, Chondrostereum purpureum, Clavariadelphus truncatus, Coprinus cumatus, Coprinus disseminatus, Cyathus intermedius, Geoglossum fallax, Hygrophorus aff psittacinus Lactarius salmonicolor, Leucocoprinus fragilissimus, Mycena acícula, Russula lútea, Scleroderma areolatum, Trametes ochracea e Hydnellum peckii.*

ASCOMICETES. Los ascomycetes macroscópicos son hongos que tienen entre sus principales características, la forma del ascocarpo; éste puede ser cónico, globoso, lobulado, en forma de copa, disco, mazorca, dedos alargados o silla de montar, por lo que el himenio es liso. (Díaz-Barriga, 1992) es decir, que no presentan láminas, poros, tubos, acúleos o venas, sésiles, pseudoestipitados o estipitados. Internamente producen sus esporas sexuales (ascosporas) en una estructura especializada en forma cilíndrica, conocida como asca, la cual puede contener de ocho hasta mil esporas (elipsoidales, fusiformes, lisas u ornamentadas, hialinas, inamiloides), dependiendo de la especie (Ulloa *et al.* 1978). Algunos ejemplos de los ascomicetes de Chiapas se presentan en la Figura 2.

**BASIDIOMYCETES.** Los basidiomycetes poseen carpóforos de diferentes formas y estructura; pueden ser sésiles, pseudoestipitados, estípites verdaderos, de consistencia carnosa, leñosa, gelatinosa (Ayala *et al.* 1998). El himenio generalmente se localiza en la parte inferior del sombrero (con excepción de las Ramarias y Lycoperdales). El carpóforo es muy variado en formas y colores. Algunas especies presentan láminas (agaricales), poros (poliporáceos), tubos (boletáceos), acúleos o dientes (hydnceos), venoso (cantahrellus), globoso (gasteromycetes) o liso (ramarias) y de colores claros (blanquecinos, amarillentos) hasta los oscuros (pardos-negruzcos); con una gran diversidad de ornamentaciones, tales como anillo, velo, escamas, etc. El grupo de los basidiomycetes incluye a las setas y hongos que forman cuerpos fructíferos (Deacon, 1993). Estos hongos producen sus esporas sexuales en una estructura especializada llamada basidio (de forma alargada), en la que se pueden observar las basidiosporas en un número de dos a cuatro células (Ulloa *et al.* 1978; Deacon 1993). Las hifas pueden contener septo simple o doliporo (Ulloa *et al.* 1978), con un micelio bien desarrollado (Díaz-Barriga, 1992) que produce estructuras macroscópicas. Dentro de este grupo encontramos tres clases: *Telomycetes*, *Hymenomycetes* y *Gasteromycetes* (Deacon, 1993). Dentro de los Gasteromycetes se encuentran especies que forman grandes cuerpos fructíferos como las setas, hongos de repisa (Deacon, 1993). Ejemplo de la diversidad de basidiomicetes se presenta en la Figura 3.

**LÍQUENES.** Un líquen es la asociación simbiótica de una especie de hongo (*Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*) con una especie de alga (ficobionte) o en ocasiones con dos o más especies de algas (Cianofita, Clorofita). Ambos miembros de esta organización obtienen beneficios mutuos al vivir juntos. El alga proporciona alimento al hongo producto de la fotosíntesis, especialmente azúcares simples o monosacáridos así como oxígeno. El hongo a su vez beneficia al alga, al envolverlo con sus hifas lo que las protege de la acción del medio externo evitándoles la pérdida de humedad y proporcionarle bióxido de carbono para la respiración, así como agua y sales minerales. El hongo o micobionte le da forma al líquen al constituir el 70 % de la estructura líquénica (Coutiño, 1980; Grau, *et al.* 1980; Cronquist, 1982). Sipman y Wolf (1998) reconocen 359 especies y 105 géneros de líquenes para el estado de Chiapas. Los géneros *Parmotrema*, *Heterodermia*, *Anaptychia*, *Cladonia* e *Hypotrachyna* son los más representativos de la líquenoflora chiapaneca. A pesar de ello, el número de especies es bajo aún, lo que hace necesario y urgente la formación de un mayor número de investigadores y/o especialistas en el área así como la elaboración de trabajos de investigación a corto plazo (no mayor a 5 años). La líquenología es un campo poco trabajado en Chiapas. Solamente se conoce un trabajo de investigación sobre la ecología de comunidades de líquenes epífitos de una selva baja caducifolia (tesis de licenciatura) elaborado en el municipio de Ocozocautla de Espinosa. En dicha investigación se encontró 80 especies, de las cuales cuatro de estas fueron nuevos registros para Chiapas (*Gyrostomum scyphuliferum* (Ach) Nyl, *Helminthocarpon leprevostii* Fé, *Lecanactis inferior* (Müll Arg) Tehler, *Maronia multifera* (Nyl) Haf & Rogers y *Milospium graphideorum* (Nyl) Hawksw) y un género reportado como nuevo para México (*Vainionora* sp\*). Con respecto al número de especies encontradas en las áreas naturales protegidas de Chiapas, no se conoce hasta el momento ningún estudio detallado de ello. Solamente se han realizado colectas en el Centro Ecológico-Recreativo El Zapotal, en el cual se encontraron 18 géneros y 36 especies (Chanona, *et al.* 2000). Algunos ejemplos de líquenes de Chiapas se presenta en la Figura 4.

**MICORRIZAS.** El término micorriza, propuesto por Frank en 1885, se emplea para definir una asociación simbiótica mutualista entre hongos y raíces de plantas superiores (Barreno, 1991). Cerca del 90% de plantas terrestres forman este tipo de asociación (Smith and Read, 1997) encontrándose tanto en regiones tropicales (Chaurasia and Khare 2005) como templadas (Vestberg 1995) y árticas (Dalpe and Aiken 1998). Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) establecen esta relación simbiótica con las plantas a través de su sistema radical, permitiendo el intercambio de solutos y agua; mediante este mecanismo las plantas se benefician incrementando su nivel nutricional ya que las hifas del hongo adheridas a las raíces de la planta le permiten a esta última explorar un mayor volumen de suelo de hasta 100 veces más que la raíz por sí sola (Mosse & Phillips, 1971). Otros beneficios que se reconocen de la asociación están relacionados con un incremento en la resistencia de la planta a condiciones climáticas adversas como la sequía (Augé *et al.*, 1994) y al ataque de patógenos del suelo (Pozo *et al.*, 2002), así como mayor tolerancia a



suelos salinos o con presencia de metales pesados (Feng *et al.*, 2002). En la Figura 5 se presentan microfografías de esporas de hongos micorrícicos arbusculares de Chiapas.

#### 4. CONCLUSIONES

La diversidad de hongos de Chiapas incluye especies de macromicetos, tanto ascomicetos como basidiomicetos. Además de especies simbióticas de líquenes y micorrizas. El conocimiento de la riqueza biológica de Chiapas es clave para la conservación y uso sustentable de los recursos bióticos, no solo de esta región sino del Planeta.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Guzmán, G. 1994. Las colecciones de hongos en México y su problemática en la biodiversidad del País. *Boletín de la Sociedad de Botánica. México* 55: 35-37.
2. Rzedowski, L. 1991. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México: *Acta Botánica Mexicana* 14: 3-21.
3. Hawksworth, D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance and conservation. *Mycological Research* 95: 641-655.
4. Guzmán, G. 1997. Análisis cualitativo y cuantitativo sobre la diversidad de los hongos en México. In *La diversidad biológica de Sudamérica. Vol II. Halftes G. (eds.). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-Fondo de Cultura Económica, México. D. F.*
5. García Jiménez, J. y F. Garza Ocaña. 2001. Conocimiento de los hongos de la familia *Boletaceae* de México. *Ciencias UANL Vol IV Julio-Septiembre* 3: 336-344.
6. Chanona Gómez, F. 2006. Hongos macromicetos del parque educativo laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas. Tesis de Maestría Ecosur, San Cristóbal de las Casas, 28p.
7. Andrade, Gallegos R. H. y J. E. Sánchez Vázquez. 2005. La diversidad de hongos en Chiapas: un reto pendiente In *Diversidad Biológica en Chiapas. M. González Espinosa, N. Ramírez-Marcial y L. Ruiz-Montoya (Eds.). ECOSUR-COCYTECH-PLAZA Y VALDES Editores. México. Cap. 1: 33-80.*
8. Díaz-Barriga R. 1992. Hongos comestibles y venenosos de la cuenca del lago de Pátzcuaro. Michoacán, CIDEM. México, 148 p.
9. Ulloa, M. y R. Hanlin. 1978. *Atlas de Micología Básica. Edit. Concepto. México.*
10. Deacon J. W. 1993. *Introducción a la micología moderna. Edit. Limusa. México, 350 p.*
11. Ayala, N., C. Ochoa. 1998. **Hongos conocidos de Baja California.** Universidad Autónoma de Baja California, México, 161p.
12. Coutiño B. 1980. Líquenes In: *Manual del Herbario. A. Lot. Consejo Nacional de la Flora de México A.C. México, p. 65-73.*
13. Grau, D. y R. Pascual. 1980. *Algas y Líquenes, Edit. Jover S.A. Barcelona.*

14. Cronquist, A. 1982. *Botánica Básica*, Edit. Cecsca, México, 239-241 p.
15. Sipman, H. and J.H. Wolf. 1998. Provisional Checklist for the Lichens of Chiapas. *Acta Botánica Mexicana*. 45: 1-29.
16. Chanona Gómez, F y O. Álvarez Espinosa. 2000. Listado preliminar de los líquenes tropicales de la reserva ecológica El Zapotal. Memoria VII Congreso Nacional de Micología del 1 al 4 de octubre. Querétaro, Querétaro, p.36.
17. Barreno, E. 1991. *Bioteología forestal: Micorrizas, bosques, erosión y agricultura*. Departamento de Biología Vegetal, Botánica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia. 46100 - Burjasot. 17 p.
18. Smith, S. E. and D. J. Read. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd edn. Academic, San Diego.
19. Chaurasia, B., A. Pandey and L. M. S. Palni. 2005. Distribution, colonization and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with central Himalayan rhododendrons. *For Ecol Manag* 207:315– 324.
20. Vestberg, M. 1995. Occurrence of some Glomales in Finland. *Mycorrhiza* 5:339–336.
21. Dalpe, Y. and S. G. Aiken. 1998. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Festuca* species in the Canadian High Arctic. *Can J Bot* 76:1930–1938.
22. Mosse, B. and J.M. Phillips. 1971. The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *J. Gen. Microbiol.* 1971: 157-166.
23. Auge´, R.M., X. Duan, R. C. Ebel and A. J. W. Stodola. 1994. Nonhydraulic signalling of soil drying in mycorrhizal maize. *Planta* 193, 74–82.
24. Pozo, M.J., Cordier, C., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., Barea, J.M. and C. Azcón-Aguilar, C., 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* 53, 525– 534.
25. Feng, G., F. S. Zhang, X. L. Li, C. Y. Tian, C. Tang and Z. Rengel. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12, 185–190.

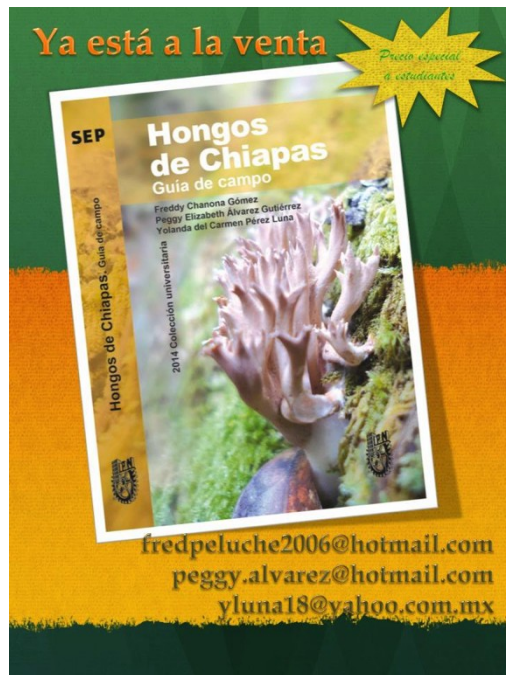


Figura 1 Hongos de Chiapas. Guía de campo



Figura 2 Diversidad de Ascomicetes de Chiapas. A. *Cookeina tricholoma*; B. *Otidea alutacea*; C. *Geoglossum fallax*; D. *Phillipsia dominguensis*.



Figura 3 Diversidad de basidiomicetos de Chiapas. A. *Crucibulum leave*; B. *Exidia* sp.; C. *Amanita* sp.; D. *Geastrum triplex*

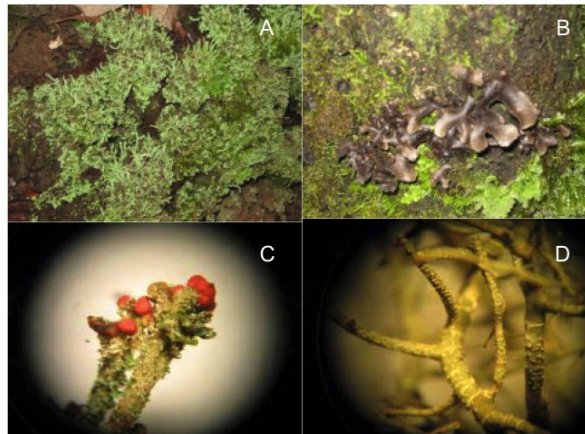


Figura 4 Diversidad de líquenes de Chiapas. A. *Cladonia* sp. ; B. *Leoptogium azureum*; C. *Cladonia subradiata*; D. *Ramalia peranceps*.

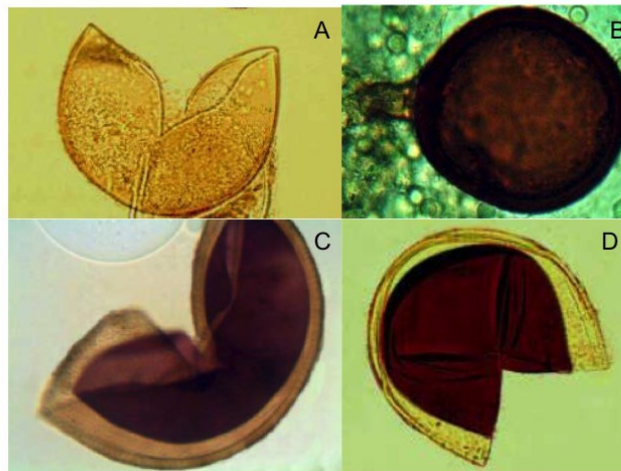


Figura 5 Diversidad de micorrizas de Chiapas. A. *Glomus luteum*. B. *Glomus geosporum*; C. *Acaulospora scrobiculata*; D. *Acaulospora mellea*.

## **Obtención y caracterización de (poli- $\beta$ -(1,4)-d-glucosamina-n-acetil-d-glucosamina) a partir de camarón, jaiba y langosta por método en frío**

Alejandra Castro Lino, David Hernández Arroyo, José Ángel Rivera Ortega, Guadalupe López Olivares, Lidia Meléndez Balbuena e Ismael Soto López

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. alcastro1228@yahoo.com.mx

### **RESUMEN**

Este trabajo se basó en el diseño de un proceso para la extracción en frío de quitina y producción de quitosano a partir de desechos de exoesqueletos de Camarón, jaiba y langosta para demostrar en cual de estas muestras se obtiene mayor cantidad de biopolímero. Además se determinó que la concentración óptima de ácido clorhídrico para extraer la quitina de los exoesqueletos de camarón, jaiba y langosta es de 5 molar con una cantidad de ácido clorhídrico de 20 ml por cada 5 gramos de exoesqueletos. Así el rendimiento de extracción de quitina conseguido a estas condiciones fue del 80%.

### **INTRODUCCIÓN**

La quitina (poli- $\beta$ -(1,4)-n-acetil-d-glucosamina), segundo polisacárido natural más abundante después de la celulosa, es uno de los componentes principales de las paredes celulares de los hongos, y del exoesqueleto de crustáceos e insectos, altamente insoluble en agua y solventes orgánicos, lo cual restringe sus aplicaciones. Sin embargo, por desacetilación se transforma en quitosano (poli- $\beta$ -(1,4)-d-glucosamina-n-acetil-d-glucosamina), un compuesto que exhibe características fisicoquímicas de notable interés (elevada proporción de grupos amino libres, mayor solubilidad comparada con la quitina, biocompatibilidad y biodegradabilidad), lo cual hace que presente múltiples aplicaciones en medicina, industria cosmética, agricultura, biotecnología, industria alimentaria, industria papelera, y en el tratamiento de aguas y efluentes residuales e industriales, debido a su facilidad de conversión a polielectrolito. El aprovechamiento de los recursos naturales, renovables representa una fuente económicamente viable para la producción de nuevos productos que cada vez dañen en menor cantidad el medio ambiente y de la misma manera representan una gran inversión en el desarrollo, verificación y aplicación de esta tecnología.

La utilización de productos o subproductos comunes representa una alternativa viable para la obtención de diversos compuestos, entre ellos el quitosano.

El quitosano es un biopolímero derivado de la quitina, misma que se obtiene como un subproducto de la industria pesquera y de alimentos, biodegradable y posee la capacidad filmogénica, es un polímero derivado de la quitina, subproducto de la industria pesquera, un hidrocoloide cuyas propiedades físicas y químicas dependen del grado de desacetilación y cuyas aplicaciones son variadas debidas a las propiedades antimicrobianas que posee.

### **OBJETIVOS**

Obtención y caracterización de poli-B-(1,4)-D-glucosamina-N-acetil-D-glucosamina mediante un método frío en camarón, jaiba y langosta

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

Caracterización por método de Espectroscopia infrarroja  
Caracterización por métodos físicos y químicos

## PARTE EXPERIMENTAL

### Obtención de la proteína predecesora de quitina.

Los exoesqueletos de camarón, jaiba y langosta se pulverizaron y se obtuvo un tamaño uniforme posteriormente se transfiere a un matraz erlenmeyer de 250 ml a donde se adiciona diferentes volúmenes y concentraciones de ácido clorhídrico hasta liberar la proteína en el medio ácido a una temperatura de 5 grados Celsius.

Posteriormente se agrega 50 ml de agua destilada fría para reducir la temperatura y el pH de la solución, se deja reposar por un tiempo de 15 minutos lo cual permite reducir la concentración ácida a un pH de 7 y una vez disminuido se procede a agregar 15 ml de una solución de Hidróxido de sodio al 35%, posteriormente se deja en reposo por 24 horas posteriormente se coloca el producto en tubos de ensaye y se lleva a la centrifuga, a 2500 rpm durante 5 minutos, una vez transcurrido el tiempo se retira el agua residual de la muestra con una pipeta Pasteur, el agua residual se desecha en un recipiente.

A la muestra restante se le realizan dos lavados al filtrar al vacío con agua destilada caliente para neutralizar su pH, posteriormente se agrega una solución de hidróxido de sodio al 10% para lograr la desacetilación de la quitina y la obtención del quitosano, finalmente se realiza un último lavado con agua destilada para retirar los residuos de hidróxido de sodio en el quitosano.

En seguida se retiró el pape filtro con la muestra sólida de quitosano para llevarlo a una estufa y evaporar el agua restante.

El tratamiento que se menciona anteriormente fue aplicado a las muestras de jaiba, camarón y langosta.



Proceso de obtención de la proteína predecesora de quitina

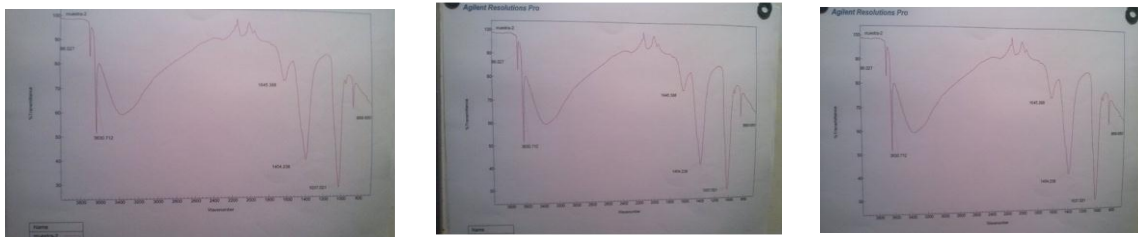


Quitina en solución de hidróxido de sodio



Quitosano de jaiba, camarón, y langosta

## CONCLUSIONES



Espectros obtenidos por IR del Camarón, jaiba y langosta

Se pudo observar que el método en frío es un buen método ya que permitió obtener el biopolímero del quitosano de una manera muy sencilla y económica así como el rendimiento que se obtuvo que fue de un 80 % y con un alto grado de pureza en la muestra de jaiba y camarón ya que los componentes de la pared celular se liberan, debido al medio fuertemente alcalino y a la alta temperatura de la reacción. Las proteínas sufren desnaturalización en el caso de los azúcares, estos se degradan ante el calor, siendo fácilmente retirados durante los lavados con agua caliente. En la pared celular, la quitina está unida fuertemente al complejo quitino-glucano en una relación 30:70 y la separación de la quitina ocurre cuando se da una hidrólisis básica en el C-3 de la fracción glucana, rompiendo el enlace o-glucosídico -1,3 que une al glucano con la quitina. Finalmente, la quitina sufre una hidrólisis básica en el grupo acetamido, liberando el quitosano.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AGUILERA M. Los cultivos de camarones en la costa Caribe colombiana. Centro de investigaciones económicas del Caribe colombiano. Banco de la República. Cartagena de Indias, 1998. Disponible online: <http://www.banrep.gov.co/documentos/publicaciones/pdf>.
2. DIAZ L. Nuevo Método para la Obtención de Quitina. CEQSA Especialidades Químicas S.A., Ciencia y Tecnología; La Uruca, Costa Rica, 2007.
3. C. I. CARTAGENERA DE ACUACULTURA S.A. (CARTACUA). Cartagena de Indias. Disponible online: <http://www.cartacua.com/docs/bpwebsite.asp>
4. MARTIN J. An updated classification of the recent crustacean. Natural history museum of los Angeles county No 39, 2001.