

AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN MÉXICO II

TOMO I

BIOLOGÍA Y QUÍMICA

Ciencia y Tecnología
Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ÓPTICA, A.C.

PREFACIO

En este compendio se presentan avances de investigación y desarrollo tecnológico logrados en diversas áreas de la ciencia, cuyo objetivo principal es contribuir a la difusión del quehacer científico y tecnológico que se realiza en México, así como promover el trabajo interdisciplinario entre miembros de diferentes disciplinas científicas.

El presente trabajo está organizado en siete tomos los cuales corresponden a las siguientes áreas científicas: I) Biología y química, II) Biotecnología y ciencias agropecuarias, III) Ciencias sociales, IV) Físico matemáticas y ciencias de la tierra, V) Humanidades, ciencias de la conducta y divulgación científica, VI) Ingenierías, así como VII) Medicina y ciencias de la salud.

Octubre de 2025
León, Gto., México

María Eugenia Sánchez Morales
Gloria Verónica Vázquez García
Amalia Martínez García
Cristina E. Solano Sosa
María del Socorro Hernández Montes
Laura Elena Rosales Zárate
Alexandra Monsetrrat García

DECLARACIÓN LEGAL

EDITORES:

María Eugenia Sánchez Morales
Gloria Verónica Vázquez García
Amalia Martínez García
Cristina E. Solano Sosa
María del Socorro Hernández Montes
Laura Elena Rosales Zarate
Alexandra Monsetrrat García

Avances Científicos y Tecnológicos en México II

ISBN GENERAL 978-607-8821-53-2

Fecha de otorgamiento 22/09/2025

Tomo I Biología y Química

ISBN 978-607-8821-54-9

Fecha de otorgamiento 22/09/2025

El contenido de los artículos es responsabilidad de los autores.

Temacilli Editorial
Lagos de Moreno, Jalisco
http:/temacilli-editorial.com

D.R. Centro de Investigaciones en Óptica, A.C.
Loma del Bosque 115, Col. Lomas del Campestre
C.P. 37150 León, Guanajuato
México
Hecho en México

Avances Científicos y Tecnológicos en México II

Tomo I

Biología y Química

TABLA DE CONTENIDO

MODULACIÓN GABAÉRGICA EN EL EFECTO ANTI-DESESPERANZA DEL MUICLE (*Justicia Spicigera*) EN RATAS HEMBRA 5

DEGRADACIÓN DE MICROPLÁSTICOS MEDIANTE PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN 19

SÍNTESIS BIOGÉNICA DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE CON EXTRACTO DE HOJA Y SEMILLA DE *Moringa Oleifera* 31

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE COBRE APLICADOS AL ÁREA AVÍCOLA 44

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE MAGNESIO MEDIANTE EXTRACTO ACUOSO DE *Eucalyptus Globulus* 57

EL PAPEL DEL ANÁLISIS CRISTALOGRÁFICO DE PEPTIDOMIMÉTICOS EN EL DISEÑO DE MATERIALES TECNOLÓGICOS Y FARMACÉUTICOS 64

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITANIO (TiO_2) EMPLEANDO EXTRACTO DE *Buddleja cordata* 75

DESARROLLO DE TECNOLOGÍA PARA LA REMOCIÓN DE SULFUROS DE AGUAS RESIDUALES DE LA CURTIDURÍA 80

APORTE A LOS ASPECTOS EN LA DINÁMICA POBLACIONAL EN LA BIZNAGA BARRIL (*Echinocactus Platyacanthus*) EN UNA ZONA PROTEGIDA EN EL ESTADO DE HIDALGO, MÉXICO 86

LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA LECHE MATERNA INFLUYEN EN EL DESTETE DE CRÍAS DE *Ateles Geoffroyi* BAJO CUIDADO HUMANO: REPORTE DE CASO 90

DETERMINACIÓN DE DOSIS LETAL 50 (DL50) POR COMPUESTOS MERCURIALES ($HgCl_2$ y CH_3Hg), EN *Drosophila Melanogaster* 97

USO DE DISPERSIÓN DE MATRIZ EN FASE SÓLIDA SEGUIDA DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN NADES COMO ALTERNATIVA PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO DE RESIDUOS DE CAFÉ 109

CROMOFOROS FOTORESPONSIVOS DONADORES DE PUENTE DE HIDRÓGENO Y HALOGENO 118

EVALUACIÓN DE SULFÓXIDOS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER EN EL ACEITE DE AMARANTO (*Amaranthus Hypochondriacus L.*) 124

ESTUDIO DEL EFECTO DE MOLIBDENO EN LA DUREZA Y MICROESTRUCTURA DE UNA FUNDICIÓN CADI 128

PRODUCCIÓN DE TABLEROS ESTRUCTURALES BIOCOMPUESTOS DE FIBRA DE BAGAZO DE AGAVE MEZCALERO 136

SÍNTESIS ORGANOCATALÍTICA Y EVALUACIÓN NEUROFARMACOLÓGICA DE UN DERIVADO DE 13*H*-INDOLO[2,3-a]TIOPIRANO[2,3-g]QUINOLIZINA 147

OBTENCIÓN DE HYDROCHAR UTILIZANDO POLIÉSTER COMO MATERIA PRIMA 157

EFECTO DE LA INGESTA DE *Hibiscus Sabdariffa* SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDEALDEHÍDO EN RATAS WISTAR Y SU PROGENIE 163

CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DEL RÍO BITZAL, TABASCO: ANÁLISIS COMPARATIVO DE 2018 Y 2024 169

DETECCIÓN DE BACTERIAS FOTÓTROFAS ROJAS NO SULFUROSAS EN TRES ESTANQUES DE LAS SALINAS CHIQUITAS (ZAPOTITLAN SALINAS, TEHUACAN) 177

INFLUENCIA DE LA FUNCIONALIZACIÓN CON EXTRACTOS VEGETALES EN LA CITOTOXICIDAD Y ESTABILIDAD DE NANODIAMANTES 183

OBTENCIÓN DE CARBÓN ACTIVADO A PARTIR DE RESIDUOS DE CAFÉ EN UN SOLO PASO SIN ATMOSFERA INERTE 190

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A METALES PESADOS DE BACTERIAS AISLADAS DE LA PRESA “LA PURISIMA” 195

HORMIGA CHICATANA (*Atta Mexicana*): FUENTE DE ACEITE Y DE ÁCIDOS GRASOS 200

SÍNTESIS DE UN MATERIAL ADSORBENTE A BASE DE ÓXIDO DE GRAFENO PARA LA REMOCIÓN DE PARACETAMOL EN SOLUCIÓN ACUOSA 204

ELECTROCOAGULACIÓN CON EXTRACTO DE *Moringa Olifeira* EN EL TRATAMIENTO DE AGUA PARA LA REMOCIÓN DE DUREZA 216

EVALUACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE CEPAS DE *Cryptococcus Neoformans* CONSERVADAS EN EL CEPARIO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE QFB-UMSNH 225

MATERIAL COMPUESTO HIDROXIAPATITA/POLIETILENGLICOL. SINTESIS 233

SÍNTESIS BIOGÉNICA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO A PARTIR DE EXTRACTOS DE HOJA DE *Moringa Oleifera* 238

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE BETALAÍNAS A PARTIR DE CÁSCARA DE PITAYA DE MAYO (*Stenocereus pruinosus*) MEDIANTE MACERACIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS 246

FUNCIONALIZACIÓN DE BIOCHAR CON DIVERSOS GRUPOS QUÍMICOS PARA SER UTILIZADO COMO RETARDANTE A LA FLAMA EN POLÍMEROS 253

ALGUNOS ASPECTOS REPRODUCTIVOS DEL PEZ “COCINERO”, *Caranx Caballus,* GÜNTHER (1868), EN LA PESCA ARTESANAL DE PUERTO ÁNGEL, OAXACA 264

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS CAMBIOS FENOTÍPICOS EN LARVA L2 DE *Toxocara Canis* CON LA ADMINISTRACIÓN DE ALBENDAZOL Y DE UN EXTRACTO DE *Rosmarinus Officinalis* 279

APLICACIÓN DE SOFTWARE LIBRE EN LA BIOLOGÍA PESQUERA: UN ENFOQUE PARA EL ANÁLISIS DE MARCAS DE CRECIMIENTO 285

RECUPERACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE CAROTENOIDES DE MANDARINA MEDIANTE NANOMATERIALES TIPO HIDRÓXIDOS DOBLES LAMINARES 300

OPTIMIZACIÓN DEL CONTEO Y DETERMINACIÓN DE VIABILIDAD CELULAR EN ENSAYOS *IN VITRO* DESPUÉS DE EXPOSICIÓN A RADIACIÓN IONIZANTE 307

AUTOMATIZACIÓN DE UN HUMEDAL CONSTRUIDO A ESCALA DE LABORATORIO 316

EVALUACIÓN TRICOMONICIDA DE PLANTAS DE LA HERBOLARIA DEL NORESTE DE MÉXICO… 330

COMPLEJOS METÁLICOS DE BASES DE SCHIFF CON Fe(III): SÍNTESIS VERDE, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS CONTRA BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVA 336

GESTIÓN DE RESIDUOS CASO: ESCUELA DEL NIVEL MEDIO SUPERIOR DE GUANAJUATO 343

EVALUACIÓN DE RIESGOS ECOLÓGICOS POR MEDIO DE INDICADORES GEOQUÍMICOS EN EL ANP LAGUNA DE MECOACÁN, PARAÍSO, TABASCO 351

EFECTO DEL CONSUMO DE GLIFOSATO SOBRE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS EN GALLINAS DE POSTURA 359

ACUMULACIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS (EPTs) POR PLANTAS SILVESTRES EN DURANGO, MÉXICO 364

ESTUDIO BIOLÓGICO-PESQUERO DE ASTEROIDEOS EN PUERTO ÁNGEL, OAXACA: ESTRUCTURA DE TALLAS, ALOMETRÍA Y REPRODUCCIÓN 376

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E HISTOQUÍMICAS DE LAS HOJAS DE *Bauhinia Variegata L.* (PATA DE VACA) 387

DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN SUELO UTILIZANDO UN BIOSENSOR DE CÉLULA COMPLETA DESARROLLADO EN *Bacillus Subtilis* 395

RECUPERACIÓN DE NAPROXENO CON UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO SUSTENTABLE 403

DESARROLLO DE BIOPELÍCULAS A BASE DE MUCÍLAGO DE LINAZA, HIDRÓXIDOS DOBLES LAMINARES Y NANOPARTÍCULAS DE SELENIO 410

PRESENCIA DE HUEVOS DE HELMINTO EN SUELO DE TIRADERO A CIELO ABIERTO DE LA REGIÓN DE TEPEXI DE RODRÍGUEZ 417

DETERMINACIÓN DE ASPECTOS RELACIONADOS CON LA DINÁMICA POBLACIONAL DEL *Ocypode Quadrata* (FABRICIUS 1787), EN LA LAGUNA DE LA MANCHA EN EL ESTADO DE VERACRUZ 422

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO GLUTÁMICO MEDIANTE UNA REACCIÓN COLORIMÉTRICA CON NINHIDRINA POR ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS 428

DETERMINACIÓN DE FENÓLES Y FLAVONOIDES TOTALES, Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ETANOLICO DEL FRUTO DE AGRILLO (*Rhus Schmidelioides Schltdl*) 440

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO A PARTIR DE CÁSCARAS DE CAMARÓN 445

ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE LA SEMILLA DE *Casuarina Equisetifolia L.* 449

MODIFICACIÓN DE TIERRA DE DIATOMÁCEA A PARTIR DE LA ADICIÓN DE LOS IONES DE HIERRO PARA SU APLICACIÓN EN LA DEGRADACIÓN DEL COLORANTE “REACTIVE ORANGE 84” A PARTIR DE REACCIONES TIPO FENTON 453

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA CÁSCARA DE LIMA DULCE (*Citrus Limetta R.*) 461

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES A METALES PESADOS Y ANTIBIOTICOS 469

OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO SECO DE HOJA DE PIRUL (*Schinus Molle L.*) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN 476

EL MICROBIOMA COMO FACTOR DESENCADENTANTE DE LA INMUNORREGULACIÓN 484

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN UN MODELO MURINO DE PIE DIABÉTICO DE LA CEPA CD-1 489

EFECTOS DEL CONSUMO CRÓNICO DE FLÚOR SOBRE LAS NEURONAS PIRAMIDALES DE LA CAPA V DE LA CORTEZA MOTORA 497

EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA DE FRUTOS Y HOJAS DE *Pereskia Aculeata Mill.*: UNA CACTÁCEA FUNCIONAL 505

DESARROLLO DE UNA GOMITA DULCE USANDO ESTEVIA COMO EDULCORANTE FORTIFICADA CON HARINA DE NOPAL (*Opuntia Ficus-Indica*) Y SU EFECTO SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE 511

DIVERSIDAD DE ANFIBIOS Y REPTILES EN CUATRO HÁBITATS EN UNA ZONA FORESTAL VEDADA DEL ESTADO DE PUEBLA MÉXICO 522

EL LACTOSUERO Y SU IMPACTO AMBIENTAL EN LAGOS DE MORENO, JALISCO 532

TEXTURA Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD Y POROSIDAD EN UN SUELO DEGRADADO 538

EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA, CONSISTENCIA Y TEXTURA AL TACTO EN UN SUELO DEGRADADO 543

ANÁLISIS DE LA SINERGIA ENTRE CIPROFLOXACINO Y UN EXTRACTO DE C*innamomum Verum* EN LA INHIBICIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS 550

SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE COBRE BASADOS EN B-DICETONAS Y SU INTERACCIÓN CON EL ADN 560

MICOSÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DEL HONGO *Phytophthora Infestans* CON POSIBLES APLICACIONES EN EL SECTOR AGROINDUSTRIAL 569

Co-CARBONIZACIÓN HIDROTERMAL, PROCESO UTILIZADO PARA TRANSFORMAR RESIDUOS SÓLIDOS DE PET Y BIOMASA A MATERIALES DE CARBONO 577

REMOCIÓN DE COLORANTE TEXTIL AB1 A TRAVÉS DE ADSORCIÓN Y TRATAMIENTOS OXIDATIVOS (FENTON Y PERÓXIDO) 584

REQUERIMIENTOS EDÁFICOS DE ESPECIES DE PINO EN UNA ZONA DEGRADADA 596

ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE FORMACIÓN DE RADICALES HIDROXILO CON DOS FOTOCATALIZADORES (TiO_2 Y ZnO) USADOS EN LA FORMULACIÓN DE PROTECTORES SOLARES DERMATOLÓGICOS 600

DIAGNÓSTICO SOBRE EL CONOCIMIENTO DEL MANEJO ADECUADO DE RESIDUOS PELIGROSOS EN ESTUDIANTES DE LQFB DEL CENTRO UNIVERSITARIO DE LA CIÉNEGA 611

MODULACIÓN GABAÉRGICA EN EL EFECTO ANTI-DESESPERANZA DEL MUICLE (*Justicia Spicigera*) EN RATAS HEMBRA

Carlos Andrés Contreras Salazar[1], Rosa Isela García-Ríos[2], Armando Mora-Pérez[2], Cesar Soria-Fregozo[2].

1-Estudiante de Doctorado en Ciencia y Tecnología del Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara. Av. Enrique Díaz de León N° 1144, Col. Paseos de la Montaña, C.P. 47460. Lagos de Moreno, Jalisco; México. 2- Laboratorio de Neuroinmunofarmacología/Área Neurofarmacología experimental. Centro Universitario de los Lagos de la Universidad de Guadalajara. Av. Enrique Díaz de León N° 1144, Col. Paseos de la Montaña, C.P. 47460, Lagos de Moreno, Jalisco, México.
rosaisela.garcia@academicos.udg.mx

RESUMEN

La infusión de las hojas de muicle (*Justicia spicigera*) es ampliamente empleado en la medicina tradicional para diferentes afecciones desde regular ciclo menstrual, problemas gastrointestinales, anemia, inflamación, dolor de cabeza, epilepsia y para tratar los “nervios” y la “tristeza”, término que hace referencia a la depresión (55). Se ha demostrado el efecto ansiolítico de la infusión de las hojas del muicle a nivel preclínico (46). Sin embargo, no se ha demostrado el efecto sobre la depresión con la administración de la infusión, como tradicionalmente se recomienda su uso. Por otra parte, se ha demostrado que diversos metabolitos entre ellos los flavonoides, como los contenidos en el muicle (35), ejercen su efecto antidepresivo por interacción con el receptor $GABA_A$ (37). Por lo que, en el presente trabajo se explora la participación del receptor $GABA_A$ en el efecto antidesesperanza de la infusión de las hojas de muicle en la dosis empleada en la medicina tradicional en ratas hembra ciclantes. Se incluyeron sólo las hembras con tres ciclos estrales regulares continuos (4-5 días). Se emplearon 4 grupos: vehículo (VEH), infusión de las hojas de Justicia spicigera 24 mg/kg (IHJs), vehículo + picrotoxina 0.5 mg/kg (PTX) e IHJs + PTX. El efecto de los tratamientos fue evaluado en la prueba de actividad locomotriz y la prueba de nado forzado al día 21 de tratamiento v.o. de la IHJs. No se identificaron cambios asociados a las fases de ciclo estral de las ratas, los análisis incluyen todas las hembras evaluadas. En la prueba de actividad locomotriz, el grupo IHJs 24 mg/kg tuvo un mayor número de cuadros totales cruzados, efecto asociado a un mayor número de cruces por el centro. No hubo cambios en el tiempo de acicalamiento y conducta vertical. En la prueba de nado forzado, no se encontraron diferencias en la latencia a la primera inmovilidad. Los grupos IHJs y PTX + IHJs tuvieron un menor tiempo de inmovilidad en comparación con el VEH y PXT. Sin embargo, no hubo diferencias entre la IHJs y PTX + IHJs, sólo se observó una reducción parcial del tiempo de inmovilidad. Con dichos resultados podemos descartar efectos motrices de la IHJs que pueda interferir con la respuesta observada en la prueba de nado forzado. La IHJs produjo un efecto anti-desesperanza al reducir el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Dicho efecto es parcialmente modulado por los receptores $GABA_A$, ya que el antagonismo de los mismos, no previno totalmente el efecto de la IHJs. Sugiriendo que los metabolitos contenidos en la IHJs responsables del efecto involucran más de un mecanismo de acción, lo que se mantiene para ser explorado.

INTRODUCCIÓN

En 2015, la Organización Mundial de la Salud (OMS) identificó a la depresión como una de las principales causas de discapacidad a nivel mundial, afectando predominantemente a la población joven en edad productiva (13). Este trastorno presenta una mayor prevalencia en mujeres, con una relación de 2:1 respecto a los hombres, lo que se ha asociado a las fluctuaciones en los niveles plasmáticos de hormonas ováricas a lo largo de la vida reproductiva (46). Actualmente, existen diversos fármacos eficaces para el tratamiento de la depresión; sin embargo, factores como el alto costo, la necesidad de tratamientos prolongados, que pueden extenderse por años, y la presencia de efectos secundarios, han favorecido el uso de la medicina tradicional en la población mexicana.

Entre las alternativas más utilizadas, los extractos vegetales representan una fuente importante de compuestos con potencial farmacológico (5).

En este contexto, la infusión de *Justicia spicigera* (IHJs, muicle) ha demostrado efectos ansiolíticos y antidepresivos en modelos conductuales como el laberinto de brazos elevados y la prueba de nado forzado (46,47). Estudios previos de nuestro grupo de investigación han evidenciado que la administración aguda de IHJs altera la duración de las fases del ciclo estral en ratas de manera dosis-dependiente (20). Además, se ha reportado que una única administración de IHJs produce un efecto ansiolítico más pronunciado en las fases de Proestro-Estro (P-E), caracterizadas por altas concentraciones hormonales, en comparación con las fases de Metaestro-Diestro (M-D), donde los niveles hormonales son bajos. Asimismo, se ha descrito que el efecto antidepresivo de la IHJs, tanto en administración aguda como crónica, se manifiesta predominantemente durante las fases M-D (47). No obstante, los mecanismos de acción responsables de estos efectos aún no han sido dilucidados.

Diversas hipótesis han sido propuestas para explicar la etiología de la depresión, siendo la hipótesis monoaminérgica la más estudiada. Esta postula que la depresión se origina debido a un déficit de neurotransmisores como la serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) y, en menor medida, dopamina (DA), lo que se asocia con el desarrollo de la depresión mayor. En este sentido, los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), como la fluoxetina, ejercen su efecto antidepresivo inhibiendo a los transportadores de 5-HT, lo que consecuentemente causa la activación de los autorreceptores 5-HT1A, incrementando la disponibilidad de 5-HT en el espacio sináptico y mejorando la neurotransmisión a lo largo del tratamiento. Además, la interacción con otros sistemas neurotransmisores refuerza su acción terapéutica (17).

El sistema GABAérgico, principal regulador de la inhibición neuronal en el sistema nervioso central, ha sido implicado en la fisiopatología de los trastornos depresivos. Diversos estudios han documentado una disminución en los niveles de ácido gamma-aminobutírico (GABA) en pacientes con depresión, lo cual sugiere una disfunción funcional de este sistema. En este contexto, la alopregnanolona, un metabolito reducido de la progesterona, ha demostrado efectos antidepresivos mediante la activación de los receptores $GABA_A$, actuando sobre el mismo sitio de unión que GABA y promoviendo la desinhibición neuronal en regiones cerebrales involucradas en la regulación emoción (47). De manera similar, metabolitos derivados de *Artemisia indica* como carnosol, ácido ursólico y ácido oleanólico han mostrado afinidad por los receptores $GABA_A$ del subtipo $\alpha1\beta2\gamma2L$, ejerciendo efectos moduladores con potencial terapéutico (27). Asimismo, la brexanolona, un fármaco sintético derivado de la alopregnanolona, ha sido aprobada como tratamiento para la depresión posparto, destacando su eficacia clínica mediante la modulación positiva de los receptores $GABA_A$ (10).

Considerando que la IHJs presenta efectos antidepresivos en el presente estudio se evaluó la participación de los receptores $GABA_A$ en el efecto antidepresivo con el objetivo de contribuir a la elucidación de su posible mecanismo de acción.

TEORÍA

Tratamientos fitofarmacológicos

Dado el uso frecuente de antidepresivos y los posibles efectos adversos que estos pueden generar, se han comenzado a considerar terapias alternativas para el tratamiento de la depresión, entre las que destaca el uso de medicamentos herbales. En este contexto, la fitofarmacoterapia se presenta como una opción terapéutica prometedora y potencialmente más segura, especialmente recomendada para pacientes con trastornos depresivos leves o con distimia estacional, también conocida como "depresión invernal" (35).

A lo largo de la historia, diferentes culturas han recurrido a remedios naturales pertenecientes a la medicina tradicional para aliviar síntomas depresivos. Las plantas medicinales han sido utilizadas en diversas regiones para tratar múltiples afecciones, y muchas de ellas han demostrado ser efectivas y seguras. Por ejemplo, *Melissa officinalis* es una planta que generalmente se tolera bien, aunque en algunos casos se han reportado efectos secundarios leves como cefalea, náuseas, vómito o molestias abdominales. Asimismo, *Lavandula angustifolia* no ha mostrado efectos adversos relevantes cuando se administra en dosis adecuadas (54). En general, el Ginkgo biloba administrado en preparados antidepresivos como tratamiento complementario, puede mejorar eficazmente los síntomas depresivos y reducir la expresión de un marcador de lesión cerebral, lo que sugiere que restaura la función neurológica durante el tratamiento de la depresión (16).

Otra planta con potencial antidepresivo, utilizada tradicionalmente en forma de infusión para tratar lo que antiguamente se conocía como "tristeza", es *Justicia spicigera Schtdl.* (Acanthaceae), reconocida en la medicina tradicional mexicana por sus propiedades terapéuticas (BDMTM, 2009).

Muicle (*Justicia spicigera*)

El muicle (*Justicia spicigera*), una planta medicinal originaria de México, crece en diversas regiones del país, incluyendo Chiapas, Nayarit, San Luis Potosí, el Valle de México, Veracruz, Puebla, Morelos, Tlaxcala e Hidalgo (26). Su uso tradicional por comunidades indígenas está vinculado al tratamiento de trastornos menstruales y afecciones relacionadas con el sistema nervioso, como la ansiedad y el estrés (47).

Investigaciones previas han demostrado que la IHJs posee propiedades ansiolíticas y antidepresivas en modelos animales. Su efectividad ha sido evaluada en pruebas como el laberinto de brazos elevados (para ansiedad) (47) y el modelo de nado forzado (para depresión) (48), y sus efectos parecen estar modulados por los niveles hormonales en el plasma. Se ha observado que el efecto ansiolítico de la IHJs es más pronunciado durante la fase de proestro-estro, cuando las concentraciones hormonales son elevadas, mientras que su actividad antidepresiva se presenta durante la fase de metaestro-diestro, caracterizada por niveles hormonales reducidos.

Además, se ha determinado que la dosis efectiva tanto para la actividad ansiolítica como para la antidepresiva es de 24 mg/kg, la misma cantidad utilizada en la medicina tradicional (47,48). Análisis fitoquímicos han identificado la presencia de terpenos, flavonoides y esteroles en la planta, aunque aún no se ha establecido si alguno de estos compuestos interactúa con los receptores $GABA_A$, los cuales están involucrados en la neurobiología de la depresión. Esta cuestión representa una línea de investigación abierta que podría contribuir a la elucidación de sus mecanismos de acción (26,45,46,47).

Sistema GABAérgico

El ácido γ-aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibidor del sistema nervioso central, actuando sobre receptores ionotrópicos ($GABA_A$ y $GABA_C$) y metabotrópicos ($GABA_B$). Dentro de estos, los receptores $GABA_A$ constituyen la mayoría en el cerebro y están compuestos por cinco subunidades que pueden incluir variantes de tipo α (1–6), β (1–3), γ (1–3), δ, ε, θ, π y ρ (1–3) (30). Estas combinaciones estructurales determinan las propiedades funcionales del receptor, permitiendo su participación tanto en la inhibición fásica (sináptica) como en la inhibición tónica (extrasináptica). La inhibición fásica se asocia principalmente con receptores compuestos por subunidades α1–3, β1–3 y γ2 (12,50), mientras que la inhibición tónica se media por receptores que contienen subunidades α4–6, β1–3 y δ (18,51).

Estos receptores son regulados alostéricamente por neuroesteroides endógenos, como la alopregnanolona, que se une a sitios específicos en la subunidad α (residuo glutamina 241) y también interacciona con las subunidades γ y δ, modulando así su actividad (4,21).

La depresión mayor se ha relacionado con una alteración del equilibrio excitatorio-inhibitorio en la actividad neuronal, afectando la capacidad del cerebro para mantener la homeostasis y responder adecuadamente a estímulos internos y externos (6, 40). Diversos estudios, tanto clínicos como preclínicos, han evidenciado una disfunción en la neurotransmisión GABAérgica en pacientes con trastorno depresivo mayor. Por ejemplo, se ha observado que el estrés prenatal induce modificaciones epigenéticas que afectan la neurogénesis hipocampal y promueven conductas depresivas en modelos murinos (25). De manera complementaria, análisis post-mortem han mostrado alteraciones en la expresión de ARNm de diversas subunidades del receptor $GABA_A$ en cerebros de individuos con diagnóstico de depresión y en casos de suicidio (7, 11, 52).

Estudios en animales han evidenciado que mutaciones en genes que codifican para la subunidad γ del receptor $GABA_A$ se asocian con fenotipos conductuales relacionados con ansiedad y depresión (33, 42, 50). Además, investigaciones in vitro en cortes de hipocampo han demostrado que la alopregnanolona incrementa el flujo de iones cloruro, provocando la hiperpolarización de la membrana neuronal y generando un efecto inhibidor. Este neuroesteroide también ejerce una acción metabotrópica al inducir la fosforilación de la serina 408 en la subunidad β3, lo que favorece la expresión de receptores $GABA_A$ extrasinápticos en la membrana plasmática (37).

Actualmente, análogos sintéticos de la alopregnanolona, como la brexanolona, zuranolona y furanolona, han demostrado eficacia clínica en el tratamiento de la depresión mayor y la depresión posparto. No obstante, aún presentan limitaciones, como el acceso restringido al tratamiento y la necesidad de hospitalización para su administración en el caso de la brexanolona (3, 43).

En cuanto a estrategias terapéuticas alternativas, diversos extractos vegetales han demostrado efectos antidepresivos en modelos animales. Por ejemplo, el extracto de *Cirsium japonicum*, rico en el flavonoide luteolina, reduce el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado en ratones, un efecto comparable al de la imipramina, y que ha sido atribuido a la modulación del receptor $GABA_A$. Este efecto es abolido por bicuculina, un antagonista específico del receptor $GABA_A$ (28). De manera similar, la crisina, un flavonoide presente en *Passiflora coerulea, Passiflora incarnata y Matricaria chamomilla*, así como la progesterona y la alopregnanolona, ejercen efectos antidepresivos mediados por el receptor $GABA_A$ (29).

Por otra parte, el estrés crónico puede inducir disfunción GABAérgica en el núcleo accumbens, afectando la síntesis, liberación y recaptura de GABA (31). Además, estudios de neuroimagen en pacientes deprimidos han reportado una disminución en la concentración y actividad de GABA y glutamato, lo que sugiere un papel crítico de estos neurotransmisores en la fisiopatología del trastorno depresivo (38). La evidencia también indica que los antagonistas GABAérgicos poseen propiedades ansiolíticas, sedantes y anticonvulsivantes (53), y que la actividad inhibitoria cortical está comprometida en individuos con depresión (14, 48, 56).

PARTE EXPERIMENTAL

Sujetos experimentales.

Para el experimento se utilizaron 56 ratas hembra de la cepa Wistar, con un peso de 230-250 g al comienzo de la fase experimental. Los animales experimentales fueron alojados en jaulas de plexiglás (44 x 33 x 12 cm), se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio con un ciclo luz / oscuridad de 12 x 12 h (encendido/apagado de las luces 7:00 am/7 p.m) a una temperatura media de 25 °C (± 2 °C) con acceso *ad libitum* al agua purificada y al alimento (Rodent Laboratory Chow, Purina, México). Los procedimientos experimentales, así como el trato de los animales en el bioterio se realizaron basados en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio publicado por los Institutos Nacionales de la Salud de Estados Unidos de América (National Research Council, 1996) y la Norma Oficial Mexicana para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

Fármacos

Picrotoxina (PTX) adquirido de Sigma (Sigma Chemical Co., USA).

Recolección y autentificación del espécimen vegetal

La colecta de la planta *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae), se realizó en la localidad denominada “la libertad” con coordenadas: Lat. 21° 44' 43.68" N, Long. 102° 03' 48.51" W a una altitud de 1996 msnm, municipio de Lagos de Moreno, en el estado de Jalisco, México. Se realizó en el mes de diciembre de 2015. La autentificación taxonómica y botánica del espécimen vegetal se realizó por un especialista en el Herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Veracruzana (CIB-UV) campus Xalapa, Veracruz, con domicilio Doctor Castelazo Ayala S/N, Industrial Animas, 91190 Xalapa Enríquez, VER, donde las muestras vegetales fueron depositadas asignándose el número de voucher: CIB 16531 para futuras referencias.

Obtención de la infusión de *Justicia spicigera*

Las hojas frescas se pesaron y se secaron por un periodo de 4 días al sol (Carpio Reyes RJ, 2018). Se utilizaron 1475 g en hojas frescas. Se determinó el peso neto del material vegetal en seco que fue de 463 g.

Para la obtención de la IHJs, se empleó un volumen de 50 ml de agua purificada hasta punto de ebullición a la cual se le agrego 0.333 g de las hojas secas del muicle e inmediatamente a esto se retiró del calor y se dejó reposar por un periodo de 30 min y se enfrió a chorro de agua para llegar a temperatura ambiente, antes de ser administrado. La medición de la cantidad de muicle seco que se debe de agregar para la infusión se tomó con base en estudios previos reportados por nuestro equipo de trabajo utilizando la dosis de 24 mg/kg (48). La IHJs se dejará reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente (25°C) para su posterior administración a los animales de prueba por vía oral.

Identificación de la fase de ciclo estral de las ratas ciclantes

Se realizaron frotis vaginales a las ratas durante 15 días previos a las pruebas conductuales, debido a que únicamente se incluyó en el estudio a las hembras que contaron con tres ciclos regulares continuos (4-5 días). Para la realización de los frotis vaginales se tomó en la primera una pipeta Pasteur cuya punta debe ser previamente redondeada con calor, esto con el fin de evitar lesiones en la entrada vaginal de los sujetos de prueba, se tomó con la pipeta Pasteur un poco de solución salina fisiológica al 0.9 % con la cual se realizó un lavado del canal vaginal y la muestra obtenida fue depositada en un portaobjetos para posteriormente ser observada en el microscopio óptico con un aumento de 40X y clasificar a las ratas según la fase de ciclo que presentan (proestro, estro, metaestro o diestro). La clasificación de las fases se hizo en función de la presencia o ausencia de células características en cada fase, por ejemplo: metaestro si presenta células cornificadas con o sin núcleo, y una leve cantidad de leucocitos; diestro, se caracterizada por una gran cantidad de leucocitos y una pequeña cantidad de células epiteliales con o sin núcleo; proestro, se caracteriza por la presencia de células epiteliales con núcleo grande; mientras que estro, se caracteriza por una gran cantidad de células cornificadas sin núcleo. Los resultados obtenidos fueron agrupados en dos categorías: proestro-estro (P-E) y metaestro-diestro (M-D), esto con la finalidad de reducir el número de sujetos experimentales y evaluar la implicación de las hormonas ováricas en el efecto antidepresivo mediado por los receptores a evaluar, ya que estudios previos reportan diferencias en la eficacia de la infusión dependiendo de la fase de ciclo (46).

Pruebas conductuales.

Prueba de actividad locomotriz.

En esta prueba se colocó individualmente a cada rata dentro de una caja de acrílico (44 x 33 x 20 cm) y la cual tuvo la base dividida con cuadros de 11 x 11 cm, la prueba duro 5 minutos. La prueba, fue videograbada, para una posterior revisión en la cual fueron analizadas las siguientes variables:
I.- El número de cuadros cruzados totales, centro y periferia; tomándose como cuadro cruzado aquel en el cual el animal haya posado sus cuatro extremidades o cuando el desplazamiento del animal sobre las líneas divisorias formen un cuadro imaginario, empleamos esta variable como una medida de actividad espontánea.
II.- El acicalamiento del animal, conducta de autoaseo que puede sugerir motivación en la cual se evalua el tiempo total empleado en la conducta.
III.- La conducta vertical del animal, tomándose como conducta vertical cuando el animal adquiera una postura perpendicular con respecto al piso de la caja, tiempo total. Variable analizada para evaluar motivación a la exploración.

Se realizaron 2 sesiones de la prueba de actividad locomotriz. En la primera sesión conocida como habituación (preprueba) se colocó a la rata en una esquina de la caja viendo hacia el centro de la caja y se le permitió deambular libremente, esta sesión se emplea con el objetivo de reconocimiento de un espacio novedoso para los animales, por lo que no se incluye en los análisis estadísticos. En la segunda sesión realizada 24 horas posteriores a la preprueba, se sometió nuevamente a las ratas a las mismas condiciones antes descritas.

Esta prueba fue aplicada previa a la prueba de nado forzado, esto con el fin de descartar que los datos que fueron obtenidos en la prueba de nado forzado pudieran estar influenciados por cambios en la actividad locomotriz, debido principalmente a la manipulación de los tratamientos aplicados y que esto conlleve a que sean afectados los resultados brindando un falso positivo (47).

Durante la realización de las 2 sesiones de actividad locomotriz, la caja de prueba se limpió con una solución de etanol al 15%, esta acción se realizó entre cada animal para eliminar los olores del animal evaluado previamente, debido a que éstos pudieran interferir con la conducta de los animales subsecuentes, brindándonos resultados no concluyentes. Para permitir que los olores y soluciones de limpieza se disipen, se dejó transcurrir un promedio de uno a dos minutos entre cada sujeto experimental.

Prueba de nado forzado.

Esta prueba consistió en colocar a cada rata individualmente en un estanque fabricado de vidrio con medidas de 50 x 35 x 60 cm, al cual se le colocó agua a una temperatura de 25 °C (±1°C). El nivel del agua colocado dentro del tanque dependerá de la longitud de los animales sometidos a prueba, la cual se estableció previamente y con ello se colocó una marca en el tanque, con una medida de agua tal que funcione para todos los animales. El nivel del agua se determina de forma que al animal al nadar en forma vertical no le sea posible tocar el fondo del estanque con la punta de las patas posteriores, sino que solo le permite tocar el fondo del tanque con su cola y manteniendo la cabeza, principalmente la narina por arriba del nivel del agua. En la primera sesión, la cual fue denominada pre-prueba, los animales fueron sujetos a las condiciones mencionadas previamente durante un periodo de 15 minutos, se realizó con el fin de provocar la desesperanza en el animal, debido a que esto se sostiene por lo menos durante un periodo de 28 días posteriores a la preprueba (tiempo que durarán las pruebas conductuales). Veinticuatro horas después de realizada la preprueba, se prosiguió a realizar la administración de los tratamientos hasta el día 21 de tratamiento, en el cual se realizó la sesión de prueba con una duración de 5 min. La sesión fue videograbada, esto con el fin de posteriormente analizar variables conductuales, esta acción la realizaron dos analistas de manera independiente para evitar sesgos en los resultados obtenidos.

Durante la revisión de los videos se evaluaron dos variables conductuales:
1.- La latencia a la primera inmovilidad, la cual se denomina el tiempo transcurrido desde que la rata es colocada en el estanque hasta que la rata presente la primera inmovilidad, definiéndose como los movimientos mínimos necesarios para mantenerse a flote. Representa el primer intento que

realiza el animal por encontrar una salida del estanque. En este sentido, algunos antidepresivos aumentan dicha latencia.
2.- El tiempo total de inmovilidad, el cual se denomina como la suma de los periodos de inmovilidad que aparezcan durante la sesión de prueba y representa el grado de desesperanza del animal. Tratamientos antidepresivos como la fluoxetina reducen la inmovilidad.

Tratamiento farmacológico

Se utilizó un total de 40 ratas hembra Wistar las cuales se incluyeron en el estudio transversal, divididas en cuatro grupos independientes (n=10 por grupo), con el siguiente régimen de administración: VEH (Agua purificada en un volumen de 1.8 ml/kg, v.o.); IHJs (Infusión de las hojas de *Justicia spicigera* 24 mg/kg, v.o.); PTX, (Agua purificada + picrotoxina 0.5 mg/kg, i.p. diluída en solución salina fisiológica, tween 80 y propilenglicol (5:4:1)); PTX + IHJs (Picrotoxina 0.5 mg/kg, i.p. diluída en solución salina fisiológica, tween 80 y propilenglicol (5:4:1) + infusión de las hojas de *Justicia spicigera* 24 mg/kg, v.o.).

La administración de la IHJs se realizó por 21 días vía oral entre 9:30 y 10:00 AM. Mientras que, el antagonista del receptor $GABA_A$ (PTX) fue 30 min previos a la administración de la IHJs o el vehículo el día 21 de tratamiento. Los frotis vaginales se iniciaron al día 4 de tratamiento y finalizaron el día 21 de tratamiento, este se realizó previo a la administración de los tratamientos orales.

RESULTADOS

Prueba de actividad locomotriz.
Número de cuadros cruzados totales
El ANOVA identificó diferencias significativas en el número de cuadros cruzados por los animales en el factor tratamiento [F(3,30)=3.813, p=0.02]*. La prueba post hoc identificó que el tratamiento con IHJs incrementó el número de cuadros totales en comparación con el resto de los tratamientos (ver Gráfico 1).

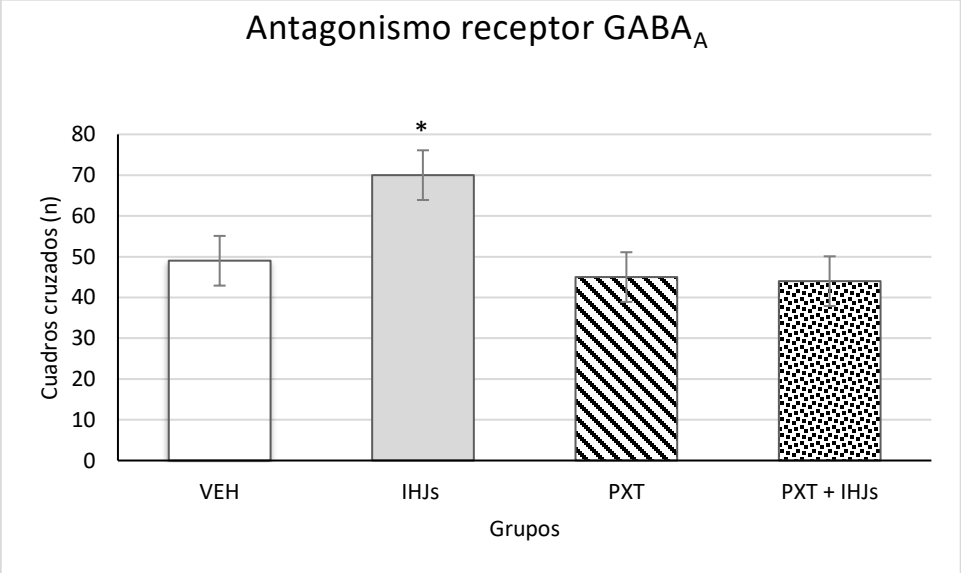


Gráfico 1. **Número de cuadros totales cruzados totales.**
[F(3,30)=3.813, p=0.02]* vs resto de los grupos. VEH=vehículo; IHJs=infusión de las hojas de *Justicia spicigera*; PTX=picrotoxina. Se detectó que la IHJs aumenta significativamente el número total de cuadros cruzados por los animales.

Número de cuadros cruzados en periferia
El análisis estadístico no identificó diferencias significativas en el número de cuadros cruzados por los animales en la periferia [F(3,30)=2.862, p=0.053, NS] (ver tabla 1).

Número de cuadros cruzados en centro
El análisis del número de cuadros cruzados en el centro de la prueba de actividad locomotriz, identificó diferencias significativas [F(3,30)=7.31, p<0.001]. La prueba *post hoc* mostró que el tratamiento con IHJs incrementó el número de cuadros en el centro en comparación con el resto de los tratamientos. Adicionalmente, se identificó que en el antagonismo de los receptores $GABA_A$ revierte parcialmente el incremento de cuadros cruzados en centro que causó la IHJs (ver tabla 1).

Análisis de la conducta vertical
El análisis estadístico de la conducta vertical no identificó diferencias significativas en tiempo total empleado en la conducta [F(3,30=1.626, p=0.204, NS] (tabla 1).

Análisis del acicalamiento
El ANOVA no identificó diferencias en el análisis de acicalamiento en el tiempo empleado en la conducta [F(3,30=2.167, p=0.113, NS] (ver tabla 1).

Tabla 1. Prueba de actividad locomotriz.

Antagonismo receptor $GABA_A$												
Cuadros cruzados (n)							**Acicalamiento**			**Conducta vertical**		
Tratamiento	Cuadros Periferia			Cuadros Centro			Tiempo (s)			Tiempo (s)		
VEH	35	±	5.1	1.3	±	0.8	31	±	6.1	49	±	12.7
IHJs	50	±	5.7	*6.38	±	1.2	45	±	6.6	56	±	4.7
PTX	33	±	5.4	1.3	±	0.5	65	±	15.0	28	±	9.5
PTX + IHJs	35	±	2.7	**3.80	±	0.8	65	±	13.1	43	±	7.8
Totales	[F(3,30=2.862, p=0.053, NS]			[F(3,30)=7.31, p<0.001]			[F(3,30)=2.167, p=0.113, NS]			[F(3,30)=1.626, p=0.204, NS]		
				*** vs Todos los grupos**								
				****vs VEH**								
VEH=vehículo; IHJs=infusión de las hojas de *Justicia spicigera*; PTX=picrotoxina.												

Prueba de nado forzado

Latencia a la primera inmovilidad
En la prueba de nado forzado, el análisis estadístico no reveló diferencias significativas entre los grupos experimentales en la latencia a la primera inmovilidad [F(3,36) = 1.78, p = 0.168, NS], lo que indica que los tratamientos no modificaron este parámetro comportamental (Tabla 2).

Tabla 2. Latencia a la primera inmovilidad.

Antagonismo receptor $GABA_A$			
Tratamiento	**Latencia**		
VEH	5.50	±	0.6
IHJs	3.93	±	0.4
PTX	4.47	±	0.5
PTX + IHJs	4.38	±	0.5
Totales	[F(3,36)=1.78, p=0.168, NS]		
VEH=vehículo; IHJs=infusión de las hojas de Justicia spicigera; PTX=picrotoxina.			

Tiempo total de inmovilidad

El análisis de inmovilidad de nado forzado por medio del ANOVA, logró identificar diferencias significativas [F(3,36)=7.613, p<0.001]*. La prueba *post hoc* mostró que el tratamiento con IHJs disminuyó el tiempo de inmovilidad de forma significativa en comparación con el VEH; sin embargo, se puede observar que el antagonismo de los receptores $GABA_A$ revierte parcialmente este efecto producido por la IHJs (ver Gráfica 2).

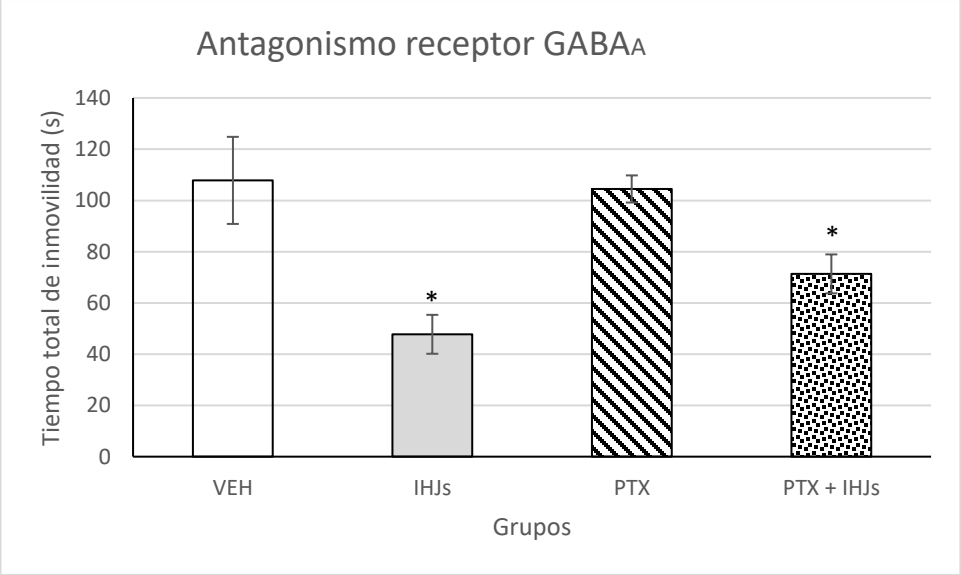


Gráfico 2. Tiempo total de inmovilidad
[F(3,36=7.613, p<0.001] *VS VEH, PTX; VEH=vehículo; IHJs=infusión de las hojas de *Justicia spicigera*; PTX=picrotoxina. El pretratamiento con PXT revierte de manera parcial la reducción del tiempo de inmovilidad producido con IHJs.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la prueba de caja de actividad locomotriz indican que la administración de IHJs produjo un incremento significativo en el número total de cuadros cruzados por los animales. No obstante, el análisis de la zona periferia y centro, reveló que dicho aumento fue estadístixcamente significativo únicamente en la zona central. Este hallazgo resulta particularmente relevante, ya que diversos estudios han propuesto que un aumento en la locomoción dentro de zonas abiertas, como el centro de la caja, puede interpretarse como un efecto tipo ansiolítico, al estar relacionado con la disminución del comportamiento de evitación hacia áreas expuestas, fenómeno conocido como tigmotaxis (22).

Aunque el aumento en la actividad locomotriz podría atribuirse a un efecto de hiperactividad inducido por la IHJs, esta interpretación no excluye la posibilidad de un efecto tipo antidepresivo. Se ha demostrado que ciertas sustancias pueden generar simultáneamente efectos de hiperactividad y antidepresivos en modelos como la prueba de nado forzado, suspensión de cola y consumo de sacarosa, sugiriendo que la hiperactividad no necesariamente interfiere con la expresión de un efecto antidepresivo, sino que podría estar mediada por mecanismos dopaminérgicos independientes (39).

Para explorar el posible mecanismo de acción de la IHJs, se utilizó picrotoxina, un antagonista no competitivo del receptor $GABA_A$. El pretratamiento con esta sustancia bloqueó el aumento en la actividad locomotriz total inducida por la IHJs, lo que sugiere una participación directa de los receptores $GABA_A$ en la modulación de esta conducta. De forma específica, la picrotoxina eliminó completamente el aumento en la locomoción en la zona periférica, mientras que en la zona central solo logró una reversión parcial. Estos resultados respaldan la existencia de mecanismos diferenciados según la región evaluada: la locomoción periférica está asociada con la actividad motora espontánea (8), mientras que la locomoción en la zona central se relaciona con la reducción de la ansiedad (22). Dado que la reversión por picrotoxina fue parcial en el centro, se infiere que el efecto ansiolítico de la IHJs podría involucrar, además de $GABA_A$, otros sistemas neuroquímicos aún no determinados.

La IHJs no modifico el tiempo invertido en el despliegue conductual de acicalamiento y conducta vertical, lo que indica que los metabolitos contenidos en la infusión no modifican dichas variables.

En la prueba de nado forzado, los tratamientos, no modificaron significativamente la latencia a la primer inmovilidad, que se interpreta como el primer intento que realiza el animal, por encontrar una salida del estanque, sin embargo, la IHJs redujo significativamente el tiempo total de inmovilidad, lo cual es interpretado como un efecto tipo antidepresivo. Este efecto fue parcialmente revertido por el pretratamiento con picrotoxina, lo que refuerza la participación del receptor $GABA_A$ en la expresión del efecto observado. Además, la relación entre la reducción de inmovilidad y el aumento del cruce por el centro en la prueba de actividad locomotriz sugiere una posible implicación de procesos motivacionales en la conducta de los animales.

Desde una perspectiva fitoquímica, diversos metabolitos presentes en la IHJs, como flavonoides, terpenos, esteroles y alcaloides, han demostrado individualmente efectos en sistema nervioso central. Por ejemplo, los terpenos ácido ursólico, ácido oleanólico y carnosol han sido reportados con actividad antidepresiva mediante la activación del receptor $GABA_A$ en modelos de nado forzado y suspensión de cola (27). Asimismo, alcaloides derivados de β-carbolinas actúan como agonistas inversos del receptor $GABA_A$ y poseen efectos antidepresivos (19).

Estos antecedentes respaldan la hipótesis de que los efectos psicofarmacológicos observados con la IHJs podrían estar mediados por la interacción de uno o más de sus metabolitos con el sistema GABAérgico, entre otros sistemas de neurotransmisión. No obstante, se requiere de estudios futuros

que identifiquen con precisión los compuestos activos responsables y ahondar en el o los mecanismos de acción específico.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. H. Miller and C. L. Raison, “The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target,” Nat. Rev. Immunol., Vol. 16, No. 1, 2016, pp. 22–34.
2. A. Heerlein, “Tratamientos farmacológicos antidepresivos”, Rev. Chil. Neuro-Psiquiatr., Vol. 40, 2002, pp. 21–45.
3. A. L. Althaus, M. A. Ackley, G. M. Belfort, S. M. Gee, J. Dai, D. P. Nguyen, T. M. Kazdoba, A. Modgil, P. A. Davies, S. J. Moss, F. G. Salituro, E. Hoffmann, R. S. Hammond, A. J. Robichaud, M. C. Quirk, J. J. Doherty, “Preclinical characterization of zuranolone (SAGE-217), a selective neuroactive steroid GABAA receptor positive allosteric modulator”, Neuropharmacol., Vol. 181, 2020, Art. 108333.
4. A. M. Hosie, L. Clarke, H. da Silva, T. G. Smart, “Conserved site for neurosteroid modulation of GABAA receptors”, Neuropharmacology, Vol. 56, 2009, pp. 149–154.
5. A. Mora Perez and M. del R. Hernández Medel, “Actividad anticonvulsivante del extracto metanólico de tallo y raíz de *Kalanchoe pinnata Lam. en* ratones: Comparación con diazepam,” Neurología, Vol. 31, 2016, pp. 161–168.
6. A. Sarawagi, N. D. Soni, and A. B. Patel, “Glutamate and GABA Homeostasis and Neurometabolism in Major Depressive Disorder,” Front. Psychiatry, Vol. 12, 2021, 637863. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.637863
7. A. Sequeira, F. Mamdani, C. Ernst, M. P. Vawter, W. E. Bunney, V. Lebel, et al., “Global brain gene expression analysis links glutamatergic and GABAergic alterations to suicide and major depression,” PLoS One, Vol. 4, 2009, e6585.
8. A. V. Kalueff, P. Tuohimaa, “The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research”, J. Neurosci. Methods, Vol. 143, No. 2, 2005, pp. 169–177.
9. A. Wirz-Justice and F. Benedetti, “Perspectives in affective disorders: clocks and psychopathology,” Eur. Neuropsychopharmacol., Vol. 36, 2020, pp. 140–155.
10. B. Lüscher and H. Möhler, “Brexanolone, a neurosteroid antidepressant, vindicates the GABAergic deficit hypothesis of depression and may foster resilience,” F1000Research, Vol. 8, 2019, F1000 Faculty Rev-751. https://doi.org/10.12688/f1000research.18758.1
11. B. Luscher, Q. Shen, and N. Sahir, “The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder,” Mol. Psychiatry, Vol. 16, 2011, pp. 383–406.
12. B. Luscher, T. Fuchs, and C. L. Kilpatrick, “GABAA receptor trafficking-mediated plasticity of inhibitory synapses,” Neuron, Vol. 70, 2011, pp. 385–409.
13. C. J. Murray and A. D. Lopez, The global burden of disease: A comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020, Harvard University Press, Cambridge, MA, 1996.
14. C. S. Mas, G. C. Blanch, D. A. R. Ripoll, M. T. García, and A. V. Martínez, Patología cerebral, in Fundamentos de Neurociencias, Editorial VOC, Cataluña, España, 2007, pp. 462–463.
15. C. Thoeringer, A. Erhardt, I. Sillaber, M. Mueller, F. Ohl, F. Holsboer, and M. Keck, “Long-term anxiolytic and antidepressant-like behavioural effects of tiagabine, a selective GABA transporter-1 (GAT-1) inhibitor, coincide with a decrease in HPA system activity in C57BL/6 mice,” J. Psychopharmacol., Vol. 24, No. 5, 2009, pp. 733–743. https://doi.org/10.1177/0269881109103091
16. C. X. Dai, C. C. Hu, Y. S. Shang, and J. Xie, “Role of Ginkgo biloba extract as an adjunctive treatment of elderly patients with depression and on the expression of serum S100B,” Medicine, Vol. 97, No. 39, 2018, e12421. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000012421
17. D. A. Díaz Villa, C. González González, “Actualidades en neurobiología de la depresión”, Rev. Latinoam. Psiquiatr., Vol. 11, 2012, pp. 106–115.

18. D. Belelli, N. L. Harrison, J. Maguire, R. L. Macdonald, M. C. Walker, D. W. Cope, “Extrasynaptic GABAA receptors: form, pharmacology, and function”, J. Neurosci., Vol. 29, 2009, pp. 12757–12763.
19. D. Farzin, N. Mansouri, “Antidepressant-like effect of harmane and other β-carbolines in the mouse forced swim test”, Eur. Neuropsychopharmacol., Vol. 16, 2006, pp. 324–328.
20. D. González-Torres, “Efecto del extracto acuoso de las hojas de *Justicia spicigera* Schltdl sobre el ciclo estral de las ratas y su relación con la ansiedad experimental”, Tesis de Licenciatura, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, México, 2017.
21. D. Laverty, P. Thomas, M. Field, O. J. Andersen, M. G. Gold, P. C. Biggin, M. Gielen, T. G. Smart, “Crystal structures of a GABA receptor”, Nat. Struct. Mol. Biol., Vol. 24, 2017, pp. 977–985.
22. E. Renczés, V. Borbélyová, M. Steinhardt, T. Höpfner, T. Stehle, D. Ostatníková, and P. Celec, “The Role of Estrogen in Anxiety-Like Behavior and Memory of Middle-Aged Female Rats,” Front. Endocrinol. (Lausanne), Vol. 11, 2020, 570560.
23. G. A. Rabinovich, Interacción entre el cerebro y el sistema inmune en el estrés y en la depresión: las tres hipótesis, in Inmunopatología molecular: nuevas fronteras de la medicina, Editorial Médica Panamericana, Madrid, España, 2004, pp. 581–584.
24. H. P. Loomer, J. C. Saunders, and N. S. Kline, “A clinical and pharmacodynamic evaluation of iproniazid as a psychic energizer,” Psychiatric Research Reports, Vol. 8, 1957, pp. 129–141.
25. H. Zhong, J. Rong, C. Zhu, M. Liang, Y. Li, and R. Zhou, “Epigenetic modifications of GABAergic interneurons contribute to deficits in adult hippocampus neurogenesis and depression-like behavior in prenatally stressed mice,” Int. J. Neuropsychopharmacol., Vol. 23, 2020, pp. 274–285.
26. Hersch-Martínez, “Medicinal plants and regional traders in Mexico: Physiographic differences and conservational challenge”, Econ. Bot., Vol. 51, No. 2, 1997, pp. 107–120.
27. I. Khan, N. Karim, W. Ahmad, A. Abdelhalim, M. Chebib, “GABA-A receptor modulation and anticonvulsant, anxiolytic, and antidepressant activities of constituents from Artemisia indica Linn.”, Evid. Based Complement. Alternat. Med., Vol. 2016, Art. 1215393.
28. J. B. de la Peña, C. A. Kim, H. L. Lee, S. Y. Yoon, H. J. Kim, E. Y. Hong, et al., “Luteolin mediates the antidepressant-like effects of Cirsium japonicum in mice, possibly through modulation of the GABAA receptor”, Arch. Pharm. Res., Vol. 37, No. 2, 2014, pp. 263–269.
29. J. Cueto-Escobedo, J. Andrade-Soto, M. Lima-Maximino, C. Maximino, F. Hernández-López, J. F. Rodríguez-Landa, “Involvement of GABAergic system in the antidepressant-like effects of chrysin (5,7-dihydroxyflavone) in ovariectomized rats in the forced swim test: comparison with neurosteroids”, Behav. Brain Res., Vol. 386, 2020, Art. 112590.
30. J. J. Song, M. A. Curtis, R. L. M. Faull, and H. J. Waldvogel, “The regional and cellular distribution of GABAA receptor subunits in the human amygdala,” J. Chem. Neuroanat., Vol. 126, 2022, 102185. https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2022.102185K. Ma, A. Xu, S. Cui, M. R. Sun, Y. C. Xue, and J. H. Wang, “Impaired GABA synthesis, uptake and release are associated with depression-like behaviors induced by chronic mild stress,” Transl. Psychiatry, Vol. 6, No. 10, 2016, e910.
31. K. Ma, H. Zhang, S. Wang, H. Wang, Y. Wang, J. Liu, and Z. Baloch, “The molecular mechanism underlying GABAergic dysfunction in nucleus accumbens of depression-like behaviours in mice,” J. Cell Mol. Med., Vol. 23, No. 10, 2019, pp. 7021–7028.
32. K. S. Kendler, L. M. Karkowski, C. A. Prescott, “Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression”, Am. J. Psychiatry, Vol. 156, No. 6, 1999, pp. 837–841.
33. K. S. Smith and U. Rudolph, “Anxiety and depression: mouse genetics and pharmacological approaches to the role of GABAA receptor subtypes,” Neuropharmacol., Vol. 62, 2012, pp. 54–62.
34. K. S. Yeung, M. Hernandez, J. J. Mao, I. Haviland, and J. Gubili, “Herbal medicine for depression and anxiety: A systematic review with assessment of potential psycho-oncologic relevance,” Phytother. Res., Vol. 32, No. 5, 2018, pp. 865–871. https://doi.org/10.1002/ptr.6033

35. L. H. Hernández Cruzblanca, P. Coronel, J. Collas Aguilar, E. Castro Rodríguez, “Neurobiología de la depresión mayor y de su tratamiento farmacológico”, Salud Ment., Vol. 39, No. 1, 2016, pp. 47–58. https://doi.org/10.17711/SM.0185-3325.2015.067
36. M. H. Bappi, M. N. Mia, S. A. Ansari, I. A. Ansari, A. A. S. Prottay, M. S. Akbor, H. A. S. El-Nashar, M. El-Shazly, M. S. Mubarak, and M. T. Islam, “Quercetin increases the antidepressant-like effects of sclareol and antagonizes diazepam in thiopental sodium-induced sleeping mice: A possible GABAergic transmission intervention,” Phytother. Res., Vol. 38, No. 5, 2024, pp. 2198–2214.
37. M. L. Parakala, Y. Zhang, A. Modgil, J. Chadchankar, T. N. Vien, M. A. Ackley, J. J. Doherty, P. A. Davies, and S. J. Moss, “Metabotropic, but not allosteric, effects of neurosteroids on GABAergic inhibition depend on the phosphorylation of GABAA receptors,” J. Biol. Chem., Vol. 294, No. 32, 2019, pp. 12220–12230.
38. M. S. Lener, M. J. Niciu, E. D. Ballard, M. Park, L. T. Park, A. C. Nugent, C. A. Zarate Jr., “Glutamate and gamma-aminobutyric acid systems in the pathophysiology of major depression and antidepressant response to ketamine”, Biol. Psychiatry, Vol. 81, No. 10, 2017, pp. 886–897.
39. M. T. G. Perona, S. Waters, F. S. Hall, I. Sora, K. P. Lesch, D. L. Murphy, M. Caron, and G. R. Uhl, “Animal models of depression in dopamine, serotonin, and norepinephrine transporter knockout mice: prominent effects of dopamine transporter deletions,” Behav. Pharmacol., Vol. 19, No. 5–6, 2008, pp. 566–574.
40. M. V. Fogaca, R. S. Duman, “Cortical GABAergic dysfunction in stress and depression: new insights for therapeutic interventions”, Front. Cell. Neurosci., Vol. 13, 2019, Art. 87.
41. P. F. Sullivan, M. C. Neale, and K. S. Kendler, “Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis,” Am. J. Psychiatry, Vol. 157, No. 10, 2000, pp. 1552–1562.
42. Q. Shen, R. Lal, B. A. Luellen, J. C. Earnheart, A. M. Andrews, and B. Luscher, “Gamma-Aminobutyric acid-type A receptor deficits cause hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity and antidepressant drug sensitivity reminiscent of melancholic forms of depression,” Biol. Psychiatry, Vol. 68, 2010, pp. 512–520.
43. R. B. Kargbo, “Neurosteroids and postpartum depression: The mechanism, efficacy, and approval of brexanolone and zurzuvae”, ACS Med. Chem. Lett., Vol. 14, No. 10, 2023, pp. 1326–1328. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.3c00388
44. R. de O. Beleboni, A. B. Pizzo, A. C. K. Fontana, R. de O. G. Carolino, J. Coutinho-Netto, W. F. dos Santos, “Spider and wasp neurotoxins: pharmacological and biochemical aspects”, Eur. J. Pharmacol., Vol. 493, No. 1–3, 2004, pp. 1–17.
45. R. García-Ríos, A. Mora-Pérez, C. Soria-Fregozo, “Depression and serotonergic changes during the climacteric and postmenopausal stages: Hormonal influences”, in A Multidisciplinary Look at Menopause, IntechOpen, 2017.
46. R. I. García-Ríos, A. Mora-Pérez, D. González-Torres, R. J. Carpio-Reyes, C. Soria-Fregozo, “Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: A comparison to diazepam”, Phytomedicine, Vol. 55, 2019, pp. 9–13.
47. R. J. Carpio Reyes, “Efecto de la administración crónica de Justicia spicigera Schltdl (Achantaceae) sobre las fases del ciclo estral de la rata: relación con la desesperanza conductual”, Tesis de licenciatura, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, México, 2018.
48. R. O. Beleboni, R. O. G. Carolino, A. B. Pizzo, L. Castellan-Baldan, J. Couthinho-Netto, W. F. dos Santos, N. C. Coimbra, “Pharmacological and biochemical aspects of GABAergic neurotransmission: pathological and neuropsychological relationships”, Cell. Mol. Neurobiol., Vol. 24, 2004, pp. 707–728.
49. R. W. Olsen and W. Sieghart, “GABAA receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology,” Neuropharmacology, Vol. 56, 2009, pp. 141–148.
50. S. A. Hewitt, J. I. Wamsteeker, E. U. Kurz, J. S. Bains, “Altered chloride homeostasis removes synaptic inhibitory constraint of the stress axis”, Nat. Neurosci., Vol. 12, 2009, pp. 438–443.
51. S. G. Brickley, I. Mody, “Extrasynaptic GABA(A) receptors: their function in the CNS and implications for disease”, Neuron, Vol. 73, 2012, pp. 23–34.

52. T. A. Klempan, A. Sequeira, L. Canetti, A. Lalovic, C. Ernst, J. ffrench-Mullen, et al., “Altered expression of genes involved in ATP biosynthesis and GABAergic neurotransmission in the ventral prefrontal cortex of suicides with and without major depression”, Mol. Psychiatry, Vol. 14, 2009, pp. 175–189.
53. T. Bäckström, D. Haage, M. Löfgren, I. M. Johansson, J. Strömberg, S. Nyberg, S. K. Bengtsson, “Paradoxical effects of GABA-A modulators may explain sex steroid induced negative mood symptoms in some persons”, Neuroscience, Vol. 191, 2011, pp. 46–54.
54. T. S. Firoozeei, A. Feizi, H. Rezaeizadeh, A. Zargaran, H. R. Roohafza, and M. Karimi, “The antidepressant effects of lavender (Lavandula angustifolia Mill.): A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials,” Complement. Ther. Med., Vol. 59, 2021, 102679. https://doi.org/10.1016/j.ctim.2021.102679
55. X. A. Domínguez, H. Achenbach, C. González, and A. R. Ferré-D’Amore, “Estudio químico del muitle (Justicia spicigera),” Rev. Latinoamer. Quím., Vol. 21, 1990, pp. 142–143.
56. Y. Ben-Ari, J. L. Gaiarsa, R. Tyzio, R. Khazipov, “GABA: a pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations”, Physiol. Rev., Vol. 87, No. 4, 2007, pp. 1215–1284.

DEGRADACIÓN DE MICROPLÁSTICOS MEDIANTE PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN

Brenda Sofia Morales Verdin[1], Oscar Manuel Rodríguez Narváez[1], Alain Salvador Conejo Dávila[2]

[1]Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), Calle Omega 201, Industrial Delta, León Gto., México, [2]MicroPrime S RL de CV, El colorado, 76246 Santiago de Querétaro, Qro.

Bmorales.estudiantepicyt@ciatec.mx

RESUMEN

La contaminación por microplásticos (MP) en el agua ha aumentado en la última década, impulsando el desarrollo de nuevas tecnologías para su tratamiento. Por lo que, la degradación de los MP es una alternativa eficaz, ya que los transforma y evita su acumulación en el medio ambiente. En este estudio se evaluó la degradación de microplásticos de polímeros derivados de la familia de los poliésteres (e.g., poliéster PES y polietilentereftalato PET) mediante oxidación húmeda (WO) en presencia de peroximonosulfato (PMS 0, 300 mM), sulfato de cobalto $CoSO_4$ (Co^{2+} 0, 0.08 mM) generando así una reacción de tipo Fenton para catalizar la descomposición del PMS. De igual manera el sistema fue probado añadiendo ácido sulfúrico o hidróxido de sodio (H_2SO_4 y NaOH 0.0, 0.2, 0.3, 1.2, 1.5 M) a 200°C durante 24 horas. La degradación se monitoreó mediante la demanda química de oxígeno (DQO) la cual se relaciona con la liberación de componentes principalmente de cadena corta (e.g., acido carboxílico, carboxilatos) derivados de la degradación de MP, observándose un aumento significativo después de cada uno de los tratamientos. Los resultados obtenidos indican que los MP de PET y PES son partículas complejas y refractarias cuya degradación requiere la combinación de presión autógena, temperatura, condiciones ácidas y/o alcalinas y radicales libres (es decir, radical sulfato producidos por la descomposición del PMS). Esta metodología se presenta como una alternativa prometedora para la degradación de MP en la fase acuosa.

INTRODUCCIÓN

Debido a las necesidades presentes en el campo de la ingeniería, los plásticos se posicionaron como uno de los materiales más populares en los tiempos modernos. A partir de ello, en la década de 1800, se hicieron varios intentos de desarrollar polímeros sintéticos, incluidos el poliestireno (PS) y el cloruro de polivinilo (PVC), más tarde, alrededor de la década de 1930, se desarrollaron las formas modernas de PVC, tereftalato de polietileno (PET), poliuretano (PU) y un PS más procesable. Por lo tanto, en la década de 1960 se desarrollaron materiales plásticos producidos a partir de otros recursos naturales, como la fermentación bacteriana de azúcares y lípidos, inclusive polihidroxialcanoatos (PHA), polilácticos (PLA), poliésteres alifáticos y polisacáridos (Goel & Tripathi, 2024). No obstante, se han mostrado estadísticas en las cuales se refleja que a partir de los años 1900's incrementó la producción de plásticos generalmente "commodities" los cuales por su uso en la vida cotidiana aumentaron la acumulación de dichos materiales debido a su corta vida útil, el desecho de estos materiales se resume en el reciclaje, incineración, disposición en rellenos sanitarios y desechados.

Derivado de la disposición de dichos materiales plásticos se propicia la degradación de estos plásticos, lo que da lugar a la generación de plásticos de menor tamaño denominados microplásticos (Wagner & Lambert, 2018). Los microplásticos (MPs) son definidos como fragmentos de plástico menores de 5 mm de cualquier dimensión, donde la presencia de MPs suscita una preocupación cada vez mayor debido a los impactos poco conocidos que estas partículas pueden tener en los organismos vivos y en los ecosistemas (Rodríguez-Narvaez et al., 2021). Por lo que, en la última década, se han desarrollado diferentes técnicas para degradar los MPs, estas estrategias y tecnologías se han examinado y debatido exhaustivamente (e.g., cogasificación, la pirólisis y reacciones catalíticas). Sin embargo, estas técnicas se basaban únicamente en reacciones en estado sólido dejando una amplia brecha de información con reacciones implementadas en una fase

líquida. No obstante, los MPs presentes en el agua se caracterizan por su pequeño tamaño y la presencia de estos en cantidades sumamente grandes (Hu et al., 2022). Es por esto, que recientemente los procesos de oxidación avanzada (PAOs), hacen referencia a una tecnología de remediación química en la que se producen, y por tanto intervienen especies reactivas del oxígeno (ROS), mostrando una gran capacidad para la mineralización de contaminantes persistentes en el agua (Kang et al., 2019). A pesar de esto, el número investigaciones con respecto a la remoción de MPs mediante PAOs es extremadamente limitado a pesar de que los PAOs muestran un alto potencial para el tratamiento de MPs (Kim et al., 2022).

Tomando en cuenta lo descrito anteriormente, el presente estudio tiene como objetivo degradar los MPs de PES y PET mediante procesos de oxidación avanzada para encontrar las condiciones de la concentración del sistema Co^{2+}/PMS, ácido y medio alcalino ideales para lograr la degradación de MPs, por lo que se espera, que dichas condiciones logren degradar los MPs. Por lo que esta metodología puede tener aplicación para la degradación de MPs de la familia de los poliésteres.

TEORÍA

A partir de los años 1800s los plásticos se volvieron tendencia debido a su uso en los campos industriales, gracias a esto se logró el desarrollo de procesos como la vulcanización del caucho natural, que fue descubierto por Charles Goodyear, en la misma época se logro el desarrollo de polímeros sintéticos como el poliestireno (PS) y el cloruro de polivinilo (PVC), sin embargo estos materiales presentaban propiedades fisico-mecanicas deficientes, por lo que se requería la mejora de estas formulaciones. Por otro lado, décadas más tarde se desarrollaron formas modernas en la formulación de compuestos poliméricos (e.g., PVC, PET, PU y PS) los cuales resultaban más procesables(Wagner & Lambert, 2018).

No obstante, el desarrollo de estos compuestos poliméricos propició el desecho de estos plásticos, causando que de manera natural se degraden en el medio ambiente generando microplásticos (MPs) que se definen como fragmentos de plástico menores de 5 mm que, se acumulan en todos los ecosistemas (Rodríguez-Narvaez et al., 2021a). Estos MPs proceden directamente de la producción industrial como fuentes primarias (e.g., limpiadores faciales y agentes abrillantadores) o indirectamente de la fragmentación de piezas más grandes de plásticos como fuentes secundarias a través de la irradiación UV o la abrasión (por ejemplo, fibras de polipropileno (PP), polietileno (PE), entre otros materiales plásticos). Debido a esto la mayor parte de los residuos plásticos mal gestionados se transportan a través de aguas residuales, ríos y, finalmente, a los océanos. Por lo tanto, los MPs presentes en las aguas residuales se han convertido en un peligro potencial para el suministro futuro de agua y alimentos debido a la presencia de estas partículas (Hu et al., 2022).

A partir de esta problemática se han buscado diferentes alternativas para la erradicación de los MPs, donde las investigaciones concluyen que existen diferencias significativas entre los diferentes procesos de tratamiento de aguas residuales en relación con la eficacia de remoción de los MPs, es decir, a partir de los estudios sobre la efectividad de las plantas de tratamiento de agua en cuestión de la remoción de MPs, se correlacionó la eficiencia con la composición química de los MPs. Por ejemplo, se informa que, en general, las microesferas de polietileno (PE) y polipropileno (PP) se eliminan más fácilmente en comparación con las microfibras de poliestireno (PS) y poliéster (Rodríguez-Narvaez et al., 2021b).

Por lo tanto, se ha concluido que la naturaleza de los MPs desempeña un papel importante en la eficacia de su eliminación, ya que los MPs primarios se eliminan de forma más eficaz en comparación con los MPs secundarios, ya que los primeros suelen tener la forma de microesferas, mientras que los segundos suelen ser fibras textiles u otros escombros (Rodríguez-Narvaez et al., 2021b). Sin embargo, en la última década, se han desarrollado técnicas para degradar MPs, destacando la cogasificación, pirólisis y reacciones catalíticas por microondas, que han mostrado eficacia. Sin embargo, estos métodos tienen baja eficacia para eliminar MPs de menos de 10 μm debido a límites tecnológicos. Además, se necesita un tratamiento adicional para la descomposición completa, ya que la mayoría de los procesos convencionales solo logran la separación física. Por

ello, se han desarrollado procesos de oxidación avanzada (PAOs) que generan modificaciones físicas en los MPs, como reducción de tamaño y cambios morfológicos, relacionados con su degradación (Kim et al., 2022).

Dentro de los diversos PAOs el que ha demostrado un mejor acoplamiento para los procesos avanzados de oxidación han sido las reacciones tipo Fenton, las cuales se basan en la reacción de Fenton que consiste en la descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) con un metal de transición (Fe), el cual se encuentra en solución.

Tomando en cuenta ello, la reacción de Fenton contempla el uso de un metal de transición (e.g., cobalto y cobre) y/o el oxidante (e.g., persulfato o peroximonosulfato) diferente a los utilizados con la reacción Fenton (es decir, Fe^{2+} y H_2O_2). Uno de los agentes oxidantes que ha llamado el ha sido el peroximonosulfato (PMS), el cual, al descomponerse produce no solo radical hidroxilo sino también radical sulfato. El radical sulfato (($SO_4^{\bullet-}$), son radicales libres, los cuales se pueden producir a partir de la descomposición de oxidantes a base de azufre (e.g., persulfato y peroximonosulfato), el cual posee un potencial de oxidación entre 2.5-3.1 V, similar al radical hidroxilo (2.7 V). La reacción de descomposición del PMS se ha estudiado bajo diversos mecanismos, aunque recientemente se ha buscado activar su descomposición empleando iones metálicos como el Mn^{2+}, Cu^{2+} y Co^{2+} (Rodríguez-Narvaez et al., 2020).

Los MPs también podrían degradarse mediante otros procesos de oxidación avanzada (e.g., la reacción Co^{2+}/PMS), el cual ha sido reportado como altamente efectivo en la degradación de contaminantes orgánicos, es probable que los compuestos con diferentes estructuras de carbono e.g., compuestos poliméricos de cadena baja (Rodríguez-Narvaez et al., 2021c).

PARTE EXPERIMENTAL

En este estudio, se emplearon microplásticos (MPs) de PET y PES, con un tamaño menor a 5 mm. La degradación de estos MPs se realizó en un reactor tipo autoclave equipado con un recipiente revestido de teflón (liner) de 25 mL de capacidad, el cual fue sometido a un calentamiento a 200 °C durante 22 horas.

La concentración másica de MPs utilizada fue de 120 gL^{-1}. Esta cantidad se introdujo en el liner de teflón, el cual se llenó al 80% de su capacidad volumétrica en presencia de soluciones de NaOH, H_2SO_4 o el sistema de tipo Fenton (Co^{2+}/PMS), es decir, mezclas de $CoSO_4$, PMS y NaOH o $CoSO_4$, PMS y H_2SO_4. El objetivo fue evaluar la eficiencia de degradación en medios ácidos, alcalinos y mediante el sistema Fenton en ambos tipos de medio. Las mezclas se prepararon a diferentes concentraciones: [Co^{+2}] = 0.08 mM, [PMS] = 0.3 M, y [NaOH o H_2SO_4] = 0.2, 0.3, 1.2 y 1.5 M, con la finalidad de determinar la concentración óptima para la degradación de los MPs y favorecer la transferencia del material sólido al medio líquido. Una vez preparadas las mezclas de MPs y los medios de degradación, los reactores se sellaron a presión y se colocaron en una mufla a 200 °C durante 22 horas, bajo presión autogenerada. Finalizado el tiempo de reacción, los reactores se enfriaron a temperatura ambiente para su apertura. Los productos derivados del proceso térmico se filtraron por gravedad utilizando papel filtro WHATMAN de 10 cm de diámetro. Posteriormente, se recolectó el sólido obtenido. El sólido se secó en un horno a 80 °C durante 20 horas para su posterior caracterización.

Para analizar los sólidos resultantes, se realizó una caracterización mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR) utilizando un equipo Thermo Scientific Nicolet IS10. Este análisis permitió identificar los grupos funcionales presentes en los materiales, comparando los microplásticos (MPs) en su estado virgen (antes de la degradación) con aquellos sometidos al proceso de degradación. Mediante esta técnica, se evaluaron los cambios estructurales derivados de las diferentes concentraciones del medio ácido (H_2SO_4), alcalino (NaOH) y del sistema Co^{2+}/PMS en la reacción de tipo Fenton. Los resultados obtenidos proporcionaron información certera sobre la eficacia de los tratamientos aplicados y las modificaciones químicas inducidas en los MPs.

Por otro lado, la Demanda Química de Oxígeno (DQO) se empleó como parámetro para evaluar el grado de fragmentación de los microplásticos (MPs). Este enfoque se basa en que la ruptura de las cadenas carbonadas de los MPs genera compuestos orgánicos solubles de menor peso molecular, como ácidos carboxílicos, que incrementan significativamente la DQO del medio acuoso. La cuantificación de la DQO permitió monitorear tanto la liberación como la degradación progresiva del material orgánico soluble derivado de los MPs durante el proceso de tratamiento.

RESULTADOS

De acuerdo con la metodología establecida, se determinaron los porcentajes de pérdida de peso en función del medio de degradación y su concentración, en comparación con el DQO previamente caracterizado en la fase líquida.

Como se muestra en la Figura 1a y 1b. las fibras de PES se sometieron a diferentes concentraciones en medio ácido (H_2SO_4), el sólido obtenido post-tratamiento se pesó y se determinó la pérdida de peso utilizando la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{PP}(\%) = \frac{\boldsymbol{m_i} - \boldsymbol{m_f}}{\boldsymbol{m_i}} \boldsymbol{x\ 100}$$

donde PP es pérdida de peso en (%) de MPs, $\boldsymbol{m_i}$ es la masa inicial de los MPs (g), y $\boldsymbol{m_f}$ es la masa final obtenida post-tratamiento de los MPs (g).

En la Figura 1a se observa la relación entre la pérdida de peso del PES y el DQO obtenido después del tratamiento. Cuando la concentración de H_2SO_4 aumenta, la pérdida de peso disminuye; por el contrario, con una concentración menor del medio ácido (0.2 M), la pérdida de peso es mayor. Esta misma tendencia se refleja en el DQO, es decir, a menor concentración de ácido, el DQO es más alto, mientras que, a mayor concentración, el DQO disminuye. Este comportamiento se explica porque, en concentraciones bajas (0.2–0.3 M), la hidrólisis es eficiente, liberando monómeros y oligómeros solubles al medio, lo que genera una mayor pérdida de masa y un DQO elevado en la fase líquida. Sin embargo, al incrementar la concentración de H_2SO_4, el sistema se vuelve altamente ácido y deshidratante, lo que puede provocar la carbonización o reticulación del material, formando estructuras insolubles que reducen la pérdida de peso, la limitación de agua libre, inhibiendo parcialmente la hidrólisis y/o la precipitación de productos de degradación, disminuyendo el DQO medido en la fase líquida.

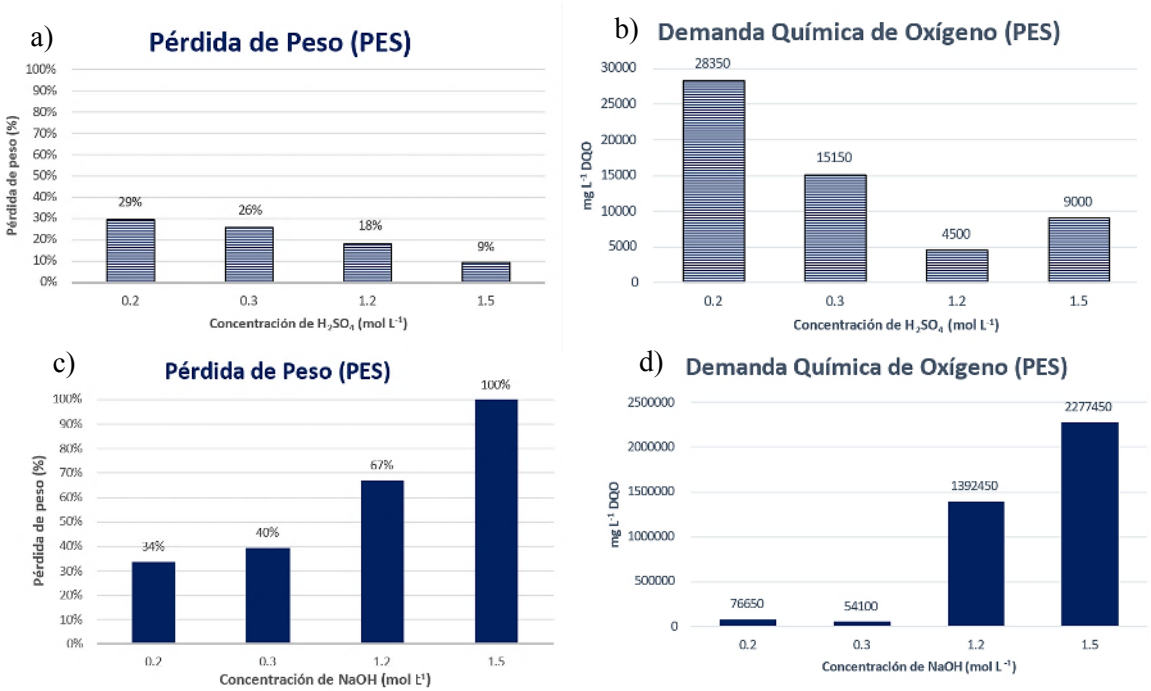


Figura 1. Resultados de pérdida de peso y DQO de las muestras de poliéster tratadas utilizando ácido sulfúrico e hidróxido de sodio a diferentes concentraciones a) pérdida de peso de PES utilizando H_2SO_4 b) DQO de la fase líquida del PES tratado con H_2SO_4 c) pérdida de peso de PES utilizando NaOH d) DQO de la fase líquida del PES tratado con NaOH.

Por otra parte, como se muestra en las Figuras 1c y 1d, se observa un comportamiento opuesto al obtenido en el medio ácido cuando se emplea un medio alcalino. En este caso, a menor concentración del medio alcalino, tanto la pérdida de peso como el DQO son menores. No obstante, al aumentar la concentración de NaOH, la degradación se vuelve más eficiente, alcanzando incluso un 100% de degradación. Este fenómeno se debe a que el NaOH induce una hidrólisis más agresiva en comparación con el medio ácido. Esta reacción, se conoce como saponificación, por lo que, rompe los enlaces éster del poliéster, liberando alcoholes (como el etilenglicol) y sales de ácidos carboxílicos (como el tereftalato de sodio). Dado que estos productos son altamente solubles en agua, se explica así la pérdida de masa completa (100%) del material.

Las Figuras 2a y 2b, los experimentos donde se utilizó el mismo medio (H_2SO_4) en combinación con una reacción de tipo Fenton, mediante la adición del sistema Co^{2+}/PMS al proceso de degradación. Este sistema Fenton alternativo (Co^{2+}/PMS, Oxone®) genera principalmente radical sulfato ($SO_4^{\bullet-}$) y, en menor medida, radical hidroxilo ($^{\bullet}OH$), ambos con alta capacidad oxidante. En las Figura 2a y 2b se observa el efecto de esta reacción, por lo que, la adición del sistema Fenton mejora la degradación del poliéster a bajas concentraciones de H_2SO_4, ya que los radicales producidos rompen los enlaces del polímero. Esto incrementa significativamente la oxidación de productos intermedios, liberando más compuestos solubles y, en consecuencia, aumentando tanto la pérdida de PES como el DQO en la fase líquida. Sin embargo, a altas concentraciones de ácido, se puede inhibir la acción de los radicales libres o producirse carbonización del material, lo que resulta en una disminución del DQO.

Por otro lado, como se muestra en las Figuras 2c y 2d en el medio alcalino, los radicales generados por Co^{2+}/PMS, especialmente $SO_4^{\bullet-}$, son altamente eficaces para atacar enlaces del poliéster, ya que a concentraciones intermedias (1.2 M), se alcanza una óptima combinación entre hidrólisis alcalina y oxidación radicalaria, lo que explica la alta pérdida de peso y el aumento de la DQO. No obstante, cuando se emplea una concentración de 1.5 M, aunque la DQO sigue alta, la pérdida de peso cae, lo que podría deberse a la formación de compuestos recalcitrantes o bien a la saturación

del sistema con productos intermedios que inhiben más degradación, dicho efecto inhibidor se debe al exceso de NaOH sobre la actividad de Co^{2+} o radicales.

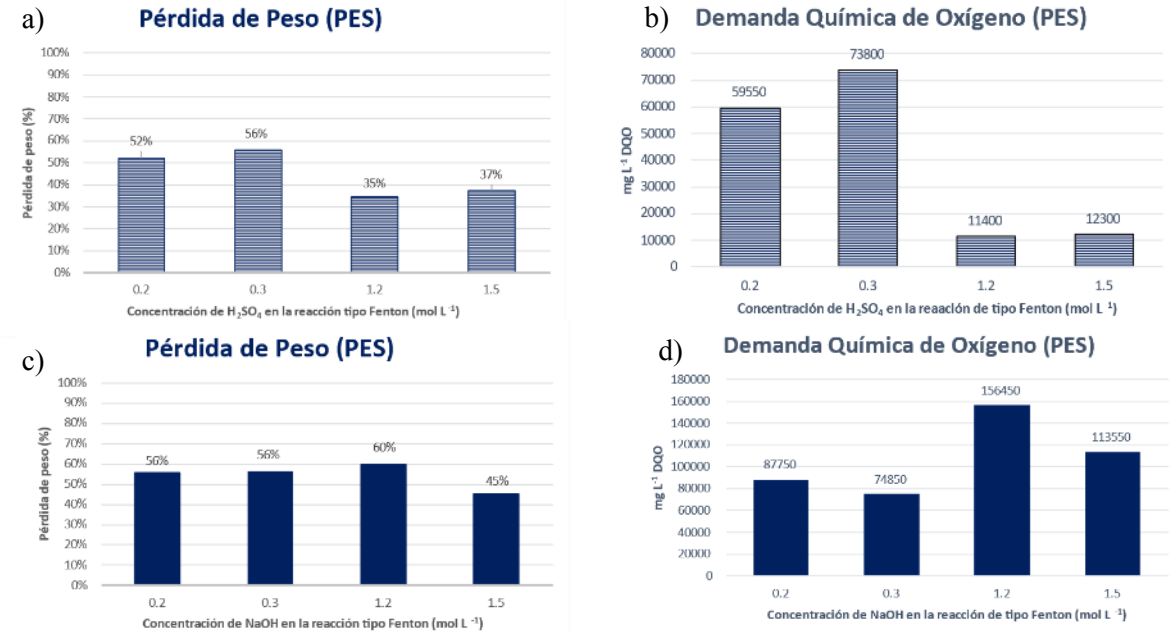


Figura 2. Resultados de pérdida de peso y DQO de las muestras de poliéster tratadas utilizando ácido sulfúrico e hidróxido de sodio a diferentes concentraciones en presencia de la reacción Fenton a) pérdida de peso de PES utilizando H_2SO_4 b) DQO de la fase líquida del PES tratado con H_2SO_4 c) pérdida de peso de PES utilizando NaOH d) DQO de la fase líquida del PES tratado con NaOH.

A continuación, se muestra la caracterización de FT-IR de la fase liquida obtenida para cada sistema de reacción antes mencionada.

Los espectros FTIR del tratamiento ácido (sin Fenton), presentados en la Figura 3a, exhiben bandas características en la región de 3400 cm^{-1} asociadas a grupos hidroxilo (–OH), así como señales alrededor de 1700 cm^{-1} correspondientes a los estiramientos C=O de grupos carbonilo presentes en ácidos carboxílicos y ésteres. A bajas concentraciones de ácido (0.2-0.3 mol L^{-1}), estas bandas muestran mayor intensidad, indicando una mayor concentración de fragmentos oxigenados solubles. Estos productos probablemente derivan de la hidrólisis parcial de las cadenas poliméricas, con liberación de subproductos como ácido tereftálico (TPA) y glicoles. No obstante, esta observación se correlaciona con los resultados experimentales, donde se registran mayores valores de pérdida de peso (26-29%) y DQO (15,150-28,350 mg L^{-1}) en estas condiciones. Por el contrario, a concentraciones elevadas de H_2SO_4 (1.2-1.5 mol L^{-1}), se observa una disminución tanto en la intensidad espectral como en los parámetros de degradación (pérdida de peso: 9-18%; DQO: 4,500-9,000 mg L^{-1}). Este comportamiento si bien puede atribuirse a la formación de especies insolubles o fragmentos carbonizados o bien a la inhibición de la hidrólisis debido a la excesiva protonación de los centros reactivos del polímero.

Por otro lado, en condiciones alcalinas (figura 3c y 3d), los espectros FTIR muestran nuevamente señales prominentes en 3400 cm^{-1} (–OH) y 1700 cm^{-1} (C=O), junto con la aparición de una señal en la zona de 1200–1000 cm^{-1}, asociada al patrón espectral del ácido tereftálico disódico ($TPA^{2-}Na^{+}$), producto típico de la hidrólisis alcalina del PES. Estos hallazgos concuerdan con la observación de una pérdida de peso progresiva (34–100%) con el aumento de la concentración de NaOH, así como un incremento sustancial en la DQO, alcanzando valores de hasta 2,277,450 mg L^{-1} a 1.5 mol L^{-1}. Esto confirma que, en medio alcalino, el PES sufre una degradación más completa,

con liberación de productos de bajo peso molecular y buena solubilidad, contribuyendo significativamente a la carga orgánica en solución.

Por su parte, la inclusión del sistema Fenton promueve una oxidación avanzada ya que como se muestra en la Figura 3c los espectros muestran una marcada intensificación de las bandas –OH (~3400 cm^{-1}) y C=O (~1700 cm^{-1}) en concentraciones de 0.2 y 0.3 mol L^{-1} de H_2SO_4, lo cual indica una mayor generación de subproductos oxigenados. Este incremento en especies solubles oxidadas se refleja en los datos de DQO (59,550–73,800 mg L^{-1}) y en la pérdida de peso (52–56%), valores sustancialmente más altos que los obtenidos sin el sistema Fenton. Sin embargo, a mayores concentraciones (1.2–1.5 mol L^{-1}), la eficiencia disminuye, debido a la inhibición del sistema Fenton en medios fuertemente ácidos, donde la desproporción de Co^{2+} y la estabilidad de PMS pueden verse comprometidas, reduciendo la formación de radicales oxidantes. Esto se manifiesta en la reducción de la pérdida de peso (35–37%) y DQO (11,400–12,300 mg L^{-1}), así como en la menor intensidad de las señales espectrales.

Por otro lado, el sistema alcalino con reactivos Fenton los espectros exhiben las bandas más intensas en la región de –OH y C=O, particularmente a 1.2 mol L^{-1}, indicando la generación de una gran cantidad de fragmentos oxigenados, incluyendo TPA y productos intermedios parcialmente oxidados. La señal correspondiente a $TPA^{2-}Na^{+}$ también está presente. Por lo que, a nivel cuantitativo, esta condición condujo a la máxima DQO registrada (156,450 mg L^{-1}) y a una pérdida de peso del 60%, lo que sugiere una combinación efectiva de hidrólisis alcalina con oxidación avanzada. La menor pérdida de peso observada a 1.5 mol L^{-1} (45%) podría deberse a un equilibrio entre hidrólisis y recombinación de fragmentos, o bien a la desactivación parcial del sistema Fenton en medios fuertemente alcalinos.

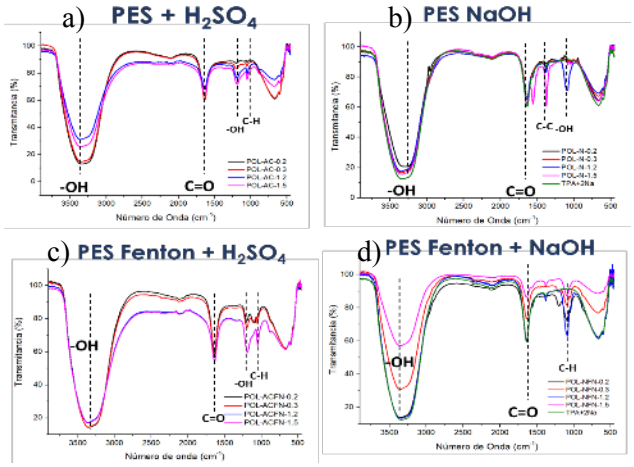


Figura 3. Resultados de FT-IR de la fase líquida a) poliéster sometido a condiciones ácidas con H_2SO_4 b) poliéster sometido a condiciones alcalinas con NaOH c) Poliéster sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton y d) Poliéster sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton.

La Figura 4 muestra los espectros FT-IR de la fracción sólida. Se observan similitudes entre los diferentes tratamientos, pero diferencias significativas respecto a la materia prima (PES), evidenciando cambios en los grupos funcionales señalados en la Tabla 1, lo que confirma la modificación estructural de los microplásticos de PES. En todos los tratamientos se detectaron grupos funcionales coincidentes con los del ácido tereftálico (TPA), lo que se verificó mediante comparación con TPA patrón. En el sistema ácido, a bajas concentraciones se observaron los mismos grupos funcionales que el TPA, mientras que a mayores concentraciones aparecieron grupos -OH, probablemente por hidratación intramolecular del TPA debido a la alta acidez. El sistema alcalino mostró el mismo patrón de formación de TPA en todas las concentraciones, excepto a 1.5 M donde se registró 100% de pérdida de peso. En el sistema Fenton ácido, las bajas

concentraciones produjeron TPA, pero a 1.2-1.5 M aparecieron grupos -OH, sugiriendo un proceso de hidratación similar al observado en el tratamiento ácido convencional.

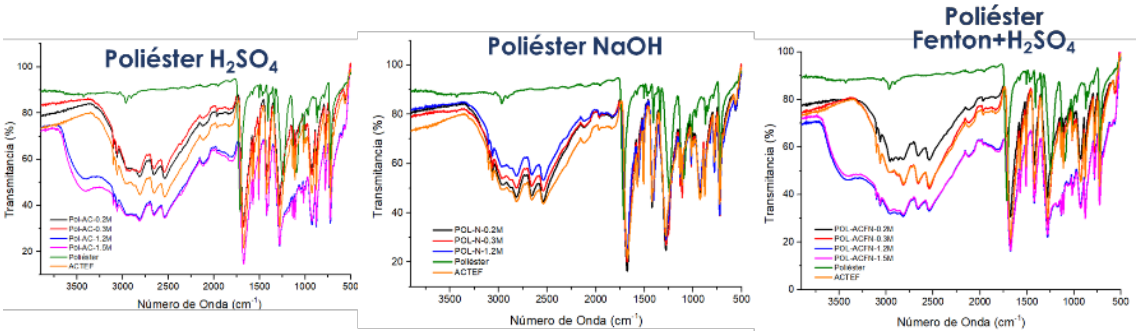


Figura 4. Resultados de FT-IR de la fase sólida a) poliéster sometido a condiciones ácidas con H_2SO_4 b) poliéster sometido a condiciones alcalinas con NaOH c) Poliéster sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton y d) Poliéster sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton.

Grupo funcional	Número de Onda (cm^{-1})
-OH	3650-3200
C-H (aromáticos)	3150
C-H (alifáticos)	2900
Sobretonos de aromáticos	2000-1950
C=O	1700
Estiramientos -OH	1300 y 1425
1,4 –Anillo disustituido	1574

Tabla 1. Descripción de los grupos funcionales de FT-IR y los números de onda donde se presentan las bandas de absorción.

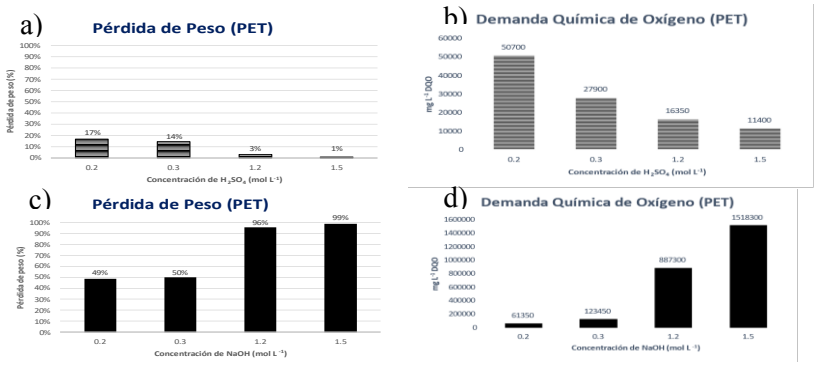


Figura 5. Resultados de pérdida de peso y DQO de las muestras de poliéster tratadas utilizando ácido sulfúrico e hidróxido de sodio a diferentes concentraciones a) pérdida de peso de PET utilizando H_2SO_4 b) DQO de la fase líquida del PET tratado con H_2SO_4 c) pérdida de peso de PET utilizando NaOH d) DQO de la fase líquida del PET tratado con NaOH.

En la Figura 5a se muestra el efecto de la concentración de H_2SO_4 sobre la degradación de PET, evaluada a través de la pérdida de peso del polímero. Se observa que, a concentraciones bajas del ácido (0.2–0.3 mol L^{-1}), el material sufre una mayor pérdida de masa, mientras que a concentraciones más altas (1.2–1.5 mol L^{-1}) la degradación se ve significativamente limitada. Esta tendencia también se refleja en la Figura 5b, donde la DQO de la fase líquida disminuye al aumentar la concentración ácida. Esto sugiere que, bajo condiciones moderadamente ácidas, el PET se

somete a una hidrólisis más eficiente, permitiendo la liberación de fragmentos solubles como el ácido tereftálico y el etilenglicol. No obstante, a concentraciones más elevadas, el entorno fuertemente ácido puede promover reacciones secundarias como la carbonización superficial del material o la formación de estructuras aromáticas condensadas poco solubles, lo que reduce tanto la pérdida de masa como la presencia de compuestos orgánicos en la fase líquida. Aunque el comportamiento es similar al reportado para el PES, el PET presenta una mayor susceptibilidad a formar residuos menos solubles bajo condiciones ácidas extremas, posiblemente por la distinta rigidez estructural del polímero y la menor presencia de grupos funcionales sulfonados que favorezcan su solubilización. Por otro lado, las Figuras 5c y 5d revelan un comportamiento completamente opuesto bajo condiciones alcalinas. En presencia de NaOH, la degradación del PET aumenta drásticamente con la concentración de la base, alcanzando casi una degradación total a 1.5 mol L^{-1}. Esta eficiencia puede atribuirse a la hidrólisis alcalina de los enlaces éster del PET, un proceso conocido como saponificación, que da lugar a productos altamente solubles como el etilenglicol y el tereftalato de sodio. La elevadísima DQO observada en estas condiciones confirma la abundante generación de fragmentos orgánicos solubles en la fase líquida. A diferencia del medio ácido, en medio alcalino no se observa evidencia de reticulación ni carbonización, lo que refuerza la idea de que el entorno básico favorece una depolimerización más completa y limpia. Aunque tanto el PET como el PES son poliésteres susceptibles a hidrólisis, el PET parece responder de forma más marcada en condiciones alcalinas, probablemente debido a su mayor cristalinidad y a la naturaleza de sus grupos aromáticos, que influyen en su mecanismo de degradación.

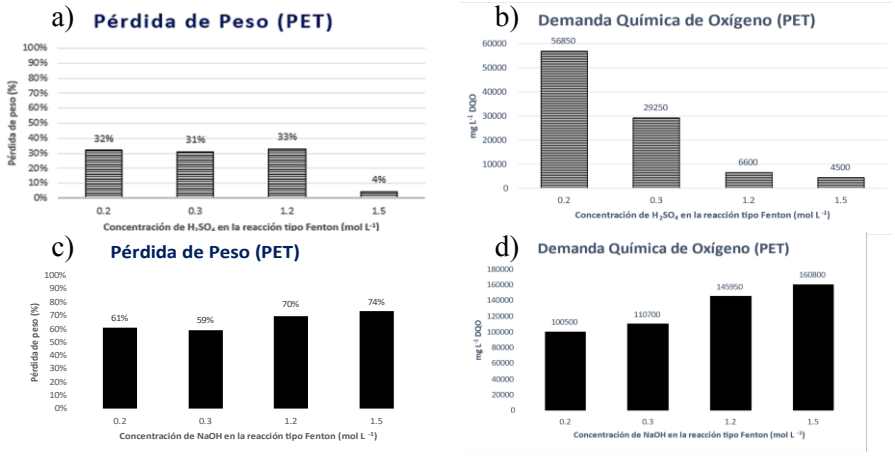


Figura 6. Resultados de pérdida de peso y DQO de las muestras de poliéster tratadas utilizando ácido sulfúrico e hidróxido de sodio a diferentes concentraciones en presencia de la reacción Fenton a) pérdida de peso de PES utilizando H_2SO_4 b) DQO de la fase líquida del PES tratado con H_2SO_4 c) pérdida de peso de PES utilizando NaOH d) DQO de la fase líquida del PES tratado con NaOH.

La Figura 6 muestra que, a bajas concentraciones de ácido, se genera una mayor cantidad de radical sulfato ($SO_4^{\bullet -}$), lo que incrementa la pérdida de masa y la DQO. Sin embargo, a concentraciones más altas de H_2SO_4, el exceso de protonación inhibe la actividad del sistema Fenton, reduciendo su eficacia e incluso promoviendo la carbonización del material. En medio alcalino, el PET experimenta una degradación más eficiente debido a la combinación de saponificación y oxidación radicalaria, especialmente a concentraciones moderadas de NaOH. A 1.5 mol L^{-1}, aunque la DQO sigue aumentando, la pérdida de masa disminuye, indicando acumulación de productos intermedios y posible inhibición del sistema oxidante. La naturaleza más estable y menos funcionalizada del PET contribuye a la formación de compuestos persistentes que elevan la DQO sin reflejar mayor degradación estructural.

Durante el tratamiento del PET en medio alcalino, el análisis FTIR como se muestren la Figura 7. revela la transformación progresiva del polímero hacia especies más oxigenadas. Las bandas centradas en ~3400 cm^{-1} (grupos –OH) y ~1700 cm^{-1} (C=O), junto con una señal definida en la zona de 1200–1000 cm^{-1}, indican la formación de productos de degradación como el tereftalato disódico,

resultado típico de la ruptura de enlaces éster mediante hidrólisis básica. La correspondencia de estas señales con una pérdida de masa significativa y un aumento sostenido en la DQO sugiere que el PET sufre una despolimerización extensiva, liberando fragmentos solubles que incrementan la carga orgánica en solución. Sin embargo, al introducir el sistema Co^{2+}/PMS, el proceso se ve impulsado no solo por la ruptura química de la cadena, sino también por la acción directa de radicales oxidantes sobre los productos intermedios. En medio ácido, esta combinación da lugar a una oxidación más profunda del PET a bajas concentraciones de H_2SO_4, como lo evidencian los espectros FTIR, donde se intensifican las bandas de grupos oxigenados. Este comportamiento indica la formación de compuestos más polares y funcionalizados, coherente con el aumento tanto de la DQO como de la pérdida de masa. Sin embargo, el exceso de acidez interfiere con la eficacia del sistema radicalario, disminuyendo la conversión del polímero y reduciendo el contenido de especies solubles.

En condiciones alcalinas, el entorno favorece tanto la activación del PMS como la estabilidad de los radical sulfato, lo que se traduce en una mayor eficiencia del sistema Fenton. A concentraciones óptimas de NaOH (1.2 mol L^{-1}), la degradación es más pronunciada, acompañada por una señal FTIR más intensa en regiones clave y un aumento máximo en la DQO, señalando una fragmentación avanzada del PET y una oxidación efectiva de los subproductos. No obstante, en condiciones altamente alcalinas (1.5 mol L^{-1}), el sistema puede sufrir limitaciones debidas al exceso de base, afectando la disponibilidad de Co^{2+} o promoviendo rutas de recomposición, lo que explicaría la disminución en la pérdida de masa pese al alto contenido de materia orgánica medida.

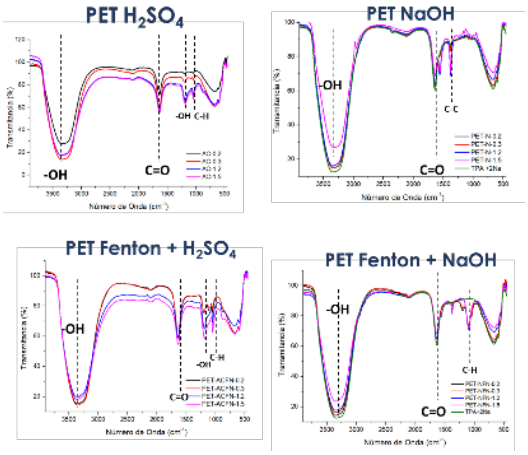


Figura 7. Resultados de FT-IR de la fase líquida a) PET sometido a condiciones ácidas con H_2SO_4 b) PET sometido a condiciones alcalinas con NaOH c) PET sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton y d) PET sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton.

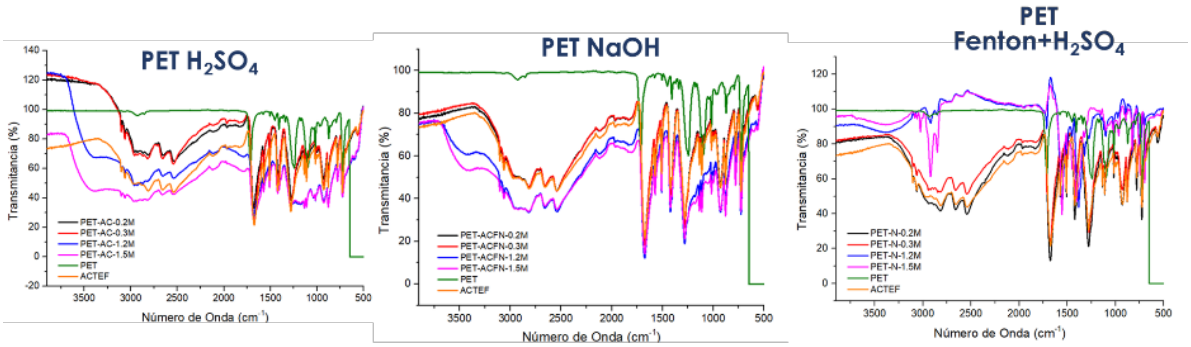


Figura 8. Resultados de FT-IR de la fase líquida a) PET sometido a condiciones ácidas con H_2SO_4 b) PET sometido a condiciones alcalinas con NaOH c) PET sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton y d) PET sometido a condiciones ácidas en conjunto con la reacción tipo Fenton.

Los espectros FTIR de la fracción sólida de PET (Figura 8) evidencian cambios estructurales derivados de los diferentes tratamientos químicos aplicados. Comparado con el material sin tratar, se observa la aparición de nuevas bandas asociadas a productos de degradación, particularmente aquellas atribuidas al tereftalato disódico ($TPA^{2-}Na^{+}$) en el intervalo de 1200–1000 cm^{-1}. En medio ácido, el patrón espectral indica la formación de subproductos oxigenados a bajas concentraciones de H_2SO_4, mientras que a concentraciones más altas se acentúan las bandas –OH, posiblemente por hidratación secundaria o carbonización parcial. En el medio alcalino, la señal del $TPA^{2-}Na^{+}$ se hace evidente en todos los tratamientos, aunque la intensidad máxima se alcanza a 1.2 M, coincidiendo con una degradación eficiente del polímero. Finalmente, bajo condiciones Fenton en medio ácido, se observa una intensificación marcada de las señales carbonilo e hidroxilo a 0.2–0.3 M, indicando una mayor oxidación superficial; sin embargo, a mayores concentraciones (1.2–1.5 M), se presentan señales similares al tratamiento ácido convencional, lo que sugiere una reducción en la eficacia del sistema oxidante en medios excesivamente ácidos.

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que la degradación de microplásticos (MPs) de PES y PET mediante procesos avanzados de oxidación es altamente dependiente de las condiciones del medio (ácido o alcalino) y de la presencia del sistema Fenton alternativo (Co^{2+}/PMS). En medio ácido, las bajas concentraciones de H_2SO_4 (0.2–0.3 M) favorecieron una hidrólisis eficiente, liberando monómeros y oligómeros solubles, lo que se reflejó en una mayor pérdida de peso (26–29%) y DQO (15,150–28,350 mg L^{-1}). Sin embargo, concentraciones más altas (1.2–1.5 M) inhibieron la degradación debido a la carbonización del material y la desactivación de radicales.

En contraste, el medio alcalino mostró una eficacia superior, especialmente con NaOH (1.5 M), donde se alcanzó una degradación del 100% del PES, atribuida a la saponificación de los enlaces éster. Este proceso generó productos altamente solubles, como tereftalato de sodio y etilenglicol, aumentando significativamente la DQO (hasta 2,277,450 mg L^{-1}). La adición del sistema Co^{2+}/PMS mejoró aún más la degradación en ambos medios, aunque su eficiencia se vio limitada en condiciones extremas de acidez o alcalinidad debido a la desactivación del radical sulfato ($SO_4^{\bullet -}$). Por otro lado, el análisis FT-IR confirmaron la formación de ácido tereftálico (TPA) y otros subproductos oxigenados, validando los mecanismos propuestos. En particular, el PET mostró mayor resistencia a la degradación en medio ácido pero una respuesta más marcada en medio alcalino, destacando la influencia de su estructura aromática en la eficiencia del proceso.

La combinación de hidrólisis alcalina y oxidación radicalaria (Co^{2+}/PMS) se presenta como la estrategia más prometedora para la degradación de MPs de poliésteres, con potencial para su aplicación en sistemas acuosos contaminados. No obstante, es crucial optimizar las condiciones de reacción para evitar la inhibición de los radicales y maximizar la mineralización del material

BIBLIOGRAFÍA

1. A Gayathri, P. V., Joseph, S., Mohan, M., & Pillai, D. (2023). Advanced oxidation processes for the degradation of microplastics from the environment: A review. *In Water and Environment Journal* (Vol. 37, Issue 4, pp. 686–701). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1111/wej.12883
2. Hu, K., Zhou, P., Yang, Y., Hall, T., Nie, G., Yao, Y., Duan, X., & Wang, S. (2022). Degradation of Microplastics by a Thermal Fenton Reaction. *ACS ES and T Engineering*, 2(1), 110–120. https://doi.org/10.1021/acsestengg.1c00323
3. Kang, J., Zhou, L., Duan, X., Sun, H., Ao, Z., & Wang, S. (2019). Degradation of Cosmetic Microplastics via Functionalized Carbon Nanosprings. *Matter*, 1(3), 745–758. https://doi.org/10.1016/j.matt.2019.06.004

4. Kim, S., Sin, A., Nam, H., Park, Y., Lee, H., & Han, C. (2022). Advanced oxidation processes for microplastics degradation: A recent trend. *Chemical Engineering Journal Advances*, 9. https://doi.org/10.1016/j.ceja.2021.100213
5. Rodríguez-Narvaez, O. M., Goonetilleke, A., Perez, L., & Bandala, E. R. (2021a). Engineered technologies for the separation and degradation of microplastics in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 414. https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128692
6. Rodríguez-Narvaez, O. M., Goonetilleke, A., Perez, L., & Bandala, E. R. (2021b). Engineered technologies for the separation and degradation of microplastics in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 414. https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128692
7. Rodríguez-Narvaez, O. M., Goonetilleke, A., Perez, L., & Bandala, E. R. (2021c). Engineered technologies for the separation and degradation of microplastics in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 414. https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128692
8. Manickam, S., Bharathiraja, A., Gurunathan, S., & Saravanakumar, S. (Eds.). (2024). Microbial biodegradation of plastics. *Springer Nature Singapore*. https://doi.org/10.1007/978-981-97-5528-8
9. Goel, M., & Tripathi, N. G. (Eds.). (2024). Plastic pollution: Challenges and green solutions. *Springer Nature Singapore*. https://doi.org/10.1007/978-981-97-5528-8

SÍNTESIS BIOGÉNICA DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE CON EXTRACTO DE HOJA Y SEMILLA DE *Moringa Oleifera*

Neali Valencia-Espinoza[1], Fabricio G. Méndez-Landin[1], Luisa F. Medina-Ganem[2], Patricio J. Espinoza-Montero[3], Locksley F. Castañeda[4] y Oscar M. Rodríguez-Narváez[2]

[1]Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato, [2]Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, [3]Pontificia Universidad Católica del Ecuador, [4]Universidad de Guanajuato.
orodriguez@ciatec.mx

RESUMEN

En la última década, se han desarrollado múltiples métodos de síntesis química para la producción de nanopartículas, los cuales, a pesar de su eficiencia, han mostrado efectos adversos en el ambiente. Por ello, se han buscado métodos alternativos donde han destacado los métodos biogénicos, que emplean extractos de origen biológico como agentes reductores y estabilizantes. Por ello, en el presente estudio se utilizó para síntesis de nanopartículas de cobre extractos de hoja y semilla de *Moringa oleifera* para la obtención de nanopartículas de cobre. Para la producción del extracto fueron utilizados tres métodos de extracción (infusión, salting-out y la combinación de ambos) con la finalidad de determinar el efecto de los fitoquímicos obtenidos en la eficiencia de síntesis. Posteriormente, a estos se le adicionó una concentración de 0.1 M de $CuSO_4*5H_2O$ y sé dejó en agitación a temperatura ambiente por 24 h para producir las nanopartículas. De los extractos obtenidos, se cuantificaron las biomoléculas de flavonoides, proteínas, azúcares reductores, polifenoles, de los cuales tuvieron concentraciones promedio de 92.073, 0.141, 121.336 y 75.350 $\mu g\ mL^{-1}$, respectivamente. Asimismo, a las muestras a las que se le adicionó el cobre se les caracterizó por medio de UV-VIS, FT-IR, SEM-EDS y XRD donde se denotó que el extracto que produjo las nanoestructuras de cobre fue en la combinación de salting-out e infusión utilizando hoja como materia prima. Tomando en cuenta ello, se resalta lo siguiente: i) UV-VIS se muestra un plasmón superficial en 670 nm, ii)FT-IR se identificó la disminución de intensidad de grupos OH atribuidos a la producción de las nanoestructuras, iii) SEM y EDS se confirmó la presencia de las nanopartículas, adheridas a una estructura orgánica y distribuidas uniformemente a lo largo de la misma, las cuales estaban en un 24.3% de porcentaje de masa de Cu y iv) mediante el análisis de XRD se identificaron la estructura cristalina cúbica centrada en las caras del Cu.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas son materiales con una dimensión de 1 a 100 nanómetros, las cuales tienen propiedades físicas, químicas, biológicas, electrónicas, magnéticas y ópticas únicas que las convierten en una herramienta poderosa en diversas aplicaciones industriales, médicas y ambientales. Dichas características se relacionan con el confinamiento de los electrones que modifica las energías de la banda. Además, se ha reportado que estas pueden interactuar de manera eficiente con otras moléculas, lo que las hace útiles como catalizadores, sensores, medicamentos y, especialmente, en el tratamiento y purificación del agua (Luque-Jacobo et al., 2023). Dentro de las diversas nanopartículas producidas, las nanopartículas de cobre (NPs Cu) han resaltado debido a sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas y catalíticas, las cuales pueden ser aplicadas para cuestiones de tratamiento de agua debido a que estas pueden inhibir el crecimiento de bacterias y hongos en soluciones acuosas, lo que las convierte en una opción atractiva para la desinfección del agua (Singh et al., 2022). Además, pueden ser catalizadores para procesos avanzados de oxidación debido a que generan especies reactivas oxidantes que reaccionan con contaminantes orgánicos para mineralizarlos, es decir, transformarlos en dióxido de carbono y agua (Raju et al., 2022).

Para producir nanopartículas se han desarrollado diversas metodologías los cuales comúnmente son divididas en dos Top-down y Bottom-up, que se conocen como síntesis física y química, respectivamente (Patil et al., 2020). No obstante, estos métodos tienen diversas desventajas donde

una que resalta es el uso de reactivos químicos que pueden ser potencialmente cancerígenos y poseer una ecotoxicidad del suelo y el agua (e.g., hidracina, N-dimetilformamida y borohidruro de sodio). Por ello, se han desarrollado nuevos métodos con menor impacto ambiental como la síntesis biogénica, el cual utiliza materiales biológicos (i.e., microorganismos y plantas) para generar extractos de biomoléculas (i.e., polifenoles, vitaminas, aminoácidos y carbohidratos) que pueden ser utilizados como reactivos para sintetizar nanopartículas.

La síntesis biogénica se clasifica según el material biológico utilizado, el cual puede ser principalmente plantas o microorganismos, donde dentro de estos la síntesis biogénica a base de plantas ha resaltado debido a que utiliza extractos naturales de plantas (i.e., hojas, frutos, tallos, raíces, flores y semillas) o sustancias producidas por las plantas (i.e., látex), como agentes reductores, estabilizadores y de cobertura, lo cual hace que a diferencia de la síntesis basada en microorganismos esta sea reproducible (Al-Hakkani et al., 2020). La síntesis biogénica basada en plantas se genera mediante la interacción de la sal metálica (e.g., sal de cobre) y los compuestos orgánicos presentes en el extracto (e.g., proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos y vitaminas), es decir, compuestos bioactivos (e.g., flavonoides, alcaloides, polifenoles, terpenoides, compuestos heterocíclicos y polisacáridos) (Jadoun et al., 2021). Además, estos compuestos orgánicos ayudan a controlar y homogeneizar las características estructurales de estás, es decir, si son esféricas, lineales y cúbicas, así como el tamaño medio (i.e., 10 a 100 nm) sin necesidad de añadir polímeros sintéticos ni tensioactivos.

Tomando en cuenta ello, en el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de cobre extractos utilizando como compuesto biológico la hoja y semilla de *Moringa oleifera* por medio de tres métodos de extracción, infusión, salting-out y la combinación de ambos. Una vez obtenidos los extractos estos fueron caracterizaDOS para ver la diferencia de las concentraciones d las diversas biomoléculas. Posteriormente, a estos se le adicionó una concentración de $CuSO_4*5H_2O$ y se les dejó reaccionar para producir las nanopartículas. Finalmente, las NP Cu obtenidas fueron caracterizados por medio de UV-VIS, FT-IR, SEM-EDS y XRD donde se observó que las condiciones que dieron un mejor rendimiento fueron con el extracto que combinó el salting-out e infusión utilizando hoja como materia prima.

TEORÍA

Síntesis de nanopartículas

Para obtener estas nanopartículas, se necesita realizar una síntesis los cuales se dividen principalmente en Top-down (síntesis física) y Bottom-up (síntesis química) (Patil et al., 2020). Los métodos Top-down comienzan con partículas macro que se reducen a nanopartículas tras una secuencia de operaciones realizadas sobre ellas. Estos métodos requieren grandes instalaciones y un gran capital dado que son bastante caros, por lo que este tipo de métodos no se utilizan en la industria, este método es adecuado para la experimentación en laboratorio (Baing et al., 2021). Dentro de estos métodos se encuentra la molienda mecánica (Altammar et al., 2023), electrospinning: Por lo general, se utiliza para crear nanofibras a partir de diversos materiales, casi siempre polímeros (Kumar et al., 2013), ablación láser (Amendola y Meneghetti, 2009), pulverización catódica (Baig et al., 2021) y explosión de electrones (Joh et al., 2013). Mientras que los enfoques Bottom-up de producción de nanomateriales comprenden la construcción de las nanoestructuras desde un nivel atómico. La metodología se basa principalmente en el principio del reconocimiento molecular (autoensamblaje). El autoensamblaje significa hacer crecer cada vez más cosas de su especie a partir de sí mismas. Esta es la síntesis tradicional, con la que la mayoría de las industrias trabajan por su costo económico, su manejo sencillo de los procesos, su estabilidad y el corto plazo de producción. Dentro de las cuales se encuentran deposición química de vapor (CVD) (Machac et al., 2020), proceso Sol-gel (Patil et al., 2021), coprecipitación (Das and Srivasatava, 2016), condensación en gas inerte/condensación molecular (Patil et al., 2021), método hidrotermal (Patil et al., 2021) y síntesis biogénica (Kumari et al., 2021). Sin embargo, estos métodos presentan problemas, como un trabajo técnico prolongado y materias primas tóxicas (i.e., hidracina, N-dimetilformamida y borohidruro de sodio); que son compuestos potencialmente cancerígenos.

Además, la síntesis química puede presentar riesgos ambientales, como la dispersión y la exposición a residuos bioactivos con ecotoxicidad del suelo y el agua. Por ello, se ha optado por sintetizar las nanopartículas mediante la síntesis biogénica, la cual tiene un impacto menor al ambiente debido a que se utilizan materiales biológicos (i.e., microorganismos y plantas) los cuales generan biomoléculas (i.e., polifenoles, vitaminas, aminoácidos y carbohidratos) que son utilizadas como reactivos para sintetizar nanopartículas.

Síntesis biogénica de nanopartículas

La síntesis biogénica se clasifica principalmente en dos, la síntesis basada en plantas y en microorganismos. Para la síntesis basada en microorganismo, esta se puede dividir a su vez en dos, la intracelular y extracelular donde para la síntesis intracelular se utiliza la pared celular para transportar iones metálicos, donde los iones con carga positiva interactúan con la pared de carga negativa y estos a su vez interactúan con las enzimas de las células que reducen estos iones a NPs metálicas, mientras que la síntesis extracelular utiliza las biomoléculas secretadas por el mismo organismo, las cuales poseen grupos funcionales que actúan como reductores, estabilizadores y hasta recubrimiento de las NPs (Mathivanan et al., 2019) (Ahmad et al., 2019).

Por otro lado, la síntesis biogénica a base de plantas utiliza extractos naturales de plantas (i.e., hojas, frutos, tallos, raíces, flores y semillas) o sustancias producidas por las plantas (i.e., látex), como agentes reductores, estabilizadores y de cobertura, para la producción de nanopartículas. Estas se producen mediante la interacción de la sal metálica y los compuestos orgánicos presentes en el extracto (i.e., proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas y metabolitos secundarios), es decir, compuestos bioactivos (i.e., flavonoides, alcaloides, polifenoles, terpenoides, compuestos heterocíclicos y polisacáridos) (Jadoun et al., 2021). Además, estos compuestos orgánicos ayudan a controlar y homogeneizar las características estructurales de estás, es decir, si son esféricas, lineales y cúbicas, así como el tamaño medio (i.e., 10 a 100 nm) sin necesidad de añadir polímeros sintéticos ni tensioactivos.

Para la obtención de estos compuestos se han propuesto distintos protocolos para la extracción de las biomoléculas (i.e., elaboración de extractos), donde los más utilizados son a partir de la destilación al vapor, maceración, infusión, extracción con disolventes, extracción Soxhlet y método de prensado. De los diversos métodos, la infusión ha sido el más reportado para la extracción de biomoléculas debido a su facilidad, alto rendimiento de extracción y permite la recuperación de compuestos con bioactividad preservada y mejorada (Antonio-Pérez et al., 2023). No obstante, el proceso de “salting-out” también ha resaltado debido que favorece la extracción de los analitos en la fase orgánica, dado que consiste en añadir un electrolito a una solución acuosa para cambiar la fuerza iónica de la mezcla (Różańska et al., 2022)

Síntesis biogénica de NP Cu

En la Tabla 1 se muestran las diversas metodologías para la síntesis biogénica de nanopartículas de cobre con plantas. Entre estos métodos, el de infusión destaca por su simplicidad y eficiencia. Este proceso implica la mezcla de extractos de plantas con soluciones de precursores metálicos, lo que facilita la reducción de los iones metálicos a nanopartículas gracias a los compuestos bioactivos presentes en los extractos. Se observa que diferentes autores optaron por el uso de un segundo calentamiento para la síntesis de las NPs, algo que no se realizó en este trabajo, dado que esto implicaría un cambio en la composición del extracto.

Tabla 1. Recopilación de metodologías para la obtención de extractos vegetales y síntesis de nanopartículas mediante diferentes plantas y sales precursoras

Planta	Sal precursora	Tipo de extracción	Extracto	Síntesis	Referencia
Hoja/*Fortunella margarita*	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	Infusión	[Hoja] = 50 g/L T = T_{amb} t= 1 h	Extracto/Sal = 1:2 [Sal] = 1 mM T = 70°C t = 30 min	Amjad et al., (2021)
Hoja/*Fortunella margarita*	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	Infusión	[Hoja] = 50 g/L T = T_{amb} t= 1 h	Extracto/Sal = 1:3 [Sal] = 1 mM T = 70°C t = 30 min	Amjad et al., (2021)
Hoja/*Fortunella margarita*	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	Infusión	[Hoja] = 50 g/L T = T_{amb} t= 1 h	Extracto/Sal = 1:4 [Sal] = 1 mM T = 70°C t = 30 min	Amjad et al., (2021)
Hoja/*Cynodon dactylon*	$Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$	Infusión	[Hoja] = 50 g/L T = 50°C t = 1 h	Extracto/Sal = 1:4 [Sal] = 0.2 M T = T_{amb} t = 24 h	Chompunut et al. (2022)
Hoja/*Solanum nigrum*	$Cu(NO)_3$	Infusión	[Hoja] = 100 g/L T = 80°C t = 25 min	Extracto/Sal = 1:20 [Sal] = 0.1 M T = 85°C t = 2 h Calcinación	Muthuvel et al., (2020)
Hoja/*Solanum nigrum*	$Cu(NO)_3$	Infusión	[Hoja] = 100 g/L T = 80°C t = 25 min	Extracto/Sal = 1:10 [Sal] = 0.1 M T = 85°C t = 2 h Calcinación	Muthuvel et al., (2020)
Hoja/*Solanum nigrum*	$Cu(NO)_3$	Infusión	[Hoja] = 100 g/L T = 80°C t = 25 min	Extracto/Sal = 3:20 [Sal] = 0.1 M T = 85°C t = 2 h Calcinación	Muthuvel et al., (2020)
Hoja/*Solanum nigrum*	$Cu(NO)_3$	Infusión	[Hoja] = 100 g/L T = 80°C t = 25 min	Extracto/Sal = 1:5 [Sal] = 0.1 M T = 85°C t = 2 h Calcinación	Muthuvel et al., (2020)

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del extracto de hoja y semilla de *Moringa oleífera*

Para preparar los extractos se utilizaron tres metodologías diferentes Para el primer extracto, se utilizó un método de infusión, donde la hoja o semilla de M. oleífera, previamente secada y pulverizada, se añadió al agua destilada a una concentración de 100 g/L, se calentó a 80°C y se agitó durante 1 hora, los cuales se clasificarán como IH para la Infusión con Hoja E IS para la Infusión con Semilla. Para el segundo extracto, se utilizó un método de salting-out preparando una solución salina con NaCl a una concentración de 50 g/L, añadiendo polvo de hoja o semilla pulverizada de M. oleífera, a una concentración de 100 g/L y agitando durante 1 hora a temperatura ambiente, los

cuales se clasificarán como SH para el Salting-out con Hoja y SS para el Salting-out con Semilla. Por último, se utilizó una mezcla de los dos métodos para preparar un tercer extracto. Este se realizó mediante una solución de NaCl con una concentración de 50 g/L, para posteriormente añadir la hoja o semilla de M. oleífera, y obtener una solución a una concentración de 100 g/L. Se agitó a 80°C durante 1 hora, los cuales se clasificarán como SIH para la Infusión-Salting-out y SIS para la Infusión-Salting-out.

Una vez templado o terminada la agitación para cada uno de los extractos, los extractos fueron filtrados a vacío dos veces, una con un filtro de poro de 10 micras y otra con papel de filtro de 100 µm de poro.

Síntesis biogénica
Se preparó una solución 0.1 M de $CuSO_4*5H_2O$ y se añadió al extracto en una proporción volumétrica de 2:8 en vasos de precipitado de 50 mL. Las muestras se dejaron en agitación durante 24 h. Finalizado el tiempo, las muestras se secaron en cristalizadores a 80°C por 3 días o hasta estar secas por completo. Los materiales se clasificaron con el nombre del extracto utilizado más 0.1 (e.g., SIH 0.1 y IS 0.1).

Determinación de la concentración de flavonoides
Las muestras secas se mezclaron con metanol al 70% en una proporción de 1 mL por cada 50 mg. Las muestras se mantuvieron en agitación durante 24 h en la oscuridad a temperatura ambiente y una vez transcurrido el tiempo se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante. Este proceso se repitió hasta obtener una solución clara sin partículas en suspensión. Para la cuantificación de flavonoides, se colocó en la placa 12.5 µL de la muestra con metanol, se añadió 75 µL de $NaNO_2$ al 5% y se incubó durante 5 min a temperatura ambiente en ausencia de luz. Posteriormente, se añadieron 15 mL de $AlCl_3*6H_2O$ al 10% y se incubó de nuevo durante 5 min a temperatura ambiente, igualmente en ausencia de luz. Por último, se añadieron 50 mL de NaOH 1 M y 165 mL de H_2O destilada estéril y se realizó la lectura de absorbancia a 510 nm. Al mismo tiempo, se leyó la curva de calibración preparada a partir de una solución madre de quercetina a 0.5 mg/mL. Los ensayos se realizaron un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos.

Deteminación de la concentración de polifenoles
Se añadieron 250 µL de metanol al 70% a las muestras secas en un tubo Eppendorff y se dejaron agitando en ausencia de luz durante 24 h. Se centrifugaron durante 15 min a 10,000 rpm y se separó el sobrenadante. Para medir la absorbancia, se añadieron 237 µL de agua destilada estéril, 45 µL de Na2CO3 al 15%, 3 µL de muestra con metanol y 15 µL de reactivo de Folin al 10%. Se incubó en ausencia de luz durante 5 min a temperatura ambiente y se leyeron las absorbancias a 760 nm. Del mismo modo, se llevó a cabo la lectura de la curva de calibración preparada a partir de una solución madre de ácido gálico a una concentración de 2 mg/mL.

Determinación de la concentración de proteínas
Las muestras secas se suspendieron mediante agitación en vórtex en 50 µL de agua destilada estéril. Posteriormente, se colocaron 10 µL de las muestras suspendidas en sus respectivos pocillos y se añadieron 200 µL de una solución de reactivo de Bradford preparada en una proporción volumétrica 1:4. Se incubaron en ausencia de luz durante 5 min a temperatura ambiente y se realizó la lectura de absorbancia a 595 nm. Además, se preparó una curva de calibración de una solución madre de BSA a 2 mg/mL y se realizó la lectura de absorbancia a la misma longitud de onda. Los ensayos se realizaron un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos.

Determinación de la concentración de azúcar
Para la concentración total de azúcar, las muestras secas se pretrataron mezclándolas con etanol al 96% en una proporción de 1.5 mL por 100 mg y se incubaron a 4°C durante 15 min. A continuación, se añadieron a cada placa perforada 40 µL de la muestra pretratada, 100 µL de una solución de antrona y H_2SO_4 con una concentración de 2 mg/mL. La placa se incubó a 92°C durante

3 min a baño maría y se dejó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, se secó en un horno a 45°C durante 15 min. Por último, las muestras se midieron a una longitud de onda de 630 nm. La curva de calibración se realizó utilizando una solución madre de glucosa de 0.4 g/L y su lectura fue llevada a cabo en la misma placa que el resto de las muestras. Los ensayos se realizaron un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos.

Caracterización de las NPs Cu

Espectroscopia UV-visible

Se hizo la lectura de las absorbancias en el espectro UV-visible de las muestras de extracto de hoja y semilla de Moringa oleífera después del proceso de síntesis, así como del extracto puro, se examinó colocando 3 mL de las muestras en celdas de cuarzo para posteriormente escanear de 200 a 800 nm. Además, se realizó el mismo barrido de la solución de $CuSO_4*5H_2O$ a una concentración de 0.1M.

Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR ATR)

Se realizó un análisis por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier de las muestras secas (extractos puros y extractos con nanopartículas), así como de la sal metálica que se utilizó como precursor, en un rango de 400 a 4000 cm^{-1}.

Microscopía electrónica de barrido acoplado a la espectroscopia de energía dispersiva (SEM-EDS)

Para identificar la morfología y el porcentaje elemental del material se realizó una microscopía electrónica de barrido (SEM) y un análisis de dispersión de energía de rayos X (EDS). Para el análisis SEM se utilizó un equipo JEOL para Microanálisis (EPMA) JXA-8530F. El equipo estaba a una potencia de 15 kV, variando las micrografías entre 1000 y 2000 aumentos, produciendo una escala entre 25 y 2,5 mm, mientras que el análisis EDS fue utilizando el mismo microscopio con una tensión de 15 kV.

Difracción de rayos X

Los estudios cristalográficos se llevaron a cabo mediante difracción de rayos X en polvo (XRD) en un sistema de difractómetro de rayos X (D8 Advance, Bruker, Alemania) con radiación Cu K de 0.15418 nm a 30 kV y 15 mA utilizando una velocidad de barrido de 0.4°/min de 10 a 80 °. Tipo de fase y tamaño de los cristalitos de NPs Cu se determinaron utilizando XPert HighScore Plus Ver.2.2.

RESULTADOS

Cuantificación de biomoléculas

De los diversos extractos se realizó la caracterización de la concentración de proteínas, polifenoles, flavonoides y azucares totales (Tabla 2). Como se muestra en la Tabla 2 el contenido de proteínas en los diferentes extractos tiene un valor por debajo de las demás biomoléculas, siendo esta menor al 0.1% de las biomoléculas cuantificadas. Esto nos puede indicar que las proteínas no contribuyen a la formación de las NPs Cu, dado que se encuentran en menor proporción. Por otro lado, se observa que la concentración de estas biomoléculas para el extracto SIS es menor a la de los demás extractos, lo que nos podría indicar que sea el extracto que necesite más tiempo de síntesis para la formación de las NPs Cu.

Estos compuestos se conocen por su capacidad para donar hidrógeno o electrones, así como por sus intermediarios radicales estables, presentan diversos grupos funcionales en sus estructuras, como hidroxilos (-OH), nitrilos (-CN), aldehídos (-CHO), aminas (-NH2) y ácidos carboxílicos (-COOH) estos grupos funcionales confieren a los biocompuestos una capacidad redox, lo cual permite la formación de las NPs. Las biomoléculas presentes en los extractos de semilla y hoja cuentan con estos grupos funcionales y en concentraciones suficientes para llevar a cabo la síntesis a temperatura ambiente, por lo que se esperaría que, a mayor concentración de biomoléculas,

mayores sean los grupos funcionales que participen en el mecanismo redox para la síntesis de las NPs Cu.

Tabla 2. Concentración de biomoléculas (Flavonoides, proteínas, azúcares y polifenoles) de los extractos de semilla y hoja de *Moringa oleífera*

Fuente	Muestra	Flavonoides (mg/L)	Proteínas (mg/L)	Azúcares (mg/L)	Polifenoles (mg/L)
Semilla	IS	8.173	0.261	296.650	25.088
	SS	1.614	0.192	79.033	34.418
	SIS	1.800	0.150	34.416	9.168
Hoja	IH	64.136	0.187	49.498	115.849
	SH	185.663	0.142	91.215	57.123
	SIH	92.073	0.141	121.336	75.350

Análisis de Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR ATR)
Se realizó el análisis FT-IR ATR de las NPs Cu sintetizadas con los extractos de hoja, para identificar modificaciones químicas moleculares entre las muestras antes y después del proceso de síntesis, así como también los grupos funcionales encontrados en las biomoléculas responsables por la síntesis de las NPs Cu.

En la Figura 1 se identifican similitudes en las señales de absorbancias entre las muestras del extracto puro (IH, SH y SIH) y las nanopartículas (IH 0.1, SH 0.1 y SIH 0.1), para ambas muestras (extracto y extracto con NPs Cu) se denota la presencia de las mismas señales. Como se logra observar las señales en las gráficas de FT-IR la región 9 encontrada entre los 2400 cm-1 y 3400 cm-1, atribuidas a grupos hidroxilos (O-H), la región 8 encontrada entre 2900-2700 cm-1 se atribuyen a la presencia de grupos alifáticos, la región 7 entre 2400-2300 cm-1 se atribuye a la presencia de un enlace (C-O), la región del punto 4 situada entre 1500-1600 cm-1 puede atribuirse a un enlace N-H, la región del punto 1 que se encuentra en 1075 cm-1 puede atribuirse a la presencia del grupo funcional C-N. Dicha comparación muestra que el grupo hidroxilo tiene participación en la síntesis de NPs Cu, no obstante, las señales encontradas en los espectros de los grupos amino pueden confirmar la encapsulación de la nanopartícula de cobre.

Como se observa en la Figura 1 las señales (9, 8 y 7) muestran una intensidad en el extracto, y estas descienden después de la síntesis de las NPs Cu (0.414 a 0.3671, 0.34 a 0.246, 0.415 a 0.35, respectivamente). Estas señales son de relevancia, dado que, las biomoléculas con grupos funcionales con electrones libres donan esos electrones en los espacios cargados positivamente en el ion Cu+2 para pasar a la valencia Cu0, y así empezar la formación de la NP. Por lo que la disminución en la intensidad de estas señales refleja, que los grupos O-H del extracto funcionaron como agentes reductores para la formación de las NPs. Todo ello se compara con Adrianto et al., 2022, donde los autores indican que, la síntesis de NPs se observó utilizando extracto de hoja de Moringa oleífera como agente reductor para convertir los iones metálicos en átomos metálicos, ya que los iones del metal obtienen un electrón de un agente reductor para cambiar de un estado de valencia positiva a un estado de valencia cero, el grupo hidroxilo (O-H) presente en el extracto de M oringa oleífera es el responsable de esta reducción.

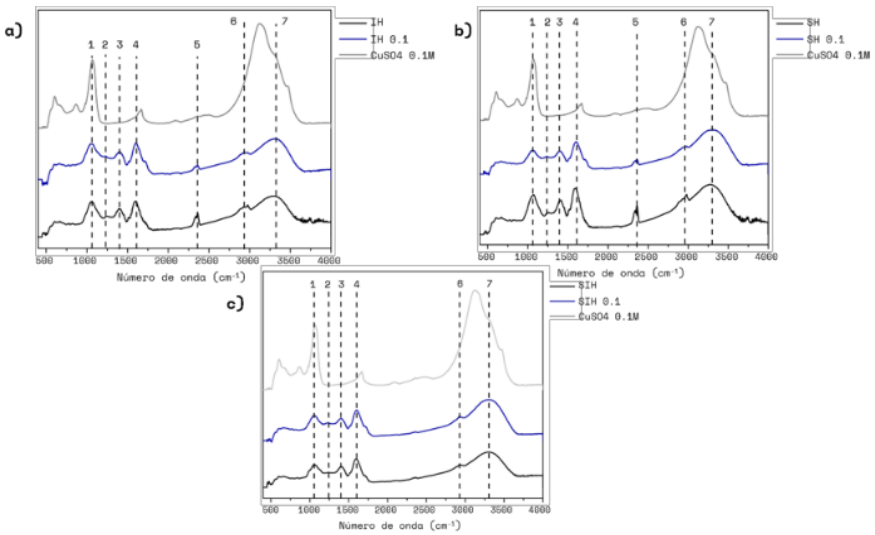


Figura 1. Gráficas de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR ATR) de los extractos de hoja (IH, SH y SIH), las nanopartículas de cobre sintetizadas con estos extractos (IH 0.1, SH 0.1 y SIH 0.1) y la solución 0.1M de sulfato cúprico ($CuSO_4$ 0.1M).

Análisis de Espectroscopia UV-visible

La caracterización de las nanopartículas de cobre comienza con el cambio de color visual que funciona según el principio de resonancia de plasmón superficial (SPR). La oscilación combinada de los electrones de la banda de conducción libre presentes en los óxidos metálicos, excitados por la radiación UV incidente, es la razón de la absorción plasmónica superficial (Pavithran et al., 2020). A medida que aumenta el tamaño de las partículas, se produce el cambio de color; de claro a oscuro en el caso del cobre. El desplazamiento de estas bandas proporciona información sobre el tamaño de la partícula, el entorno químico y las especies adsorbidas en la superficie.

Cuando los extractos de semilla de *Moringa oleífera* se mezclaron con la solución 0.1 M de sulfato cúprico, el color azul inicial se tornó a un azul opaco, debido al color opaco del extracto, y pasadas las 24 h todavía no había un cambio de color, lo que indicaba que no se habían formado las NPs Cu, dicha cuestión se confirma con el análisis de espectroscopía UV-Visible (Figura 3) porque el pico de absorbancias los 670 nm no tuvo un mayor o menor incremento con la longitud de onda, si no que se encuentra en la misma longitud de onda que la sal precursora.

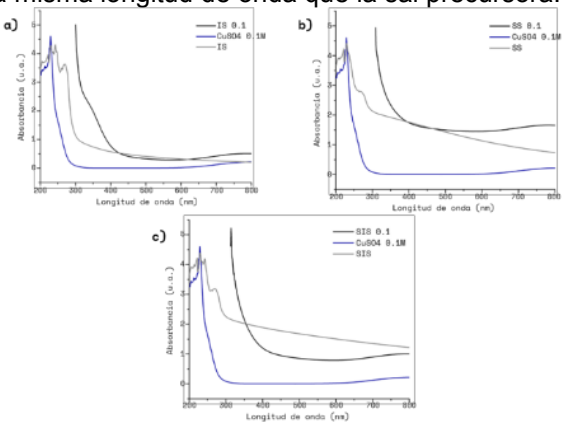


Figura 2. Gráficas de la espectroscopía UV-Visible de a) IS, b) SS y c) SIS, donde se encuentran los extractos de hoja (IS, SS y SIS), las nanopartículas de cobre sintetizadas con estos extractos (IS 0.1, SS 0.1 y SIS 0.1) y la solución 0.1 M de sulfato cúprico ($CuSO_4$ 0.1M).

Por otro lado, al mezclar los extractos de hoja de *Moringa oleífera* con la solución 0.1 M de sulfato cúprico, el color azul inicial se tornó a un verde obscuro, debido al color café del extracto, y pasadas

las 24h cambio de color, a un color café obscuro, lo que indicaba que se habían formado las NPs Cu. Para confirmar la producción de NPs de Cu, las muestras fueron analizadas por espectroscopía UV-Visible (Figura 4), esto con la finalidad de observar la formación del plasmón característico de las NPs Cu, es decir, en el rango de 500-700 nm (Amjad et al., 2021). Las muestras IH 0.1, SH 0.1 y SIH 0.1 presentaron un pico de absorbancia en 697, 676 y 670 nm, respectivamente. Todas estas señales se encuentran dentro del rango donde se puede observar la formación de NPs de Cu. La diferencia de la señal de plasmón nos muestra que las nanopartículas tienen propiedades distintas, esto debido a que ha sido reportado que la posición del plasmón está en función de las propiedades de cada partícula (e.g., forma, el tamaño, el agente de recubrimiento y la composición química exacta). (Vishveshvar et al., 2018). Por ejemplo, Amjad et al., (2021), realiza la síntesis de NPs Cu, mediante extracto de hojas de *Fortunella margarita* y $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, muestra pico de absorbancia a los 679 nm. Asimismo, Shende et al., (2015), que de igual manera usa $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, pero con jugo de *Citrus medica Linn*, para la síntesis de nanopartículas, se observa un pico de absorbancia a 631 nm. Finalmente, Alsamhary et al., (2023) realiza la síntesis de NPs Cu mediante extracto de *Moringa oleífera* y $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, el cual muestra señales de absorbancia de 662 nm.

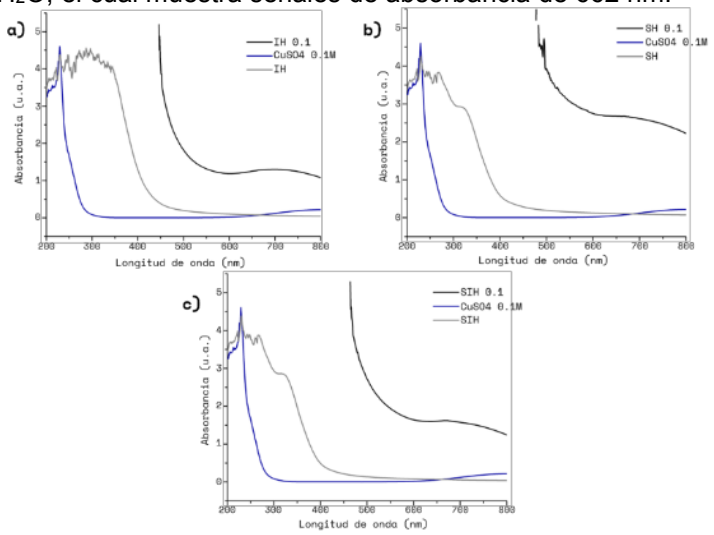


Figura 3. Gráficas de la espectroscopía UV-Visible de a) IH, b) SH y c) SIH, donde se encuentran los extractos de hoja (IH, SH y SIH), las nanopartículas de cobre sintetizadas con estos extractos (IH 0.1, SH 0.1 y SIH 0.1) y la solución 0.1 M de sulfato cúprico ($CuSO_4$ 0.1M).

Análisis de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) acoplado a la Espectroscopia de Energía Dispersiva (EDS)

Realizando el análisis para las NPs sintetizadas con extracto de hoja, en los que las NPs IH 0.1 (Figura 4) muestra una mayor coloración de oxígeno en el mapeo elemental con un 50.8%, 24.8% de cobre y 11.5% de cloro. De igual manera, para las NPs SH 0.1 (Figura 9) y SIH 0.1 (Figura 10), la mayor coloración en el mapeo elemental es el cloro con 54.5% y 8.9%, seguido del sodio con 39.4% y 0.5%, la presencia del oxígeno con un 6% y 41% y en el caso de SIH un porcentaje de 24.3% de cobre, respectivamente. En el caso del SH no se encuentra la presencia del cobre, esto puede ser debido a que la NP Cu se encuentra recubierta por una matriz de carbón, y no se encuentra en la superficie del material de carbón. Por lo que sería necesario realizar la caracterización HR-TEM para poder determinar el recubrimiento de C y la presencia de la NP dentro de esta.

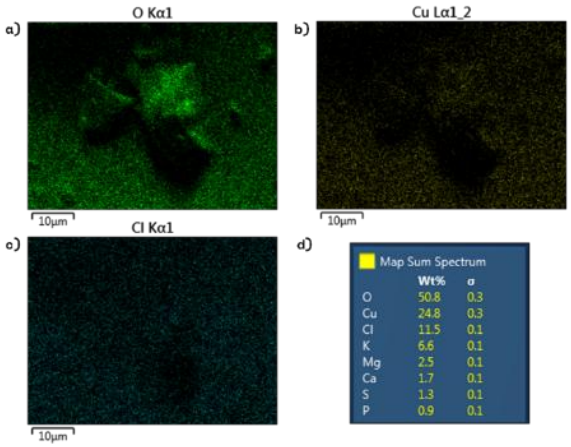


Figura 4. Mapeo elemental de a) oxígeno, b) cobre y c) cloro, y su d) porcentaje respectivamente, de las nanopartículas sintetizadas con el extracto IH mediante la caracterización SEM-EDS

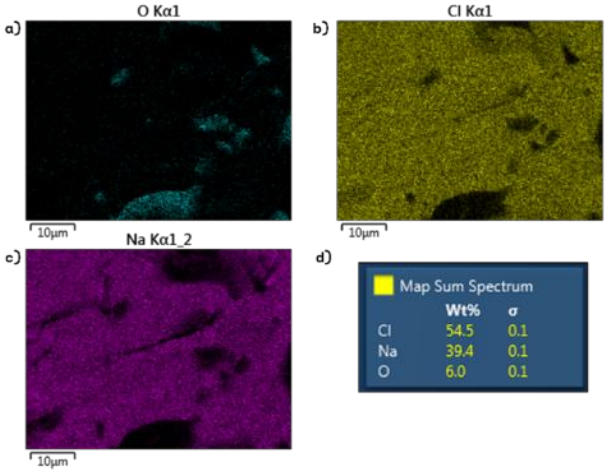


Figura 5. Mapeo elemental de a) oxígeno, b) cloro y c) sodio, y su d) porcentaje respectivamente, de las nanopartículas sintetizadas con el extracto SH mediante la caracterización SEM-EDS

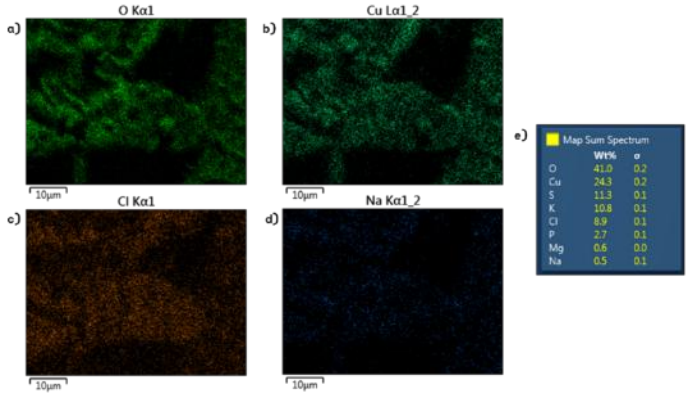


Figura 6. Mapeo elemental de a) oxígeno, b) cloro y c) sodio, y su d) porcentaje respectivamente, de las nanopartículas sintetizadas con el extracto SIH mediante la caracterización SEM-EDS

Análisis de Difracción de Rayos X (XRD)

En la Figura 7 se presentan los difractogramas de los extractos con hoja, en los cuales se muestran las NPs IH 0.1 (Figura 7a), donde se resalta que estas no presentan picos definidos, indicado que el método de Infusión puede llegar a tener inconvenientes para la síntesis de las NPs, esto se puede deber a la carga orgánica, la cual es mayor que la concentración de la del Cu. Por otra parte, las

muestras de NPs SH 0.1(Figura 7b) presentan picos en las posiciones 110, 200, 220 y 310; los cuales se pueden atribuir a fases cristalinas de Cu con estructura FCC dado que se encuentran similitudes con otros autores. Jabeen et al (2024), realiza la síntesis de NPs Cu mediante, el cual muestra los planos 1 1 0, -1 1 1, 1 1 1, -202, 1 1 2, 2 0 2, -1 1 3, 0 2 2 y 2 2 0, los cuales los establecieron a la fase monocíclica, según la ficha JCPDS n.º (48-1548).

De igual manera, Gamal et al (2022), establece las posiciones 110, 002, 111, 20-2, 020, 202, 11-3, 310, 22-1, 311 y 004, los cuales los atribuye a planos de reflexión cúbicos centrados en la cara (FCC) del cobre metálico, indican que estos resultados concuerdan con los del Cu_2O en polvo obtenidos del centro internacional de difracción (JCPDS-98-004-8581) confirmando la formación de estructura cristalina. Además, establecen que no hay bandas de difracción adicionales de otras fases referidas a la pureza de las nanopartículas de CuO biosintetizadas.

Finalmente, para las NPs SIH 0.1 (Figura 7c) se observan picos en las posiciones 111, 200, 220, 311, 222, 400 y 331; los cuales corresponden a una fase cristalina del Cu_2O, a excepción de que en esta fase se encuentra la posición 110, la cual no se encuentra en el difractograma del SIH; sin embargo, estas posiciones también se encuentran en la fase cristalina del NaCl a excepción de las posiciones 420, 422 y 511, las cuales no se encuentran en el difractograma de SIH 0.1. Esto se puede deber a la alta concentración de NaCl que se administro para realizar el extracto, como también a que la NP se encuentra recubierta por las biomoléculas y el NaCl, por lo que las señales del Cu u Cu_2O se encuentran a menor intensidad en comparación con las señales del NaCl.

Sudha et al., (2021), presenta los patrones de tres diferentes pases de los óxidos de cobre ($CuNa_2(OH)_4$, CuO y Cu_2O), en el cual se destacan las posiciones 110, -111, 111, -202, 020, 202, 202, -311, 220, 311 y 222 para el CuO y 110, 111, 200, 220, 311 y 222 para el Cu_2O, en el que establece que todos los picos de difracción obtenidos de la muestra de Cu_2O coincide con los datos estándar (JCPDS No. 01-077-0199). Este ultimo tiene una semejanza con las NPs SIH 0.1, por lo que se podría suponer que mediante este extracto se obtuvo NPs Cu_2O.

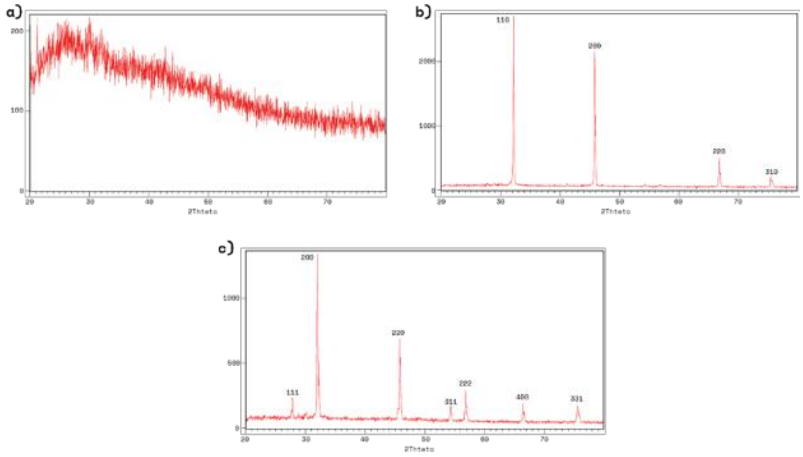


Figura 7. Difractogramas de la caracterización XRD, de las nanopartículas sintetizadas con el extracto a) IH 0.1, b) SH 0.1 y c) SIH 0.1

CONCLUSIONES

La síntesis de nanopartículas de cobre mediante extractos de Moringa oleífera demostró ser una metodología viable y sustentable, aprovechando las biomoléculas de la planta como agentes reductores y estabilizadores. Los extractos de hojas, en particular, mostraron una mayor capacidad para formar nanopartículas estables en comparación con los de semilla, gracias a su alta concentración de polifenoles y flavonoides; también mostrando la presencia de los grupos funcionales característicos de estos componentes mediante la espectroscopía FT-IR ATR. Mostrando así la importancia de establecer un mecanismo detallado de la interacción que presentan

estas biomoléculas para la formación de las NPs, identificando que biomoléculas en específico son las que intervienen para la reducción, estabilización y recubrimiento.

Mediante la espectroscopía UV-Visible y la identificación del principio de la resonancia plasmónica superficial (SPR) característica de las NPs Cu, se observó la presencia de las nanopartículas de los extractos de hoja debido a su pico de absorbancia entre los 670 nm y 696 nm; como también así del cambio de coloración al paso de las 24h de la síntesis. Como también se observó que mediante el extracto de semilla no se pudo producir las nanoparticulas, dado que no se encontró la presencia del plasman característico del cobre.

El mapeo elemental mediante SEM-EDS reveló la presencia de oxígeno, cloro, sodio y cobre en las NPs. Las diferentes distribuciones de estos elementos sugieren que en las NPs sintetizadas con extracto de hoja puede estar recubierto por biomoléculas, demostrando así que su tamaño es nanométrico. La caracterización XRD permitió identificar las fases cristalinas presentes en las NPs. Las NPs SS 0.1 y SIS 0.1 mostraron picos característicos de una estructura cúbica centrada en las caras (FCC) de Cu, mientras que las NPs SH 0.1 y SIH 0.1 presentaron picos de fases cristalinas de Cu y Cu_2O, respectivamente. Estos resultados confirman la formación de estructuras cristalinas diversas dependiendo del método de síntesis y el tipo de extracto utilizado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Luque-Jacobo, C.M.; Cespedes-Loayza, A.L.; Echegaray-Ugarte, T.S.; Cruz-Loayza, J.L.; Cruz, I.; de Carvalho, J.C.; Goyzueta-Mamani, L.D. Biogenic Synthesis of Copper Nanoparticles: A Systematic Review of Their Features and Main Applications. Molecules 2023, 28, 4838. https://doi.org/ 10.3390/molecules28124838
2. Singh, P., Singh, K. R., Singh, J., & Singh, R. P. (2022). Biogenic synthesis of Copper oxide nanoparticles: characterization and biosensing application. ECS Transactions, 107(1), 20127-20133. https://doi.org/10.1149/10701.20127ecst
3. Raju, S. K., Karunakaran, A., Kumar, S., Sekar, P., Murugesan, M., & Karthikeyan, M. (2022). BIOGENIC SYNTHESIS OF COPPER NANOPARTICLES AND THEIR BIOLOGICAL APPLICATIONS: AN OVERVIEW. International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, 8-26. https://doi.org/10.22159/ijpps.2022v14i3.43842
4. Patil, N., Bhaskar, R., Vyavhare, V., Dhadge, R., Khaire, V., and Patil, Y. (2021). Overview on methods of synthesis of nanoparticles. Int. J. Curr. Pharm. Res. 13, 11–16.
5. Baig, N., Kammakakam, I., and Falath, W. (2021). Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. Mater. Adv. 2, 1821– 1871.
6. Kumar, R., Singh, R. K., Dubey, P. K., Kumar, P., Tiwari, R. S., and Oh, I.-K. (2013). Pressure-dependent synthesis of high-quality few-layer graphene by plasma-enhanced arc discharge and their thermal stability. J. Nanopart. Res. 15, 1–10.
7. Amendola, V., and Meneghetti, M. (2009). Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. Phys. Chem. Chem. Phys. 11, 3805–3821. doi: 10.1039/b900654k
8. Joh, D.-W., Jung, T.-K., Lee, H.-S., and Kim, D.-H. (2013). Synthesis of nanoparticles using electrical explosion of Ni wire in Pt solution. J. Nanosci. Nanotechnol. 13, 6092–6094. doi: 10.1166/jnn.2013.7677
9. Machac, P., Cichon, S., Lapcak, L., and Fekete, L. (2020). Graphene prepared by chemical vapour deposition process. Graph. Technol. 5, 9–17.
10. Das, S., and Srivasatava, V. C. (2016). Synthesis and characterization of ZnO–MgO nanocomposite by co-precipitation method. Smart Sci. 4, 190–195.
11. Kumari, S. C., Dhand, V., and Padma, P. N. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles: a review. Nanomaterials 2021, 259–281.
12. Mathivanan, K.; Selva, R.; Chandirika, J.U.; Govindarajan, R.K.; Srinivasan, R.; Annadurai, G.; Duc, P.A. Biologically synthesized silver nanoparticles against pathogenic bacteria: Synthesis, calcination and characterization. Biocatal. Agric. Biotechnol. 2019, 22, 101373

13. Jadoun, S.; Arif, R.; Jangid, N.K.; Meena, R.K. Green Synthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts: A Review. Environ. Chem. Lett. 2021, 19, 355–374.
14. Antonio-Pérez, A.; Durán-Armenta, L.F.; Pérez-Loredo, M.G.; Torres-Huerta, A.L. Biosynthesis of Copper Nanoparticles with Medicinal Plants Extracts: From Extraction Methods to Applications. Micromachines 2023, 14,1882. https://doi.org/10.3390/mi14101882
15. Cattan, Y., Patil, D., Vaknin, Y., Rytwo, G., Lakemond, C., & Benjamin, O. (2021). Characterization of Moringa oleifera leaf and seed protein extract functionality in emulsion model system. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 75, 102903. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102903
16. Amjad, R.; Mubeen, B.; Ali, S.S.; Imam, S.S.; Alshehri, S.; Ghoneim, M.M.; Alzarea, S.I.; Rasool, R.; Ullah, I.; Nadeem, M.S.; et al. Green Synthesis and Characterization of Copper Nanoparticles Using Fortunella margarita Leaves. Polymers 2021, 13, 4364. https://doi.org/10.3390/polym13244364
17. Chompunut, L., Wanaporn, T., Anupong, W., Narayanan, M., Alshiekheid, M., Sabour, A., Karuppusamy, I., Chi, N. T. L., & Shanmuganathan, R. (2022). Synthesis of copper nanoparticles from the aqueous extract of Cynodon dactylon and evaluation of its antimicrobial and photocatalytic properties. Food And Chemical Toxicology, 166, 113245. https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113245
18. Muthuvel, A., Jothibas, M., & Manoharan, C. (2020). Synthesis of copper oxide nanoparticles by chemical and biogenic methods: photocatalytic degradation and in vitro antioxidant activity. Nanotechnology For Environmental Engineering, 5(2). https://doi.org/10.1007/s41204-020-00078-w
19. Rohman, A., Windarsih, A., Lukitaningsih, E., Rafi, M., Betania, K., & Fadzillah, N. A. (2020). The use of FTIR and Raman spectroscopy in combination with chemometrics for analysis of biomolecules in biomedical fluids: A review. Biomedical Spectroscopy And Imaging, 8(3-4), 55-71. https://doi.org/10.3233/bsi-200189
20. Pavithran, S., Pappuswamy, M., Annadurai, Y., Armugam, V. A., & Periyaswamy, T. (2020b). Green Synthesis of Copper Nanoparticles, Characterization and Their Applications. Journal Of Applied Life Sciences International, 10-24. https://doi.org/10.9734/jalsi/2020/v23i730172
21. Ali, M., Ijaz, M., Ikram, M., Ul-Hamid, A., Avais, M., & Anjum, A. A. (2021). Biogenic Synthesis, Characterization and Antibacterial Potential Evaluation of Copper Oxide Nanoparticles Against Escherichia coli. Nanoscale Research Letters, 16(1). https://doi.org/10.1186/s11671-021-03605-z
22. Jabeen, S., Siddiqui, V. U., Bala, S., Mishra, N., Mishra, A., Lawrence, R., Bansal, P., Khan, A. R., & Khan, T. (2024). Biogenic Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles from Aloe vera: Antibacterial Activity, Molecular Docking, and Photocatalytic Dye Degradation. ACS Omega, 9(28), 30190-30204. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c10179
23. Sudha, V., Murugadoss, G., & Thangamuthu, R. (2021). Structural and morphological tuning of Cu-based metal oxide nanoparticles by a facile chemical method and highly electrochemical sensing of sulphite. Scientific Reports, 11(1). https://doi.org/10.1038/s41598-021-82741-z
24. Różańska A., Fabjanowicz M., Kalinowska K., Polkowska Ż., Płotka-Wasylka J., Green, simple analytical method for biogenic amines determination in fruit juice samples using salting-out assisted liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, FOOD CHEMISTRY -Vol. 384 (2022), 132557, DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132557

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE COBRE APLICADOS AL ÁREA AVÍCOLA

Rodolfo Pérez Cano y Egla Yareth Bivián Castro

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, Av. Enrique Díaz de León 1144, Col. Paseo de las Montañas, Lagos de Moreno 47460, Jalisco, México.
rodolfo.perez9119@alumnos.udg.mx

RESUMEN

En este trabajo se realizaron estudios de tres compuestos de coordinación de cobre para demostrar su actividad inhibidora en el crecimiento de microorganismos patógenos que afectan gravemente al área avícola, además de utilizar una sal de cobre. En total se utilizaron 5 tratamientos diferentes los cuales se desafiaron en contra de cuatro cepas bacterianas las cuales fueron: *Escherichia coli, Salmonella entérica, Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* consideradas como las principales bacterias que ocasionan enfermedades. Para estudiar la actividad antimicrobiana de los tratamientos se hicieron 3 pruebas a diferentes concentraciones de los compuestos de cobre y a diferentes tiempos de desafío, esto con la finalidad de encontrar la concentración y el tiempo de desafío adecuados para cada uno de los tratamientos, y con ello evitar la replicación de los patógenos de interés. Los resultados de la primera prueba presentaron una baja efectividad. En la segunda se observaron mejores resultados contra tres cepas bacterianas y poca efectividad contra *Staphylococcus aureus.* Para el tercer desafío se disminuyó la concentración de los tratamientos con la finalidad de encontrar una concentración intermedia a las dos pruebas anteriores, que fuera efectiva contra las cepas bacterianas. Analizando los resultados obtenidos en cada una de las pruebas, la segunda fue la más efectiva en contra de las cepas bacterianas, demostrando una efectividad antimicrobiana para cada uno de los tratamientos, determinado la concentración y tiempo de desafío mínimo inhibitorios para evitar la replicación bacteriana que afecte en la producción avícola.

INTRODUCCIÓN

El área avícola o avicultura es una rama de la ganaderia que trata la crianza, explotación y reproducción de las aves domésticas con fines económicos, científicos y recreativos. Dentro de esta actividad resalta la comercialización de productos como lo son la carne de ave y los huevos[1]. México es uno de los países con mayor producción de huevo para plato, esto debido a cinco estados con una alta producción los cuales son: Sonora, San Luis Potosí, Yucatán, Puebla y Jalisco. Otro de los productos con mayor comercialización es la carne de ave, a nivel mundial China y Estados Unidos son los países con una mayor producción, mientras que, en América Latina, México ocupa el segundo lugar solo por debajo de Brasil[2]. Con el paso de los años, el área avícola ha tenido un gran desarrollo a nivel industrial, sin embargo, no está libre de los problemas de interés sanitario, por ejemplo, las infecciones causadas por bacterias, convirtiéndose en uno de los problemas más graves a nivel mundial, debido a las pérdidas económicas que genera y ocasionando problemas a la salud, debido a la resistencia que tienen los microorganismos hacia los antimicrobianos[3]. Los antimicrobianos son agentes químicos que se clasifican de acuerdo con su estructura, mecanismo de acción y espectro de acción, se utilizan como medicamento para seres humanos y de uso veterinario que eliminan o inhiben el crecimiento microbiano, estos pueden presentarse en forma de medicamentos como lo son los antibióticos, también en productos químicos, como los agentes esterilizantes, desinfectantes y antisépticos[4]. Por otro lado, se ha reportado la actividad antimicrobiana que tiene el cobre (Cu), puesto que se ha utilizado por civilización antiguas para tratar con infecciones microbianas. El cobre es uno de los elementos esenciales para la mayoría de los seres vivos ya que juega un papel importante en las funciones biológicas al conferir estructura en algunas proteínas, es un cofactor catalítico, es decir se puede unir a enzimas para que realicen sus funciones. Además, el ion cobre forma compuestos de coordinación[5], los cuales están formados por un átomo central (el ion metálico) rodeado por moléculas o iones conocidos como ligandos.

Los compuestos de coordinación han tenido una gran importancia gracias a su actividad biológica, y han sido usados por sus propiedades antimicrobianas, antinflamatorias y antitumorales[5,6,7]. En este trabajo se utilizaron 3 compuestos de coordinación de cobre con la finalidad de evaluar su uso en el área avícola para inhibir el crecimiento de diferentes cepas bacterianas: *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa y Salmonella entérica.*

TEORÍA

El área avícola también conocida como avicultura es una rama de la ganadería que trata la crianza, explotación y reproducción de aves domésticas con fines económicos, científicos o recreativos. Dentro de esta actividad resalta la comercialización de carne y huevo de ave de corral, siendo los alimentos de origen animal con mayor consumo en el mundo[1]. Uno de los productos con mayor comercialización es la carne de ave, debido a la alta producción de algunos estados de la República Mexicana como lo son: Veracruz, Querétaro, Aguascalientes, Coahuila, Durango y Jalisco, como se indica en la Figura No.1. A nivel global, los países con la mayor producción de carne de ave son China y Estados Unidos[2,8].

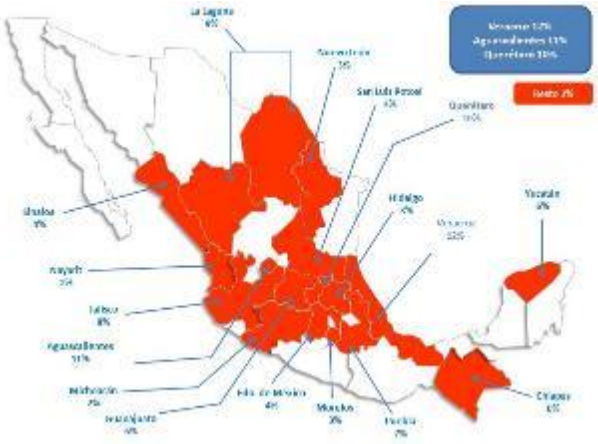


Figura No.1. Estados de la República Mexicana con mayor producción de carne de ave[8].

En cuanto a la producción de huevo para plato, México, es el segundo más importante a nivel mundial, seguido de Rusia, Colombia, Argentina y Nueva Zelanda. En la Figura No. 2 se pueden observar los estados de la República Mexicana con mayor producción de huevo entre los que se encuentran Jalisco, Puebla, Sonora, San Luis Potosí y Yucatán. Tan solo Jalisco aporta el 55% del huevo que se produce en el país principalmente en la zona altos de Jalisco[2,9].



Figura No.2. Estados de la República Mexicana con mayor producción de huevo[9].

A lo largo del tiempo el área avícola ha crecido mucho, sin embargo, no está libre de los problemas de interés sanitario, por ejemplo, las infecciones bacterianas. Siendo uno de los problemas más graves a nivel mundial, esto debido a las pérdidas económicas que genera y siendo un peligro para la salud. El control de estas enfermedades depende de las medidas sanitarias y los tratamientos médicos utilizados. Sin embargo, se ha comenzado a observar una resistencia adquirida hacia los medicamentos, lo que ha promovido la urgente búsqueda de nuevos medicamentos que sean efectivos contra los microorganismos que causan estas problemáticas en el área avícola[3].

En la figura No.3. se muestran imágenes de los microorganismos (A) *Escherichia coli*[10], (B) *Salmonella enteritidis*[11], (C) *Pseudomona aeruginosa*[12], estas 3 tienen una tinción característica para bacterias *Gram* negativa con un color rosa o rojo, mientras que (D) *Staphylococcus aureus* tiene una tinción para bacterias *Gram* positiva con una coloración azul a morado[13].

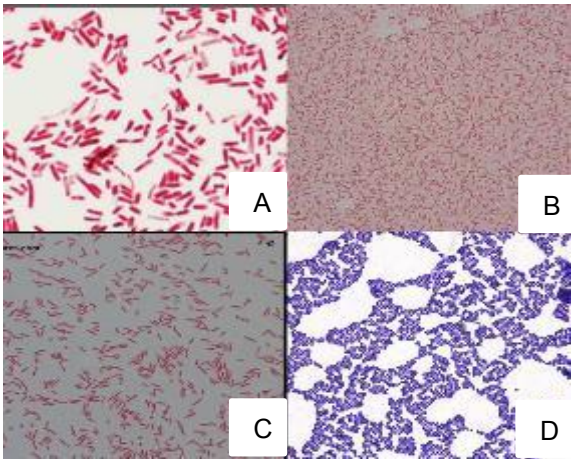


Figura No.3. Tinción de Gram de las bacterias (A) *Escherichia coli* [10], (B) *Salmonella enteritidis*[11], (C) *Pseudomona aeruginosa*[12] y (D) *Staphylococcus aureus*[13].

Escherichia coli es una bacteria que se encuentra en el intestino humano y en el de otros seres vivos de sangre caliente[14]. Esta cepa puede ocasionar diversas enfermedades en las aves, como lo es: aerosaculitis, poliserositis, septicemia, entre otras patologías[15]. La colibacilosis, es una de las enfermedades que más afecta a las aves, presentando síntomas como inquietud, plumas erizadas, fiebre y en menor medida disnea, tos, jadeo y diarrea. En aves jóvenes, se reportan casos de septicemia aguda en donde presentan lesiones en el hígado y bazo, como también en edema en cavidades corporales[16].

Otra cepa de suma importancia en el sector avícola es *Salmonella entérica.* Está bacteria pertenece al género gramnegativo, las subespecies de *S. entérica* se clasifican generalmente en tifoidea y no tifoidea, esta última clasificación se compone de una gran cantidad de serotipos, con la capacidad de transmitirse de animales hacia humanos y estos a su vez transmitirlo hacia otros humanos[17]. La salmonelosis es una de las enfermedades que más afecta a la industria avícola y es la principal enfermedad transmitidas por los alimentos (ETA). La enfermedad no presenta indicadores clínicos, pero las aves presentan una baja productividad, letargo, anorexia y diarrea, etc[18].

Por otro lado la cepa *Pseudomona aeruginosa* es un patógeno oportunista, es decir infecta a aves con un sistema inmune debilitado, esta cepa se ha convertido en una de las más importantes por tener una resistencia hacia los antibióticos[19]. Una de las enfermedades producida por esta cepa es pseudomoniasis aviar, ya que provoca lesiones en la membrana de la mucosa, debilidad o enfermedades sistemáticas[20,21]. Alguno de los síntomas presentados en las aves son: fiebre, diarrea, edema en la barbilla y cabeza, también presentan anemia, enteritis, neumonía, depresión, cojeras, aerosaculitis[22].

Las 3 cepas descritas con anterioridad son bacterias Gramnegativas, una de las bacterias Grampositivas de importancia avícola es *Staphylococcus aureus* esta bacteria se caracteriza por tener una morfología de racimos de uvas[23]. Puede producir diferentes infecciones en las aves, por ejemplo: pododermatitis, siendo más común en aves, presentando inflamación en las almohadillas planteras y cojera, con algunos signos clínicos comunes. Onfalitis conocida por ser una infección que afecta el saco vitelino, se presenta en aves jóvenes hasta pollitos mostrando un ombligo húmedo y oscuro. También afecta a los huevos, las yemas presentan un color anormal entre verde y café, con una consistencia pastosa y olorosa[24].

Hoy en día existen métodos para combatir las infecciones causadas por las bacterias, una de ellas es por el uso de antimicrobianos. Los antimicrobianos son agentes químicos que se pueden clasificar de acuerdo con su origen, estructura química, mecanismo de acción, espectro de acción y vía de administración. Se utilizan para medicamento humano y uso veterinario, obteniendo beneficios en la agricultura, apicultura, acuicultura y siendo promotores del crecimiento en la ganaderia. Los antimicrobianos pueden ser de origen natural, sintético o semisintético que inhiben el crecimiento microbiano. Estos pueden ser medicamentos, como lo son los antibióticos, también como productos químicos como lo son esterilizantes, desinfectantes o antisépticos[4].

Uno de los elementos que más se ha estudiado por sus propiedades antimicrobianas es el cobre (Cu), teniendo reportes en donde antiguas civilizaciones lo usaban por su actividad antimicrobiana, ya que no solo inhibe el crecimiento de bacterias, sino que también el de virus y hongos. Algunos trabajos han reportado los efectos que tiene el cobre sobre las bacterias, los cuales son los siguientes: desactiva las enzimas respiratorias, genera especies reactivas al oxígeno (ERO) y causan una ruptura y degradación del material genético (ácido desoxirribonucleico, el ADN), provocando una muerte celular[25]. Además de su actividad antimicrobiana, el cobre se caracteriza por ser un elemento esencial para la mayoría de los seres vivos puesto que juega un papel importante en las funciones biológicas ya que confiere estructura en algunas proteínas, puesto que es un cofactor catalítico, es decir se puede unir a enzimas para que realicen sus funciones[5]. El ion cobre puede formar compuestos de coordinación, estos contienen un átomo o ion central que generalmente es un metal, rodeado por un grupo de iones o moléculas, conocidos como ligandos, los cuales son capaces de donar uno o varios pares de electrones al átomo de ion central[6,7]. Durante los últimos años, los compuestos de coordinación han tenido relevancia debido a su actividad biológica, resaltado su actividad antimicrobiana, antinflamatoria y antitumoral[5].

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de [Cu(bpca) (OAc) (H_2O)] H_2O, acetatomonoacuabis (2-piridilcaronil) aminacobre(II) monohidratado (Tratamiento A)

Se utilizó 0.549 mg de $Cu(OAc)_2.H_2O$ de la marca Química Meyer el cual se colocó en un matraz de fondo redondo de 500 mL posteriormente se añadieron 30 mL de etanol al 96%, y se mantuvo en agitación constante, hasta disolverse por completo, paso seguido se adicionaron 0.566 μL del ligante 2-picolinamida (2-amp) (Sigma-Aldrich, STBG0813V) por goteo hasta que cambiara su color a un tono azul marino, se mantuvo en agitación constante por 72 h. Pasado este tiempo se adicionaron 20 mL de éter etílico dejando agitar por 2 min. La mezcla resultante se mantuvo a temperatura ambiente por 15 días donde perdió una gran parte de su volumen adquiriendo una consistencia gomosa, a esta se le añadiendo 20 mL más de etanol al 96%. Se obtuvieron cristales azules verdoso, mismos que se filtraron y se lavaron con etanol frio. En la figura No.4. Se observa la reacción que tiene 2-amp con el acetato de cobre. Por oxidación se forma el ligante bpca: bis(2-piridilcarbonil) amida. Este compuesto 1 fue usado como el tratamiento A para los desafíos[26].

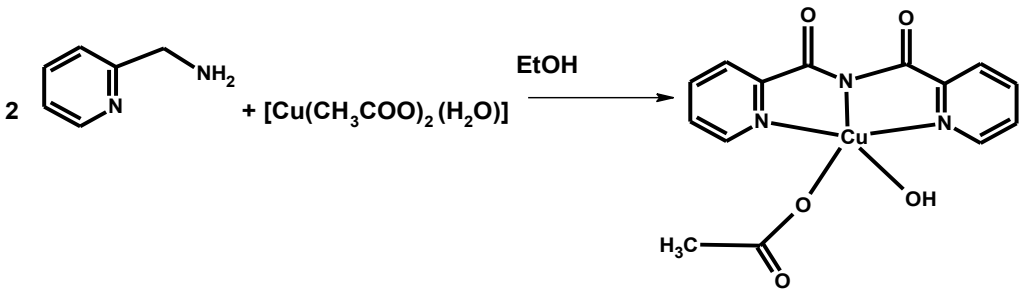


Figura No.4. Reacción química para la preparación del compuesto [Cu (bpca) (OAc) (H_2O)] H_2O.

Preparación de [Cu_2 $(bpca)_2$ (SO_4) $(H_2O)_4$] H_2O, tetraacuadi (bis(2-piridilcarbonil) amina) sulfatocobre(II) monohidratado (Tratamiento B)

Para la elaboración de este compuesto se preparó una solución acuosa de 15 mL con 0.686 mg de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (Karal, 13332) y se añadieron gota a gota 0.566 μL del ligante 2-amp previamente disueltos en 25 mL de etanol al 96% y además se adicionaron 15 mL de agua destilada. La mezcla final se dejó en agitación vigorosa por 72 h, una vez que finalizo este tiempo el color de la solución cambió de azul intenso a verde, posteriormente se filtró y lavó con etanol frio. En la figura No.5. Se observa la reacción química. Por oxidación se genera bpcaH. A diferencia del tratamiento A en este tratamiento se tienen dos iones de Cu los cuales están coordinando el ligante bpca y como ligante puente el sulfato[26].

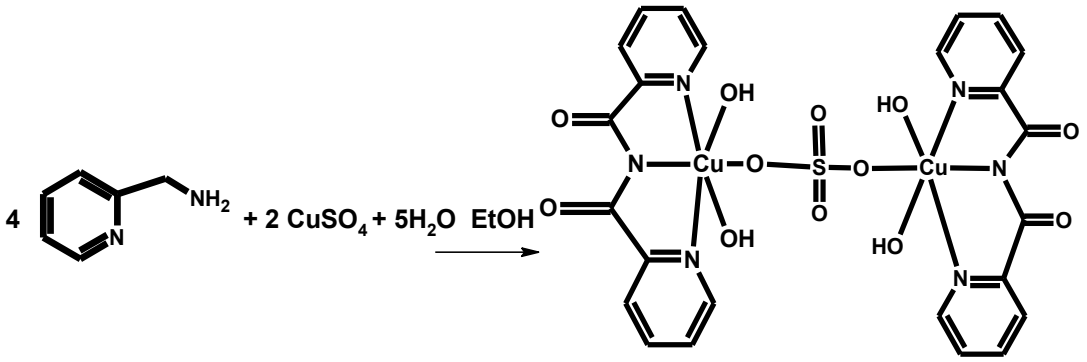


Figura No.5. Reacción química para la preparación de [$Cu_2(bpca)_2$ (SO_4) $(H_2O)_4$]·H_2O.

Preparación de Ácido bis(2-piridilcarbonil) amina (bpcaH) (Tratamiento D)

Este tratamiento se obtiene por medio de la extracción del tratamiento A o tratamiento B, para ello se adicionó una solución acuosa (80.0 mL) de Na E.D.T.A (Karal, 11045) la cual se dejó en agitación vigorosamente durante 12 h, posteriormente se adicionaron 50 mL de cloroformo y se dejó agitar por 12 h más. Terminado el tiempo de reacción se tomó un embudo de decantación para separar la fase orgánica de la acuosa. A la fase orgánica se le agregó sulfato de sodio anhídrido y se filtró para así eliminar restos de agua. El líquido resultante se dejó evaporar hasta sequedad, obteniéndose un sólido color amarillo. Los cristales incoloros de bpcaH fueron obtenidos mediante la recristalización del solido amarillo en 1,4-dioxano a 80°C. En la figura No.6. Se muestra la reacción que se tiene al añadir Na E.D.T.A[27].

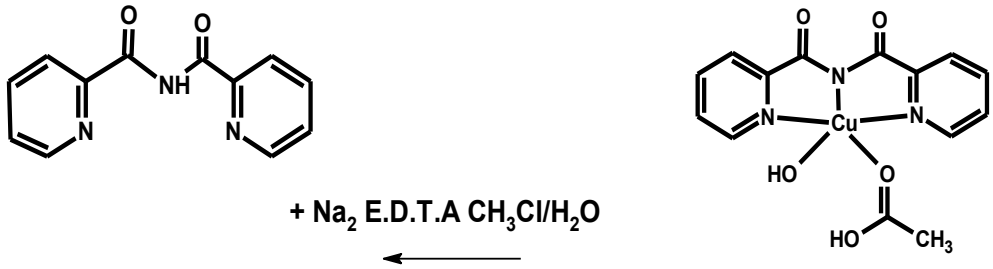


Figura No.6. Reacción química para la obtención del ligante bpcaH.

Para obtener los productos puros de cada uno de los compuestos estos se dejaron evaporar hasta que secaron, posteriormente se adicionaron 15 mL de etanol frio a cada uno de los vasos de precipitados y con una espátula se rasparon las paredes del recipiente para obtener la mayor cantidad de cristales y filtrando en vacío para dejarlos secar en una caja Petri. Una vez secos se tomó una espátula raspando el papel de manera cuidadosa para evitar romperlo y perder material.

Tratamiento C (Sales)

Estas dos sales son $CuSO_4$ (C_1) y $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (C_2) adquiridos de forma comercial, fueron utilizados en el tratamiento C.

Concentraciones usadas de los compuestos

Cada uno de los tratamientos se preparó para hacer tres desafíos diferentes esto con la finalidad de encontrar la dosis y el tiempo de desafío mínimo efectivo para inhibir la replicación bacteriana. Todos los tratamientos fueron diluidos en 100 mL de agua destilada o dimetilsulfóxido (DMSO) esto de acuerdo con la información mostrada en el Cuadro No.1.

Cuadro No.1. Lista de compuestos a utilizar para inhibir el crecimiento microbiano.

Tratamiento	Compuesto	Solubilidad en:
A	[Cu (bpca) (OAc) (H_2O)] H_2O	H_2O
B	[Cu_2 ($bpca)_2$ ($H_2O)_4$ SO_4] H_2O	DMSO
C	$CuSO_4$/ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	H_2O
D	bpcaH	DMSO

Donde DMSO=Dimetilsulfóxido, H_2O = agua destilada estéril.

Para determinar la concentración de cada uno de los tratamientos estos se dividieron entre el volumen final del diluyente utilizado. Quedando de la siguiente manera:
En el primer desafío bacteriano y viral se registraron los siguientes pesos de los compuestos y sales: Tratamiento A 0.013 g, tratamiento B 0.011 g, tratamiento C_1 0.012 g y tratamiento D 0.011 g, cada uno de ellos fueron diluidos con 100 mL de diluyente mencionados respectivamente en el cuadro No.1.

Para el segundo desafío bacteriano y viral se aumentó la cantidad en peso de los tratamientos y se usaron 50 mL del diluyente para todos los tratamientos, quedando de la siguiente forma: Tratamiento A se utilizaron 0.066 g, tratamiento B 0.058 g, tratamiento D 0.055 g tratamiento C_1 0.100 g, y se agregó un nuevo tratamiento C_2 con una concentración de 0.200 g.

En el tercer desafío bacteriano se diluyeron todos los tratamientos en 150 mL. Para el tratamiento A se usaron 0.044 g, tratamiento B 0.055 g, tratamiento C_1 0.100 g, tratamiento C_2 0.100 g y tratamiento D 0.044 g. En el Cuadro.No.2. se registran las concentraciones que tienen cada uno de los tratamientos acorde a los desafíos, la concentración se obtuvo dividiendo el peso entre los mililitros utilizados para diluirlos.

Cuadro No.2. Concentraciones de los tratamientos (g/mL).

	Primer desafío	Segundo desafío	Tercer desafío
Tratamiento A	$1.3x10^4$	$1.32x10^3$	$2.93x10^4$
Tratamiento B	$1.1x10^4$	$1.16x10^3$	$3.67x10^4$
Tratamiento C_1	$1.2x10^4$	$2x10^3$	$6.67x10^4$
Tratamiento C_2	$1.2x10^4$	$2x10^3$	$6.67x10^4$
Tratamiento D	$1.1x10^4$	$1.1x10^3$	$2.93x10^4$

Para llevar a cabo este trabajo todos los compuestos químicos y reactivos para la preparación de medios de cultivo son de grado analítico usando agua destilada como diluyente. Para la preparación del agar se utilizó agar cuenta en placa (ACP) de la marca Merck y se preparó conforme el fabricante indica en el producto. Las cepas bacterianas se propagaron en caldo infusión cerebro corazón (CICC) durante 24 h a 37ºC, pasado el tiempo se revisó que las bacterias tuvieran suficiente turbidez asegurando una buena concentración bacteriana, posteriormente se diluyeron las bacterias hasta alcanzar una transmitancia de 80% ± 1 (75 a $125x10^6$ UFC), la cual se midió en un espectrofotómetro a 580 nm, una vez alcanzada la concentración indicada, se llevó a cabo el desafío bacteriano contra los diferentes tratamientos (A, B, C_1, C_2 y D) a una relación de 1:100 respectivamente (1 mL de la bacteria de interés en 99 mL del tratamiento a probar). Los tiempos de desafío fueron de 2 minutos para todas las pruebas, después de haber transcurrido los 2 minutos de desafío, se procedió a colocar 1 mL del desafío en placa Petri por duplicado por cada una de las bacterias, paso seguido se colocaron de 20 a 25 mL de agar ACP previamente preparado (a una temperatura de 30 a 40°C) en cada una de las cajas Petri con la muestra del desafío, después se mezcló mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo con el medio; cuidando que el medio no mojara la cubierta de las cajas. Se dejó solidificar y posteriormente se llevó a incubar a 37ºC durante 48 horas. Para validar la prueba y asegurar que la concentración y pureza de las bacterias fuera correcta se generaron 3 tipos de controles, 1. Controles testigos negativos de los diferentes tratamientos, la solución salina y el agar. 2. Un control testigo puro de las cepas, sembrando las bacterias de interés en agares selectivos para asegurar que las bacterias estuvieran aisladas. 3. Control de cuantificación para cada una de las bacterias, el cual consistió en llevar a cabo una dilución 1:100 desde 10^1 hasta 10^7 del producto de la transmitancia (80% ± 1) de cada una de las bacterias, para esto se colocó 1 mL de la dilución 10^5, 10^6 y 10^7 por duplicado en cajas Petri, después se colocó agar ACP y se mezcló como se explicó previamente, se incubo bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura que los desafíos, esperando tener de 75 a 125 x 10^6 unidades formadoras de colonias (UFC/ml) en la dilución 1^6 ± 1 dilución, obteniendo el conteo en UFC de la transmitancia obtenida previamente en el espectrofotómetro para cada una de las bacterias (80% ± 1). Una vez que pasaron las 48 horas se realizó el conteo de UFC para cada uno de los tratamientos mediante un contador de colonias donde las placas mayores a 250 UFC se consideraron incontables y solo se consideraron los resultados entre 0 a 250 UFC, todos los resultados obtenidos fueron registrados para posteriormente determinar el porcentaje de reducción, y comprobar la efectividad que se consiguió de los compuestos y las sales. Para realizar el desafío bacteriano se llevó a cabo mediante los procedimientos que dictan las NOM[28,29,30,31].

Para comprobar la efectividad de los tratamientos se tomó como referencia la norma NMX-BB-40-SCIFI-1999, para que los tratamientos tengan un valor adecuado como desinfectante, en donde señala el valor que debe de tener para comprobar su efectividad, el cual se expresa en la siguiente ecuación[32].

$$\%\ \boldsymbol{de\ reducción} = \mathbf{100} - \frac{\boldsymbol{S\ x\ 100}}{\boldsymbol{C.V.}} \quad (1)$$

S son células sobrevivientes UFC/ mL
C.V. es la cuenta viable inicial.

RESULTADOS

Para el primer desafío bacteriano los resultados de la transmitancia de las cepas bacterianas fueron las siguientes: *Escherichia coli* 79.6%, *Salmonella entérica* 79.2%, *Pseudomona aureginosa* 79.1% y *Staphylococcus aures* 79.6%. Para la prueba se realizó con una concentración directa de los tratamientos a una relación de 1;100 a un tiempo de desafío de 2 minutos. En el cuadro No.3 se registraron las concentraciones iniciales (control de cuantificación bacteriana en UFC) de las cepas que se usaron en el desafío.

Cuadro No.3. UFC obtenidas del control inicial de la primera prueba bacteriana.

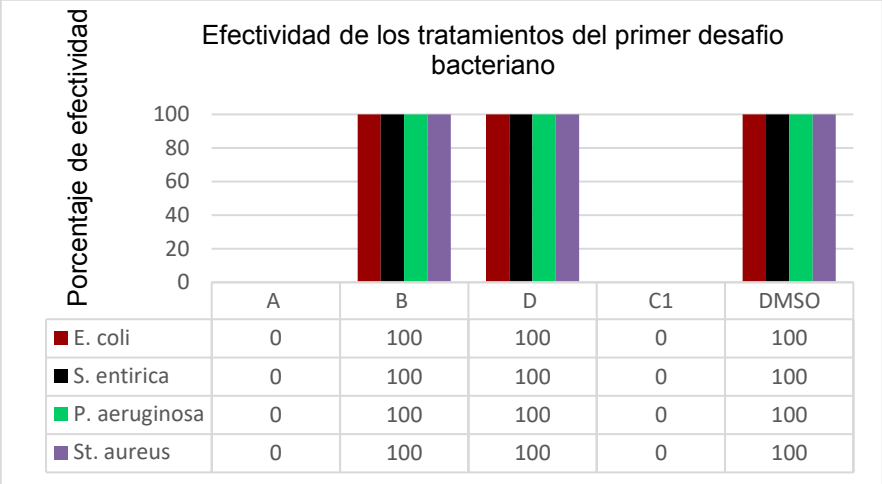
Bacterias	10^5	10^6	10^7
E. coli	81	15	3
S. entérica	78	20	2
P. aeruginosa	75	9	3
St. aureus	86	11	0

En el cuadro No.4 se reporta la efectividad de los tratamientos más el de DMSO obtenidos en el primer desafío bacteriano a 2 minutos de exposición.

Cuadro No.4. Efectividad de los tratamientos del primer desafío bacteriano a 2 minutos.

Bacterias	A UFC/mL	B UFC/mL	D UFC/mL	C_1 UFC/mL	DMSO UFC/mL
E. coli	Incontable	0	0	Incontable	0
P. aeruginosa	Incontable	0	0	Incontable	0
S. entérica	Incontable	0	0	Incontable	0
St. aureus	Incontable	0	0	Incontable	0

Tanto el tratamiento A como el C_1 presentaron un crecimiento de UFC > 250 (incontable) esto debido a la concentración que se utilizó siendo muy baja. En cambio, para los tratamientos B y D fueron efectivos teniendo 0 UFC, de igual forma que el DMSO, lo cual nos indica que la efectividad de los tratamientos posiblemente se deba a la actividad antimicrobiana que posee el diluyente y no tanto por los tratamientos en sí. Utilizando la ecuación de la norma NMX-BB-40-SCIFI-1999 podemos observar que los tratamientos B y D cumplieron con el porcentaje de efectividad, consiguiendo el 100%, mientras que los tratamientos A y C_1 fue del 0%.



Gráfica No.1. Efectividad de los tratamientos en el primer desafío bacteriano.

Para la segunda prueba bacteriana se aumentó la concentración del cobre y el tiempo de desafío fue similar a la primera prueba (2 minutos). Las transmitancias para las bacterias fueron: *Escherichia coli* 79.4%, *Salmonella entérica* 79.0%, *Pseudomona aeruginosa* 79.2% y *Staphylococcus aureus* 79.0% Los resultados obtenidos se registraron en el cuadro No.5. Se observan los controles de cuantificación en UFC/mL para esta segunda prueba y en el cuadro No.6. La efectividad de los tratamientos del segundo desafío bacteriano.

Cuadro No.5.UFC obtenidas del control de la inicial en la segunda prueba del desafío bacteriano.

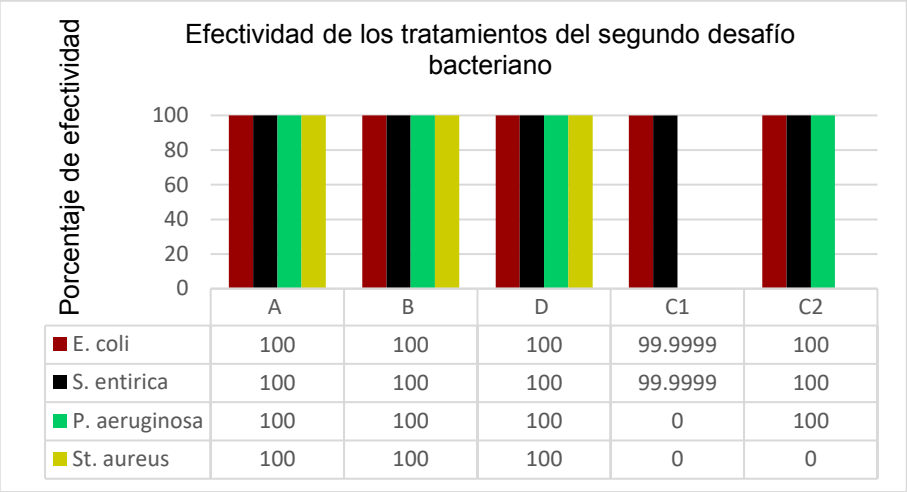
Bacterias	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
E. coli	77	8	0
S. entirica	76	11	3
P. aeruginosa	91	3	0
St. aureus	108	31	3

Cuadro No.6. Efectividad de los tratamientos en el segundo desafío bacteriano a 2 min.

Bacterias	A UFC/mL	B UFC/mL	D UFC/mL	C_1 UFC/mL	C_2 UFC/mL
E. coli	0	0	0	1	0
S. entérica	0	0	0	6	0
P. aeruginosa	0	0	0	Incontable	0
St. aureus	0	0	0	Incontable	Incontable

Como se puede observar se consiguieron mejores resultados para el tratamiento A y C_1, esto debido al incremento de las concentraciones en cada uno de ellos, cabe recalcar que las pruebas que se realizaron usando únicamente un diluyente en específico para los tratamientos, el cual puede influir como se mostró en el primer desafío bacteriano. Examinado los resultados el tratamiento C_1 no mostro efectividad del 100% para todas las bacterias, dejando fuera *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* para los cuales el número de UFC fue incontable, tomando en cuenta el diluyente que se utilizó que fue agua y el tiempo de exposición. Por su parte para esta prueba se incluyó un nuevo tratamiento C_2 el cual fue efectivo contra 3 de las 4 bacterias, dejando fuera a *Staphylococcus aureus*. Al aumentar la concentración se consiguió tener menor cantidad de UFC (0 colonias), cabe resaltar que, pese a que los tratamientos A y B fueron elaborados a partir de los tratamientos C_1 y C_2, estos primeros presentaron una mejor efectividad en contra de *Staphylococcus aureus* que las sales por si solas. Aplicando la ecuación de la norma NMX-BB-40-SCIFI-1999, la

mayoría de los tratamientos obtuvieron el porcentaje mínimo de efectividad, siendo la excepción para *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en los tratamientos C_1 y C_2.



Gráfica No.2. Efectividad de los tratamientos en el segundo desafío bacteriano.

Para la última prueba las concentraciones de los tratamientos disminuyeron con respecto a la segunda prueba, pero aumentaron en cuanto a la primera, lo anterior con el objetivo de probar una concentración intermedia, capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, además para los tratamientos B y D se diluyo el DMSO al 50% con agua destilada, esto para comprobar que la efectividad no se relacione con el solvente orgánico y sino con los compuestos. Se prepararon cada una de las cepas como se describió previamente, consiguiendo las siguientes transmitancias: *Escherichia coli* 79.1%, *Salmonella entérica* 79.0% y *Staphylococcus aureus* 79.5%. Cabe mencionar que para este punto ya no se trabajó con *Pseudoma aeruginosa* dado que la bacteria murió y no se pudo replicar. En el cuadro No.7 se tiene las UFC/mL de control inicial para la tercera prueba y en el cuadro No.8 las UFC/mL obtenidos una vez que se usaran los tratamientos a 2 min.

Cuadro No.7. UFC obtenidas del control inicial en la tercera prueba del desafío bacteriano.

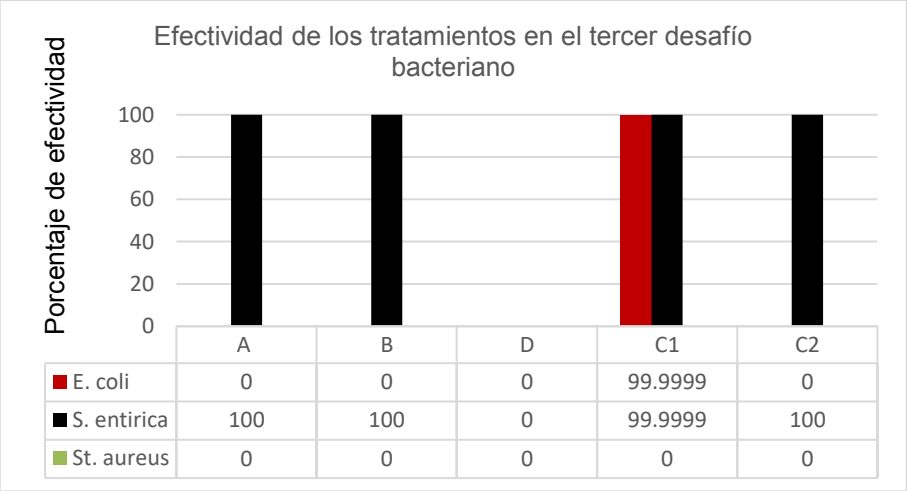
Bacterias	Transmitancia	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
E. coli	79.1%	99	37	3
S. entérica	79.0%	94	16	2
St. aureus	79.5%	85	11	0

Cuadro No.8. Efectividad de los tratamientos en la tercera prueba del desafío bacteriano a 2 min.

Bacteria	A UFC/mL	B UFC/mL	D UFC/mL	C_1 UFC/mL	C_2 UFC/mL
E. coli	Incontable	Incontable	Incontable	72	Incontable
S. entirica	0	1	Incontable	11	0
St. aureus	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable

En la mayoría de los tratamientos presentaron un crecimiento incontable en cada una de las cepas, a excepción *S. entérica.* donde casi todos los tratamientos fueron efectivos excluyendo al tratamiento D y el tratamiento C_1 que fue efectivo contra *E. coli*. A 2 minutos de desafío. Por su parte el tratamiento D no fue efectivo para ninguna de las cepas desafiadas teniendo crecimiento de UFC >250 (incontable). En la primera prueba se presentó una concentración baja la cual fue poco efectividad, en la segunda prueba se presentó una concentración alta consiguiendo un mejor resultado en la mayoría de las cepas y en esta última fue una intermedia, se presentó una baja efectividad en comparación de la prueba anterior. Aplicando la fórmula de la NMX, se logró obtener

el porcentaje de efectividad en la mayoría de los tratamientos e inclusive para *E. coli* en el tratamiento C_1.



	A	B	D	C1	C2
E. coli	0	0	0	99.9999	0
S. entirica	100	100	0	99.9999	100
St. aureus	0	0	0	0	0

Gráfica No.3. Efectividad de los tratamientos en el tercer desafío bacteriano.

CONCLUSIONES

Los compuestos de coordinación a bajas concentraciones presentan nula efectividad, como lo observado en la primera prueba. Las sales de los tratamientos (C_1 y C_2) por si sola presenta cierta efectividad contra las cepas, aunque los compuestos tienen una mejor respuesta, como se observó en la segunda prueba bacteriana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bustamante Lara Tzatzil Isela, Tellez Sanchez Fernando, Rodrígez Haros Benito, Vargas Tavares Juan Manuel, Reyes Becerra Dulce Maria y Rosa Vargas Rocío. (2022). ¿Es México competitivo en el en comercio internacional de la carne de pollo? *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional, No.33*, 3.
2. Ruíz, B. (2022). Producción avícola en Jalisco en el contexto de latinoamericano. *Industria Avícola*, 22-25.
3. Rabie Nagwa y Amin Girh Zeinab. (2020). Bacterial vaccine poultry. *National Research Center*, 1, 2.
4. Lara M., Torres M., Baez M. y ALbertini S. (2019). *Aspectos generales del uso de antimicrobianos y su interación con el medio ambiente: una problematica emergente.* Paraguay.
5. Maciel Flores Cristhian Eduardo, Lorenzo Álvarez Juan Antonio y Bivián Castro Egla Yareth. Recently Reported Biological Activities and Action Targets of Pt (II) and Cu (II) Based Complexes. MDPI (Molecules, 2024).
6. Lopez Peinado Antonio José, P. M. (2020). *Introducción a los compuestos de coordinación y organometálicos.* Madrid: UNED.
7. Basolo Fred, Johnson C. Ronald. (2020). *Química de los compuestos de coordinación.* Barcelona: Reverté.
8. BIOAGROPECUARIO. (2019, Mayo 29). *Avicultura mexicana, capaz de abastecer pollo al mercado*. BIOAGROPECUARIO. Disponible en: https://brioagropecuario.com/2019/05/29/avicultura-mexicana-capaz-de-abastecer-pollo-al-mercado-nacional-una/. Accesado el 15/05/25.

9. Avicultura. (2023). *Salud aviar*. Avicultura. Disponible en: https://avicultura.com/sacrificadas-151-000-ponedoras-en-mexico-por-gripe-aviar/. Accesado el 15/05/25.

10. Uriarte Louge, E. Lepoldo. (2016). *Circulación y caracterización molecular de Rotavirus y Escherichia coli asociado a la diarrea neonatal y septicemia en terneros*. Disponible en Semantic Scholar: https://www.semanticscholar.org/paper/Circulaci%C3%B3n-y-caracterizaci%C3%B3n-molecular-de-y-coli-a-Uriarte-Leopoldo/8f504a7f0aadf873997805f63f0ffa6cace7da26. Accesado el 18/05/23.

11. Parvej, S. (2013). *Isolation, Identification and Molecular of Characterization of Poultry Salmonella*. Research Gate Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/297563780_Isolation_Identification_and_Molecular_Characterization_of_Poultry_Salmonella. Accesado el 18/05/25.

12. Centorrino, F. (2019, Julio 5). *Pseudomonas aureginosa*. Microbiologia Italiana. Disponible en: https://www.microbiologiaitalia.it/batteriologia/pseudomonas-aeruginosa/. Accesado el 18/05/25.

13. Centorrino, F. (2019, Enero 25). *Staphylococcus aureus*. Microbiologia Italiana. Disponible en: https://www.microbiologiaitalia.it/batteriologia/staphylococcus-aureus/. Accesado el 18/05/25.

14. Lee, R. (2020). Distinguishing pathovars from nonpathovars: escherichia coli. *Microbiology Spectrum, No. 8*, 2-3.

15. Catalá Gregori Pablo y Barragán Cos José Ignacio. (2020). *Principales retos en avicultura:nutrición e integridad de la barrera intestinal.* Servet.

16. Ceballos Reina, M. Y. (2020). Colibacilosis septica en pollos de engorde. *Universidad de Pampola*, 33.

17. Pulido, M. (2019). *Diagnóstico e Identificación de serotipos de salmonella a partir de muestras de avicultura: importancia de un buen muestreo.* Misisipi: Universidad Estatal de Misisipi.

18. Parra Muñoz, K. S. (2023). Salmonella en huevos de gallina y su impacto en la salud. *Universidad Técnica Babahoyo*, 11-12.

19. Tuon Felipe Francisco, Ramos Dantas Leticia, Hansen Suss Paula y Tasca Ribeiro Victoria Standler. (2022). Pathogenesis of the Pseudomona aureginosa biofilm. *MDPI*, 1-19.

20. El-Ghany, W. A. (2021). Pseudomona aureginosa infection of avian origin: zoonosis and one health implication. *Open Access*, 2155-2159.

21. Hamada Ghada, Eid Hamza I., Nasef Soad A. y Eidaroos Nada H. . (2022). Phenotypic characterization of extensively drug resisntant Pseudomona aureginosa (XDR) from broiler chickens in Sharkia Province. Egypt. *SCVJM*, 281-290.

22. Peña Maldonado, J. A. (2022). Pseudomoniasis en aves de engorde línea Ros App en la granja granada. *Pasantía Operadora Avicola Colombia*, 39.

23. Paschova Garzón J, Ramírez Martínez S., Muñoz Molina L., (2019). Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismo de patogenecidad y colonización celular. NOVA, 25-38.

24. Winter Alexandra L. y Moses Miachel A. (2023). *El manual de Merck de veterinaria.* Rahway: Edra.

25. Unigwe C.R., Njoku C., Orakwue O. (2022). Effects of diet supplementation with copper sulphate on grwoth performance and heamatological parameters os broiler chickens. *Nigerian J. Aim*, 154-162.

26. Sahu R., Padhi S.K., Jena H.S., Manivannan V. (2010). Conversion of 2 (aminomethyl) substituted prydine and quinoline to their dicarbonyldiimides using copper (II) acetate. *Inorganic Chimica Acta*, 1448-1453

27. Kamiyama A., Noguchi T., Kajiwara T., Ito T. (2002). Syntheses, structures, and properties of trinuclear complexes [M (bpca)2{M'(hfac)2}2], constructed with the complexed bridging ligand [M(bpca)2] [M, M'= Ni(II), Mn(II); Cu(II), Mn(II); Fe(II), Mn(II); Ni(II), Fe(II); and Fe(II), Fe(II); Hbpca= bis(2-pyrid. *Inorganic Chemistry*, 507-512.

28. *NOM-092-SSA1-1994: Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placas.* . (12 de Diciembre de 1995). Disponible en SEGOB: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995#gsc.tab=0. Accesado el 16/05/25.

29. *NOM-110-SSA1-1994: Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para analisis microbiologicos*. (21 de Diciembre de 1995). Disponible en dof: http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69533.pdf. Accesado el 16/05/25.

30. *NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de las bacterias coliformes. Técnica del número mas probable.* (15 de Agosto de 1994). Disponible en SEGOB: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4728925&fecha=15/08/1994#gsc.tab=0. Accesado el 16/05/25.

31. *NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.* (25 de Agosto de 1995). Disponible en SEGOB: http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69536.pdf. Accesado el 16/05/25.

32. *NMX-BB-040-SCIFI-1999: Métodos Generales de Análisis. Determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas*. (2019). Obtenido de https://persanactive.files.wordpress.com/2019/04/nmx-bb-040-scfi-1999.pdf. Accesado el 16/05/25.

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE MAGNESIO MEDIANTE EXTRACTO ACUOSO DE *Eucalyptus Globulus*

José Alberto Buenrostro Ramírez[1,2], Jenny Arratia-Quijada[1], Karla Janetté Nuño Anguiano[3], Angélica Villarruel López[2]

[1]Departamento de Ciencias Biomédicas. Centro Universitario de Tonalá, Universidad de Guadalajara, Nuevo Perif. Ote. 555, Ejido San José, Tateposco, Tonalá, Jalisco. C.P. 45425. [2]Departamento de Farmacobiología. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, Blvd. Gral. Marcelino García Barragán 1421, Olímpica, Guadalajara, Jalisco. C.P. 44430. [3]Departamento de Educación, Psicología y Salud. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente, Periférico Sur Manuel Gómez Morín # 8585, Tlaquepaque Jalisco, C.P. 45604.
angelica.vlopez@academicos.udg.mx

RESUMEN

En las últimas décadas, las nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos han despertado interés debido a sus diversas aplicaciones en múltiples campos. En particular, el óxido de magnesio (MgO) que ha mostrado propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antiinflamatorias, antioxidantes, larvicidas, además de su baja citotoxicidad y su potencial en procesos de biorremediación. Estas características han impulsado su uso en una amplia gama de sectores, incluyendo la electrónica, donde se emplean en la fabricación de sensores; la agricultura, como fungicidas y nutrientes para cultivos; y en remediación ambiental para la purificación de agua y la absorción de metales pesados. Asimismo, en el ámbito biomédico y en la industria alimentaria, donde se ha utilizado como agente antioxidante y antimicrobiano.

La síntesis tradicional de NPs emplea el uso de solventes que resulta en costo de producción altos, impacto medioambiental negativo y menor estabilidad de NPs. Como una alternativa surge la síntesis verde, la cual se realiza mediante el uso de extractos de plantas, hongos, levaduras o bacterias que funcionan como agentes reductores y estabilizadores representando una opción ecológica, biocompatible, escalable y rentable. Uno de los extractos utilizados para este fin, es el de *Eucalyptus globulus* (EG), en cuyo aceite esencial se encuentran compuestos fenólicos y terpenos como el 1,8-cineol, α-pineno, aromadendreno y o-cimeno entre otros, los cuales permitirían la síntesis de las NPs al actuar como agentes reductores y estabilizadores.

Por lo anterior, la presente investigación tiene como objetivo obtener NPs de MgO mediante síntesis verde usando un extracto acuoso de *Eucalyptus globulus*. Para ello se realizó una síntesis verde por reducción de Nitrato de magnesio ($Mg(NO_3)_2$) por medio del extracto de EG. La caracterización de las NPs de MgO se realizó mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS) y difracción de rayos X (DRX).

Los resultados del FTIR muestran bandas de vibración para óxidos metálicos además de presentar grupos funcionales C-N, C=C, C≡C y O-H, los cuales corresponden a las NPs de MgO, $Mg(OH)_2$ y al extracto. En cuanto a la DRX muestran una estructura cristalina coincidiendo con las cartas cristalográficas JCPDS no. 89-7746 y JCPDS 44-1482 indicando la presencia de NPs de MgO y de su precursor el hidróxido de magnesio ($Mg(OH)_2$). Con respecto al UV-VIS se identificaron picos máximos que coinciden con espectros teóricos y mostrando estabilidad durante 48 días. Por lo que se concluye que la síntesis verde mediante el uso de extracto de EG a 80°C es una alternativa ecológica para la síntesis de NPs de MgO y $Mg(OH)_2$, identificando la necesidad de aplicar un tratamiento térmico a mayores temperaturas para la obtención eficaz de NPs de MgO.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas (NPs) son materiales donde al menos una de sus dimensiones se encuentra en el rango de 1 a 100 nanómetros, las cuales presentan propiedades físico-químicas distintas a las observadas en partículas de mayor tamaño, como una alta relación superficie-volumen, mayor reactividad, comportamiento óptico y magnético singular (Klaine et al., 2008). Estas características hacen que las NPs tengan aplicaciones en diversas áreas, como la medicina, la remediación ambiental, la agricultura y el desarrollo de nuevos materiales (Iravani, 2011).

En las últimas décadas, las nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos han despertado interés debido a sus diversas aplicaciones en múltiples campos. En particular, el óxido de magnesio (MgO) que ha mostrado propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antiinflamatorias, antioxidantes, larvicidas, además de su baja citotoxicidad y su potencial en procesos de biorremediación. Estas características han impulsado su uso en una amplia gama de sectores, incluyendo la electrónica, donde se emplean en la fabricación de sensores; la agricultura, como fungicidas y nutrientes para cultivos; y en remediación ambiental para la purificación de agua y la absorción de metales pesados (Ramesh et al., 2016). Asimismo, en el ámbito biomédico y en la industria alimentaria se destaca su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y dañar las membranas celulares de microorganismos patógenos lo que las convierte en una herramienta eficaz en el combate contra bacterias resistentes.

La síntesis tradicional de NPs emplea el uso de reactivos tóxicos que resulta en costo de producción altos, impacto medioambiental negativo y menor estabilidad de NPs (Ahmed et al., 2016). Como una alternativa surge la síntesis verde, la cual se realiza mediante el uso de extractos de plantas, hongos, levaduras o bacterias que funcionan como agentes reductores y estabilizadores representando una opción ecológica, biocompatible, escalable y rentable (Hassan et al., 2021). Este enfoque busca minimizar el uso de compuestos peligrosos, reducir los residuos generados y promover el uso de recursos renovables.

Uno de los extractos utilizados para este fin, es el de *Eucalyptus globulus* (EG), en cuyo aceite esencial se encuentran compuestos fenólicos y terpenos como la quercetina, ácido gálico, ácido clorogénico, 1,8-cineol, α-pineno, aromadendreno y o-cimeno entre otros (González, 2018), los cuales permitirían la síntesis de las NPs de óxidos metálicos al actuar como agentes reductores y estabilizadores (Ali et al., 2021). El extracto acuoso de *Eucalyptus globulus*, en particular, ha demostrado ser eficaz en la síntesis de nanopartículas debido a su riqueza fitoquímica y fácil disponibilidad (Puig, 2018).

Por tanto, en este trabajo se presenta la propuesta de utilización de extracto de *Eucalyptus globulus* en la síntesis de MgO-NPs como una estrategia eficiente y ecológica para obtener nanopartículas funcionales con un amplio espectro de aplicaciones tecnológicas y biomédicas.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del extracto

Se obtuvieron hojas sin daños, maduras y frescas de *Eucalyptus globulus* de árboles maduros ubicados dentro del Centro Universitario de Tonalá de la Universidad de Guadalajara.

Las hojas se lavaron conforme a lo descrito por Shalaby (2022), se secaron a 40°C durante 72 horas continuas en un horno (Binder FD 23). Una vez secas se molieron en una licuadora industrial (Torq 2.0) aproximadamente a 10,000 rpm durante 4 ciclos de 2.5 min cada uno. Para preparar el extracto se usaron 10 g de polvo de hojas secas y se colocaron en 100 mL de agua bidestilada, se calentó a 60°C con agitación constante a 600 rpm durante 60 min. Posteriormente, se filtró con un filtro Whatman N. 4 (Nelwamondo, 2023) mediante una bomba de vacío (Millipore, WP6211560). Finalmente, el extracto se centrifugó a 4,000 rpm durante 20 min (Centrífuga Hermle, Z364) y se procedió a secar en horno (Binder FD 23) a 60°C durante 48 horas. El material obtenido se pulverizó

para su almacenamiento a temperatura ambiente en un desecador hasta su uso (Hernández, 2021)

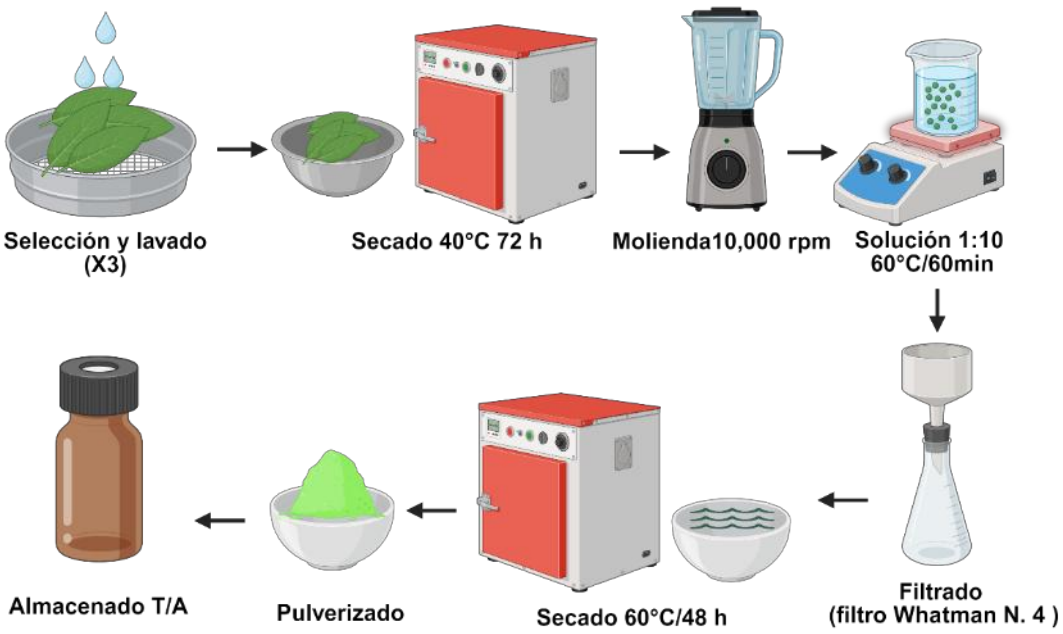


Figura 1. Elaboración de extracto de *Eucalyptus globulus*. Elaboración propia creado con BioRender.com

(Figura 1).

Síntesis de nanopartículas

Se obtuvieron NPs por el método de síntesis verde a partir de la reducción de sales metálicas de Nitrato de magnesio $Mg(NO_3)_2$ (Golden Bell, pureza del 99.5%) (Figura 2). Se preparó una solución de sales metálicas al 0.1 M y se agregó 1:10 de extracto de EG reconstituido (0.02 g/mL), se ajustó el pH a 8 y se mantuvo en agitación a 300 rpm y 80°C durante 6 horas continuas (Shalaby, 2022). Una vez a temperatura ambiente, se lavaron tres veces a 4,000 rpm durante 20 min. Se colocaron en cápsulas de porcelana y se secaron a 60°C durante 72 horas en el horno (Binder, ED53-UL).

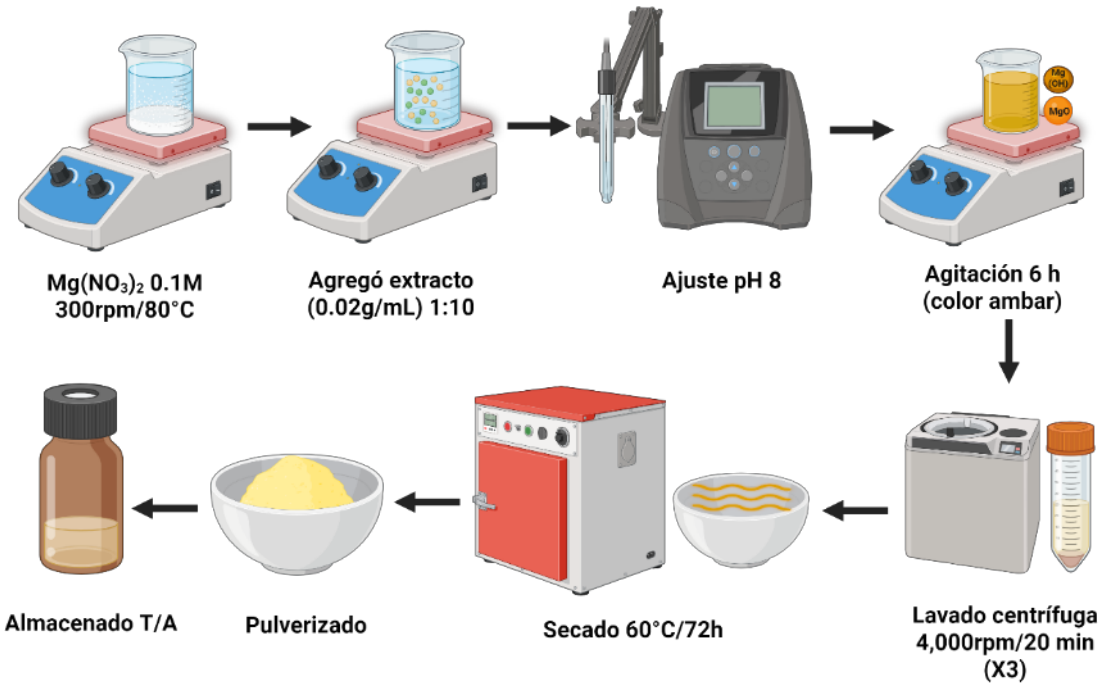


Figura 2. Síntesis de Nanopartículas de Óxido de magnesio. Elaboración propia creado con BioRender.com

Caracterización de las nanopartículas

Las muestras se sometieron a estudios estructurales y morfológicos mediante técnicas de caracterización fisicoquímica como espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) en el rango de 4000 a 500 cm^{-1} con un espectrómetro Bruker, modelo Alpha II para identificar los tipos de enlaces entre átomos y determinar la presencia de grupos funcionales, espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS) en un rango de 200 a 600 nm (Jasco V-700) para identificar el pico de resonancia de plasmón superficial (SPR) (Andrade, 2022), difracción de rayos X (DRX) (Panalytical-Empyrean) para determinar aspectos estructurales como la cristalinidad, el cual utiliza radiación CuKα de longitud de onda de 1,54 nm en el rango 2θ de 5°–80° con un tiempo de 20 segundos (Rotti, 2023).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El espectro FTIR (Figura 3) muestra bandas relacionadas con la formación NPs de MgO e hidróxido de magnesio ($Mg(OH)_2$), precursor de las NPs de MgO, a partir de la reducción química con extracto de *Eucalyptus globulus.* En la Figura 3, se observa una banda ancha en la longitud de onda 3323 cm^{-1} atribuida a las vibraciones del grupo O-H, relacionado al agua absorbida por la muestra y a compuestos fenólicos presentes en el extracto vegetal. La banda 2105 cm^{-1} se asocia con la presencia enlaces C≡C comúnmente atribuidos a grupos alquinos propios de terpenos no saturados del extracto. Por otro lado, en la región 1635 cm^{-1} se presenta una banda asociada al estiramiento del grupo C=C relacionado a estructuras aromáticas de compuestos fenólicos. La señal en 1347

cm^{-1} se atribuye al enlace C-N del grupo amino comúnmente involucrados en la estabilización de las NPs. Finalmente se observa un estiramiento en la banda 586 cm^{-1} característica del hidróxido

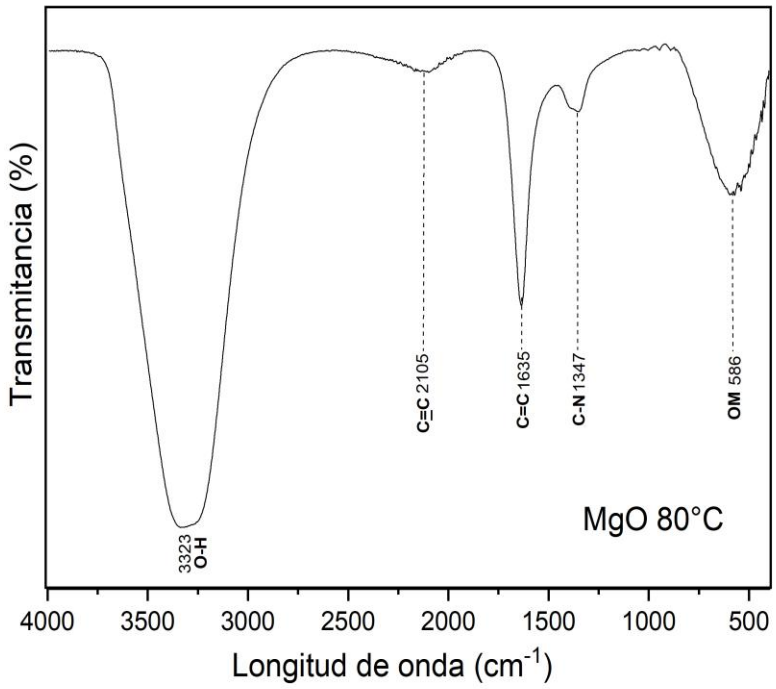


Figura 3. Espectro FTIR de nanopartículas de Óxido de magnesio

de magnesio y de los óxidos metálicos, evidencia clave de la formación de NPs de MgO. Por otro lado, Zahir en 2019 identificó señales en las bandas 3697 cm^{-1}, 2876 cm^{-1},2361 cm^{-1},1421 cm^{-1}, 854 cm^{-1} y 542 cm^{-1} tanto para MgO como para $Mg(OH)_2$ presentando coincidencias con las reportadas en la presente investigación.

El difractograma DRX (Figura 4) presenta un patrón que concuerda con una estructura cúbica de MgO tipo periclasa, de acuerdo con la carta cristalográfica JCPDS 89-7746. Asimismo, se encontró concordancia con la carta cristalográfica JCPDS 44-1482, la cual corresponde a la estructura del Mg $(OH)_2$ como precursor de las NPs de MgO, evidenciando una síntesis parcial de las NPs de MgO. Los picos de difracción más intensos y relacionados a las NPs de MgO se ubican en los grados 2θ 36.9°, 42.9° y 62.3° correspondientes a los planos (111), (200) y (220) con ausencia de las señales en los grados 2θ 74.7° y 78.6° correspondiente a los planos (311) y (222) atribuido a la presencia de picos de menor intensidad y a interpolación con señales difusas menos cristalinas, lo que sugiere la adsorción de compuestos orgánicos del extracto. Por otro lado, se identifican señales relacionadas con el Mg $(OH)_2$ en los grados 2θ 18.5°, 34.1°, 38°, 50.8° y 58.6° los cuales corresponden a los planos (001), (100), (101), (102) y (110), respectivamente. Los resultados concuerdan con lo reportado por Yousefi en 2021 donde se identificaron picos en los planos (111), (200), (220), (311) y (222) para las NPs de MgO y los planos (001), (100), (101), (102), (110), (111), (103), (201) y (202) evidenciando la formación de la estructura cristalina hexagonal del Mg $(OH)_2$.

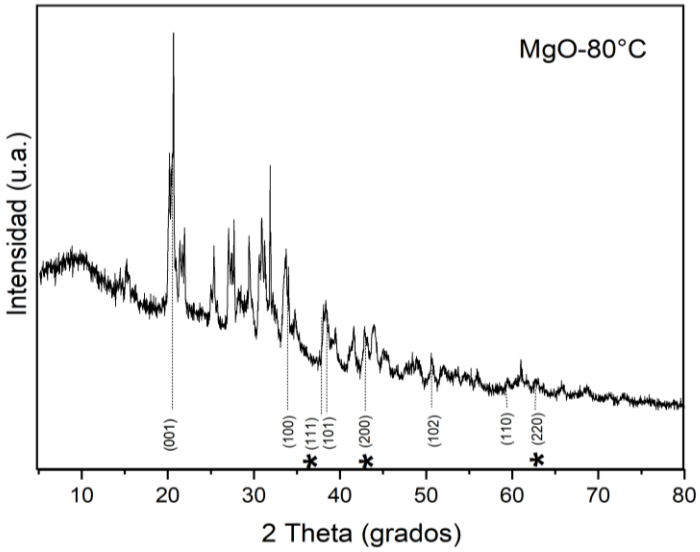


Figura 4. Difracción de rayos X. * NPs de MgO / Mg $(HO)_2$

El espectro UV-Vis (Figura 5) presenta un pico máximo de absorbancia a los 216 nm que corresponde a las NPs MgO presentando un ligero desplazamiento hacia longitudes menores respecto a los reportados por Nisa en 2023, lo cual se atribuye a la interacción de moléculas orgánicas del extracto o a un tamaño menor de partícula. Tras el análisis de UV-Vis durante 48 días se evidenció la estabilidad a través del tiempo de las nanopartículas, indicando que el extracto permite conservar las NPs estables con respecto al tiempo.

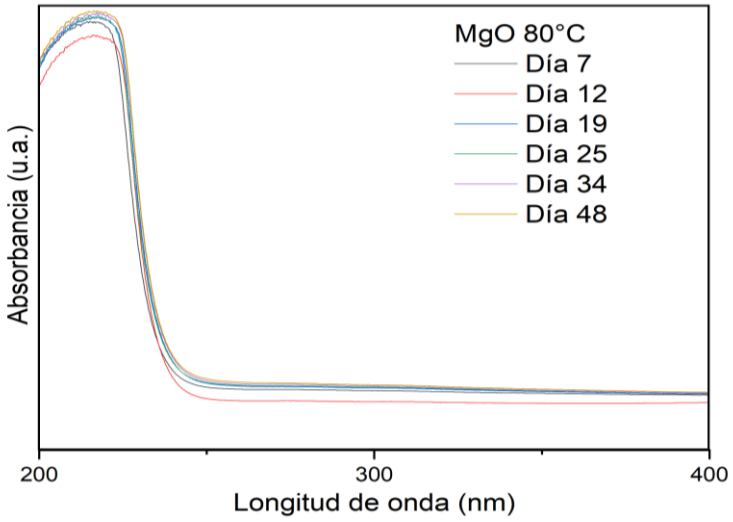


Figura 5. Espectro UV-Vis de nanopartículas de Óxido de magnesio

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman la síntesis verde de nanopartículas de óxido de magnesio (MgO) a partir de extracto acuoso de *Eucalyptus globulus*, evidenciándose la formación de MgO junto con su precursor, $Mg(OH)_2$. Las técnicas de caracterización fisicoquímica confirmaron la formación de las nanopartículas estabilizadas con compuestos orgánicos propios del extracto. En conjunto, estos resultados sugieren que el extracto de *Eucalyptus globulus* contiene compuestos que actúan como agentes reductores y estabilizantes eficaces para la síntesis de NPs de MgO. Se requiere optimizar las condiciones de reacción, particularmente el tratamiento térmico, para lograr una conversión completa desde $Mg(OH)_2$ hacia óxido de magnesio puro y con alta cristalinidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. Journal of Advanced Research, 7(1), 17–28. https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007
2. Ali, A., Zafar, H., Zia, M., Ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. Nanotechnology, science and applications, 9, 49–67. https://doi.org/10.2147/NSA.S99986
3. González-Burgos, E., Liaudanskas, M., Viškelis, J., Žvikas, V., Janulis, V., & Gómez-Serranillos, M. P. (2018). Antioxidant activity, neuroprotective properties and bioactive constituents analysis of varying polarity extracts from Eucalyptus globulus leaves. Journal of food and drug analysis, 26(4), 1293–1302. https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.05.010
4. Hassan.et al. (2021). Rhizopus oryzae-Mediated Green Synthesis of Magnesium Oxide Nanoparticles (MgO-NPs): A Promising Tool for Antimicrobial, Mosquitocidal Action, and Tanning Effluent Treatment. Journal of Fungi, 7(5),372.https://doi.org/10.3390/jof7050372
5. Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. Green Chemistry, 13(10), 2638–2650. https://doi.org/10.1039/c1gc15386b
6. Klaine, S. J., Alvarez, P. J. J., Batley, G. E., Fernandes, T. F., Handy, R. D., Lyon, D. Y., ... & Lead, J. R. (2008). Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(9), 1825–1851. https://doi.org/10.1897/08-090.1
7. Nisa, F. Y., Rahman, M. A., Saha, S., Ahmed, A. M. A., Rafi, M. K. J., Sultana, F., Majid, M., & Choudhury, T. R. (2023). Unraveling Tamarindus indica Pulp-Derived Green Magnesium Oxide Nanoparticles for Cardioprotective Potential against Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy: A Comprehensive Biochemical and Gene Expression Study. ACS omega, 8(48), 45626–45644. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05851
8. Puig CG, Reigosa MJ, Valentão P, Andrade PB, Pedrol N (2018) Descubriendo el potencial bioherbicida de Eucalyptus globulus Labill: Bioquímica y efectos de su extracto acuoso. MÁS UNO 13(2): e0192872. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192872
9. Ramesh, M., Anbuvannan, M., & Viruthagiri, G. (2016). Green synthesis of ZnO nanoparticles using Solanum nigrum leaf extract and their antibacterial activity. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 136, 864–870. https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.09.105
10. Yousefi, S., Ghasemi, B. y Nikolova, MP. Caracterización optoestructural de nanoestructuras de $Mg(OH)_2$ y MgO sintetizadas mediante un método sonoquímico sin plantilla. Appl. Phys. A 127 , 549 (2021). https://doi.org/10.1007/s00339-021-04605-7
11. Zahir, MH, Rahman, MM, Irshad, K. y Rahman, MM (2019). Materiales de cambio de fase con estabilización de forma para el almacenamiento de energía solar: MgO y $Mg(OH)_2$ mezclados con polietilenglicol. Nanomaterials , 9 (12), 1773. https://doi.org/10.3390/nano9121773

EL PAPEL DEL ANÁLISIS CRISTALOGRÁFICO DE PEPTIDOMIMÉTICOS EN EL DISEÑO DE MATERIALES TECNOLÓGICOS Y FARMACÉUTICOS

Fredy Geovannini Morales Palacios, Jovanna Iveth Contreras García, Rafael Herrera Bucio, Judit A. Aviña Verduzco y Stephanie García Zavala

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
1106886k@umich.mx

RESUMEN

El diseño de materiales tecnológicos y farmacéuticos depende del conocimiento detallado de su estructura en estado sólido. En este sentido, los peptidomiméticos—moléculas diseñadas para imitar la estructura y función de los péptidos—son de particular interés debido a su capacidad para formar arreglos supramoleculares específicos, lo que influye en sus propiedades fisicoquímicas y potenciales aplicaciones. La cristalografía de rayos X de monocristal permite identificar cómo estos compuestos se organizan en estructuras tridimensionales secundarias como láminas, cintas o hélices, determinadas por contactos supramoleculares como los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals. Comprender estas disposiciones resulta fundamental para optimizar su estabilidad, reactividad y aplicabilidad en campos como la farmacéutica, la biotecnología y la química de materiales. Para comprender estos fenómenos, la combinación de técnicas experimentales y computacionales ha resultado esencial, permitiendo una caracterización detallada de la organización cristalina y sus contribuciones energéticas. Mediante la síntesis de tres peptidomiméticos funcionalizados del tipo hidantoína y ureidopéptido, su cristalización y análisis por difracción de rayos X en monocristales ha identificado parámetros cristalográficos clave, como distancias interatómicas, ángulos de enlace y patrones de empaquetamiento. A su vez, la aplicación de cálculos in silico, basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) mediante el algoritmo Tonto en CrystalExplorer, ha permitido cuantificar la distribución energética dentro de la red cristalina, desglosando sus contribuciones en términos de energía electrostática, polarizada, de dispersión y de repulsión, donde el análisis topológico de las mismas proporciona los parámetros matemáticos precisos que establecen una base sólida para futuras aplicaciones industriales. Los resultados obtenidos demuestran que los peptidomiméticos sintetizados adoptan distintas disposiciones cristalinas según su naturaleza estructural. El núcleo hidantoína presenta una organización helicoidal estabilizada por dímeros mediante energías que sugieren aplicaciones en materiales con propiedades mecánicas especializadas y estructuras biomiméticas. El núcleo ureidopéptido permite estructuras del tipo cinta respondiendo al equilibrio entre interacciones electrostáticas y de Van der Waals, prometedoras para el desarrollo de fármacos de liberación controlada y materiales biocompatibles. El análisis cristalográfico de peptidomiméticos—energético y estructural—mostró que la estabilidad en estado sólido y función dependen del balance preciso entre sus interacciones supramoleculares, estableciendo parámetros cuantificables para su futura aplicación. La comprensión de los factores que rigen la estabilidad y disposición estructural en estado sólido es esencial para el desarrollo de fármacos con mejores propiedades de biodisponibilidad, así como para la optimización de materiales tecnológicos con funcionalidades específicas. Estos hallazgos refuerzan la integración de herramientas computacionales con técnicas cristalográficas facilitando la interpretación en la investigación y el desarrollo de nuevos compuestos orgánicos con alto impacto en la ciencia y la industria.

INTRODUCCIÓN

El diseño y desarrollo de materiales tecnológicos y farmacéuticos dependen del conocimiento detallado de su estructura en estado sólido [1]. La cristalografia de rayos X en monocristales es una herramienta esencial para identificar la organización tridimensional de estos compuestos [2], revelando la formación de estructuras secundarias como láminas, cintas o hélices, determinadas por interacciones supramoleculares como los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals[3]. Estas interacciones, que ocurren a nivel molecular dentro de la red cristalina, pueden ser moduladas mediante condiciones específicas de nucleación y cristalización, las cuales dependen,

además, de la funcionalización de la molécula [4]. Esto permite optimizar la estabilidad, reactividad y funcionalidad de los compuestos como los peptidomiméticos para aplicaciones estratégicas en la industria farmacéutica, la biotecnología y la ciencia de materiales [5]. En este contexto, la combinación de técnicas experimentales y computacionales ha resultado fundamental para la caracterización detallada de la organización cristalina y sus contribuciones energéticas, promoviendo el diseño racional de materiales avanzados con propiedades optimizadas para aplicaciones tecnológicas [6].

Ya que el empleo de un grupo ureico es altamente favorable para la generación de estructuras supramoleculares secundarias con propiedades útiles en medicina y tecnología se han elegido a las hidantoínas y los ureidopéptidos por su destacada relación estructural con los aminoácidos y péptidos, así como por su versatilidad sintética, lo que los convierte en un andamiaje ideal para el diseño de peptidomiméticos funcionales [7]. Si evaluamos las características de similitud estructural molecular con medicamentos conocidos y sus efectos, es de especial atención el núcleo de hidantoína ya que su estructura heterocíclica le confiere rigidez y estabilidad, características esenciales para la formación de redes cristalinas bien definidas en estado sólido, y razón por la cual se destaca por entre otros peptidomiméticos. En particular, las hidantoínas funcionalizadas suelen adoptar disposiciones estabilizadas por dímeros a través de interacciones supramoleculares N-H•••O, lo que sugiere aplicaciones en el desarrollo de materiales con propiedades mecánicas especializadas y estructuras biomiméticas [8].

El estudio de estas interacciones y su impacto en la estabilidad del estado sólido se ha potenciado mediante la integración de cálculos computacionales basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) [9]. La aplicación de herramientas como *CrystalExplorer* [10] y el análisis de superficies de Hirshfeld ha permitido cuantificar la distribución energética dentro de la red cristalina, desglosando sus contribuciones en término de energía electrostática, polarizada, de dispersión y de repulsión [11]. Así, los estudios supramoleculares obtenidos se fundamentan sobre parámetros matemáticos cuantitativos que constituyen una base sólida para el diseño racional de materiales funcionales[10]-[12].

La estabilidad y funcionalidad de un compuesto pueden ajustarse mediante la modificación de sus interacciones supramoleculares, lo que se logra incorporando grupos funcionales específicos que dirijan su ensamblaje estructural [13]. Este enfoque permite una planificación experimental precisa para desarrollar materiales con propiedades ajustadas a necesidades tecnológicas. Un ejemplo clave de este avance es la aplicación de DFT en el diseño de materiales utilizados en almacenamiento energético, superconductores, dispositivos fotovoltaicos y materiales termoeléctricos, destacando la capacidad de los métodos computacionales para predecir y optimizar el rendimiento de materiales funcionalizados [14].

El análisis cuantitativo de clústeres moleculares proporciona información esencial sobre propiedades del estado sólido como estabilidad, solubilidad, reactividad, durabilidad y resistencia térmica, permitiendo ajustar los materiales a requerimientos específicos. La integración de metodologías experimentales y computacionales refuerza la relevancia de la cristalografía y el análisis energético en la creación de materiales innovadores, consolidando su papel en la optimización de procesos y en el desarrollo de soluciones científicas de alto impacto tecnológico [15].
En el diseño de materiales avanzados en el estado sólido, tanto en la industria farmacéutica como en la de materiales, el esqueleto hidantoínico ha demostrado ser altamente eficaz [7]. A diferencia de los péptidos naturales corto, que presentan una alta flexibilidad y una menor tendencia a formar puentes de hidrógeno específicos, las hidantoínas ofrecen una estructura rígida que favorece la formación de redes cristalinas bien definidas [16]. Para reforzar esta estabilidad y promover ensamblajes supramoleculares controlados, se ha explorado la incorporación de *D*- y *L*-aminoácidos en la síntesis de hidantoínas funcionalizadas. Esta estrategia ha demostrado ser una de las más eficientes para generar estructuras tridimensionales en estado sólido, como los nanotubos estables formados por autoensamblaje a través de sintones supramoleculares en anillos delgados [17].

La combinación de técnicas experimetales y herramientas computacionales ofrece por tanto un enfoque integral para la predicción y el diseño de materiales funcionales. Estos avances consolidan el uso de hidantoínas como plataformas versátiles para el desarrollo de nuevos compuestos con aplicaciones en diversos procesos tecnológicos, promoviendo la generación de materiales con propiedades optimizadas y una mayor eficiencia en su implementación.

TEORÍA

El análisis de superficies de Hirshfeld permite descomponer el empaquetamiento cristalino de una molécula en función de las interacciones intermoleculares, proporcionando una base cuantitativa para estudiar la organización supramolecular. Este método se basa en la teoría de la promolécula, que aproxima la densidad electrónica total como la superposición de las densidades electrónicas atómicas de los constituyentes aislados:

$$\boldsymbol{\rho_{pro}(r)} = \sum_{\boldsymbol{A}} \boldsymbol{\rho_A\,(r - R_A)}$$

Donde $\boldsymbol{\rho_A}$ es la densidad electrónica del átomo A ubicado en la posición $\boldsymbol{R_A}$, por tanto a partir de esta promolécula, se define la superficie de Hirshfeld como aquella donde la contribución electrónica relativa de la molécula analizada respecto al entorno es del 50%:

$$\boldsymbol{\omega_A(r)} = \frac{\boldsymbol{\rho_A(r)}}{\boldsymbol{\Sigma_B \rho_B(r)}}$$

El peso $\boldsymbol{\omega_A(r)}$ permite generar una partición del espacio que se usa para calcular áreas de contacto, distancias intermoleculares y frecuencias de interacción entre pares de átomos. Posteriormente, programas como *CrystalExplorer* aplican cálculos energéticos basados en DFT para cada par de moléculas dentro de un entorno cristalino, evaluando componentes individuales de la energía de interacción:

$$E_{total} = E_{ele} + E_{pol} + E_{disp} + E_{rep}$$

Donde:

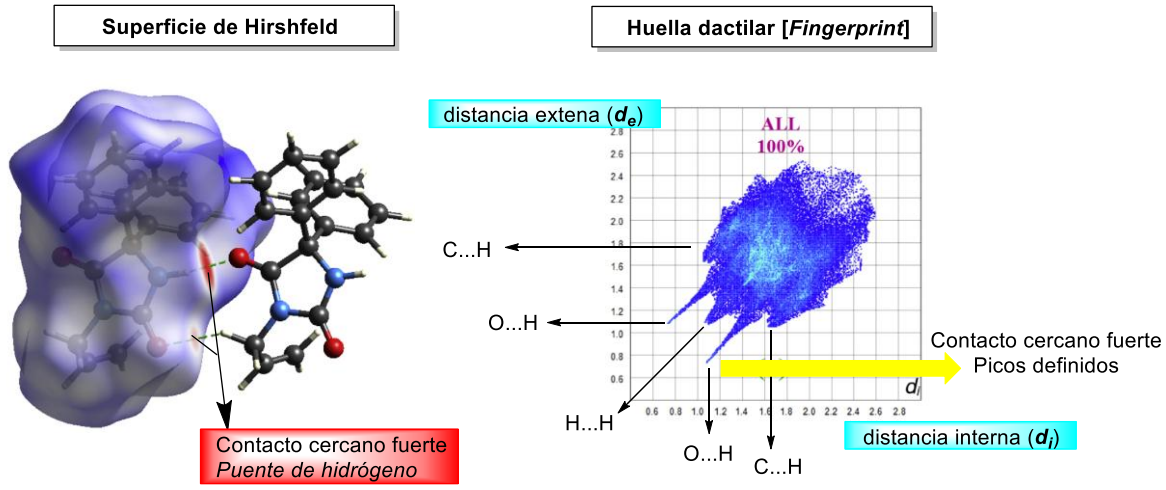
- E_{ele} es la energía electrostática,
- E_{pol} es la energía de polarización,
- E_{disp} es la energía de dispersión,
- E_{rep} es la energía de repulsión.

Esta red de contribuciones energéticas permite visualizar como las interacciones supramoleculares—como puentes de hidrógeno, contactos π-π o apilamientos—determinan la estabilidad y empaquetamiento de una molécula en estado sólido.

Es por ello que, el conjunto completo de contactos cercanos intermoleculares puede evaluarse y clasificarse según la morfología del cristal, utilizando el *Análisis de superficie de Hirshfeld* (esquema 1) para medir las interacciones repulsivas de su región de van der Waals. Esto se debe a que solo unos pocos contactos supramoleculares permiten un acomodo sustentable de las numerosas fuerzas dispersivas, puentes de hidrógeno e interacciones heteroatómicas. Los contactos supramoleculares favorecen la estabilidad al ser compensados por la energía libre proporcionada, lo que resulta en una repetición constante del mismo arreglo simétrico en toda la red cristalina. A diferencia de los enlaces formales, las interacciones intermoleculares débiles, como los puentes de hidrógeno polarizables (C-H⋯O, C-H⋯N, C-H⋯X, O-H⋯π) y otras interacciones heteroatómicas (X⋯X, N⋯X, S⋯X) que son comunes en difractometría, suelen ser más susceptibles a los efectos de interferencia mutua, lo que puede deformar considerablemente la proximidad de los vectores en

la geometría ideal, teniendo efecto directo en las distancias de acercamiento y ángulos característicos.

El análisis de superficies de Hirshfeld permite observar toda la estructura de interacciones moleculares, en lugar de solo concentrarse en las interacciones cortas, dando lugar a un análisis más detallado y, por ende, la diferencia de polimorfos.[79] La manera de hacerlo es determinada por una isosuperficie con regiones de colores, donde el rojo representa las distancias más cortas que la suma del radio de van der Waals, es decir interacciones de corto alcance y altamente favorables como los puentes de hidrógeno, indica que los átomos están muy cerca y se atraen fuertemente. Por otro lado, el color azul representa regiones de espacio libre o alejadas, mientras que el color verde se asocia a las fuerzas de dispersión débiles y las blancas a las regiones neutras o áreas donde las interacciones son más complejas y no se pueden categorizar fácilmente, *i.e.* alrededor de una interacción fuerte.[80]



Esquema 1. Análisis de superficies de Hirshfeld de los contactos cercanos supramoleculares y los elementos de su histograma 2D en la huella dactilar.

El polimorfismo propio de los contactos supramoleculares generado en cada grupo puntual del arreglo cristalino es clasificado eficazmente de manera gráfica bidimensional mediante una huella dactilar de Hirshfeld [*fingerprint*]. Esta huella consta de un histograma 2D, cuya distancia radial desde el centro del histograma representa la distribución de distancia interatómica y el ángulo polar que define la orientación relativa de los átomos de diferentes moléculas en la red cristalina. Las regiones con colores resaltados corresponden a los diferentes tipos de interacciones intermoleculares, donde cada región suele tener una forma característica en el histograma. Los picos representan distancias y ángulos característicos, *i.e.* puentes de hidrógeno, altamente favorables, mientras que los valles indican distancias y ángulos desfavorables o espacio libre donde no hay interacciones significativas. Se representa de manera bidimensional ya que posee una distancia interna (d_i) que se refiere a la región más cercana al centro del histograma, sus puntos representan distancias cortas entre átomos de diferentes moléculas en la red y suelen indicar interacciones intermoleculares fuertes y favorables (*i.e.* puentes de hidrógeno y enlaces covalentes); así como una dimensión o distancia externa (d_e) que es la parte más alejada del centro del histograma 2D, representa distancias más largas entre átomos de diferentes moléculas en la red y a menudo indican regiones de espacio libre o interacciones débiles (fuerzas dispersivas o de van der Waals), suelen ser menos específicas y abarcan una amplia gama de ángulos y distancias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los monocristales de la hidantoína, el ácido 2-(4-isobutil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)acético (**1**), $C_9H_{14}N_2O_4$, utilizados para el experimento de difracción de rayos X se obtuvieron mediante el método de evaporación lenta. Se preparó una mezcla de acetona/metanol en una proporción de 8:2, y la solución se dejó evaporar a una temperatura controlada de aproximadamente 4 °C durante dos semanas. Los cristales resultantes fueron seleccionados utilizando microscopía óptica.

Los datos cristalográficos se recopilaron empleando un difractómetro de rayos X Bruker D8 Venture equipado con un detector PHOTON 2. Los experimentos de difracción se realizaron a temperatura ambiente (22–25 °C). La integración y el escalado de los datos se realizaron utilizando el conjunto de programas APEXIII [18], y el modelo estructural de la hidantoína **1** fue refinado empleando el paquete de software SHELXS [19] mediante métodos directos y refinamiento por mínimos cuadrados completos.

En el refinamiento, todos los átomos no hidrógeno se trataron de manera anisotrópica, mientras que los átomos de hidrógeno se colocaron en posiciones idealizadas calculadas y se refinaron utilizando valores predeterminados de SHELXL [20].

Los parámetros estructurales obtenidos mediante difracción de rayos X en monocristales (XRD) se utilizaron como matriz Z para cálculos químicos cuánticos. Estos cálculos se llevaron a cabo al nivel teórico DFT (B3LYP) con el conjunto de bases B3LYP/6–31G(*d*,*p*) [9], utilizando el paquete de química computacional *Tonto*, integrado en el programa *CrystalExplorer* 17. Este software permitió la visualización de los donadores y aceptores de interacciones intermoleculares mediante regiones de potencial electrostático positivo (azul) y negativo (rojo) en la superficie molecular, además de proporcionar cálculos por pares para evaluar las contribuciones energéticas intermoleculares de toda la red cristalina.

DISCUSION Y RESULTADOS

Las predicciones computacionales fueron rigurosamente llevadas a cabo a partir de los datos cristalográficos de la hidantoína denominada ácido 2-(4-isobutil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)acético (1) (Fig. 1A), la cual fue recristalizada en el grupo espacial ortorrómbico *Pbca*, con *Z*=8 y parámetros de celda a = 5.194(10) Å, b = 11.490(12) Å, c = 35.99(3) Å, α = β = γ = 90°, visualizando claramente su empaquetamiento cristalino en los ejes a y c de la Fig. 1B-C. Además, al comparar estos parámetros con hidantoínas funcionalizadas reportadas en la literatura [7], se observa que la longitud de la arista c es significativamente mayor, lo que sugiere un mayor grado de libertad conformacional en la cadena lateral, proporcionado por su sustituyente Glicina. La marcada anisotropía de la arista c sugiere además la posible formación de canales direccionales que podría influir en la difusión de moléculas o iones dentro del sólido. Dado que *Pbca* es un grupo espacial centrosimétrico se descartan propiedades piezoeléctricas y de segunda armonía óptica, un aspecto clave para aplicaciones optoelectrónicas no lineales. Por último, la flexibilidad conformaciona de la cadena lateral y del núcleo ureico modula las interacciones supramoleculares, provocando variaciones en el empaquetamiento incluso dentro del mismo espacio grupal.

En general, el sistema cristalino de la hidantoína 1 globalmente presenta una disposición ordenada, donde los grupos funcionales amida-ácido carboxílico se encuentran alineados, permitiendo la formación de una red tridimensional altamente estabilizada por interacciones intermoleculares. Debido a esta simetría, al encontrarse en un grupo espacial *Pbca* las moléculas se encuentran orientadas en una disposición alternada y antiparalela dentro del cristal, minimizando las fuerzas de repulsión y favoreciendo las interacciones de estabilización cristalina; por lo tanto, este alto nivel de simetría genera el autoensamblaje cristalino observado en la Fig. 1B-C promoviendo una estructura secundaria que mimetiza aquellas tipo hoja o lámina bidimensionales. La influencia del disolvente

utilizado en la recristalización podría también dar lugar a variantes polimórficas que modifiquen sutilmente este patrón de empaquetamiento [21].

El análisis de la superficie de Hirshfeld de la hidantoína 1, generado a partir de la aplicación de la ecuación (1), resalta la importancia de los contactos cercanos intermoleculares en el empaquetamiento cristalino, con un enfoque particular en las interacciones supramoleculares mediadas por el grupo carboxílico terminal.

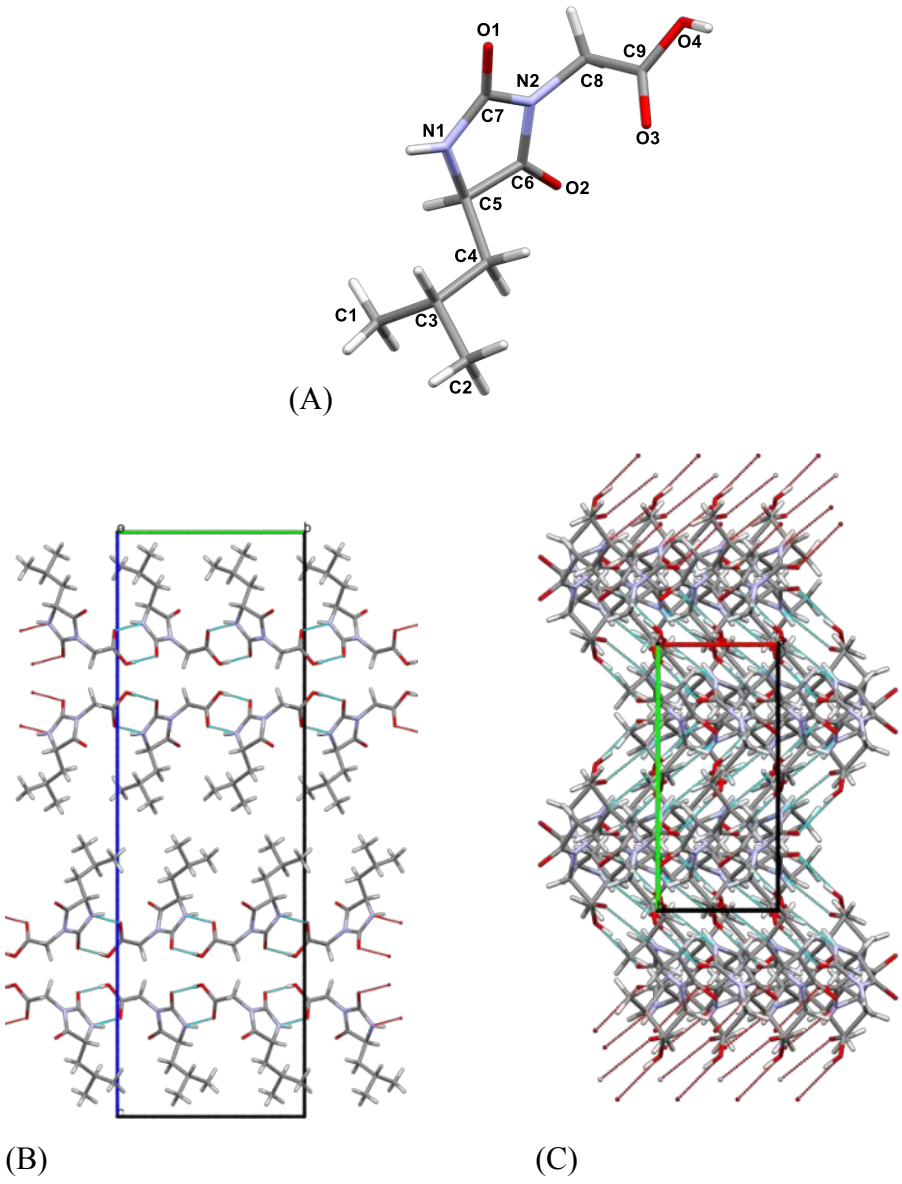


Figura 1. Diagrama tridimensional numerado de la hidantoína 1 (A) y empaquetamiento cristalino visualizado a través del eje *a* mostrando disposición dimérica (B) y sobre el eje *c* mostrando su estructura secundaria (C).

Específicamente, como se observa claramente en la Fig. 2A, la red de interacciones predominantes está conformada por puentes de hidrógeno, representando el 51.1% del total de los contactos H•••H

en el mapa bidimensional de huellas digitales (Fig 2B). En este contexto, los contactos centrosimétricos entre grupos carboxílicos resultan directamente fundamentales para la estabilidad de la red cristalina.

Adicionalmente, se identificaron destacables interacciones no clásicas del tipo C-H•••O. En particular, el grupo metilo de la cadena lateral genera un sinton tipo C-4 (C2-H•••O2=C6, Fig 2C), mientras que el protón quiral en C5-H•••O3=C9, junto con interacciones clásicas como N1-H•••O3=C9, forman un bien definido sinton $\mathbf{R}_2^1(5)$ Fig. 2D. La cooperatividad sinérgica de estas interacciones permite la estabilidad enantioselectiva del sistema y refuerza la organización estructural del empaquetamiento cristalino.

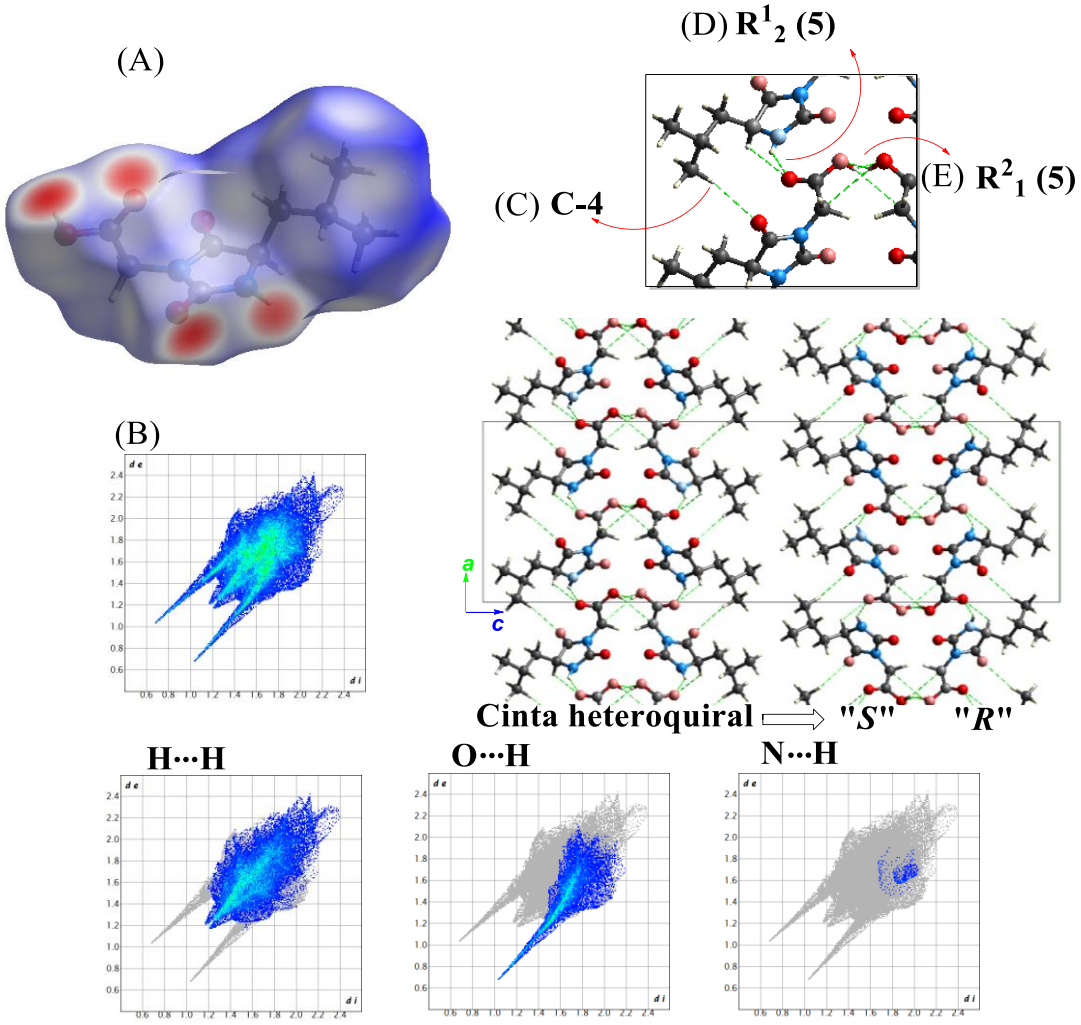


Figura 2. Superficie de Hirshfeld (A), huella digital completa y su distribución en contactos cercanos (B), sintones supramoleculares de la hidantoína **1** (C-E).

El anillo hidantoínico, debido a la presencia del grupo ureico, tiende principalmente a formar α-redes supramoleculares a través de interacciones entre carbonilos [7]. Sin embargo, en el caso particular de la hidantoína 1 este arreglo se ve modificado por la interacción N1-H•••O3=C9 como donador, así como por la funcionalización del compuesto, donde el grupo carboxílico terminal actúa como

aceptor en el isómero contiguo. Este mecanismo asegura una disposición constante molecular entre enantiómeros del mismo tipo, lo que contribuye a la estabilidad cristalina.

Un aspecto evidente en la estructura analizada es la formación de cintas heteroquirales mediante interacciones entre grupos carboxílicos terminales. En estas cintas, los isómeros *R* y *S* generan un definido patrón en forma de hoja o lámina bidimensional, caracterizado por anillos supramoleculares con el sintón $\mathbf{R}_1^2(\mathbf{5})$ (Fig. 2E). Este tipo de organización es de gran interés particular en el diseño de materiales avanzados, ya que proporciona un control estructural preciso mediante enlaces fuertes y direccionales, simultáneamente optimizando propiedades mecánicas y químicas del material.

Además, las cintas heteroquirales exhiben una disposición simétrica y repetitiva que maximiza la eficiencia del empaquetamiento y distribuye de manera homogénea las fuerzas intermoleculares. En particular, los puentes de hidrógeno entre grupos carboxílicos actúan como estratégicos puntos de anclaje, creando una red robusta que contribuye significativamente a la cohesión y la estabilidad del cristal. Desde una perspectiva energética, las cintas heteroquirales permiten descomponer las interacciones intermoleculares en términos de sus contribuciones electrostáticas, de dispersión y de repulsión, lo que facilita la detallada evaluación del balance de fuerzas estabilizadoras en la red cristalina, influyendo directamente en propiedades clave como la solubilidad, la estabilidad térmica y la reactividad química. Además, la regularidad geométrica excepcional de las cintas favorece una distribución uniforme de las contribuciones energéticas, minimizando puntos de tensión y mejorando la durabilidad del material.

Los análisis cuantitativos energéticos, capturados en la tabla 1 y Fig. 3, revelan que la estabilidad cristalina está gobernada por la contribución de interacciones específicas. En particular, las interacciones de menor distancia relativa al centroide, como la ubicada en (x, y, z) con 5.22 Å, exhiben una notable contribución significativa de energía de dispersión (-29.6 kJ/mol) y una energía total de -15.9 kJ/mol. Asimismo, el contacto específico en (-x+1/2, y+1/2, z) con una distancia de 6.08 Å presenta la energía total más estabilizante de -33.1 kJ/mol, atribuida a un fuerte componente de dispersión (-27.4 kJ/mol) y un importante aporte electrostático (-15.0 kJ/mol). Cabe destacar que, aunque la gran mayoría de las interacciones estabilizan la red cristalina, se identificó un contacto a 9.42 Å con una energía de repulsión relativamente alta (2.2 kJ/mol) y una energía total prácticamente cero (-0.1 kJ/mol). Este resultado indica que dicha interacción es débil y tiene un impacto mínimo en la estabilidad global del empaquetamiento. En contraste, interacciones a mayores distancias, como (-x, -y, -z) con 13.63 Å, muestran una energía total casi despreciable (-0.9 kJ/mol), lo que indica su menor relevancia en la estabilización del empaquetamiento.

El sinergismo y cooperatividad de las energías pueden llegar a ser tan significativas como los enlaces covalentes que constituyen al compuesto hidantoínico en cuestión; así mismo, la construcción de la estructura secundaria en moléculas de bajo peso molecular, en conjunto con la disposición estereoquímica "*R*" y "*S*" simulan la disposición tridimensional de los *D*- y L-aminoácidos lo cual en conjunto con el núcleo ureico, son dos modificaciones altamente empleadas para garantizar la estabilidad contra la degradación [17].

Tabla 1. CONTRIBUCIONES ENERGÉTICAS DE LA HIDANTOÍNA 1 (KJ MOL^{-1})

Simetría	Distancia del centroide (Å)	E_{ele}	E_{pol}	E_{disp}	E_{rep}	E_{tot}
x+1/2, y,-z+1/2	7.88	-4.4	-8.2	-17.3	15.9	-15.9
-x+1/2,y+1/2,z	6.6	-30.1	-8.9	-18	47.2	-25
-x,y+1/2,-z+1/2	9.42	3.1	-0.9	-4.6	2.2	-0.1
x,y,z	5.22	5.2	-4.2	-29.6	12.1	-15.9
-x,-y,-z	12.32	1.4	-0.2	-7.4	0	-5
x+1/2,-y+1/2,-z	10.94	-1.1	-0.2	-5	1.8	-4.6
-x, -y, -z	13.63	0.4	-0.1	-1.4	0	-0.9
-x+1/2,y+1/2,z	6.08	-15	-3.3	-27.4	14.7	-33.1

Factor escalar: k_{ele} (1.057); k_{pol} (0.740); k_{disp} (0.871); k_{rep} (0.618)

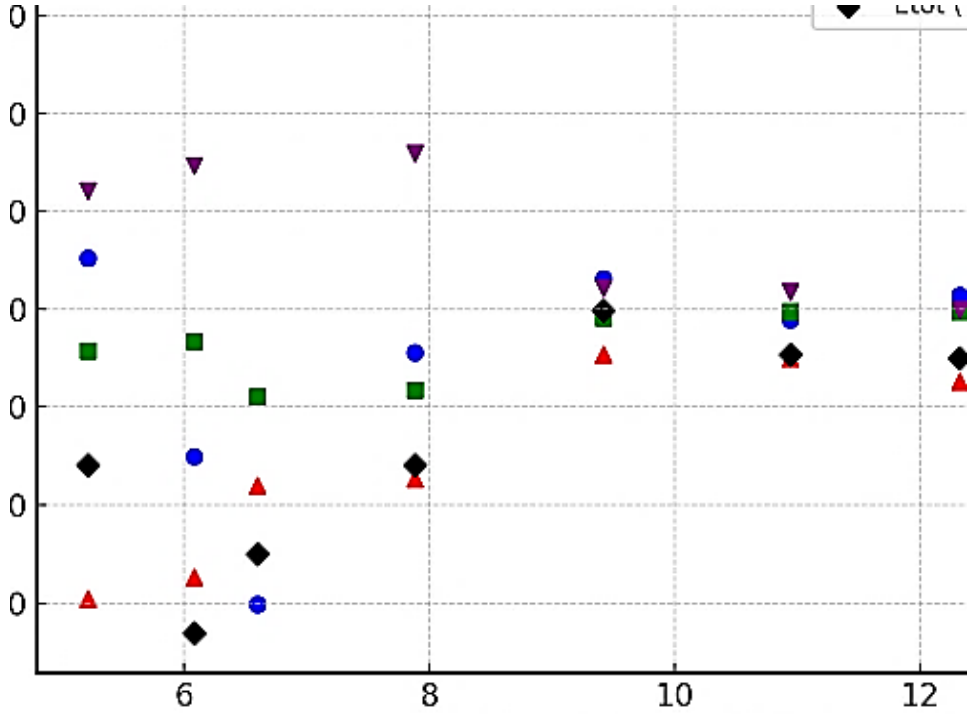


Figura 3. Dispersión lineal de las energías intermoleculares en función de la distancia del centroide.

Complementariamente, estudios térmicos podrían correlacionar estos contactos con transiciones de fase y estabilidad térmica, aportando datos experimentales que validen las predicciones energéticas, aunque ello se encuentra fuera de los alcances del presente artículo.

CONCLUSIONES

Este estudio evidenció que, entre los compuestos analizados, la hidantoína **1** presenta la organización supramolecular más robusta y definida, lo que justifica que el enfoque principal de la discusión se centrara en este sistema. A diferencia de los ureidopéptidos y nitrilos, que si bien generaron datos estructurales de interés, no alcanzaron el mismo nivel de orden y cooperatividad en su empaquetamiento sólido.

La hidantoína cristaliza en un sistema ortorrómbico Pbca y forma cintas heteroquirales estabilizadas por una red cooperativa de enlaces de hidrógeno, donde los grupos carboxílicos terminales actúan como puntos de anclaje que optimizan la densidad del empaquetamiento. El análisis energético

reveló que las contribuciones de tipo dispersivo y electrostático, particularmente en interacciones de corto alcance, son esenciales para la estabilidad del arreglo tridimensional, mientras que las interacciones más distantes tienen un efecto marginal.

Estos resultados demuestran que la combinación de funcionalización molecular y simetría cristalina puede utilizarse como una estrategia eficaz para diseñar materiales sólidos con propiedades supramoleculares predecibles. La capacidad de formar hojas plegadas organizadas ofrece un marco versátil para aplicaciones en sensores, dispositivos optoelectrónicos y almacenamiento energético. En conjunto, este trabajo establece una base estructural y computacional sólida para el diseño racional de peptidomiméticos con funcionalidades específicas, fortaleciendo el vínculo entre química supramolecular y ciencia de materiales.

BIBLIOGRAFÍA

A. K Nangia. and G. R. Desiraju, “Crystal engineering: an outlook for the future”. *Angew. Chem., Int. Ed.,* vol. 58, n.º 13, pp. 4100-4107, 2019.
G. M. Sheldrick, “A Short History of SHELX,” *Acta Crystallogr. A*, vol. 64, pp. 112–122, 2008.
J. A. R. P. Sarma and G. R. Desiraju, “The supramolecular synthon approach to crystal structure prediction,” *Cryst. Growth Des.*, vol. 2, n.º 2, pp. 93–100, 2002.
G. Bolla, B. Sarma, A. K. Nangia, “Crystal engineering of pharmaceutical cocrystals in the discovery and development of improved drugs,” *Chem. Rev.*, vol. 122, n.º 13, pp. 11514–11603, 2022.
L. Konnert, F. Lamaty, J. Martinez, E. Colacino, “Recent Advances in the Synthesis of Hydantoins: The State of the Art of a Valuable Scaffold,” *Chem. Rev.*, vol. 117, pp. 13757–13809, 2017.
C. F. Mackenzie *et al.*, “CrystalExplorer model energies and energy frameworks: Extension to metal coordination compounds, organic salts, solvates and open shell systems,” *IUCrJ*, vol. 4, pp. 575–587, 2017.
K. Padmanabhan, C. M. Reddy, G. R. Desiraju, “Structure–property correlations in bending and brittle organic crystals,” *Cryst. Growth Des.*, vol. 6, n.º 12, pp. 2720–2731, 2006.
M. C. Bellucci *et al.*, “Design, Synthesis, and Conformational Analysis of 3-Cyclo-Butylcarbamoyl Hydantoins as Novel Hydrogen Bond Driven Universal Peptidomimetics,” *Org. Biomol. Chem.*, vol. 16, pp. 521–525, 2018.
A. D. Becke, “Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange,” *J. Chem. Phys.*, vol. 98, no. 7, pp. 5648–5652, Apr. 1993.
P. R. Spackman, M. J. Turner, J. J. McKinnon, S. K. Wolff, D. J. Grimwood, D. Jayatilaka, and M. A. Spackman, “CrystalExplorer: a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals,” *Appl. Crystallogr.*, vol. 54, no. 3, pp. 1006–1011, 2021.
M. A. Spackman y D. Jayatilaka, “Hirshfeld surface analysis,” *CrystEngComm*, vol. 11, pp. 19–32, 2009.
P. R. Spackman *et al.*, “CrystalExplorer: a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals,” *J. Appl. Crystallogr.*, vol. 54, pp. 1006–1011, 2021.
G. R. Desiraju, “Crystal engineering: structure, property and beyond,” *IUCrJ*, vol. 4, pp. 710–711, 2017.
P. Giannozzi *et al.*, “Advanced capabilities for materials modelling with Quantum ESPRESSO,” *J. Phys.: Condens. Matter*, vol. 29, p. 465901, 2017.
M. A. Spackman y J. J. McKinnon, “Fingerprinting intermolecular interactions in molecular crystals,” *CrystEngComm*, vol. 4, pp. 378–392, 2002.
Subhankar Saha, Manish K. Mishra, C. Malla Reddy y G. R. Desiraju, “From molecules to interactions to crystal engineering: Mechanical properties of organic solids,” *Acc. Chem. Res.*, vol. 51, n.º 11, pp. 2957–2967, 2018.
T. Rosenthal-Aizman, M. Svensson, y M. Undén, “Self-Assembling Peptide Nanotubes from Enantiomeric Pairs of Cyclic Peptides with Alternating D and L Amino Acid Residues,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 126, no. 3, pp. 729–735, Jan. 2004.
Bruker AXS Inc., *APEX3 Software Suite for Crystallographic Data Collection and Processing*, Madison, WI, USA, 2016.
G. M. Sheldrick, “SHELXS: Program for Crystal Structure Solution,” University of Göttingen, Germany, 1997.

G. M. Sheldrick, “SHELXL: Program for Crystal Structure Refinement,” University of Göttingen, Germany, 2015.
N. Blagden, W. I. Cross, R. J. Davey, R. Rowe y R. Roberts, “Crystal chemistry and solvent effects in polymorphic systems: sulphathiazole,” J. Chem. Soc., Faraday Trans., vol. 94, pp. 1035–1044, 1998.

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITANIO (TiO_2) EMPLEANDO EXTRACTO DE *Buddleja Cordata*

A Yuribia Condado Rodríguez, Carlos Eduardo Sánchez Islas, Alberto Fabian Ramírez Ledesma, María del Socorro Ruiz Palma y Nikte Yoliztli Martínez Palma

Universidad Tecnológica de Tecámac, 55740, Tecámac, Estado de México, México.
nmartinezp@uttecamac.edu.mx

RESUMEN

Las nanopartículas de dióxido de titanio (TiO_2) han despertado gran interés debido a su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) bajo radiación ultravioleta, lo que les confiere una actividad antimicrobiana significativa. Sin embargo, los métodos tradicionales de síntesis pueden generar subproductos tóxicos y representar un riesgo ecológico. En este proyecto se propone la síntesis verde para la obtención de partículas de TiO_2, empleando un extracto acuoso de Buddleja cordata como agente reductor y estabilizante con la finalidad de minimizar el uso de reactivos químicos adicionales cuyos residuos al desecharse pudieran comprometer la seguridad ambiental. El extracto se obtuvo colocando 10 g de hojas secas en 100 mL de agua desionizada y llevando a ebullición por 15 min para posteriormente filtrar al vacío para eliminar residuos sólidos. Para la síntesis, se preparó una solución de tetrabutóxido de titanio ($Ti(C_4H_9O)_4$) en agua destilada y después se le añadió por goteo de manera independiente 5, 10, 20 y 30 mL del extracto, manteniendo una agitación constante a 350 rpm durante una hora. Posteriormente la solución fue incubada en oscuridad durante 12 hrs. Las nanopartículas obtenidas se lavaron por triplicado centrifugando a 4500 rpm por 10 min en cada ciclo para después secar a 150 °C por seis hrs. Para inducir la cristalización y obtener la fase anatasa las muestras fueron sometidas a un tratamiento térmico a 500 °C por dos horas. De acuerdo a la caracterización por espectroscopía FT-IR se observó la banda de absorción característica del TiO_2 en 503 cm^{-1}, no se observaron bandas de absorción pertenecientes a residuos orgánicos, lo que indica que la calcinación elimina las impurezas pertenecientes a la planta obteniendo un polvo blanco, color característico del TiO_2. Mediante espectroscopia UV-vis se observó absorbancia alrededor de 260 nm confirmando la presencia de TiO_2. Los resultados obtenidos hasta el momento permiten establecer la efectividad del extracto de B. cordata como agente reductor en la síntesis de partículas de TiO_2 obteniendo mejores resultados con el volumen de 10 mL. A reserva de los resultados que se obtendrán en las caracterizaciones en proceso se logró sintetizar el TiO_2 mediante un enfoque verde utilizando Buddleja cordata, destacando la viabilidad de este método.

INTRODUCCIÓN

En los últimos diez años, la investigación en el campo de la nanomedicina ha experimentado un crecimiento sustancial, con un enfoque particular en la utilización de nanopartículas de dióxido de titanio (TiO2) debido a sus propiedades físicas y químicas únicas [1]. Estas nanopartículas han demostrado ser altamente efectivas en una variedad de aplicaciones biomédicas, principalmente por su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS) bajo irradiación ultravioleta, lo que les otorga una actividad antimicrobiana significativa [2].

La síntesis verde presenta varias ventajas sobre otros métodos tradicionales de obtención de nanopartículas, como bajo costo, menor tiempo de procesamiento y el uso reducido de recursos. Los procesos de síntesis verde son rentables para la obtención de nanopartículas, constan del uso de extractos naturales provenientes de plantas, cáscaras, frutas, etc., en los cuales están presentes compuestos bioactivos como: metabolitos, polifenoles, cetonas, flavonoides, etc., los cuales se emplean en la síntesis actuando como agentes estabilizantes y reductores, generalmente reduciendo los iones gracias a los grupos hidroxilos presentes en los metabolitos y propiciando la formación de las nanopartículas pudiendo controlar el crecimiento de las mismas [3].

La Buddleja cordata o “Tepozán” es ampliamente utilizada para la curación de heridas e inflamaciones, se usan principalmente las hojas y corteza, algunos estudios científicos se han centrado en demostrar sus propiedades biológicas, así como su efecto analgésico, antiinflamatorio, antibacteriano, amebicida, antiparasitario, fotoprotector, neuroprotector, antifúngico y embriotóxico, relacionado a la presencia de metabolitos secundarios como el verbascósido, la luteolina, la buddlejosida, los iridioides y el acteósido [4].

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del extracto vegetal

Las hojas de tepozan blanco se secaron en un horno a 100°C por 2 horas, posteriormente se macerarón hasta obtener un polvo fino. Se tomaron 10 g del polvo y se adicionaron 100 mL de agua destilada, la mezcla se llevó a ebullición por 15 min. Por último, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró al vacío para eliminar los residuos sólidos.

Síntesis de NP’s de TiO2

La solución de precursor $Ti(C_4H_9O)_4$ se preparó a una concentración de 0.1 M, posteriormente se tomaron 50 mL y se colocaron en un vaso de precipitados, posteriormente se agregaron de manera independiente 5, 10, 20 y 30 mL del extracto. Cada volumen se agregó por medio de goteo bajo agitación a 350 rpm por 1 h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se dejó incubar por 15 h en un lugar oscuro a temperatura ambiente. Se recuperaron las partículas por centrifugado a 4500 rpm por 10 min y se realizaron lavados por triplicado con agua destilada. Se secaron las partículas recuperadas a 150° C por 6 h. Finalmente se sometieron las muestras a calcinación a 500 °C por 2 h.

Caracterización de las muestras

La microestructura y el tamaño de partícula se evaluó mediante microscopia electrónica de barrido y la presencia de grupos funcionales en la muestra se identificó mediante un espectrofotómetro de infrarrojo por transformada de Fourier.

RESULTADOS

Espectroscopia FT-IR

En la Figura 1, se muestran los espectros IR correspondientes a las muestras obtenidas variando el volumen de extracto de *Buddleja cordata* empleado (5, 10, 20 y 30 mL), se observa que desde 509 cm-1 se forma un pico que corresponde a modos vibracionales del grupo funcional Ti-O-Ti [5]. Los espectros que se muestran alrededor 1628 cm-1 son asignados a vibraciones de tipo tijera de los protones de agua absorbida, que indica la presencia de agua en la superficie de las muestras mientras que de 3649 cm-1 son atribuidas a estiramientos vibracionales de grupos -OH [6].

Investigaciones publicadas como el trabajo de Zohaib Razzaq y colaboradores en el 2021 y el de S. Kalaiarasi y M. José en 2017 donde reportan la síntesis de TiO_2 mediante isopropoxido de titanio reportan una banda que corresponde al modo vibracional de estiramiento del oxígeno presente en el enlace Ti-O-Ti en un intervalo de 400 a 900 cm-1 que es consiste con lo que se observan en los resultados obtenidos en este trabajo. De igual manera, en dichos trabajos se menciona una banda a 3500 cm-1 que corresponde al estiramiento vibracional del grupo O-H , en la figura 1 se aprecia esa misma banda, la cual se asocia a la presencia de agua en la muestra sin calcinar. Zohaib Razzaq y colaboradores en el 2021 hacen mención de una banda en un intervalo de 1644 cm-1 que corresponde a otro modo vibracional del agua de tipo tijera, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación.

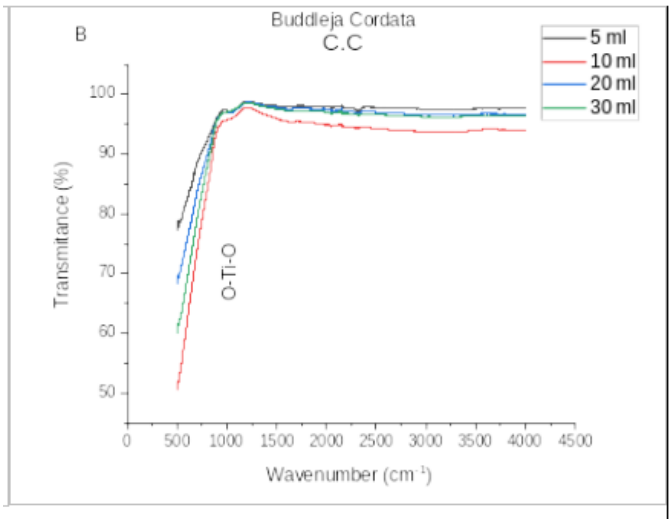


Figura 1.- Espectros FTIR de las partículas de TiO_2 obtenidas con diferentes volúmenes de extracto de *Buddleja cordata*

Espectroscopia UV-VIS

Los resultados obtenidos por espectroscopia UV-VIS se pueden observar en la Figura 2, para todas las muestras se identifica un pico que coincide con la línea punteada, la longitud de onda de máxima absorción es de 260 nm. José Luis Xochihua et al., en el 2019 mencionan que el TiO_2 en fase anatasa presenta un máximo absorción a longitudes de onda de 250 a 324 nm [7]. Lo cuál podría sugerir la presencia de esta fase en las muestras, dicha información tendría que corroborarse mediante difracción de rayos X.

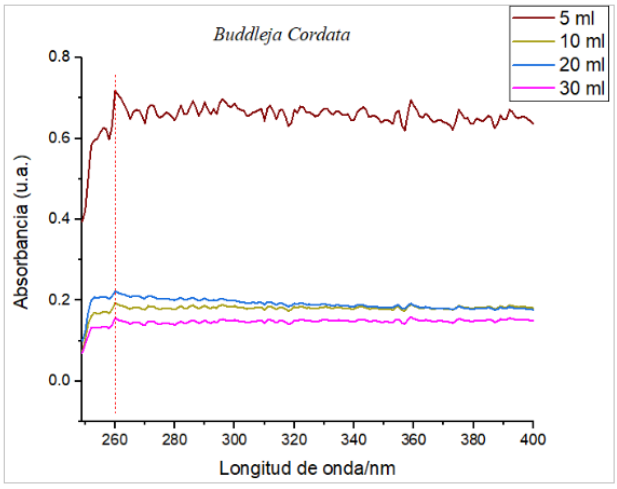


Figura 2.- Espectros UV-VIS de las partículas de TiO_2 obtenidas con diferentes volúmenes de extracto de *Buddleja cordata*

Microscopia electrónica de barrido

En la Figura 3 se muestran los resultados obtenidos para la muestra de polvos sintetizados con 10 mL del extracto, se observa la formación de agregados de partículas con morfología cuasiesferica con un tamaño promedio de 0.99 µm.

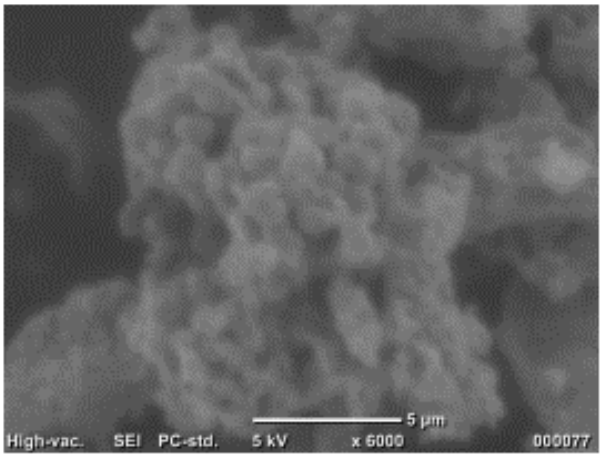


Figura 3- Micrografía de la muestra de TiO_2 obtenida con 10 mL de extracto de *Buddleja cordata*

CONCLUSIONES

La síntesis de TiO_2 con extracto de Buddleja cordata demostró ser una alternativa viable. El análisis UV-Vis sugirió la presencia de TiO_2, los resultados observados concuerdan con los que reporta J. Noé Díaz de León, donde observan una máximo de absorbancia a 262 nm para TiO2 [3]. El análisis de FT-IR identificó los grupos funcionales característicos de TiO_2 como lo reportan diversos autores. Por otro lado, por microscopía electrónica de barrido se observó la formación de aglomerados en la muestra, una morfología cuasiesférica y tamaño promedio de 0.99 µm. Estos resultados sugieren que el extracto de Buddleja actúa como agente reductor en la formación de partículas de TiO_2.

BIBLIOGRAFÍA

[1] C. m. a. w. o. difference, «SOBRE EL DIÓXIDO DE TITANIO,» TITANIUM DIOXIDE MANUFACTURERS ASSOCIATION, p. 7.

[2] F. Padilla-Vaca, C. L. Medoza-Macías, B. Franco, F. Anaya-Velázquez, P. Ponce-Noyola y A. Flores-Martínez, «El mundo micro en el mundo nano: importancia y desarrollo de nanomateriales para el combate de las enfermedades causadas por bacterias, protozoarios y hongos,» Mundo nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología, vol. 11, nº 21, pp. 15-28, 2018.

[3] E. . A. Vilchez Ysla y L. A. Vilchez Ysla, «Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de titanio usando extracto de cáliz de Fragaria ×ananassa (fresa) y evaluación de su rendimiento de producción para su potencial aplicación en la agricultura,» 2024.

[4] L. A. Chalico, «Tepozán,» Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Available http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=tepozan-bc.

[5] A. W. P. F. L. H. K. &. v. G. N. Weir, «Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products.,» Enviromental Science & Techonology, vol. 46, nº 4, pp. 2242-2250, 2012.

[6] E. . A. Vilchez Ysla y L. A. Vilchez Ysla, «Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de titanio usando extracto de cáliz de Fragaria ×ananassa (fresa) y evaluación de su rendimiento de producción para su potencial aplicación en la agricultura,» 2024.

[7] J. L. X. Juan, «Oxidación fotocatalítica del insecticida metidatión,» Diciembre 2019. [En línea]. Available: https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2012/10/G07_Jose-Luis-Xochihua-Juan.pdf.

DESARROLLO DE TECNOLOGÍA PARA LA REMOCIÓN DE SULFUROS DE AGUAS RESIDUALES DE LA CURTIDURÍA

Catalina De la Rosa-Juárez[1], Miroslava Silva-Goujon[1], Andrés Aguilar-Ortega[1], Arturo Guerrero-Barranco[1], Flora Beltrán-Ramírez[1]

[1]CIATEC A.C..
cdelarosa@ciatec.mx

RESUMEN

La industria curtidora es clave para la economía mexicana por su alta productividad, pues genera cerca de 20 mil millones de pesos. Guanajuato produce el 73% de la producción nacional[1]. Actualmente, hay cerca de 700 unidades económicas ubicadas en el Municipio de León que producen decenas de miles de cueros por día[2], la mayoría de los cuales se destina a la industria automotriz y aeronáutica[3]. Desafortunadamente, al ser un proceso dominantemente químico, utiliza una gran cantidad de sustancias. Dentro de los procesos químicos más importantes se encuentra la etapa de depilado. Para esta etapa, el uso de sulfuro de sodio y sulfhidrato de sodio es de vital importancia y de uso generalizado. No obstante, estas sustancias producen una alta concentración de sulfuros en las aguas residuales que repercute en características toxicas para los organismos vivos y procesos corrosivos en estructuras de cemento y aleaciones de acero. Este estudio busca desarrollar una tecnología para la remoción y recuperación de sulfuros de estas aguas, contribuyendo a la sostenibilidad del sector. Se realizaron experimentos en laboratorio acidificando el agua residual de una tenería para recuperar sulfuro de hidrógeno a partir de los sulfuros del agua. Dicho gas fue capturado en una solución absorbente. Para los ensayos experimentales, se empleó un diseño experimental en bloques completos al azar con tres niveles de pH (bajo, medio y alto) y tres réplicas por nivel. Se midió la concentración de sulfuros en el agua antes y después del tratamiento, utilizando la técnica NMX-AA-084-1982, y se cuantificó el sulfuro de hidrógeno liberado con un sensor digital. Los resultados mostraron que el agua residual presentó un pH altamente alcalino (12 Unidades), alta conductividad (91,800 µS/cm) y elevadas concentraciones de sólidos totales (103,207 mg/L) y grasas (1,429 mg/L). La remoción de sulfuros fue del 44% para un pH bajo, mientras que para niveles de pH medio y alto su obtuvo un 60%. Aunque estos últimos niveles de pH (medio y alto) mostraron resultados estadísticamente equivalentes, el pH alto presentó menor variabilidad, por lo cual, se consideró como el tratamiento más efectivo. Se concluye que el nivel de pH alto es el más adecuado para la remoción de sulfuros con una remoción del 60% y una liberación de sulfuro de hidrógeno moderada y más controlable. Este método representa una solución prometedora para el tratamiento de aguas residuales en la industria curtidora y contribuye a la reducción de su impacto ambiental.

INTRODUCCIÓN

La industria curtidora es importante para la economía mexicana porque es altamente productiva y contribuye significativamente al valor que genera el sector manufacturero. En el año 2019, la industria del curtido y acabado de cuero y piel en México presentó una producción bruta de cerca de 20 mil millones de pesos, siendo Guanajuato el de mayor producción con el 73% (INEGIa).

Actualmente, hay cerca de 700 unidades económicas ubicadas en el Municipio de León (UG, 2024) que producen decenas de miles de cueros por día (Carrillo et al., 2017), la mayoría de los cuales se destina a la industria automotriz y aeronáutica (GOB-GTO, 2024).

El crecimiento de esta industria en el año 2024 fue de más del 2% respecto al mismo periodo del año anterior. Asimismo, desde la perspectiva de las ventas internacionales de calzado con suela de caucho, plástico, cuero natural o regenerado y parte superior de cuero natural, Guanajuato concentro más del 90% del mercado (INEGIb).

El proceso productivo para el curtido y acabado de cuero consiste en una serie de tratamientos químicos aplicados a una matriz orgánica que es esencialmente tejido epitelial. Dicho proceso necesita numerosas sustancias químicas que se aplican sucesivamente a la materia prima (piel animal) de acuerdo con el objetivo de cada etapa del proceso (Hansen et al., 2021). Es un proceso industrial intensamente consumidor de sustancias químicas.

La industria curtidora se considera actualmente como una especialidad de la industria química (Garner, 2024) y se asocia con el uso de decenas de químicos que se aplican en varios procesos químicos para convertir la piel animal en varios productos terminados (Hassan, 2023; Silva, 2021).

Dentro de los procesos químicos más importantes se encuentra la etapa de depilado. Para esta etapa, el uso de sulfuro de sodio y sulfhidrato de sodio es de vital importancia y de uso generalizado. Estas sustancias causan, fundamentalmente, la hidrólisis de proteínas protoplasmáticas y de la queratina del pelo (López y Hernández, 1986), lo que permite preparar la piel para los procesos subsecuentes. En contraste, dichas sustancias producen una alta concentración de sulfuros en las aguas residuales (Lofrano et al., 2013) que repercute en características toxicas para los organismos vivos (Fernandez et al., 2022) y procesos corrosivos en estructuras de cemento (Renpu, 2011) y aleaciones de acero (Zaki et al., 2015).

El proceso de depilado de la piel (pelambre) consume entre 70 y 100 kg de productos químicos por tonelada de piel, entre ellos los sulfuros de sodio (Guía España, 2003). Del mercado global de sulfuros de sodio, México importó alrededor del 3% para diversos usos industriales, principalmente desde Estados Unidos, con un valor de casi 14 millones de dólares durante el año 2022 (INEGIc). En este contexto, resulta de interés desarrollar investigaciones, aplicando el método científico, sobre la recuperación de sulfuros de sodio a partir de las aguas residuales de la industria curtidora para definir las oportunidades de reciclaje y cuidado del ambiente. El presente estudio trata de la remoción de sulfuros y su recuperación a nivel experimental.

PARTE EXPERIMENTAL

El experimento consistió en acidificar el agua residual de una tenería para extraer los sulfuros del agua en forma de sulfuro de hidrógeno, y retenerlo en otra matriz. El sistema empleado en el laboratorio se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Sistema de remoción de sulfuros escala laboratorio

Los ensayos experimentales se realizaron con base en un diseño experimental en bloques completos al azar (DBCA) para tres niveles de pH y tres muestras. La variable de respuesta fue la concentración de sulfuros en el agua de estudio. En total se realizaron nueve ensayos experimentales.

Para la caracterización del agua de estudio y los ensayos experimentales se realizaron muestreos de agua residual directamente en la descarga de una tenería. Las muestras se preservaron y almacenaron en cuarto frío a 4°C.



Figura 2. Toma de muestra y su preservación directamente en la tenería

Los ensayos de laboratorio consistieron en aplicar diferentes niveles de pH para evaluar la remoción de sulfuros del agua problema. El gas emitido se condujo a una solución absorbente para su captura. Para evitar riesgo de exposición al sulfuro de hidrógeno, las pruebas se realizaron en una campaña de extracción. El tiempo de duración de cada ensayo se fijó en 2 horas. En cada ensayo experimental se determinó la concentración de sulfuros en el agua residual cruda y el agua tratada mediante la técnica NMX-AA-084-1982 (Figura 3). También se midió la concentración de H2S liberado mediante un sensor digital.



Figura 3. Determinación de sulfuros en laboratorio

.

RESULTADOS

Los resultados de la caracterización del agua residual se muestran en la Tabla 1. La caracterización consistió en la determinación de pH, conductividad, grasas y aceites y sólidos total. Los niveles encontrados se listan en la columna de resultados. Como se puede observar, el agua de estudio presentó alta conductividad (91.8 mS/cm), elevadas concentraciones de sólidos (103 g/L), grasas y aceites (1.4 g/L), y un pH altamente alcalino (12 Unidades de pH).

Tabla 1. Caracterización del agua residual de estudio

Análisis	Unidades	Resultado
pH	Unidades de pH	12
Conductividad	microS/cm	91,800
Grasas y Aceites	mg/L	1,429
Sólidos totales	mg/L	103,207

Los resultados de los ensayos experimentales se presentan en la Tabla 2. En ella se organizan los resultados por nivel de pH (bajo, medio y alto) y se presentan los resultados por cada réplica experimental (concentración de sulfuros en el agua residual tratada en mg/L), los promedios por nivel de pH y sus coeficientes de variación.
Como se puede observar, los ensayos presentaron promedios de concentraciones de sulfuros en el agua tratada de 1,149 mg/L para el nivel de pH bajo, 859 mg/L para el nivel de pH medio y 813 mg/L para el nivel de pH alto. También se muestran los coeficientes de variación para los ensayos experimentales por nivel de pH. El agua residual cruda utilizada en los ensayos presentó en promedio 2,046.0 ± 11% mg/L de sulfuros.

Tabla 2. Concentración de sulfuros en el agua residual tratada, mg/L. Resultados para tres niveles de pH con tres réplicas.

Nivel de pH	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Promedio	Coeficiente Variación (%)
Bajo	1,204.7	1,160.5	1,080.5	1,148.6	5
Medio	831.5	755.9	990.6	859.3	14
Alto	787.5	875.0	777.6	813.4	7

El análisis estadístico de los datos permitió realizar comparaciones y establecer qué tratamientos presentaron diferencias significativas. Las comparaciones entre tratamientos mostraron que los resultados obtenidos con la aplicación de los niveles de pH medio y pH alto son equivalentes, es decir, la concentración de sulfuros en el agua tratada, para ambos niveles de pH, es estadísticamente igual (considerando todas las variaciones). Para estos niveles de pH la remoción de sulfuros fue de hasta 60%.
En cambio, para el nivel de pH bajo, el resultado de remoción de sulfuros fue el más bajo (44%). Y por ello, la concentración de sulfuros en el agua tratada fue significativamente mayor respecto de los otros casos, por lo que este tratamiento se descartó para futuras pruebas.
Entonces, con base en el análisis estadístico del experimento, se observa que los mejores resultados se obtuvieron con el nivel de pH alto. En estas condiciones se obtuvo la mayor remoción de sulfuros, 60%. Los niveles de pH medio y alto se explorarán con mayor detalle en futuros experimentos.

CONCLUSIONES

Los experimentos permitieron validar el concepto de remoción de sulfuros de aguas residuales reales de la curtiduría, lo cual confirma su factibilidad. Se obtuvieron remociones de hasta 60% con concentraciones iniciales de 2,046.0 ± 11% mg/L de sulfuros.

Los ensayos mostraron que el mejor desempeño del experimento ocurrió con la aplicación de valores de pH altos, esto es, con valores de 8 unidades de pH; resultados con la mayor remoción del contaminante y la menor variación estadística entre réplicas experimentales.

El sulfuro de hidrógeno pudo se controlado por absorción en una sustancia alcalina, lo cual hace posible proyectar su aplicación para el manejo seguro del gas tóxico. Asimismo, este resultado muestra la oportunidad de recuperar la sustancia para su posible reutilización en el proceso.

La concentración de sulfuros en el agua tratada sigue siendo alta en todos los casos, sin embargo, se concluye que la reducción es notable. Se plantea realizar mejoras al sistema de remoción para aumentar las remociones y llevar los sulfuros a un valor esperado de menos de 50 mg/L (límite de descarga para sulfuros establecido por el Reglamento Municipal de descarga de aguas residuales de León, Guanajuato).

BIBLIOGRAFÍA

1. Carrillo, G., Azamar, A. y Cervantes, G. (2017). Innovación tecnológica y curtiduría en el estado de Guanajuato. Economía Informa, enero-febrero (402), 66-79.http://www.economia.unam.mx/assets/pdfs/econinfo/402/06CarrilloAzamarCervantes.pdf
2. Fernandez, M., Solange, P., Boarini, M., Mandille, J., Barberón, I., Perotti, R., Pereira P. P., Agostini, E. y Paisio, C. E. (2022). Characterization of effluents from a tannery industry: a case study of Córdoba Province, Argentina. Rev. Int. Contam. Ambie. 38, 445-462, 2022.https://doi.org/10.20937/RICA.54212
3. Garner, H. (2024). The Manufacture of Leather. Classic Reprint Series. Forgotten Books. ISBN-10: 1334335362, ISBN-13: 978-1334335365.
4. GOB-GTO: Gobierno de Guanajuato [Comunicación]. (2024, 31 de diciembre). Ecosistema de Negocios Cuero y Calzado.Cuero y Calzado — Invierte Gto
5. Guía España: Guía de mejores técnicas disponibles en España del sector de curtidos. Ministerio de Medio Ambiente (2003). I.S.B.N.: 84-8320-255-7.
6. Hansen, E., Monteiro de Aquim, P y Gutterres, M. (2021). Environmental assessment of water, chemicals and effluents in leather post-tanning process: A review. Environmental Impact Assessment Review. Volume 89, July 2021, 106597.https://doi.org/10.1016/j.eiar.2021.106597
7. INEGIa: Gobierno de México [Data México]. (2024, 31 de diciembre). Curtido y Acabado de Cuero y Piel.Curtido y Acabado de Cuero y Piel: Salarios, producción, inversión, oportunidades y complejidad | Data México
8. INEGIb: Gobierno de México [Data México]. (2024, 31 de diciembre). Calzado con Suela de Caucho, Plástico, Cuero Natural o Regenerado y Parte Superior de Cuero Natural.Calzado con Suela de Caucho, Plástico, Cuero Natural o Regenerado y Parte Superior de Cuero Natural: Intercambio comercial, compras y ventas internacionales, mercado y especialización | Data México
9. INEGIc: Gobierno de México [Data México]. (2024, 31 de diciembre). Sulfuros de Sodio.https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/product/sodium-sulphides#intercambio-comercial-internacional
10. Lofrano, G., Meric, S., Zengin, G. E. y Orhon, D. (2013). Chemical and biological treatment technologies for leather tannery chemicals and wastewaters: a review. Sci Total Environ. 2013 Sep 1:461-462:265-81.doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.05.004
11. López, L. y Hernández, J. (1986). Manual de métodos de análisis para el químico curtidor. Centro de Investigación y Asistencia Tecnológica del Estado de Guanajuato.
12. Mahbubul Hassan, M., Harris, J., Busfield, J. J. C. y Bilotti, E. (2023). A review of the green chemistry approaches to leather tanning in imparting sustainable leather manufacturing. Green Chemistry, 19.https://doi.org/10.1039/D3GC02948D
13. Renpu, W. (2011). Production Casing and Cementing: Corrosion Action of Hydrogen Sulfide on Cement Sheath. Advanced Well Completion Engineering (Third Edition).
14. Silva, V. F. M. (2021). Overview of the leather industry and pollution impact. U.Porto Journal of Engineering, 7(4), 1-15.doi:10.24840/2183-6493_007.004_0001

15. UG: Universidad de Guanajuato [Quehacer Institucional]. (2024, 31 de diciembre). Profesionalización del sector curtidor.UG y CICUR colaboran en la profesionalización del sector curtidor
16. Zaki, M. T., Alam, N. I. y Choudhury M. R. (2015). Corrosion Assessment of Mild Steel Metal Alloys Exposed to Tannery Wastewater. International Journal of Chemical and Environmental Engineering. April 2015, Volume 6, No.2.

APORTE A LOS ASPECTOS EN LA DINÁMICA POBLACIONAL EN LA BIZNAGA BARRIL (*Echinocactus Platyacanthus*) EN UNA ZONA PROTEGIDA EN EL ESTADO DE HIDALGO, MÉXICO

Gabriela Selene Ortiz-Burgos [2], Rocío Zárate-Hernández [1], Claudia Ballesteros-Barrera [1], Angélica Martínez-Bernal [1], Janet Elizabeth Osnaya Becerril [1], Roberto Tenorio Mendoza [1]

[1] Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. C.P.: 09340, San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, México. [2] Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Batalla 5 de Mayo s/n esquina Fuerte de Loreto, Colonia Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, Ciudad de México, México.

gsob@xanum.uam.mx

RESUMEN

México posee una alta diversidad de cactáceas, este grupo se caracteriza por diversas estrategias que les permiten habitar las zonas áridas y semiáridas que representan cerca del 50% del total del territorio. Nos obstante, pocos son los estudios realizados en comparación con el total de las especies registradas que son un aproximado de 2000. El objetivo de este trabajo es un análisis en la dinámica poblacional de la especie *Echinocactus platyacanthus* (Biznaga barril, Biznaga dulce o Acitrón) en la Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. Esta especie se encuentra protegida en México por la NOM-059-SEMARNAT-2010. Se eligieron cinco sitios de 50x50 metros, se midieron 20 individuos elegidos de manera aleatoria, registrando la altura y número de flores y cicatrices florales para cada individuo. Se realizó un análisis descriptivo de la altura, así como relacionar el número de flores con esta variable. Se registraron un total de 120 individuos con un promedio de altura de 97.135 cm, diámetro promedio de 27,1 cm y promedio de flores de 23.2, Se determinaron 8 clases de tamaño de acuerdo a la regla de Sturges. Donde de acuerdo a la altura de los organismos el mayor número de individuos se concentró en el tamaño tres siguiendo en importancia los tamaños cuatro y tres, el diámetro resulto mayor en los dos primero tamaños. número de flores resulto ser mayor en el tamaño. En lo que refiere al número de flores solo se encntro relacionado con la altura ($p=0.014$). Considerando el análisis a esta población se puede considerar que la población de *E. platyacanthus* se ajusta en la categoría “regresiva”, donde se presenta un alto número de adultos, pero un bajo número de juveniles y plántulas, aspecto que puede verse relacionado con el lento crecimiento de la especie, así como estar influenciada con actividades antropogénica como podrían ser la extracción e introducción de especies que utilizan la zona para el forrajeo. El análisis busca contribuir al conocimiento de la especie, la que es de importancia económica para la zona, por lo que se puede resaltar la importancia de implementar programas para su protección debido al bajo número de plántulas que se registran.

INTRODUCCIÓN

Como es bien conocido México es considerado el quinto país debido a su alta diversidad de plantas, pero como es bien conocida esta diversidad se ve perjudicada de manera muy importante por las actividades humanas lo que ha causado que un sinnúmero de especies se vean afectadas. De los diferentes grupos vegetales uno de los cuales se ha visto mayormente afectado han sido las cactáceas. Son plantas que debido a sus diferentes adaptaciones en respuesta a los ambientes áridos y semiáridos donde evolucionaron, las cuales se encuentran relacionadas con el aprovechamiento eficiente del agua, debido a la cantidad limitada presente en los ambientes en que se encuentran, resultando así uno de los grupos más amenazados del reino vegetal. Las poblaciones silvestres se ven afectadas de manera importante por causas como son: el cambio de uso de suelo, la deforestación, la extracción ilegal y la sobreexplotación. Debido a esto la familia completa se encuentra incluida en la NOM-059, en el Apéndice II de la Convención sobre el Tráfico Internacional de Especies Silvestres de Flora y Fauna Amenazadas (CITES) y muchos de sus representantes están incluidos en el listado de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales (IUCN) (Hernández y Godínez, 1994). En este sentido uno de los representantes de esta familia Cactacea es *Echinocactus platyacanthus* (Figura 1) conocida

como biznaga dulce o de barril. Es una especie globosa que puede alcanzar 2 m de altura y 1.2 m de diámetro. Muestra una amplia distribución que se presenta de forma discontinua desde el desierto chihuahuense en Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. En el sur del Valle de Tehuacán, en Puebla y Oaxaca. Esta planta se enfrenta a los efectos de cambio de uso de suelo, extracción para su consumo como dulce tradicional y a la utilización como forraje, que aunado al lento crecimiento y la extracción de individuos adultos incrementa su vulnerabilidad. El objetivo de este trabajo es un análisis en la dinámica poblacional de la especie *Echinocactus platyacanthus* (Biznaga barril, Biznaga dulce o Acitrón) en la Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México.



Figura 1. Individuo de la especie *Echinocactus platyacanthus.*

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en La Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán (RBBM) zona que fue declarada como tal en noviembre del año 2000. Se localiza al este del estado de Hidalgo (98° 23’ 00” O y 98° 57’ 08” N y 20° 14’ 15” O y 20° 45’ 26” N), con una superficie de 96 042.94 ha, y una elevación de 1 000 a 2 000 msnm. El clima predominante en la mayor parte de la reserva es semiseco. Con temperaturas que van de los 18 a 22ºC, aunque en la zona NE, SE y en las partes más altas, las temperaturas medias anuales corresponden al intervalo de 16 a 18ºC (CONANP, 2003). La RBBM se encuentra entre la sierra Madre Oriental y la Faja Volcánica Transmexicana (Figura 2); esta ubicación geográfica y las características geológicas de la región le permiten tener una alta diversidad de tipos de vegetación, como el bosque de pino-encino, bosque tropical caducifolio, matorral submontano y matorral xerófilo (Vite-Silva *et al*., 2010).

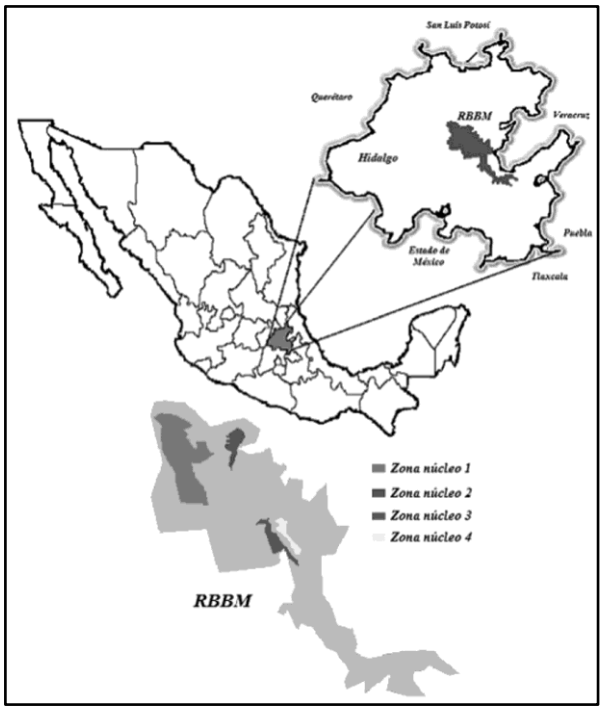


Figura 2. Ubicación geográfica y toponimia del área de estudio, Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán (RBBM), Hidalgo, México.

Para el registro de la información se eligieron cinco sitios de 50x50 metros, se midieron 20 individuos elegidos de manera aleatoria, registrando la altura, diámetro, número de flores y cicatrices florales para cada individuo. Posteriormente se realizó un análisis estadístico descriptivo utilizando la altura de los organismos, para determinar el número de clases se utilizó la regla de Sturges. Además se aplicó una correlación para determinar la relación con el número de flores y cicatrices foliares, además se realizó un análisis comparativo entre sitios y que al no cumplirse con los supuestos de homocedasticidad y normalidad se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y se aplicó una correlación de Spearman.

RESULTADOS

Se registraron un total de 100 individuos con un promedio de altura de 97.135 cm (Tabla 1), diámetro promedio de 27.1 cm y promedio de flores de 23.2 cm (Tabla 1). El diámetro se encontró entre 6.05 a 93.26 cm, con promedio de 27.1, en lo referente al número de flores el número máximo de flores registradas por individuo fue de 102, mientras que el menor fue de cero.

Tabla 1. Análisis descriptivo de la altura, Número/cicatrices florales y diámetro de *Echinocactus platyacanthus*.

	Individuos	Promedio (cm)	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo	Recorrido
Altura	**100**	**97.135**	**39.652**	**3.965**	**18**	**238**	**220**
Diámetro	**100**	**27.100**	**18.936**	**1.894**	**6.05**	**93.26**	**87.21**
Flores	**99**	**23.2**	**17.864**	**1.795**	**0**	**102**	**102**

Se determinaron 8 clases de tamaño de acuerdo a la regla de Sturges Donde de acuerdo a la altura de los organismos el mayor número de individuos mostró una distribución unimodal (Figura 3a), donde en la clase tres se observó el mayor número de individuos. Con respecto al diámetro las dos primeras clases, mostraron un alto número de individuos (Figura 3b).

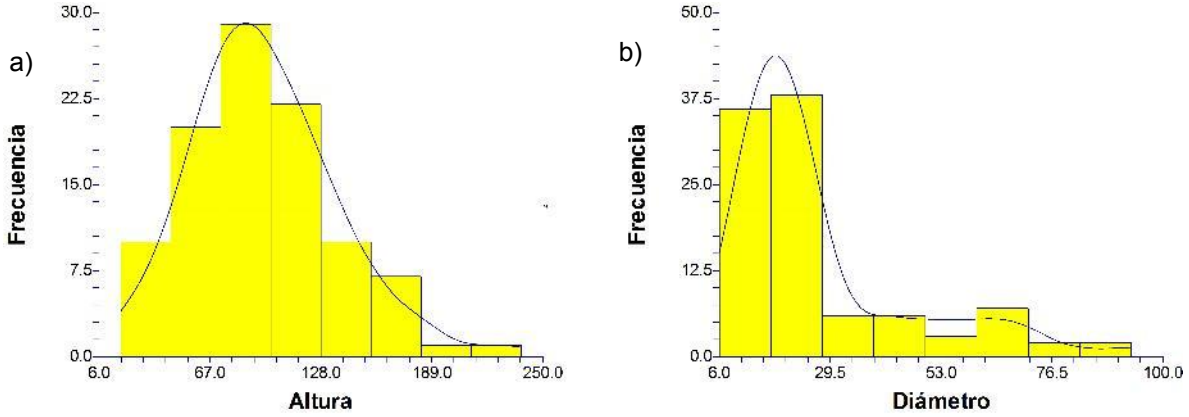


Figura 3 Distribución de frecuencias del altura y diámetro de *Echinocactus platyacanthus.*

En lo que respecta la relación de los parámetros altura y diámetro versus número de flores, la correlación de Spearman . Mostro que existió una relación entre el número de flores y cicatrices florales con la altura (r=0.260; p=0.009) y el diámetro (r=0.287; p=0.004).
Con respecto a el análisis entre sitios se determinó que existían diferencias significativas (H=15.789; p=0.003), que de acuerdo ala prueba de comparaciones múltiples demostró que los sitios 4 y 5, resultaron diferentes.

CONCLUSIONES

Con respecto a la diferencia entre sitios puede deberse a la influencia de la pendiente, ya que es un elemento que se ha visto relacionado con las variaciones en la altura de otras especies de cacataceas. Considerando el análisis de la distribución de la especie de esta población se puede considerar que la población de *E. platyacanthus* se ajusta en la categoría "regresiva", donde se presenta un alto número de adultos, pero un bajo número de juveniles y plántulas, aspecto que puede verse relacionado con el lento crecimiento de la especie, así como estar influenciada con actividades antropogénica como podrían ser la extracción e introducción de especies que utilizan la zona para el forrajeo. El análisis busca contribuir al conocimiento de la especie, la que es de importancia económica para la zona, por lo que se puede resaltar la importancia de implementar programas para su protección debido al bajo número de plántulas que se registran.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Castañeda-Romero, M. Luna-Contreras, D. Vela- Godinez, G. Montoya-Santiago, A. González-Bermúdez, R. Martínez Peña, M. Esperón-Rodríguez. "Nota sobre la estructura poblacional de *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) en la reserva de la biósfera "Barranca de Metztitlán", Hidalgo, México". Acta Botánica Mexicana, 115, 2016: pp. 65-73.
2. H.M. Hernández & H. Godinez A. "Contribución al conocimiento de las cactaceas mexicanas amenazadas". Acta Botánica Mexicana, 26, 1994, pp; 26:33-52.
3. G.M. Vázquez-Cuevas, G.M.; Roldán Aragón, I. Ernesto. "Evaluación de los cambios de cobertura del suelo en la reserva de la biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México (1973-2006)". Papeles de Geografía, 51-52, 2010, pp. 307-316.
4. V.D. Vite-Silva, A. Ramírez-Bautista & Uriel Hernández-Salinas. "Diversidad de anfibios y reptiles de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México". Revista Mexicana de Biodiversidad 81, 2010: pp. 473- 485.

LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LA LECHE MATERNA INFLUYEN EN EL DESTETE DE CRÍAS DE *Ateles Geoffroyi* BAJO CUIDADO HUMANO: REPORTE DE CASO

Francisco Garcia-Orduña[1], Maria de Jesús Rovirosa Hernández [1], Ma. Remedios Mendoza-López [2], Juan Francisco Rodriguez-Landa [3], Manuel Alejandro Cruz-Aguilar [4] y Rael Martín Palestino-Sanchez [1]

[1] Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, CP 91190, México, [2] Instituto de Química Aplicada (IQA), Universidad Veracruzana, Xalapa, CP 91190, México, [3] Laboratorio de Neurofarmacología, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa Ver., C.P.91190. México,[4] Dirección de Investigaciones en Neurociencias. Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz", CP 14370 CDMX, México
fragarcia@uv.mx

RESUMEN

Durante las primeras etapas del desarrollo de los infantes humanos y primates no humanos, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA; por sus siglas en inglés), son esenciales en la formación y funcionamiento de los sistemas nervioso y visual. Estos ácidos grasos son proporcionados al feto a través de la placenta y durante la lactancia a través de la leche. En la leche materna éstos provienen de tres fuentes principales: depósitos grasos de la madre, síntesis en la glándula mamaria, y la dieta materna. Considerando lo anterior, el objetivo de este estudio es contribuir al conocimiento de la influencia de la dieta frugívora sobre el contenido de ácidos grasos de la leche materna y el comportamiento de destete de los lactantes. Para ello, se determinó los ácidos grasos en la leche de dos madres de *Ateles geoffroyi* (ME1 y ME2) bajo cuidado humano, cuya dieta está compuesta principalmente por frutas y verduras de temporada para ambas y por especies silvestres solo para ME2. El porcentaje de ácidos grasos en la leche materna se determinó mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas. Los resultados mostraron una baja concentración de ácidos grasos poliinsaturados de cadena media 3.85% y 4.25%, para las madres ME1 y ME2 respectivamente. Asimismo, el infante de la hembra ME2 mostró una frecuencia y tiempo de ingesta de leche de un 100% solo durante los primeros 3 meses después de su nacimiento, mientras que en 4to mes consumió 100% de alimento silvestre. El infante de la hembra ME1 dedicó 100% en frecuencia y tiempo de ingesta de leche durante los primeros 5 meses después de su nacimiento, en los meses 6 y 7, mostró un porcentaje mayor en el consumo de frutos cultivados. Además, no fue posible determinar la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). Esto pudo haber influido en el comportamiento de destete de ambos lactantes. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) son necesarios para el desarrollo neurológico de los recién nacidos. Consideramos que la diferencia entre dietas cultivadas y silvestres folívoras, omnívoras y frugívoras podrían estar relacionadas con el contenido de ácidos grasos en la leche, por lo que sugerimos que la dieta de las hembras lactantes es relevante por las diferencias en las concentraciones de LC-PUFA.

INTRODUCCIÓN

La lactancia, constituye una característica esencial del proceso reproductivo de los mamíferos, ésta posee tres funciones esenciales: protección, nutrición, y fortalecimiento del vínculo madre-cría; Además, es la primera inmunización que reciben los infantes, los protege contra enfermedades respiratorias, digestivas y otras infecciones a través de la entrega de anticuerpos, moléculas específicas y células que participan en los mecanismos de defensa; en adición, los infantes presentan una mejor respuesta inmune. Por lo tanto, la composición de la leche y la duración de la lactancia en las diferentes especies de mamíferos se encuentra adaptada a las necesidades particulares de cada neonato (Muñoz, 2001).

La leche materna contiene factores que facilitan la digestión de las grasas y su composición química la hace más digerible (Uauy, et al, 1989). Las grasas verdaderas o triglicéridos, son compuestos

orgánicos carentes de nitrógeno que se forman en el metabolismo vegetal y animal y que poseen desde un punto de vista fisiológico un elevado valor calórico. Son los nutrientes con mayor poder energético y por lo general se encuentran asociadas con numerosas sustancias acompañantes (Matissek, et. al., 1998).

La leche materna tiene un rico contenido nutricional cuyos compontes son agua (para su hidratación), carbohidratos (principalmente lactosa, que brinda aporte de energía e influye en el crecimiento del infante), proteínas (principalmente caseína formando el factor bifidus y funciones inmunomoduladoras y proteínas del suero para su protección y mejor digestión), lípidos (fuente importante de energía y desarrollo del sistema nervioso), vitaminas y minerales (mantenimiento celular y protección). En los lípidos el mayor componente son los triglicéridos, seguido de los fosfolípidos y el colesterol (Sabillón y Abdu 1997).

Dentro de la diversidad estructural de los lípidos, los ácidos grasos son de gran relevancia. Siendo la madre quién los aporta tanto a través del transporte placentario durante la gestación y a través de la leche durante la lactancia. Este aporte proviene de las reservas tisulares de la madre, de su actividad biosintética y del aporte nutricional de los ácidos grasos precursores (Valenzuela y Nieto, 2003).

El aporte adecuado de éstos ácidos grasos durante el período gestacional y postnatal, parece ser un factor importante para logar un adecuado desarrollo y funcionalidad del sistema nervioso y visual del infante. La madre tiene un papel fundamental en este aporte, por lo cual su nutrición durante la gestación y lactancia es muy importante (Valenzuela y Nieto, 2003). Por consiguiente, la proporción de ácidos grasos sintetizados por las glándulas mamarias dependen de la cantidad de ácidos grasos de la dieta materna o de los depósitos de grasa almacenada (Iverson y Oftedal, 1995). El objetivo de este estudio es contribuir al conocimiento de la influencia de la dieta frugívora sobre el contenido de ácidos grasos de la leche materna y el comportamiento de destete de los lactantes.

TEORÍA

Los ácidos grasos poliinsaturados, especialmente los de cadena larga (LCPUFA), son precursores de los ácidos grasos omega-3 y omega-6, considerados ácidos grasos esenciales (Innis 1991; 2000; 2003; Hornstra 2000). Estos ácidos grasos no pueden sintetizarse *de novo*, por lo que deben obtenerse a través de la dieta (Huang y Brenna, 2001). Los ácidos grasos presentes en la leche materna dependen tanto de la cantidad (Jensen et al., 1995; Carlson, 1999; Brenna, 2005) como de la proporción (Huang y Brenna, 2001; Brenna, 2005) de ácidos presentes en la dieta materna (Nettleton, 1995; Heird y Lapillonne, 2005) o de los depósitos de grasa (Iverson y Oftedal, 1995). Por lo tanto, la calidad de los alimentos ingeridos, principalmente durante el embarazo y la lactancia, es crucial para el correcto desarrollo del lactante (Dewey, 1998; Raiten, et al., 2007).

Considerando esto, varios estudios han explorado la relación entre la dieta y la composición de ácidos grasos en la leche que la madre proporciona a sus crías (Dewey, 1998; Hsieh, et al., 2008; Morales, 1994; Raiten, et al., 2007; Power, et al., 2008). Los ácidos grasos esenciales contenidos en la leche materna son de gran importancia durante las diferentes etapas del crecimiento del lactante, tanto para el desarrollo del sistema nervioso central como para la función de la retina y los riñones en humanos (Clandinin, et al., 1980a; 1980b; Farquharson, et al., 1992; Makrides, et al., 1994; Huang & Brenna, 2001) así como en primates no humanos (Sheaff-Greiner, et al., 1997; Diau, et al., 2003:2005; Gubhaju & Black, 2005; Tambunting, et al., 2005).

La relación entre la dieta y la composición de ácidos grasos de la leche se ha estudiado en primates del Viejo Mundo como los babuinos (Greiner, et al., 1997; Sheaff-Greiner, et al., 1997; Diau, et al., 2005; 2003; Hsieh, et al., 2008), gorilas y macacos (Milligan y Bazinet, 2008; Milligan, et al., 2008a). En primates del Nuevo Mundo, se ha informado para titíes (Milligan, et al., 2008a; Power, et al., 2008), tamarinos león, aulladores de manto (Milligan y Bazinet, 2008; Milligan, et al., 2008a) y monos

ardilla bolivianos (Milligan, et al., 2008b). Sin embargo, en el caso de primates mexicanos como el mono araña (*Ateles geoffroyi*), aún se desconocen los LCPUFA y los ácidos grasos presentes en la leche materna en general.

Ateles geoffroyi es una de las tres especies de Primates Neotropicales que habitan las selvas tropicales del sur de México. Es una especie altamente frugívora; el 83 % de su dieta se compone de diversos frutos silvestres y el resto de hojas jóvenes, flores, semillas, brotes y corteza (Van Roosmalen y Klein, 1988). Sin embargo, debido a la extensa destrucción de las selvas tropicales, su población se ha reducido considerablemente (Rosales-Meda, et al., 2025).

En México, algunos grupos de primates silvestres son rescatados para su conservación y ubicados en reservas ecológicas protegidas, como parques nacionales, áreas protegidas y zoológicos (Estrada, 1982; Estrada, et al., 2002). Para brindar una oportunidad de supervivencia a esta especie en peligro de extinción, estas áreas pueden desempeñar un papel adicional en la promoción de la conservación y reproducción de *A. geoffroyi*. En este sentido, desde 1986, nuestro grupo de investigación ha desarrollado diversas iniciativas para la protección y supervivencia de esta especie (García, 1995; Estrada y Coates-Estrada, 1995). Se han recibido animales no deseados, y donados por el público o confiscados por las autoridades, y se han dedicado esfuerzos al desarrollo de un programa de reproducción para dicha especie. Para lograrlo, es necesario conocer sus características fisiológicas, y reproductivas. Desafortunadamente, se sabe muy poco sobre la biología del mono araña.

Con el fin de recopilar información sobre la fisiología de *A. geoffroyi,* para desarrollar un programa de conservación de la reproducción, el objetivo de este estudio fue analizar los ácidos grasos en la leche de dos madres de *A. geoffroyi* en cautiverio, alimentadas principalmente con frutas y verduras de temporada que se les proporcionan, explorando cómo este tipo de dieta influye en la composición de ácidos grasos saturados, insaturados y poliinsaturados de la leche materna que ofrecen a sus crías y en el período de destete de éstas.

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio

El estudio se realizó en la Estación de Campo del Instituto de Neuroetología (18°27´N, 095°02´O) en Catemaco, Veracruz, México. Se seleccionaron dos hembras lactantes (ME1 y ME2); cada mono se alojó en grupo social: ME1 en un recinto de malla metálica (3 m de largo x 4 m de alto x 3 m de ancho), y ME2 en un recinto eléctrico (100 m de diámetro), que incluye vegetación secundaria que los monos pueden usar como alimento, como: *Bursera simaruba*, *Ficus cotinifolia*, *Ficus lundelli*, *Ficus perforata* y *Spondias mombin*.

Ambos animales se alimentaron únicamente con frutas y verduras frescas *ad libitum*. Los procedimientos para mantener a los animales en nuestros recintos cumplen con los lineamientos institucionales del Gobierno de México y la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT; permisos oficiales núm. SEMARNAT: SGPA/DGVS/04641), y de acuerdo con los principios de la Sociedad Americana de Primatólogos para el Trato Ético de los Primates No Humanos.

Recolección de muestras de leche

Se colectaron las muestras de leche de la madre ME1 y ME2, cuando las crías tenían dos meses de edad al momento del muestreo. Se ha reportado que las madres de *Ateles* proporcionan leche a sus crías hasta 26 meses después del nacimiento (Milton, 1981); sin embargo, se observó que las crías eran fuertemente dependientes de la leche solo durante los primeros 4 a 6 meses, por lo que el momento del muestreo correspondió a la mitad de la lactancia aproximadamente.

Cada hembra fue tranquilizada con una inyección intramuscular de clorhidrato de ketamina 10 mg/kg (Inoketam 1000®, Laboratorio Virmac, Guadalajara, Jal., México). Una vez sedadas, las hembras recibieron una inyección intramuscular de oxitocina 0.65 UI/kg (Syntocinon®, Laboratorios Novartis, Sandoz, SA de CV, México). Se limpiaron los pezones y se presionaron suavemente ambas mamas para la eyección de la leche. Se recogieron aproximadamente 1.5 ml de cada mama en un microtubo estéril. Las muestras se congelaron a -20 °C hasta su análisis.

Determinación de ácidos grasos

La determinación de ácidos grasos en las muestras líquidas de la leche se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Una vez obtenido el cromatograma, se realizó la identificación de cada pico mediante espectrometría de masas (Hewlett Packard®, G1800B; Agilent Technologies, Mexico). Los resultados se presentan como concentración total y porcentaje.

Registro de ingesta de la leche por las crías

A las crías lactantes (ILM1 y ILM2) se les registró por el método focal-animal, durante los primeros 8 meses de nacidos (8:00 am a 7:00 pm) tanto el horario como la frecuencia de consumo de leche, así como de alimento sólido, para identificar el período de consumo de leche y el inicio del consumo de alimento sólido (ablactación).

RESULTADOS

El análisis de la leche de la hembra LM2 mostró una mayor concentración de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MSFA) y poliinsaturados (PUFA) en comparación con la leche materna LM1 (Tabla 1). Asimismo, el lactante ILM2 presentó una ingesta de leche del 100% durante los primeros 3 meses de vida. En contraste, durante el cuarto mes consumió solo alimentos silvestres. Entre el quinto y octavo mes, presentó una mayor frecuencia y tiempo de consumo de alimentos sólidos, especialmente alimentos silvestres, complementando la ingesta de leche.

Tabla 1. Porcentaje promedio de ácidos grasos en la leche de *Ateles geoffroyi* y otras especies de primates reportadas que se encuentran en cuidado controlado.

Ácido graso	Nombre ácido graso	ME1 Concentración mg/g	ME1 Concentración %	ME2 Concentración mg/g	ME2 Concentración %
Saturados					
Caproico	(6:0)	0.014	0.19	0.010	0.11
Caprílico	(8:0)	0.227	3.17	0.149	1.65
Cáprico	(10:0)	0.993	13.90	1.007	11.20
Láurico	(12:0)	1.105	15.47	1.209	13.45
Mirístico	(14:0)	0.871	12.20	1.043	11.60
Palmítico	(16:0)	1.301	18.22	1.959	21.79
Esteárico	(18:1)	0.387	5.42	0.479	5.32
Suma de saturados		**4.898**	**68.60**	**5.856**	**65.15**
Monoinsaturados					
Palmitoléico	(16:1)	0.458	6.41	0.660	7.34
Oleíco	(18:1)	1.507	21.10	2.058	22.89
Gadoléico	(20:1)	0.001	0.014	0.032	0.35

Suma de Monoinsaturados		**1.966**	**27.53**	**2.750**	**30.59**
Poliinsaturados					
Linoleíco	(18:2,-6LA)	0.160	2.24	0.240	2.67
Linoleníco	(18:3,-3ALA)	0.115	1.61	0.142	1.57
Suma Poliinsaturados		**0.275**	**3.85**	**0.382**	**4.25**
Total de ácidos grasos (mg/g)		**7.139**		**8.988**	

El lactante IML1 dedicó el 100% en frecuencia y tiempo de consumo de leche durante los primeros 5 meses de nacido, en los meses 6 y 7, mostró una mayor frecuencia y tiempo en el consumo de alimentos sólidos. En el mes 8 el porcentaje de frecuencia y tiempo fue mayor al 90, en el consumo de leche (Tabla2).

Tabla 2. Porcentaje mensual de frecuencia y tiempo de ingesta de leche desde el nacimiento de las crías ILM1 e ILM2, así como el inicio de estas por consumo de alimentos sólidos (silvestres y/o cultivados).

Edad de los infantes después del nacimiento	**% Frecuencia ILM1**		**% Tiempo ILM1**		**% Frecuencia ILM2**		**% Tiempo ILM2**	
Meses	**Ingesta leche**	**Alimento sólido**	**Ingesta leche**	**Alimento sólido**	**Ingesta leche**	**Alimento sólido**	**Ingesta leche**	**Alimento sólido**
1	100	0	100	0	100	0	100	0
2	100	0	100	0	100	0	100	0
3	100	0	100	0	100	0	100	0
4	100	0	100	0	0	100	0	100
5	100	0	100	0	50.00	50.00	27.85	72.15
6	62.50	37.50	50.00	50.00	28.57	71.43	22.77	77.23
7	71.87	28.13	49.43	50.57	41.67	58.33	17.58	82.42
8	97.37	02.63	95.73	04.27	57.69	42.31	20.73	79.27

CONCLUSIONES

Presencia del ácido (6:0), reportado para primates del Viejo Mundo y ausencia del (14:1), reportado en primates del Nuevo Mundo. No se determinó la presencia de LCPUFAs. Las crías iniciaron su ablactación a los 4 y 6 meses de edad, probablemente por la baja concentración de PUFAs y ausencia de LCPUFAs.

BIBLIOGRAFÍA

J. T. Brenna, “Efficiency of conversion of !-linolenic acid to long-chain n- 3 PUFA in man”. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care., 5, 2005, pp. 127–132.
S. E. Carlson, “Long-chain polyunsaturated fatty acids and development of human infants”, Acta Paediatr., 88, 1999, pp. 72–77.

M. T. Clandinin, J. E. Chappell, S. Leong, T. Heim, P. R. Swyer, G. W. Chance, “Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements”. Early Hum. Dev., 4, 1980a, pp. 121–129.
M. T. Clandinin, J. E. Chappell, S. Leong, T. Heim, P. R. Swyer, G. W. Chance, “Extrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements”, Early Hum. Dev., 4, 1980b, pp. 131–138.
K. G. Dewey, “Effects of maternal caloric restriction and exercise during lactation”, J. Nut., 1998, pp. 386S-389S.
A. Estrada, E. R. Coates, “Aprovechamiento y conservación de los primates Alouatta y Ateles en la investigación científica básica y aplicada en México”. In: *Estudios primatologicos en Mexico.* (Universidad Veracruzana, México,1995), 1, 7, pp. 179-194.
J. Farquharson, F. Cockburn, W. J. A. Patrick, E. C. Jamieson, R. W. Logan, “Infant cerebral cortex phospholipid fatty-acid composition and diet”. Lancet., 340, 1992, pp. 810–813.
G. Y. Diau, A. T. Hsieh, E. A. Sarkadi-Nagy, V. Wijendran, P. W. Nathanielsz, J. T. Brenna. “The influence of long chain polyunsaturate supplementation on docosahexaenoic acid and arachidonic acid in baboon neonate central nervous system”. BMC. Med., 2005, pp. 3:11.
G. Y. Diau, E. R. Loew, V. Wijendran, E. Sarkadi-Nagy, P. W. Nathanielsz, T. Brenna, “Decosahexaenoic and arachidonic acid influence on preterm baboon retinal composition and function”, Invest. Ophthalmo. & Visual Sci., 44,10, 2003, pp. 4559-4566.
A. Estrada, “Survey and census of howler monkeys (*Alouatta palliata*) in the rain forest of ‘‘Los Tuxtlas’’, Veracruz, Mexico”, Am. J. Primatol., 2, 1982, pp. 363–372.
A. Estrada, L. Luecke, S. Van Belle, K. French, D. Muñoz, Y. García, L. Castellanos, A. Mendoza, “The black howler monkey (*Alouatta pigra*) and spider monkey (*Ateles geoffroyi*) in the Mayan Site of Yaxchilán, Chiapas, México: a preliminary survey“, Primates., 10, 2002, pp. 89–95.
G. Hornstra, “Essential fatty acids in mothers and their neonates”, Am. J. Clin. Nutr., 2000, pp. 1262S-1269S.
M. C. Huang, J. T. Brenna, “On the relative efficacy of α-linolenic acid and preformed docosahexaenoic acid as substrates for tissue docosahexaenoate during perinatal development”. In: *Fatty Acids: Physiological and Behavioral Functions,* (Humana Press Inc. Totowa 2001), 99–113.
A. T. Hsieh, J. C. Anthony, D. A. Diersen-Schade, P. W. Nathanielsz, T. Brenna, “Biochemical and white blood profiles of baboon neonates consuming formulas with moderates and high dietary long-chain polyunsaturated fatty acids”, J. Med. Primatol., 37, 2008, pp. 81-87.
S. M. Innis, “Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids”, J. Pediatr., v.143, 2003, pp.1–8.
S. M. Innis, “Essential fatty acids in infant nutrition: lessons and limitations from animal studies in relation to studies on infant fatty acid requeriments”. Am. J. Clin. Nutr., 2000, pp. 238S – 244S
S. M. Innis, “Essential fatty acids in growth and development”, Prog. Lipid. Res., 30, 1991, pp. 39–103.
S. J. Iverson, O. T. Oftedal, “Phylogenetic and ecological variation in the fatty acid composition of milks”. En: *Handbook of milk Composition* (Academic Press, San Diego, 1995), 790-827.
R. G. Jensen, J. Bitman, S. E. Carlson, S. C. Couch, M. Hamosh, D. S. Newburg, Human milk lipids. In: *Handbook of Milk Composition*. (Academic Press, San Diego, 1995), pp. 495–542.
F. García-Orduña, “Fragmentación del habitat y demografía de primates en la región de los tuxtlas”. In: *Estudios primatologicos en Mexico*, (Universidad Veracruzana, 1995), 2, 4, pp. 61-80.
R. C. S. Greiner, J. Winter, P. W. Nathanielsz, J. T. Brenna, “Brain decosahexaenoate accretion in fetal baboons: Bioequivalence of dietary (alpha)-Linolenic and decosahexaenoic acids”. Pediatric. Res., 42, 6, 1997, pp. 826-834
L. Gubhaju, M. J Black, “The baboon as a good model for studies of human kidney development”, Pediatr. Res., 58: 2005, pp. 505–509.
W. C. Heird, A. Lapillonne, “The role of essential fatty acids in development”, Annu. Rev. Nutr., 25, 2005, pp. 549–571.
M. C. Huang, J. T. Brenna, “On the relative efficacy of α-linolenic acid and preformed docosahexaenoic acid as substrates for tissue docosahexaenoate during perinatal development”, In: *Fatty Acids: Physiological and Behavioral Functions* (Humana Press Inc., Totowa, 2001), pp. 99–

113.
M. Makrides, M. A. Neumann, R. W. Byard, K. Simmer, R. A. Gibson, “Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast fed and formula fed infants”, Am. J. Clin. Nutr., 60, 1994, pp. 189–194.
R. Matissek, F. Schnepel, G. Steiner, *Análisis de los alimentos, fundamentos, métodos y aplicaciones*. En: (Editorial Acribia, S.A., segunda edición, España. 1998).
L. A. Milligan, R. P. Bazinet, “Evolutionary modifications of human milk composition: evidence from long-chain polyunsaturated fatty acid composition of anthropoid milks”. J. Human Evolution. 55, 2008, pp. 1086-1095.
L. A. Milligan, S. I. Rapoport, M. R, Cranfield, W. Dittus, K. E. Glander, O. T. Oftedal, M. L. Power, C. A. Whittier, R. P. Bazinet, Fatty acid composition of wild anthropoid primate milks, “Comp. Biochem. Physiol., Par. B149, 2008a. pp. 74-82.
L. A. Milligan, S. V. Gibson, L. E. Williams, M. L. Powers, “The Composition of milk from Bolivian squirrel monkeys (*Saimiri boliviensis boliviensis*)”, Am. J. Prim. 70, 2008b, pp. 35-43.
K. Milton, “Estimate of reproductive parameters for free-ranging *Ateles geoffroyi*”. Primates., 22, 4, 1981, 574-579.
E. B. A. Morales. “Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en la nutrición del lactante” Rev. Hosp. Mat. Inf., Ramón Sarda XIII No. 2, 1994, pp. 73-75.
J. A. Nettleton, Omega-3 Fatty Acids and Health, 1995, New York: Chapman and Hall.
C. H. Muñoz, “Lactancia Natural”, En *Servicio Neonatología Hospital Clínico* (Universidad de Chile, 2001), 14, pp. 100-109.
J. A. Nettleton, “Omega-3 Fatty Acids and Health”, In (New York: Chapman and Hall, 1995).
M. L. Power, C. E. Verona, C. Ruiz-Miranda, O. T. Oftedal “Composition of milk from free-living common marmosts (*Callithrix jacchus*) in Brazil”. Am. J. Primatol., 70, 2008, pp. 78-83.
D. J. Raiten, S. C. Kalhan, W. W. Hay, “Maternal nutrition and optimal infant feeding practices: executive summary”, The Am. J. Clin. Nutr., 85, 2007, pp. 577S-583S.
M. Rosales-Meda, L. Cortes-Ortíz, D. Canales-Espinosa, L.K. Marsh, A.B. Rylands, R.A. Mittermeier, *Ateles geoffroyi* ssp. *vellerosus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2020: e.T160872795A17979441. https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T160872795A17979441.en. Accessed on 28 May 2025.
F. Sabillon, B. Abdu, “Composición de la leche materna”. Honduras Pediátrica Vol. XVIII, 4,1997, pp. 120-124.
R. C. Sheaff-Greiner, J. Winter, P. W. Nathanielsz, J. T. Brenna, “Brain docosahexaenoate accretion in fetal baboons: bioequivalence of dietary α-linolenic and docosahexaenoic acids”, Pediatr. Res., 42, 1997, pp. 826–834.
R. Uauy, M. Treen, D. Huffman, “Essential fatty acid metabolism and requirements during development”. Sem. Perinat., 13, 1989, pp. 118-130.
F. Tambunting, K. D. Beharry, J. Waltzman, H. D. Modanlou, “Impaired lung vascular endothelial growth factor in extremely premature baboons developing bronchopulmonary dysplasia/chronic lung disease”, J. Investig. Med., 53, 2005, pp. 253–262.
B. A. Valenzuela, N. K. Nieto, (2003). Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: Su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual. Revista Chilena Pediatrica. 74(2); 149-157.
M. G. M. Van Roosmalen, L. L. Klein, “The spider monkeys, genus *Ateles*. In *Ecology and behavior of Neotropical Primates*.. (World Wildlife Fund, Washington, DC., 1988), Vol 2, pp. 455-537

DETERMINACIÓN DE DOSIS LETAL 50 (DL50) POR COMPUESTOS MERCURIALES ($HgCl_2$ Y CH_3Hg), EN *Drosophila Melanogaster*

Josefina Huerta-García[1], Paul Gerardo Espinosa-De la Rosa[2], Cruz Daniel Mandujano-García[1], Citlalli Selene Ruíz-García [1], Susana Godina-González[2] y Gwendolyne Méndez-Frausto[3]

[1]Laboratorio de Biología Ambiental y Molecular, Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, 98066, Zacatecas, México. [2] Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, 98160, Zacatecas, México. [3] Investigadores por México, Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)- Laboratorio de Inmunotoxicología y Terapéutica Experimental, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas 98160, México. E-mail: josefina.huerta@uaz.edu.mx.

RESUMEN

La contaminación provocada por el hombre en la explotación de los minerales, ha incrementado la presencia de elementos metálicos en el medioambiente, denominados metales pesados (MP) (Naja *et al.,*2009). Esto ha generado gran preocupación por los efectos que tienen sobre la salud humana y el ambiente. La toxicidad de los MP depende de varios factores: dosis, vía de exposición, edad, entre otros (Tchounwou *et al.*, 2012). Este trabajo se enfoca en el mercurio (Hg), considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como uno de los metales pesados más tóxicos para la salud pública y la vida en general (Bhan & Sarkar, 2005). Para obtener mayor conocimiento sobre los efectos que tienen las sustancias tóxicas en los organismos se hace uso de *bioensayos,* que permiten valorar el impacto de los contaminantes y calcular factores de riesgo. Los bioensayos se basan en el uso de organismos con respuesta similar a la que puede presentar el hombre, bajo condiciones equivalentes de exposición (Iannacone *et al., 2016*). Uno de los *bioensayos* utilizados para ello es la *Dosis Letal 50 (DL50),* los datos obtenidos en este tipo de estudios sirven de base para delimitar el rango de toxicidad, indicando límites de tolerancia al que los organismos pueden estar expuestos (Akhila *et al., 2007*). El uso de *Drosophila melanogaster en el campo de la* Toxicología ha crecido recientemente, debido al gran número de genes homólogos que comparte con el humano, y que controlan el metabolismo de los xenobióticos, en estas especies tan divergentes (Mackay & Anholt, 2006). Objetivo: Determinar la toxicidad de Cloruro de mercurio ($HgCl_2$) y Metilmercurio (CH_3Hg), a partir del *bioensayo DL50* en *D. melanogaster*, para ello se prepararon diferentes concentraciones para ambos compuestos: 18 tratamientos de $HgCl_2$ con rangos desde 10 µM hasta 450 µM y 13 tratamientos para CH_3Hg desde 1 µM hasta 25 µM) (Beamish *et al., 2021*)(Rand *et al.,* 2019). Metodología: Se seleccionaron hembras vírgenes recién emergidas que luego fueron cruzadas con machos en viales con medio de cultivo, durante 8 hrs para obtener progenie con un desarrollo homogéneo, se extrajeron larvas en 3er estadio por el método de Nöthinger (Nöthinger, 1970). Posteriormente, se colocaron 20 larvas de 3er estadio en viales para cada una de las concentraciones anteriormente mencionadas de ambos compuestos, además de un grupo testigo. Una vez que emergieron las moscas adultas se cuantificaron en cada una de las concentraciones utilizadas para obtener el porcentaje de mortalidad y determinar la DL50, asimismo las concentraciones de DL50 se corroboraron por el método aritmético de Karber (Chinedu *et al., 2013)*. Los resultados obtenidos fueron una DL50 de 215.3 µM para $HgCl_2$ y una DL50 de 15.06 µM para CH_3Hg. De acuerdo con el método aritmético de Karber se obtuvo una DL50 para el $HgCl_2$ de 243 µM y para el CH_3Hg de 13.45 µM. Conclusión: Se determinó la toxicidad de $HgCl_2$ y CH_3Hg en *D. melanogaster*, observando que los límites máximos de tolerancia al que puede estar expuesta *D. melanogaster* a través del bioensayo DL50, para CH_3Hg (13.45 µM) es muy bajo, en comparación con $HgCl_2$ (243 µM) que es mucho más alto. Con estos estos valores de dosis-respuesta se pueden evaluar los rangos de toxicidad para diversos estudios ecotoxicológicos con este modelo.

INTRODUCCIÓN

El medio ambiente es el entorno donde humanos, animales, plantas y microorganismos viven y se desarrollan. El sistema terrestre está compuesto por la biosfera (seres vivos), atmosfera (aire), litosfera (tierra) y la hidrosfera (agua), los cuales interactúan armónicamente entre sí. Los contaminantes ambientales son sustancias químicas diversas que están presentes en el medio ambiente en altas concentraciones (Yvone & Edward, 2012; Masindi & Muedi, 2018). Durante los últimos cien años la industrialización se ha incrementado a un ritmo muy acelerado, por lo cual ha aumentado la demanda de explotación de los recursos naturales, lo que ha exacerbado la crisis mundial de la contaminación ambiental. El medio ambiente ha sido seriamente contaminado por diversos tipos de contaminantes, como iones inorgánicos, orgánicos, compuestos organometálicos, isótopos radiactivos, gases y nanopartículas y metales pesados entre otros (Gautam *et al.,* 2016; Briffa *et al.,* 2020).

Los metales pesados (MP) son unos de los principales contaminantes ambientales, estos se encuentran de manera natural en la corteza terrestre, sin embargo, la extracción desmedida (minería) y su uso indiscriminado ha provocado una progresiva contaminación (Gautam *et al.,* 2016). La amplia distribución de estos elementos en diversas sustancias químicas, productos y actividades debido a su uso en la industria, la agricultura, la medicina y la tecnología han generado gran preocupación por sus efectos en la salud humana y el medio ambiente.

La toxicidad de los MP depende de diversos factores, la vía de exposición, la edad, el sexo, la genética y el estado nutricional del individuo. Entre los MP con un alto grado de toxicidad, se encuentran el arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb) y mercurio (Hg) considerados como prioritarios y de importancia para la salud pública. Estos elementos metálicos son considerados tóxicos sistémicos, debido al daño que provocan en múltiples órganos, aparatos y sistemas, incluso a concentraciones muy bajas de exposición (Tchounwou *et al.,* 2012). Por tal motivo, la contaminación ambiental por MP en la actualidad se ha convertido en un motivo de preocupación por los efectos adversos que provocan al ser liberados al agua, suelo y aire (Briffa *et al.,* 2020). Este estudio se enfoca en el mercurio, considerado un contaminante de relevancia mundial.

El mercurio (Hg) es un MP que se encuentra de manera natural en la corteza terrestre. Es altamente tóxico, bioacumulativo y persistente. La Organización Mundial de la Salud (OMS), lo considera como uno de los diez productos químicos más peligrosos para la salud pública y el medio ambiente (Poulin *et al.,* 2008). El mercurio ha sido utilizado por el hombre desde la antigüedad, por lo que los seres humanos y la biota en general han estado expuestos al riesgo de contaminación, y por lo tanto hoy día tiene una amplia distribución en el medio ambiente. Sin embargo, como mencionan Zambrano y colaboradores (2017) el mercurio se reconoce como un elemento tóxico que puede provocar contaminación a gran escala. Por ser bioquímicamente activo, bioacumulable y persistente es altamente tóxico para el medio ambiente y los seres vivos. Por otro lado, el uso de bioensayos en estudios Ecotoxicológicos ha permitido entender mejor el impacto de dichos contaminantes en los seres vivos. *Drosophila melanogaster* se ha utilizado como organismo modelo *in vivo* para el estudio de la genética y el desarrollo desde hace 100 años, y recientemente ha demostrado ser un organismo valioso para estudios en toxicología. Con un número cada vez mayor de herramientas útiles que se pueden utilizar en esta especie, el valor de *D. melanogaster* como organismo modelo se extenderá sin duda aún más en el futuro (Scott & Buchon, 2019; Ong *et al*., 2015).

Por otro lado, la secuenciación del genoma de *D. melanogaster* generó una gran atención de toxicólogos, por revelar la conservación funcional de la mayoría de los genes presentes en los mamíferos. Como resultado de esto, se ha utilizado para obtener conocimientos mecanicistas en estudios toxicológicos (Adams *et al.,* 2000). La susceptibilidad, sensibilidad y respuesta celular de *Drosophila melanogaster* a metales pesados, han hecho que este insecto sea elegido para estudios toxicológicos, que nos proporcionan conocimientos clave para elucidar posibles afectaciones por efecto del mercurio, además de permitir la extrapolación de resultados a otras especies (Demir & Demir, 2022). Las pruebas toxicológicas a través de bioensayos son importantes porque son la base

para determinar si los contaminantes que se encuentran en el ambiente representan un riesgo potencial a la salud y al medio ambiente (Markwiese *et al*., 2001).

TEORÍA

Contaminación

Las interacciones entre los seres humanos y su entorno físico han sido ampliamente estudiadas. El medio ambiente es un acoplamiento de lo biótico (organismos vivos) y lo abiótico (hidrosfera, litosfera y atmosfera). La contaminación se define como la introducción en el medio ambiente de sustancias nocivas para el ser humano y otros organismos vivos. Las múltiples actividades humanas tienen un efecto adverso sobre el medio ambiente. Se ha contaminado el agua que bebemos, el aire que respiramos y el suelo donde crecen las plantas de las que nos alimentamos. La contaminación se considera un problema de salud pública internacional, con múltiples facetas: sociales, económicas y legislativas (Manisalidis *et al.,* 2020).

La contaminación ambiental se ha convertido en uno de los problemas de mayor impacto y relevancia, que comprometen el ideal de sostenibilidad y desarrollo. Las matrices de aire, agua y suelo son las fuentes de mayor concentración de contaminantes, en las que se destacan los metales pesados en diferentes especiaciones y cantidades, principalmente el mercurio (Reyes, 2021). Los metales pesados pertenecen a un grupo de elementos químicos, entre sus características más comunes que presentan, podemos mencionar las siguientes: son ubicuos, no biodegradables, se bioacumulan, se biotransforman y poseen una elevada toxicidad, sus niveles en los diferentes compartimentos ambientales (aire, agua y suelo) van aumentando gradualmente debido a las diversas prácticas antropogénicas (Rodríguez, 2017; Wu *et al*., 2016; Jadhav *et al*., 2007). Las vías de entrada de estos compuestos al organismo se presentan a través de la inhalación de polvo, ingestión directa de suelo y agua, contacto dérmico con aguas o suelos contaminados y consumo de vegetales provenientes de campos contaminados (Qu, *et al.,* 2012; Zaady *et al.,* 2010; Akubugwo *et al.,* 2013; Huang *et al.,* 2013). El principal problema de los metales pesados es su bioacumulación y no ser biodegradables, por tanto, representan un riesgo permanente para la salud (Pirrone *et al.,* 2001; Dietz *et al.,* 2000).

Toxicidad de metales pesados

Los metales pesados frecuentemente reaccionan con macromoléculas biológicas, mediante la perdida de uno o más electrones y la formación de cationes que tienen afinidad por los sitios nucleofílicos de proteínas y ácidos nucleicos, provocando así graves efectos tóxicos agudos y crónicos, afectando a diferentes órganos del cuerpo y provocando trastornos al sistema nervioso central, lesiones cutáneas, daño vascular, disfunción del sistema inmunológico, defectos congénitos y cáncer entre otros, todos ellos son ejemplos de complicaciones de los metales pesados no esenciales (tóxicos) (Cobbina, *et al.,* 2015; Gazwi, *et al.,* 2020). En los sistemas biológicos, se ha reportado que los MP afectan los organelos celulares como la mitocondria, los lisosomas, el retículo endoplásmico, el núcleo y otros componentes celulares como es la membrana plasmática, también, a enzimas involucradas en el metabolismo, la desintoxicación y la reparación de daños mutagénicos. Asimismo, se ha descubierto que los iones metálicos interactúan con otros componentes de las células (proteínas y ácidos nucleicos), causando daños en el ADN y cambios conformacionales en las proteínas, que pueden provocar alteraciones en ciclo celular, carcinogénesis y/o finalmente apoptosis (Chang, 1996; Wang, 2001; Beyersmann *et al.,* 2008). Ciertos estudios han demostrado que la producción de especie reactivas de oxígeno (EROs) juegan un papel en la toxicidad y carcinogenicidad de metales como el arsénico, el cadmio, plomo y mercurio.

Mercurio (Hg)

El mercurio es un metal de transición, considerado uno de los contaminantes más perjudiciales, debido a su toxicidad sobre la salud humana y al impacto en el medio ambiente (Rice *et al.,* 2014), el Hg existe en la naturaleza en tres estados de especiación: mercurio elemental (Hg^0), mercurio inorgánico y mercurio orgánico, cada uno con su propio perfil de toxicidad, que muestran, además, distribuciones que van desde reservorios terrestres y acuáticos (Drott, A., 2009). El mercurio elemental (Hg^0) existe como un líquido que tiene alta presión de vapor y se libera en el medio

ambiente como vapor de mercurio. El mercurio también existe como catión con estados de oxidación de mercurio monovalente/mercurioso (Hg^{+}) y mercurio divalente/mercúrico (Hg^{2+}), también formando compuestos de sales inorgánicas, donde se combina con cloro, azufre, y oxígeno, aquí encontramos principalmente el Cloruro de mercurio ($HgCl_2$) (Guzzi, 2008), y finalmente el metilmercurio (CH_3Hg) que es el compuesto orgánico más frecuente que se encuentra en el medio ambiente, este se forma como resultado de la metilación de formas inorgánicas de mercurio por microorganismos que se encuentran en el suelo y el agua (Dopp, *et al.,*2004).

La exposición de Hg está relacionada con una amplia gama problemas de salud. Esto es preocupante debido a que el Hg se encuentra presente en nuestro medio ambiente en infinidad de productos que van desde implementos médicos (esfingomanómetros, termómetros), amalgamas dentales, vacunas, bombillas, hasta productos de consumo. El mercurio elemental (Hg^0) atraviesa la barrera placentaria y hematoencefálica, donde puede oxidarse a Hg^{2+} iónico intracelularmente y acumularse en el cerebro durante años, las sales inorgánicas de mercurio ($HgCl_2$), las cuales están presentes en productos cosmetológicos, laxantes, polvos para la dentición, antisépticos y diuréticos y el mercurio orgánico (CH_3Hg) considerado como la forma más tóxica y común encontrándose en diversas fuentes, como peces, aves de corral, fungicidas, pesticidas, y algunas vacunas que contienen timerosal (Timmerman & Omaye, 2021; Bjørklund *et al.,* 2017; Clarkson & Magos, 2006; Ming Ma, *et al.,* 2019).

Toxicidad del cloruro del mercurio ($HgCl_2$) y metilmercurio (CH_3Hg)

El Cloruro de mercurio ($HgCl_2$), es la sal inorgánica más tóxica del mercurio principalmente por su corrosividad y alta solubilidad, dado que puede provocar daños al tracto intestinal, falla renal aguda, colapso circulatorio y eventualmente la muerte si no se proporciona un tratamiento rápido y adecuado (Beasley, 2014), aproximadamente el 2% del $HgCl_2$ es absorbido, se considera que su efecto corrosivo sobre el intestino puede aumentar la permeabilidad y por tanto, la absorción, a través de una exposición prolongada (Bernhoft, 2012). Su principal expresión de toxicidad es en el tejido renal, esto se debe a que los riñones son la principal ruta de eliminación del metal (Fiuza *et al.*, 2015). El mercurio inorgánico bajo condiciones anaerobias, puede ser transformado por microorganismos en mercurio orgánico, el más común es el Metilmercurio (CH_3Hg) (Jensen & Jernelöv, 1969). El CH_3Hg como metal contaminante, tiene una gran dispersión en el agua y llega a los estuarios a través de las aguas continentales, por vía fluvial y procedente de vertidos contaminando el ciclo y a los ecosistemas mediante el arrastre de compuestos tóxicos y también por disolución (Álvarez, 2006).

Miura *et al.*, desde 1995 menciona que el metilmercurio es principalmente neurotóxico y el daño es casi exclusivamente limitado al sistema nervioso central. Antes de entrar en el cerebro, las sustancias químicas exógenas en la sangre entran primero en contacto con la barrera hematoencefálica. Esto significa que CH_3Hg se acumula en el cerebro hasta un nivel lo suficientemente alto como para ocasionar daño.

Bioensayos y prueba de toxicidad DL50 (Dosis letal 50)

Para obtener mayor y mejor conocimiento sobre los efectos de las sustancias tóxicas en los organismos se hace uso de los *bioensayos*, estos se basan en organismos vivos cuya respuesta podría ser similar a la que se presentaría en el humano, bajo condiciones similares de exposición, y deben ser evaluados con base en su capacidad de respuesta. Un *bioensayo* se define como el uso de organismos vivos como agentes de prueba para medir la presencia o concentración de sustancias químicas tóxicas (Iannacone *et al.*, 2016).

La determinación de la DL50 es usualmente el paso inicial en la evaluación de las características toxicas de una sustancia. Los datos obtenidos pueden servir de base para delimitar el rango de toxicidad, indicando los límites de tolerancia al que los organismos pueden estar expuestos; proveer información inicial del modo de acción tóxico de una sustancia; ayudar en la determinación de las dosis en los estudios de animales; ayudar a determinar los valores de la DL50 que proveen muchos índices de posibles tipos de actividad farmacológica (Akhila *et al.*, 2007). Dentro de una amplia gama

de organismos potencialmente viables para bioensayos se encuentra la mosca de la fruta (*D. melanogaster).* El uso de *D. melanogaster* en el campo de la Toxicología ha crecido recientemente, en gran parte debido a la capacidad de implementar dosis controladas, la facilidad de calificar múltiples puntos de referencia dentro de un ciclo de vida corto y su alto índice de reproducción, de tal manera que los efectos de un contaminante pueden ser observados en varias generaciones (Beamish *et al.*, 2021), además se cuenta con el mapa completo de su genoma lo que ha permitido conocer que más del el 60% de los genes humanos involucrados en enfermedades tienen un homólogo en la mosca de la fruta, y el 50% de las secuencias proteicas de *Drosophila* tienen secuencias similares en los mamíferos, lo que hace que *Drosophila* sea un excelente organismo modelo *in vivo* para conocer los efectos dañinos que producen los contaminantes en el organismo y de ésta manera tratar de dilucidar los mecanismos moleculares subyacentes a dicha toxicidad (Ong *et al.*, 2015).

Drosophila melanogaster

Drosophila melanogaster (mosca de la fruta) ha sido utilizada durante mucho tiempo como un modelo versátil y poderoso para la biología del desarrollo y genética debido a su facilidad de manejo, ciclo de vida corto, bajo costo y disponibilidad de una amplia gama de cepas. Esta mosca se ha utilizado clásicamente como modelo de genotoxicidad, y en los últimos años, se ha incluido como modelo alternativo en estudios de toxicología (Whitworth et al, 2006; Rand 2010).

La utilización de la mosca de la fruta en el cribado de toxicidad, para el progreso de nuevos fármacos sigue siendo aún un área en desarrollo. La relevancia del modelo de *Drosophila* para entender la condición humana de exposición a los tóxicos ha sido ampliamente aceptada a medida que hemos llegado a conocer el gran número de genes altamente conservados y vías que controlan el desarrollo, el estrés y el metabolismo xenobiótico entre estas dos especies tan divergentes (Mackay & Anholt, 2006; Misra *et al.,* 2011). En las últimas décadas, se ha utilizado como organismo modelo para entender enfermedades humanas, y para estudios toxicológicos (Abolaji *et al.*, 2013; Otero *et al.*, 2016). Existen numerosas ventajas de *D. melanogaster* para estudios toxicológicos, entre los que destacan: tiempo de generación(crecimiento) (± 10 días a 25ºC) alta tasa de reproducción por generación, arquitectura genética simple (~15.000 genes en solo cuatro pares de cromosomas), los ensayos *in vivo* se pueden realizar fácilmente por el bajo costo de mantenimiento en el laboratorio en comparación con otros modelos animales (Rand *et al.,* 2015).

En síntesis, la contaminación ambiental es un grave problema que amenaza la salud humana y los ecosistemas en el mundo actual. A medida que las actividades humanas se expanden, el equilibrio natural del planeta se ve afectado. Esto resulta en una degradación de la calidad del aire, el agua y el suelo, y unos de los principales contaminantes son los metales pesados, generados principalmente por una serie de procesos industriales y la minería.

El mercurio es uno de los metales pesados, considerado de los más tóxicos del planeta. Debido a las características físico-químicas que presenta se le ha utilizado a lo largo de la historia en un gran número de productos, sin embargo, diversos estudios han mostrado múltiples efectos perjudiciales sobre la salud y el medio ambiente en general. El mercurio como se mencionó anteriormente presenta diversas formas de especiación ($HgCl_2$ y CH_3Hg), pero cualquiera de ellas representa un alto riesgo a la salud. La población humana se encuentra expuesta a estos dos compuestos mercuriales de manera cotidiana, por lo que es necesario evaluar la toxicidad de cada uno de ellos para compararlos y establecer categorías de riesgo. La determinación de la Dosis Letal 50 (DL50) es crucial en toxicología como una medida estándar para evaluar y comparar la toxicidad de ambos compuestos, además nos permitirá establecer límites de exposición seguros para humanos y otros organismos. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar la toxicidad de $HgCl_2$ y CH_3Hg, a partir de la Dosis Letal 50 (DL50) en *D. melanogaster.*

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó como modelo biológico *Drosophila melanogaster* (cepa silvestre), la cual tiene ojos rojos, alas rectas y redondeadas las cuales sobresalen en un tercio de la longitud del cuerpo. A partir de cultivos maduros se seleccionaron hembras vírgenes recién emergidas, las cuales fueron cruzadas con machos de la misma cepa, el sexado fue realizado como lo reporta Ramos., 2010. El procedimiento se llevó acabó de la siguiente manera: se transfirieron los progenitores a viales con medio de cultivo fresco, el cual fue enriquecido con levadura para estimular la puesta de huevos, posteriormente se retiraron los progenitores. El anterior procedimiento permaneció así durante 8 horas, con la finalidad de obtener organismos con un desarrollo homogéneo. Las larvas eclosionadas del procedimiento anterior se dejaron crecer hasta el tercer estadio (72 ± 4 horas) las cuales se extrajeron por el método de Nöthinger (1970) (Figura 1 A-B). Este método se basó en la formación de un gradiente de sacarosa al 20%, a partir de ello se colocaron 20 larvas en cada tubo con ayuda de un pincel de cerdas suaves. Cada uno de los tubos contenía cada una de las diluciones preparadas para cada compuesto mercurial ($HgCl_2$ y de CH_3Hg), además de medio instantáneo para *Drosophila* (Figura 1 C).

Las diluciones añadidas de cada compuesto fueron preparadas de la siguiente manera: se prepararon diluciones sucesivas de los compuestos de $HgCl_2$ y de CH_3Hg, se utilizaron 5 ml de cada concentración en un tubo homeopático los cuales se disolvieron con 1 g de medio/alimento instantáneo para *Drosophila melanogaster* (Carolina Biological Supply, Fórmula 4-24). Para el Cloruro de mercurio ($HgCl_2$), se preparó una solución stock de 4000 µM de $HgCl_2$ y mediante diluciones sucesivas se prepararon un total de 18 concentraciones: 450, 400, 375, 350, 325, 300, 275, 250, 225, 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, y, 10 µM de $HgCl_2$. Para el Metilmercurio (CH_3Hg), se preparó una solución stock de 111µM y mediante diluciones sucesivas se prepararon un total de 13 concentraciones: 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 y 1 µM de CH_3Hg. Para cada concentración se realizaron dos repeticiones y como disolvente del grupo testigo se usó agua desionizada disuelta en medio/alimento instantáneo para *Drosophila melanogaster*.

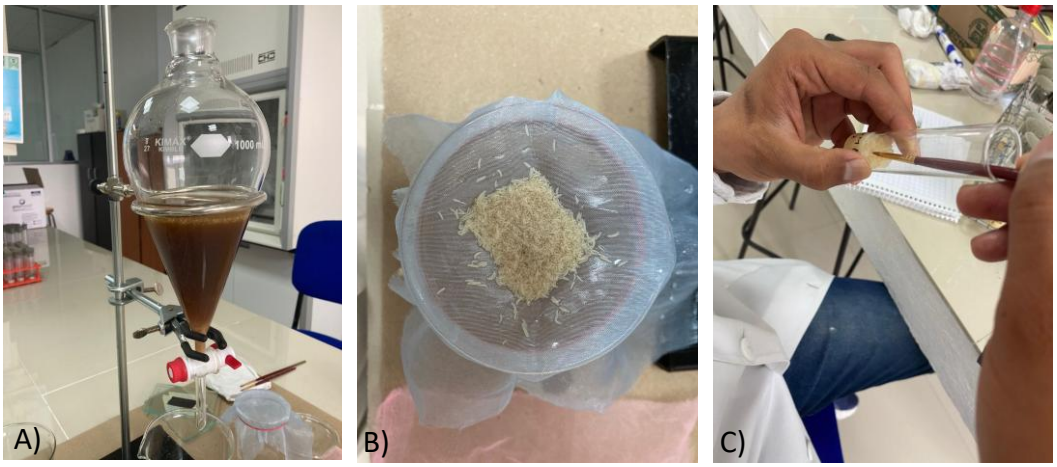


Figura 1. Extracción de larvas por el método de Nöthinger *(1970) (A y B).* Exposición de larvas en medio de cultivo con los diferentes tratamientos de los compuestos mercuriales $HgCl_2$ y CH_3Hg *(C).*

La exposición de las larvas a los diferentes tratamientos de *$HgCl_2$ y CH_3Hg* fue realizado durante 72 horas. Una vez concluido el tiempo las larvas migraron hacia la parte superior del tubo para formar la pupa, cada individuo fue identificado con un número por la parte externa del tubo. Posteriormente se realizó el conteo de adultos recuperados de cada tratamiento para ambos compuestos mercuriales y grupo testigo, con los datos obtenidos se calculó la dosis letal 50 (DL50).

Además, en este trabajo se utilizó el método de corroboración de Karber para determinar la DL50, este método implica la administración de diferentes dosis de la sustancia de prueba a varios grupos, reportado por Chinedu *et al.*, 2013, el cual es el siguiente:

$$\mathbf{LD50} = \boldsymbol{DL100} - \sum \left(\frac{\boldsymbol{a\ x\ b}}{\boldsymbol{n}}\right)$$

Dónde:
LD50 = Dosis letal media
DL100= Dosis más alta administrada
a= diferencia de dosis
b= mortalidad media
n= número de individuos utilizados

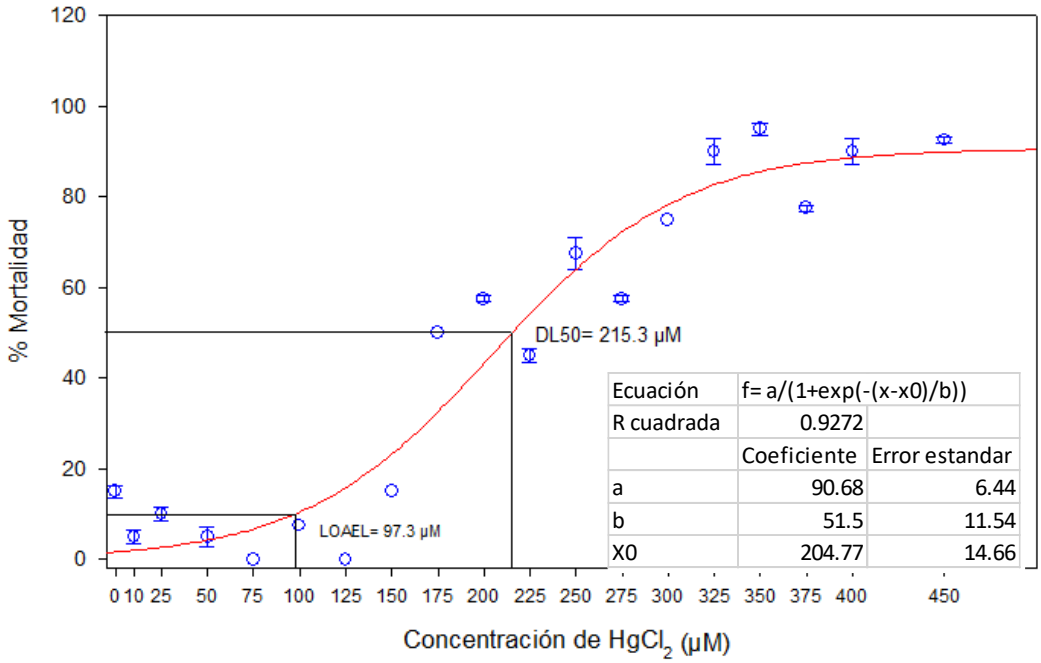
RESULTADOS

Después de realizar la cuantificación de los organismos adultos recuperados a las diferentes concentraciones de $HgCl_2$ los resultados obtenidos se muestran en la siguiente Tabla 1, en los cuales se observa que la concentración más alta de $HgCl_2$ provocó el 92.5 % de mortalidad.

Tabla 1. Porcentaje de Mortalidad de $HgCl_2$ en *D. Melanogaster*.

Concentración (µM)	Media Moscas muertas Ẋ ± E.E.	% Mortalidad
0	3 ± 1.41	15
10	0.5 ± 0.0707	2.5
25	2 ± 1.41	10
50	1 ± 2.12	5
75	0 ± 0.707	0
100	1.5 ± 0.707	7.5
125	0 ± 0	0
150	3 ± 0	15
175	10 ± 0	50
200	11.5 ± 0.707	57.5
225	9 ± 1.41	45
250	13.5 ± 3.53	67.5
275	11.5 ± 0.707	57.5
300	15 ± 0	75
325	18 ± 2.82	90
350	19 ± 1.41	95
375	15.5 ± 0.707	77.5
400	18 ± 2.82	90
450	18.5 ± 0.707	92.5

De acuerdo con los datos anteriores y para lograr la estimación exacta, se realizó la **Gráfica 1** obteniendo como resultado una curva de tipo sigmoidea, se graficó el porcentaje de mortalidad y las diferentes concentraciones de $HgCl_2$. Donde se obtiene una $r^{2=}$ 0.92 y una DL50 = 215.3 µM para $HgCl_2$. Al corroborar estos datos por el método aritmético de Karber (datos no mostrados) muestra como resultado que la DL50 para *D. melanogaster* de $HgCl_2$ es de 243 µM.



Gráfica 1. Efecto de la mortalidad de *D. melanogaster* expuesta a $HgCl_2$ para la obtención de la DL50.

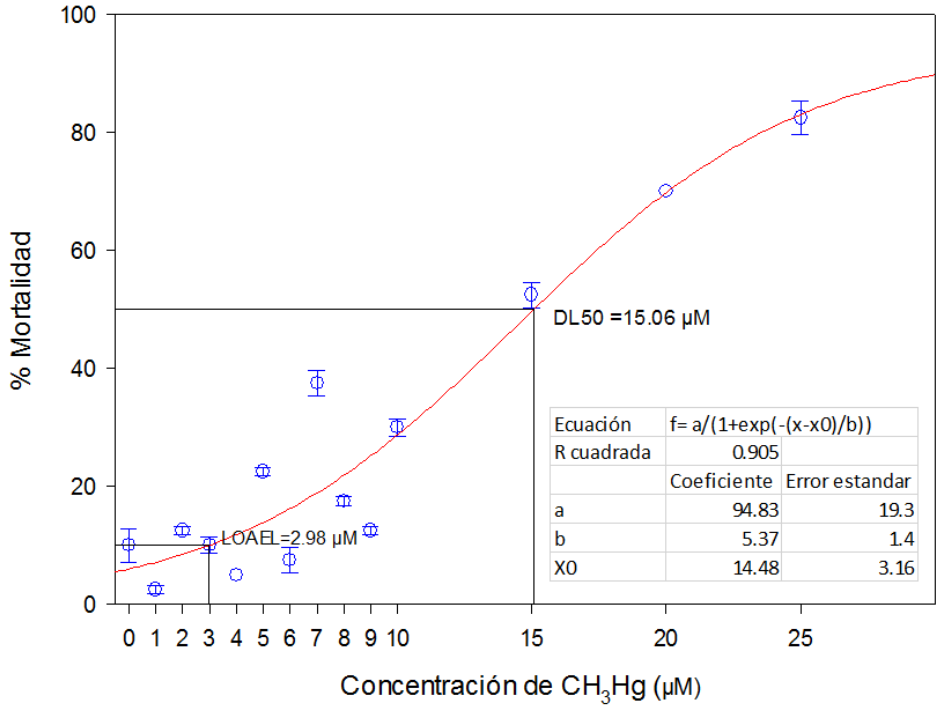
En lo que respecta a la exposición de CH_3Hg los resultados obtenidos del conteo de adultos recuperados se muestran en la Tabla 2, en los cuales también se observa la misma tendencia de $HgCl_2$ a mayor concentración aumenta el porcentaje de mortalidad, cabe resaltar que para metil mercurio la concentración más alta fue de 25 µM., y para cloruro de mercurio fue de 450 µM. datos mostrados en Tabla 1 y 2.

Tabla 2. Porcentaje de Mortalidad de CH_3Hg en *D. Melanogaster*.

Concentración	Media moscas muertas Ẋ ± E. E.			% Mortalidad
0	2	±	2.84	10
1	0.5	±	0.707	2.5
2	2.5	±	0.707	12.5
3	2	±	1.41	10
4	1	±	0	5
5	4.5	±	0.707	22.5
6	1.5	±	2.121	7.5
7	7.5	±	2.121	37.5
8	3.5	±	0.707	17.5
9	2.5	±	0.707	12.5
10	6	±	1.414	30
15	10.5	±	2.121	52.5
20	14	±	0	70
25	17	±	2.828	85

De acuerdo con los datos anteriores y para una estimación exacta se realizó la **Gráfica 2** que da como resultado una curva del tipo sigmoidea, se graficó el porcentaje de mortalidad y las diferentes concentraciones de CH_3Hg. Donde se obtiene una $r^{2=}$ 0.90 y una DL50= 15.06 µM para CH_3Hg. Al

corroborar estos datos por el método aritmético de Karber (datos no mostrados) da como resultado que la DL50 para *D. melanogaster* de CH_3Hg es de 13.45 µM.



Gráfica 2. Efecto de la mortalidad de *D. melanogaster* expuesta a CH_3Hg para la obtención de la DL50.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir, que ambos compuestos mercuriales el $HgCl_2$ y CH_3Hg poseen un alto rango de toxicidad en *D. melanogaster*, pero de manera diferencial. En el caso de $HgCl_2$ mostró que el límite máximo de tolerancia de la DL50 fue de 243 µM y para CH_3Hg del 13.45 µM. Esto confirma datos reportados en la literatura científica, las cuales mencionan que los compuestos orgánicos de mercurio, como es el caso de CH_3Hg son mas peligrosos, a concentraciones aún muy bajas. Así mismo se demuestra la utilidad del modelo de *Drosophila melanogaster* en estudios toxicológicos, porque nos permiten evaluar dosis-respuesta de contaminantes ambientales peligrosos para poder determinar los riesgos de exposición y respuestas sistémicas con mayor certeza, y conocer rangos de toxicidad aguda utilizando el parámetro de DL50.

BIBLIOGRAFÍA

Abolaji, A., Kamdem, J., & Rocha, J. (2013). *Drosophila melanogaster* as a promising model organism in toxicological studies. *Archives of Basic and Applied Medicine, 1*, 33-38. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/259184998_Drosophila_melanogaster_as_a_Promising_Model_Organism_in_Toxicological_Studies_A_Mini_Review

Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., & Saunders, R. D. (2000). The genome sequence of Drosophila melanogaster. *Science*, *287*(5461), 2185-2195.

Akhila Shetty, J., Shyamjith, D., & Alwar C., M. (2007). Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. *Current Science. 93*(7), 917-920. Obtenido de https://www.jstor.org/stable/24099255.

Akubugwo, E. I., Osuocha, K. U., Nwaogu, L. A., & Chinyere, G. C. (2013). Studies on bioaccumulation of heavy metals and selected minerals from mining effluent contaminated soil treated with fertilizers into Cucurbita pepo vegetable. *Advances in Appl. Sci. Res*, *4*(4), 190-195.

Álvarez Menéndez, M. D. (2006). Evaluación de la capacidad bioindicadora de plantas y artópodos en la toxicidad del metil-mercurio. *(Tesis Doctoral).* Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Obtenido de https://hdl.handle.net/20.500.14352/56138

Beamish R, C., Love M., T., & Rand D., M. (2021).Developmental toxicology of metal mixtures in Drosophila: unique, properties of potency and interactions of mercury isoforms. *International Journal of Molecular Sciences. 2*(12131). doi:https://doi.org/10.3390/ijms222212131.

Beasley, D. M. (2014). Full recovery from a potentially lethal dose of mercuric chloride. *Journal of medical toxicology : official journal of the American College of Medical Toxicology, 10*(1), 40-44. doi:https://doi.org/10.1007/s13181-013-0311-1

Bernhoft A., R. (2012). Mercury Toxicity and Treatment: A Review of the Literature. *Journal of Environmental and Public Health, 2012*, 10. doi:https://doi.org/10.1155/2012/460508

Beyersmann, D., & Hartwig, A. (2008). Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Archives of toxicology*, *82*(8), 493-512.

Bhan, A., & Sarkar, N. N. (2005).Mercury in the environment: Effect on health and reproduction. *Reviews on environmental health. 20*(1), 39-56. doi:doi: 10.1515/reveh.2005.20.1.39.

Bjørklund, G., Dadar, M., Mutter, J., & Aaseth, J. (2017). The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. *Environmental research*, *159*, 545-554.

Briffa J., Sinagra E., Blundell R. (2020) Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans, Heliyon,Volume 6, Issue 9 e04691 ISSN 2405-8440, https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691.

Chang, L., Kasprzak, K., Magos, L., & Suzuki, T. (1996). Toxicology of Metals.

Chinedu, E., Arome, D., & Ameh, F. S. (2013). A new method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology international. 20*(3), 224–226. doi:https://doi.org/10.4103/0971-6580.121674.

Clarkson, T. W., & Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical reviews in toxicology*, *36*(8), 609-662.

Cobbina, S. J., Chen, Y., Zhou, Z., Wu, X., Zhao, T., Zhang, Z., & Yang, L. (2015). Toxicity assessment due to sub-chronic exposure to individual and mixtures of four toxic heavy metals. *Journal of hazardous materials*, *294*, 109-120.

Demir, E., & Demir, F. T. (2022). Drosophila: a promising model for evaluating the toxicity of environmental pollutants. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, *12*(1), 101-118.

Dietz R., Riget F., Cleemann M., Aarkrong A., Johansen P., Hansen J.C (2000). Comparision of contaminants from different trophic levels and ecosystems. Science of Total Environment. 245 (3): 221-231.

Drott, A. (2009). *Chemical speciation and transformation of mercury in contaminated sediments* (No. 2009: 22).

Dopp, E., Hartmann, L. M., Florea, A. M., Rettenmeier, A. W., & Hirner, A. V. (2004). Environmental distribution, analysis, and toxicity of organometal (loid) compounds. *Critical reviews in toxicology*, *34*(3), 301-333

Fiuza, T. d., Oliveira, C. S., da Costa, M., Oliveira, V. A., Zeni, G., & Ester, P. M. (2015). Effectiveness of (PhSe)2 in protect against the HgCl2 toxicity. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 29*, 255-262. doi:https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.05.008.

Gautam, P. K., Gautam, R. K., Banerjee, S., Chattopadhyaya, M. C., & Pandey, J. D. (2016). Heavy metals in the environment: fate, transport, toxicity and remediation technologies. *Nova Sci Publishers*, *60*, 101-130.

Gazwi, H. S., Yassien, E. E., & Hassan, H. M. (2020). Mitigation of lead neurotoxicity by the ethanolic extract of Laurus leaf in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, *192*, 110297.

Guzzi, G., & La Porta, C. A. (2008). Molecular mechanisms triggered by mercury. *Toxicology*, *244*(1), 1-12.

Huang, Z., Pan, X. D., Wu, P. G., Han, J. L., & Chen, Q. (2013). Health risk assessment of heavy metals in rice to the population in Zhejiang, China. *PloS one*, *8*(9), e75007.

Iannacone Oliver, J. A., Salazar Capcha, N., & Alvariño Flores, L. (2016). Variabilidad del ensayo ecotoxicológico con *Chironomus calligraphus* Goeldi (diptera: *chironomidae*) para evaluar cadmio, mercurio y plomo. *Ecología aplicada. 2*(1-2), 103. doi:https://doi.org/10.21704/rea.v2i1-2.256

Jadhav, S. H., Sarkar, S. N., Ram, G. C., & Tripathi, H. C. (2007). Immunosuppressive effect of subchronic exposure to a mixture of eight heavy metals, found as groundwater contaminants in different areas of India, through drinking water in male rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 53*(3), 450–458. doi:https://doi.org/10.1007/s00244-006-0177-1

Jensen, S., & Jernelöv, A. (1969). Biological methylation of mercury in aquatic organisms. *Nature, 223*(5207), 753–754. doi:https://doi.org/10.1038/223753a0

Ma, M., Du, H., & Wang, D. (2019). Mercury methylation by anaerobic microorganisms: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *49*(20), 1893-1936.

Mackay T., F, Anholt., R,R. (2006). Of flies and man: Drosophila as a model for human complex traits. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2006; 7:339–367. [PubMed: 16756480].

Manisalidis, I., Stavropoulou, E., Stavropoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2020). Environmental and health impacts of air pollution: a review. *Frontiers in public health*, *8*, 14.

Markwiese, J. T., Ryti, R. T., Hooten, M. M., Michael, D. I., & Hlohowskyj, I. (2001). Toxicity bioassays for ecological risk assessment in arid and semiarid ecosystems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews*, 43-98.

Masindi, V., & Muedi, K. L. (2018). Environmental contamination by heavy metals. *Heavy metals*, *10*(4), 115-133.

Misra, J. R., Horner, M. A., Lam, G., & Thummel, C. S. (2011). Transcriptional regulation of xenobiotic detoxification in Drosophila. *Genes & development*, *25*(17), 1796-1806.

Miura, K., Naganuma, A., Himeno, S., & Imura, N. (1995). Mercury toxicity. En R. A. Goyer, & M. G. Cherian, *Toxicology of metals biochemical aspects* (Vol. 115, págs. 163-187). Berlin, Heidelberg: Springer. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-642-79162-8_9.

Naja, G., & Volesky, B. Toxicity and Sources of Pb , Cd , Hg , Cr , As , and Radionuclides in the Environment, *Heavy Metals in the Environment.* 2009; 1era ed., págs. 13-61. Boca Raton: CRC Press. doi:DOI:10.1201/9781420073195.ch2.

Nöthinger, R. Sucrose density separation: a method for collecting large numbers of *Drosophila* larvae, Dros, inf. Serv. 1970; (45). 175.

Ong, C., Yung, L.-Y. L., Cai, Y., Bay, B.-H., & Baeg, G.-H. (2015). *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology, 9*(3), 396–403. doi:https://doi.org/10.3109/17435390.2014.940405

Otero-Moreno, D., Peña-Rangel, M. T., & Riesgo-Escovar, J. R. (2016). Growth and Metabolism: Regulation and the Insulin Pathway from a Fruit Fly's Viewpoint. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *19*(2), 116-126.

Pirrone N., Costa P., Pacyna J.M.., Ferrara R. (2001). Atmospheric mercury emissions from anthropogenic source in the Mediterranean Region. Atmos. Environt. 35: 2997-3006.

Poulin, J., Gibb, H., Prüss-Üstün, A., & World Health Organization. (2008). Mercury: assessing the environmental burden of disease at national and local levels.

Qu, C. S., Ma, Z. W., Yang, J., Liu, Y., Bi, J., & Huang, L. (2012). Human exposure pathways of heavy metals in a lead-zinc mining area, Jiangsu Province, China. *PloS one*, *7*(11), e46793.

Ramos Morales, P. (2010). *Manual de Laboratorio de Genética para Drosophila Melanogaster.* México: Mcgraw-Hill Interamericana.

Rand MD, Montgomery SL, Prince L, Vorojeikina D. (2015) Developmental toxicity assays using the Drosophila model. Curr Protoc Toxicol. 19;59:1.12.1-20. Doi: 10.1002/0471140856.tx0112s59. PMID: 24789363; PMCID: PMC4036625.

Rand, M. D. (2010). Drosophotoxicology: the growing potential for Drosophila in neurotoxicology. *Neurotoxicology and teratology*, *32*(1), 74-83.

Rand, M., Vorojeikina, D., Peppriell, A., Gunderson, J. & Prince, L. Drosophotoxicology: Elucidating Kinetic and Dynamic Pathways of Methylmercury Toxicity in a Drosophila Model. Frontiers in Genetics. 2019; doi: 10.3389/fgene.2019.00666. PMID: 31447878; PMCID: PMC6695472.

Reyes, Y. (2021). *Estudio de bioacumulación de metales pesados en plantas de consumo humano para sensado molecular In situ* (Doctoral dissertation, Pontificia Universidad Javeriana (PUJ)).

Rice, K. M., Walker Jr, E. M., Wu, M., Gillette, C., & Blough, E. R. (2014). Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of preventive medicine and public health*, *47*(2), 74.

Rodríguez Heredia, D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *MEDISAN, 21*(12). Obtenido de https://medisan.sld.cu/index.php/san/article/view/1089

Scott J.G., Buchon N. (2019), Drosophila melanogaster as a powerful tool for studying insect toxicology, Pesticide Biochemistry and Physiology. Volume 161: 95-103 ISSN 0048-3575, https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.09.006.

Tchounwou, P., Yedjou, C., Patlolla, A., & Sutton, D.Heavy metal toxicity and the environment (2012). En A. Lunch, *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology . Experientia Supplementum.* Vol. 101, págs. 133-164. Springer, Basel. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.

Timmerman, R., & Omaye, S. T. (2021). Selenium's utility in mercury toxicity: a mini-review. *Food and Nutrition Sciences*, *12*(2), 124-137.

Wang, S., & Shi, X. (2001). Molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis. *Molecular and cellular biochemistry*, *222*, 3-9.

Wu, X., Cobbina, S. J., Mao, G., Xu, H., Zhang, Z., & Yang, L. (2016). A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environmental Science and Pollution Research, 23*, 8244–8259. doi:https://doi.org/10.1007/s11356-016-6333-x

Yvone E. M, & Edward A. J. (2012). Biogeosciences survey: Studying interactions of the biosphere with the lithosphere, hydrosphere and atmosphere. *Progress in Physical Geography: Earth and Environment*, *36*(6), 833-852.

Zaady, E., Brenig, L., Carati, D., Meurrens, A., Lénelle, Y., Vanderstraeten, P., & Offer, Z. Y. (2010, November). Heavy metals identified in airborne particles during weekend periods in Brussels urban environment. In *Forum geografic* (Vol. 9, No. 9, pp. 87-92).

Zambrano Cardenas, R. O. S. A., Gonzalez Torres, L. I. B. O. R. I. O., Arangure Zuñiga, F. J., Ortega Aguirre, J. O. S. E., Paredes Limas, J. C., & Espinosa Rodriguez, M. A. (2014). El mercurio y sus consecuencias en la salud.

USO DE DISPERSIÓN DE MATRIZ EN FASE SÓLIDA SEGUIDA DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN NADES COMO ALTERNATIVA PARA LA OBTENCIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO DE RESIDUOS DE CAFÉ

Cristian García Varela, Itzel Lourdes Grimaldo Robles, Irma Daniela Salazar Díaz, Diego Valencia Rivera, Alejandro Núñez Vilchis, Jesús Andrés Torres Vélez.

Laboratorio de Instrumentación Analítica, Parque Biotecnológico UAQ, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N Querétaro, Qro. C. P. 76010
cgarcia97@alumnos.uaq.mx

RESUMEN

El café usado (CU) representa una fuente desaprovechada de compuestos bioactivos que alcanzan aproximadamente seis millones de toneladas anuales[1]. Entre estos, el ácido 5-cafeoilquínico (5-ACG) es el más abundante, constituyendo entre el 76 % y el 84 % del total de compuestos fenólicos presentes en estos residuos[4], y que, además, posee diversos efectos farmacológicos[3], por lo que su recuperación ha despertado el interés en distintas ramas. En este estudio evaluamos una metodología de extracción de 5-ACG a partir de residuos de café utilizando Dispersión de Matriz en Fase Sólida (DMFS), usando sílice como agente dispersante, seguida por una extracción líquido-sólido asistida por ultrasonido utilizando un disolvente eutéctico profundo natural (NADES) compuesto por ácido láctico y glicina, con el objetivo de aumentar la eficiencia en la recuperación del compuesto de interés al mismo tiempo de ofrecer un enfoque seguro y ecológico. Para esto se analizaron los efectos de las relaciones café:sílice (1:2 y 2:1), matriz dispersa:disolvente (1:50 y 1:75) y el tiempo de sonicación (10 y 60 min) sobre la cantidad de 5-ACG extraído cuantificando por espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 330 nm. La mayor concentración de 5-ACG resultó ser de 43.13 ± 9.44 (mg/g de CU) con relación café:sílice 1:2, 60 minutos de sonicación y relación matriz dispersa:solvente 1:75. Los datos obtenidos sugieren que la relación café:sílice (p=0.016) y el tiempo de sonicación (p=0.035) influyen en la cantidad de 5-ACG extraído, mientras que el volumen de disolvente empleado no mostró un efecto significativo (p=0.35), lo que sugiere que el disolvente no desempeñó un papel determinante en la extracción del 5-ACG bajo las condiciones evaluadas. De este modo, el uso de DMFS asistida por ultrasonido logra la extracción del 5-ACG en cantidades similares a las reportadas en dicha matriz[19,20], siendo la perspectiva comparar su eficiencia frente a métodos convencionales y su viabilidad a mayor escala.

INTRODUCCIÓN

El café usado (CU) es un subproducto generado durante la preparación de la bebida a partir de los granos molidos mediante percolado. Anualmente, se producen cerca de seis millones de toneladas de este residuo, lo que ha llevado a una creciente investigación para aprovechar su composición y propiedades[5]. Tradicionalmente, el CU era considerado un desecho sin valor comercial. Sin embargo, en la última década, se ha incrementado el interés por sus potenciales aplicaciones, sobre todo en el campo de industrias alimentarias, farmacéuticas y cosméticas[5,6].

Hoy en día, la mayor parte de CU que se producen en todo el mundo se eliminan en vertederos. La eliminación de café usado en vertederos no es segura, como ocurre con la mayoría de los residuos orgánicos, porque el riesgo de combustión espontánea es bastante alto y, además, puede producirse una producción excesiva de metano y dióxido de carbono nocivos, que contribuyen a la contaminación atmosférica general[5,8]. En términos de sostenibilidad ambiental, la industria del café y las investigaciones en cuestión deben tener en cuenta cuestiones como la demanda energética, la gestión de residuos y las emisiones de gases de efecto invernadero[8].

Es por esto que se busca aprovechar el CU como una fuente natural de compuestos bioactivos, sin embargo, su composición química de los distintos subproductos del café cambia según los procesos que atraviesa el grano, desde el secado hasta el humedecimiento, el tostado y la preparación de la

bebida, cada uno de estos pasos provoca ligeras variaciones en la concentración de los componentes químicos[2,7].

Se ha encontrado que este residuo tiene diferentes compuestos antioxidantes como fenoles, flavonoides, taninos, ácido clorogénico, ac. cafeico y ac. ferúlico[5]. En general, los compuestos fenólicos son un componente esencial de los alimentos de origen vegetal. La mayoría de estos compuestos actúan como antioxidantes en estudios *in vitro* y podrían ofrecer protección contra enfermedades cardiovasculares, neutralizando el exceso de radicales libres para proteger a las células contra el daño oxidativo[6].

Una categoría significativa de compuestos fenólicos son los ácidos hidroxicinámicos, que se hallan en casi todas las plantas al ser componentes estructurales esterificados en la pared celular vegetal[1]. Los principales representantes de los ácidos hidroxicinámicos son ésteres formados entre los ácidos cafeico y quínico, conocidos como ácidos clorogénicos (ACG), los cuales existen en varias formas isoméricas en los granos de café[3]. Los principales ácidos clorogénicos del café incluyen el ácido 3-cafeoilquínico, el ácido 4-cafeoilquínico, el ácido 5-cafeoilquínico (5-ACG), el ácido 3,4-dicafeoilquínico, el ácido 3,5-dicafeoilquínico y el ácido 4,5-dicafeoilquínico. Sin embargo, el ácido 5-cafeoilquínico constituye del 76% al 84% del peso total de los compuestos fenólicos presentes en el café verde[3].

Para extraer eficientemente compuestos bioactivos del café usado (CU), técnicas innovadoras como la Dispersión de Matriz en Fase Sólida (DMFS) y el uso de Disolventes Naturales Eutécticos Profundos (NADES, por sus siglas en inglés) se presentan como alternativas sostenibles, selectivas y de alto rendimiento. La DMFS ha evolucionado como una técnica versátil para la extracción de analitos en matrices sólidas, permitiendo la dispersión de la muestra sobre un adsorbente inerte[22], lo que incrementa la interacción entre los compuestos de interés y el material adsorbente, favoreciendo una elución eficiente con volúmenes reducidos de solvente[9,10]. La eficiencia de esta técnica ha sido significativamente mejorada mediante la asistencia con ultrasonido, lo cual reduce los tiempos de extracción y potencia la recuperación de los analitos[11].
Por su parte, los NADES son mezclas de compuestos de origen natural que, mediante interacciones de puentes de hidrógeno, presentan puntos de fusión bajos y propiedades fisicoquímicas favorables para la solubilización de compuestos fenólicos[12]. Estos disolventes están compuestos comúnmente por combinaciones de ácidos orgánicos, aminoácidos, azúcares o alcoholes, como es el caso del NADES formado por ácido láctico, glicina y agua, el cual ha demostrado una capacidad superior de extracción frente a disolventes convencionales, especialmente en sistemas asistidos por ultrasonido[13]. Además de su eficiencia, destacan por su baja toxicidad y biodegradabilidad, haciéndolos idóneos para aplicaciones alimentarias y farmacéuticas[23].

De esta manera, durante este estudio se buscó desarrollar un método de extracción de ácido clorogénico a partir de residuos de café (*C. arabica*) mediante DMFS y el empleo de NADES asistido por ultrasonido.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestras y reactivos

Se preparó una infusión de *C. arabica*, (café “David” arabica suave) de 10 g de café en 90 mL de agua destilada a 90 °C en una prensa francesa de acero inoxidable Makom Home® para mezcla de materiales. El café usado se secó a 40 °C durante 24 h para determinar su humedad. La muestra se guardó en un lugar oscuro antes de su análisis. Ácido láctico (80 %), glicina (90 %) fueron proporcionados por la Facultad de Química, UAQ. El patrón analítico de ácido clorogénico (>98.0 %) fue proporcionado por el Dr. Francisco Javier Luna Vázquez del posgrado de ciencias químico-biológicas, UAQ, resguardado a 4 °C en oscuridad.

Preparación de NADES

Se preparó el solvente eutéctico natural profundo (NADES) de ácido láctico, glicina y agua en una relación molar 3:1:4[13], mezclando las masas o el volumen, según correspondiera, en un vaso de precipitados; la mezcla se agitó magnéticamente en baño maría a 70 °C hasta formar un líquido homogéneo, ligeramente amarillento, durante 40 min. Posteriormente, se caracterizó junto con sus componentes mediante espectroscopia FTIR para validar su formación.

Parámetros de extracción

Se analizó la variación de concentración de 5-ACG en función del tiempo en baño de ultrasonido cuando se integró en el método DMFS. La tabla 1 muestra las variables de estudio, tales como la relación muestra-adsorbente (sílica gel), matriz dispersa-NADES y, de manera constante, temperatura (25 °C), potencia (180 W) y frecuencia (40 kHz)[2,9].

Extracción de 5-ACG

Se pesaron 0.667 g de cada muestra de CU y se mezclaron con 0.333 g de sílice para obtener una relación café:sílice de 2:1. Adicionalmente, se preparó una mezcla con una relación 1:2 (0.333 g de café y 0.667 g de sílice). Las mezclas resultantes se homogeneizaron en mortero durante 10 minutos y se almacenaron en frascos ámbar a temperatura ambiente.

Se pesaron 0.2 g de cada mezcla en matraces Erlenmeyer de 50 mL y se adicionó el volumen de NADES [como solución acuosa al 80 % (v/v)] correspondiente (10 o 15 mL). Las muestras se sometieron a ultrasonido (10 o 60 min). Posteriormente, se transfirieron a tubos Falcon de 15 mL, se agitaron en vórtex durante 1 minuto y se colocaron en una centrífuga (Adams Centrifuge Clínica Compact II) a 3200 rpm por 10 minutos. Los sobrenadantes se filtraron al vacío utilizando filtros Whatman grado 1 de 110 mm. Los filtrados se almacenaron en frascos ámbar, a temperatura ambiente y protegidos de la luz hasta su cuantificación espectrofotometría tras la dilución adecuada.

Tabla 1. Parámetros a evaluar de la metodología de extracción mediante dispersión de matriz en fase sólida asistida por ultrasonido.

Relación café:sílice (1 g mezcla)	Tiempo de sonicación (min)	Relación matriz dispersa:solvente (0.2 g mezcla)	N°
2:1	10	1:50	1
		1:75	2
	60	1:50	3
		1:75	4
1:2	10	1:50	5
		1:75	6
	60	1:50	7
		1:75	8

Condiciones e instrumentos

Las mediciones de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent, modelo 8453E).

La caracterización del NADES se realizó en un espectrofotómetro FT-IR (PerkinElmer - Spectrum 100 FTIR Spectrometer).

Determinación de $\lambda_{máx}$.
Para determinar la longitud de onda para las mediciones, se llevó a cabo un barrido en la región UV-Vis utilizando un estándar de 5-ACG. Los resultados mostraron que la máxima absorbancia se registró a una longitud de onda de 330 nm.

Curva de calibración
Las disoluciones estándar de calibración para 5-ACG (4, 8, 12, 16 y 20 µg/mL) se prepararon a partir de disolución madre estándar (2,000 µg/mL) mediante la dilución apropiada en disolución acuosa de NADES 80 % (v/v). Cada medición se realizó a la longitud de onda de máxima absorción, $\lambda_{máx}$ = 330 nm del 5-ACG, determinada tras realizar un barrido de absorbancia en el espectrofotómetro UV-Vis.
El coeficiente de determinación (r^2) resultó ser de 0.98, el cual se calculó a partir de la curva de calibración de estándar externo, obteniendo un límite de detección, cuantificación y lineal de 3.5, 5.8 y 20 µg/mL respectivamente. De esta manera, cada concentración de las muestras se calculó a partir de la ecuación de la recta.

Análisis estadístico
Las mediciones de la muestra de café usado (cada combinación) se realizaron por duplicado (n = 8, N = 16). Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar de todas las mediciones repetidas. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente utilizando el software GraphPad Prism Statistics (versión 5.00). Los datos también se evaluaron mediante ANOVA multifactorial para comprobar las diferencias significativas en los valores medios de los niveles de 5-ACG obtenidos por espectroscopia UV-Vis.
Finalmente, se realizó una prueba post-hoc de Tukey para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de relación café:sílice, muestra:solvente y tiempo de sonicación.

RESULTADOS

Caracterización del NADES
Se utilizó el análisis FT-IR para verificar la formación de enlaces de hidrógeno en el NADES sintetizado. Se analizaron los espectros del donador de enlaces de hidrógeno (HBD) y el aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA), así como del disolvente formado. La Figura 1 ilustra los espectros obtenidos para el ácido láctico, la glicina y el NADES de ácido láctico:glicina:agua.

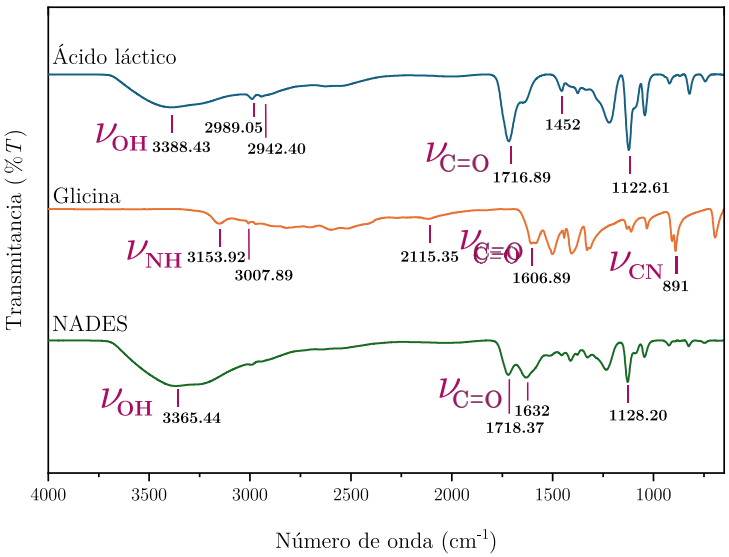


Figura 1. Espectros FTIR de ácido láctico, glicina y NADES (ácido láctico:glicina:agua).

En el espectro, se observaron las bandas características del grupo hidroxilo (3,383 cm^{-1}), metilo (2,989 cm^{-1} y 2,942 cm^{-1}) y carbonilo (1,716 cm^{-1}) del ácido láctico. Mientras que en la glicina se

identificaron bandas características del grupo amino (3,153 cm^{-1}), carbonilo (1606 cm^{-1}) y el enlace C-N (891 cm^{-1}).

Por otro lado, en el espectro infrarrojo del NADES se observaron bandas correspondientes al grupo hidroxilo (3,365 cm^{-1}), al grupo carbonilo del ácido láctico y la glicina (1,718 cm^{-1} y 1,632 cm^{-1}) y la desaparición de las bandas del grupo amino y metilo debido al solapamiento con la banda del OH. La Figura 1 confirma los cambios entre los espectros de los compuestos puros y el NADES, principalmente en el rango de 3,000 a 3,700 cm^{-1}. Esta región corresponde a la vibración de estiramiento del grupo hidroxilo (OH). Cuando se mezclaron el ácido láctico y la glicina para formar el disolvente, se generaron puentes de hidrógeno entre el grupo hidroxilo (OH) del ácido láctico y el grupo amino (NH^{3+}) o carbonilo (C=O) de la glicina[12]. Este aumento y fortalecimiento de los enlaces de hidrógeno se observó con el aumento de la intensidad de la banda en 3,365 cm^{-1} observada en el espectro IR del NADES.

La adición de agua fue necesaria para disminuir la viscosidad e impedir el proceso de cristalización en el NADES. La adición de agua al NADES no produce cambios significativos en los modos vibracionales del espectro, sino que únicamente aumenta la intensidad en la región de vibración del grupo hidroxilo (OH)[14].

Determinación de $\lambda_{máx}$.

En la Figura 2 se muestra el barrido realizado en el rango UV-Vis de un estándar de 5-ACG para determinar la longitud de onda de máxima absorción que permitiera cuantificar las muestras extraídas en esta metodología. En la Figura 3 se presenta el espectro de absorción de una muestra de 5-ACG extraída, determinando así $\lambda_{máx}$ = 330 nm.

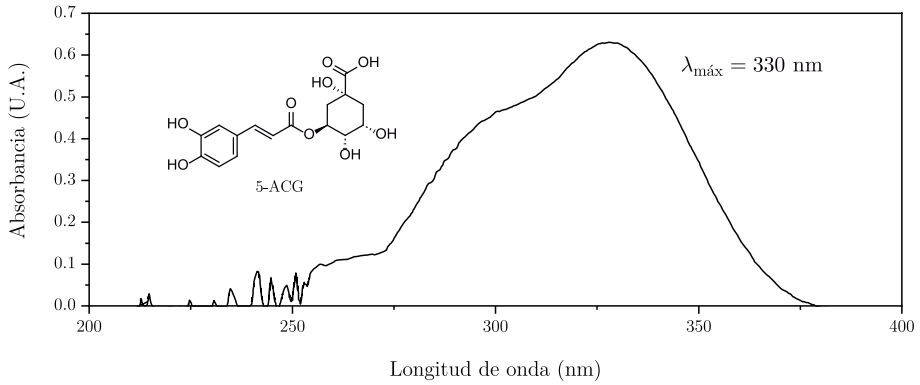


Figura 2. Espectro de absorción UV-Vis de estándar de ACG en concentración 16 µg/mL

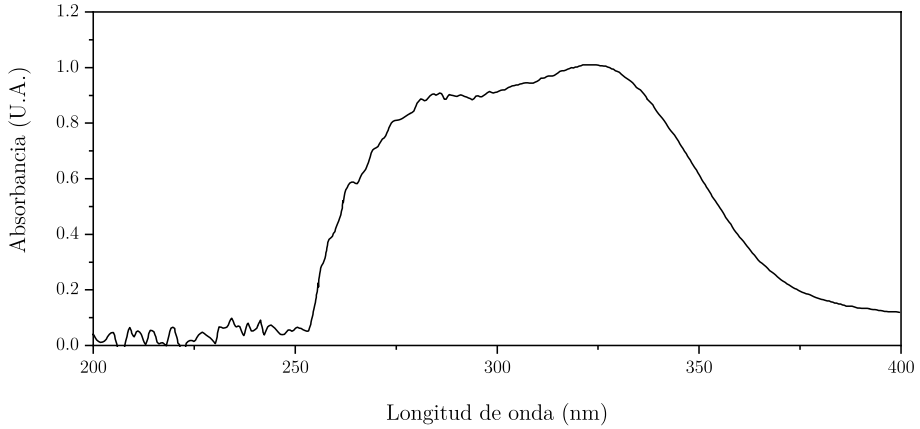


Figura 3. Espectro de absorción UV-Vis de ACG de una muestra preparada en relación 2:1 muestra:adsorbente, 1:50 matriz dispersa:NADES y 60 min en sonicación (factor de dilución: 20).

Respecto a los barridos en la región UV-Vis del estándar (Figura 2) y la muestra (Figura 3), aunque ambos espectros tienen un perfil similar con un pico dominante en 330 nm, el espectro de la muestra extraída presenta ligeras irregularidades en la región previa al pico principal, particularmente entre 260-290 nm. Esto podría deberse a la presencia de impurezas o compuestos adicionales en la muestra extraída que también absorben en esta región del espectro[15].

Cuantificación de 5-ACG

Se cuantificó el 5-ACG mediante una curva de calibración por estándar externo utilizando un espectrofotómetro UV-Vis. En la tabla 2 se presentan los resultados de las concentraciones de 5-ACG como mg/g en CU (*C. arabica*).

Tabla 2. Concentración promedio de ácido clorogénico (5-ACG) (mg/g de café seco) ± desviación estándar (DE).

Relación muestra:adsorbente (m/m) (1 g de mezcla)	Tiempo de sonicación (min)	Relación matriz dispersa:NADES (m/v) (0.2 g de mezcla)	Concentración de 5-ACG
2:1*	10*	1:50	26.54 ± 5.54
		1:75	27.53 ± 5.24
	60*	1:50	33.03 ± 3.04
		1:75	33.39 ± 0.82
1:2*	10	1:50	33.48 ± 1.44
		1:75	35.21 ± 2.89
	60*	1:50	36.42 ± 0.73
		1:75	43.13 ± 9.44

*Muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

En la Figura 4 se muestran las gráficas de concentración de 5-ACG (mg/g) ± desviación estándar a los diferentes niveles del factor matriz dispersante:solvente, factor que no presentó diferencia significativa en el proceso de extracción.

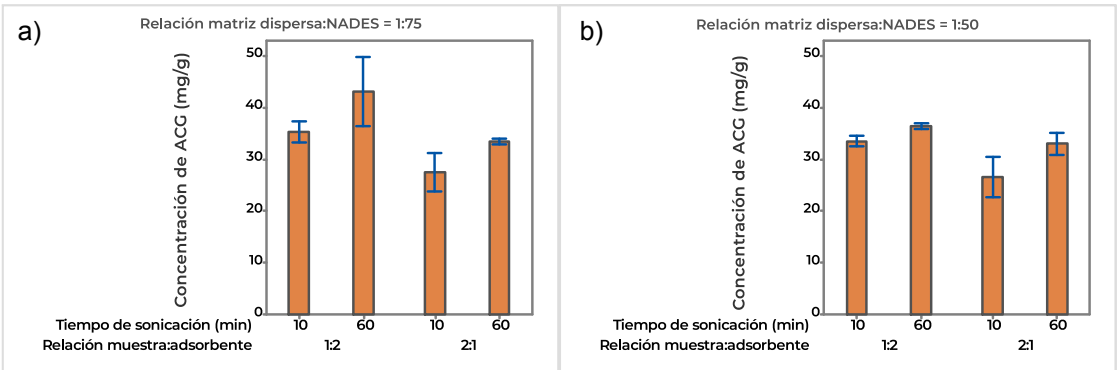


Figura 4. Concentraciones promedio en mg/g de ácido clorogénico reportadas como la media ± desviación estándar. a) relación matriz dispersa:NADES 1:50 y b) relación matriz dispersa:NADES

1:75. Letras diferentes indican diferencia significativa según el ANOVA multifactorial y la prueba post-hoc de Tukey ($p < 0.05$).

El análisis de varianza (ANOVA) multifactorial mostró que las interacciones entre dos o más factores, así como el factor proporción matriz dispersa:solvente, no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$) para la extracción de 5-ACG. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los factores principales (Tabla 2), como la relación café:sílice y el tiempo de sonicación, así como entre sus niveles mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

La Figura 5 muestra que la concentración de 5-ACG es significativamente mayor cuando se utiliza una proporción café:sílice de 1:2 en comparación con la proporción 2:1, (en aproximadamente 7 mg/g). Esto sugiere que un mayor contenido de adsorbente en el tratamiento de la muestra mejora la disrupción de la matriz[16], facilitando la interacción selectiva entre el analito y el adsorbente[17]. De manera similar, un tiempo de sonicación de 60 minutos incrementa el rendimiento de extracción en comparación con 10 minutos (en alrededor de 6 mg/g). Este aumento indica que tiempos más prolongados favorecen la transferencia de masa[18], permitiendo una mayor difusión del 5-ACG hacia el disolvente.

Por otro lado, el uso de NADES como medio de extracción no presentó diferencias significativas cuando se compararon volúmenes de 5 mL en dos niveles diferentes (1:50 y 1:75). Esto indica que este parámetro no es determinante en la eficiencia de extracción del 5-ACG. De este modo, las condiciones óptimas para la extracción de 5-ACG fueron la proporción café:sílice 1:2 y un tiempo de sonicación de 60 minutos. Las concentraciones obtenidas para estas condiciones se presentan en la Figura 4, donde se observa un comportamiento consistente en ambos niveles de mezcla de NADES evaluados.

CONCLUSIONES

Se desarrolló un método basado en una técnica modificada de extracción mediante DMFS asistida por ultrasonido utilizando NADES para la determinación por UV/Vis del ácido clorogénico presente en residuos de café *C. arabica* donde las condiciones que permitieron maximizar el rendimiento de 5-ACG fueron utilizando una relación café:sílice 1:2, relación matriz dispersa:solvente 1:75 y un tiempo de sonicación de 60 min.

Además, en investigaciones posteriores, resultaría trascendente evaluar la eficiencia de la extracción comparada con otros métodos, además de implementar otra técnica instrumental, como HPLC, para la cuantificación de 5-ACG mediante este método.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rojas-González, A.; Figueroa-Hernández, C. Y.; González-Rios, O.; Suárez-Quiroz, M. L.; González-Amaro, R. M.; Hernández-Estrada, Z. J.; Rayas-Duarte, P. Coffee Chlorogenic Acids Incorporation for Bioactivity Enhancement of Foods: A Review. Molecules 2022, 27 (11), 3400. https://doi.org/10.3390/molecules27113400.
2. Chaves, J. O.; De Souza, M. C.; Da Silva, L. C.; Lachos-Perez, D.; Torres-Mayanga, P. C.; Machado, A. P. D. F.; Forster Carneiro, T.; Vázquez-Espinosa, M.; González-de-Peredo, A. V.; Barbero, G. F.; Rostagno, M. A. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. Front. Chem. 2020, 8, 507887. https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887.
3. Liang, N.; Kitts, D. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. Nutrients 2015, 8 (1), 16. https://doi.org/10.3390/nu8010016.
4. Murthy, P. S.; Naidu, M. M. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By Products. Food Bioprocess Technol 2012, 5 (3), 897–903. https://doi.org/10.1007/s11947-010-0363-z.

5. Hernández-Varela, J. D.; Medina, D. I. Revalorization of Coffee Residues: Advances in the Development of Eco-Friendly Biobased Potential Food Packaging. Polymers 2023, 15 (13), 2823. https://doi.org/10.3390/polym15132823.
6. Wang, L.; Pan, X.; Jiang, L.; Chu, Y.; Gao, S.; Jiang, X.; Zhang, Y.; Chen, Y.; Luo, S.; Peng, C. The Biological Activity Mechanism of Chlorogenic Acid and Its Applications in Food Industry: A Review. Front. Nutr. 2022, 9, 943911. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.943911.
7. Jiménez-Zamora, A.; Pastoriza, S.; Rufián-Henares, J. A. Revalorization of Coffee By-Products. Prebiotic, Antimicrobial and Antioxidant Properties. LWT - Food Science and Technology 2015, 61 (1), 12–18. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.03.
8. Forcina, A.; Petrillo, A.; Travaglioni, M.; Di Chiara, S.; De Felice, F. A Comparative Life Cycle Assessment of Different Spent Coffee Ground Reuse Strategies and a Sensitivity Analysis for Verifying the Environmental Convenience Based on the Location of Sites. Journal of Cleaner Production 2023, 385, 135727. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135727.
9. Ivanović, M.; Krajnc, P.; Mlinarič, A.; Razboršek, M. I. Natural Deep Eutectic Solvent-Based Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD) Extraction for Determination of Bioactive Compounds from Sandy Everlasting (Helichrysum Arenarium L.): A Case of Stability Study. Plants 2022, 11 (24), 3468. https://doi.org/10.3390/plants11243468.
10. Ramos, L. Use of New Tailored and Engineered Materials for Matrix Solid-Phase Dispersion. TrAC Trends in Analytical Chemistry 2019, 118, 751–758. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.006.
11. Ramos, J. J.; Rial-Otero, R.; Ramos, L.; Capelo, J. L. Ultrasonic-Assisted Matrix Solid-Phase Dispersion as an Improved Methodology for the Determination of Pesticides in Fruits. Journal of Chromatography A 2008, 1212 (1–2), 145–149. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.028.
12. Pavlić, B.; Mrkonjić, Ž.; Teslić, N.; Kljakić, A. C.; Pojić, M.; Mandić, A.; Stupar, A.; Santos, F.; Duarte, A. R. C.; Mišan, A. Natural Deep Eutectic Solvent (NaDES) Extraction Improves Polyphenol Yield and Antioxidant Activity of Wild Thyme (Thymus Serpyllum L.) Extracts. Molecules 2022, 27 (5), 1508. https://doi.org/10.3390/molecules27051508.
13. Murador, D. C.; De Souza Mesquita, L. M.; Vannuchi, N.; Braga, A. R. C.; De Rosso, V. V. Bioavailability and Biological Ef fects of Bioactive Compounds Extracted with Natural Deep Eutectic Solvents and Ionic Liquids: Advantages over Conventional Organic Solvents. Current Opinion in Food Science 2019, 26, 25–34. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.002.
14. Pires, I. V.; Sakurai, Y. C. N.; Ferreira, N. R.; Moreira, S. G. C.; Da Cruz Rodrigues, A. M.; Da Silva, L. H. M. Elaboration and Characterization of Natural Deep Eutectic Solvents (NaDESs): Application in the Extraction of Phenolic Compounds from Pitaya. Molecules 2022, 27 (23), 8310. https://doi.org/10.3390/molecules27238310.
15. Tian, W.; Chen, G.; Gui, Y.; Zhang, G.; Li, Y. Rapid Quantification of Total Phenolics and Ferulic Acid in Whole Wheat Us ing UV–Vis Spectrophotometry. Food Control 2021, 123, 107691. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107691.
16. Du, K.; Li, J.; Gao, X.; Chang, Y. Ultrasound-Enhanced Matrix Solid-Phase Dispersion Micro-Extraction Applying Mesopo rous Molecular Sieve SBA-15 for the Determination of Multiple Compounds in Fructus Psoraleae. Sustainable Chemistry and Pharmacy 2020, 15, 100198. https://doi.org/10.1016/j.scp.2019.100198.
17. Mansur, A. R.; Kim, K. J.; Kim, D.-B.; Yoo, M.; Jang, H. W.; Kim, D.-O.; Nam, T. G. Matrix Solid-Phase Dispersion Extrac tion Method for HPLC Determination of Flavonoids from Buckwheat Sprouts. LWT 2020, 133, 110121. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110121.
18. Pacheco-Fernández, I.; Pino, V. Extraction With Ionic Liquids-Organic Compounds. In Liquid-Phase Extraction; Elsevier, 2020; pp 499–537. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00017-7.
19. Panusa, A.; et al., “Recovery of Natural Antioxidants from Spent Coffee Grounds”, J. Agric. Food. Chem., 61(77), 2013, pp. 4162–4168.
20. Pettinato, M.; et al., “Eco-sustainable recovery of antioxidants from spent coffee grounds by microwave-assisted extraction: process optimization, kinetic modeling and biological validation”, Food and Bioproducts Processing, Vol. 110, 2018, pp. 31-42.

21. Moon, J. K., Yoo, H. S., y Shibamoto, T. (2009). Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. Journal of agricultural and food chemistry, 57(12), 5365-5369.b.
22. Barker, S. A., Long, A. R., y Short, C. R. (1989). Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. Journal of chromatography, 475, 353–361. https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)89689-8
23. Hikmawanti, N. P. E., Ramadon, D., Jantan, I., y Mun'im, A. (2021). Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical Extraction Performance Enhancer for Pharmaceutical and Nutraceutical Product Development. Plants (Basel, Switzerland), 10(10), 2091. https://doi.org/10.3390/plants10102091

CROMOFOROS FOTORESPONSIVOS DONADORES DE PUENTE DE HIDRÓGENO Y HALOGENO

I. Felix Serrano, D. Navarro Rodríguez, L. Larios López, R.J. Rodríguez González, M. García Zamora

Departamento de Materiales Avanzados, Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo Coahuila, México
Isaura.felix.pd@ciqa.edu.mx

Los cromóforos de tipo azobenceno han sido ampliamente estudiados por su capacidad de foto-isomerizar y foto-alinearse al exponerse a estímulos ópticos de cierta longitud de onda, y por sus propiedades de cristal líquido. En nuestro Grupo de trabajo se han sintetizado y estudiado cristales líquidos foto-activos a base de azobencenos auto-ensamblados por puente de hidrógeno y halógeno. Dentro de este contexto, el presente trabajo propone la obtención de dos precursores capaces de formar complejos supramoleculares, por puente de hidrógeno entre una azopiridina y un etinilazobenceno (AzoH), y por puente de halógeno entre una azopiridina y un iodoetinil azobenceno (AzoI), este último obtenido mediante yodación del etinilazobenceno con yodo molecular y una base relativamente fuerte como la morfolina. La obtención del AzoH y AzoI se comprobó por resonancia magnética nuclear de protón (^{1}H NMR) y carbono (^{13}C NMR) y por espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FTIR). La caracterización térmica y termotrópica de estos dos compuestos se llevó a cabo por análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopía óptica de luz polarizada (POM). Finalmente, la respuesta óptica fue evaluada por UV-vis en THF. Los resultados de la caracterización química por NMR, DSC y POM muestran que éstos son estables a hasta los 140 °C y que desarrollan fases de cristal líquido de tipo esméctico. Por UV-vis se observó una foto-conversión *trans-cis* de alrededor de 94 %. Esto demuestra que los materiales obtenidos tienen potencial de aplicación en dispositivos ópticos. Finalmente, con estos compuestos se pueden formar dímeros supramoleculares con azopiridinas, trabajo que actualmente se encuentra en curso.

INTRODUCCIÓN

Tecnologías de vanguardia como el almacenamiento óptico de datos, buscan materiales que conjunten propiedades específicas, tales como los cromóforos de tipo azobenceno que isomerizan (*trans-cis*) y se alinean (u orientan) al exponerse a estímulos ópticos de cierta longitud de onda, a la vez que presentan propiedades de cristal líquido. Un cristal líquido (CL) presenta propiedades intermedias entre un sólido cristalino (orden atómico periódico) y un líquido isotópico (sin orden molecular), y por eso se le conoce como estado mesomórfico (meso = entre y mórfico = forma).[1] Recientemente la comunidad científica está investigando las interacciones por puente de hidrógeno y halógeno en cristales líquidos de tipo azobenceno. El puente de halógeno se estudió por primera vez en el año 2012 y 2013 por Priimagi y col., y Saccone y col. en una serie de azobencenos que muestran eficiencia en el foto-alineamiento y grabado superficial mediante luz linealmente poarizada.[2,3] El presente trabajo tiene como objetivo obtener dos cristales líquidos a base de azobenceno de estructura química similar, uno de ellos con terminación etinilo (AzoH) y el otro con terminación yodoetinilo (AzoI). El primero es donador de puente de hidrógeno y el segundo es un donador de puente de halógeno, por lo cual pueden ser usados en la síntesis de dímeros supramoleculares. Se demostró que ambos AzoH y AzoI son estables hasta 140 ^{o}C, desarrollan mesofases de tipo esméctico y presentan una alta foto-conversión *trans-cis* de hasta 94%.

PARTE EXPERIMENTAL

Se sintetizaron dos cristales líquidos a base de azobenceno de estructura química similar, uno de ellos con terminación etinilo (AzoH) y el otro con terminación yodoetinilo (AzoI). AzoH fue obtenido a partir de una serie de reacciones ya reportadas por el grupo de investigación.[4,5] AzoI fue obtenido mediante yodación del etinilazobenceno con yodo molecular y una base relativamente fuerte como la morfolina, Figura 1. La estructura química y propiedades termotrópicas y ópticas foto-inducidas

(isomerización) de los compuestos se determinó por ^{1}H y ^{13}C NMR (Bruker 400 MHz modelo Avance III), FT-IR (Nicolet modelo IS-50), TGA (TA Instruments modelo 5500), DSC (TA Instruments Co. modelo Q2000), POM (Olympus modelo BX60) acoplada con platina de calentamiento (Linkam modelo LTS 420E) y UV-Vis (Varian modelo Cary 5000).

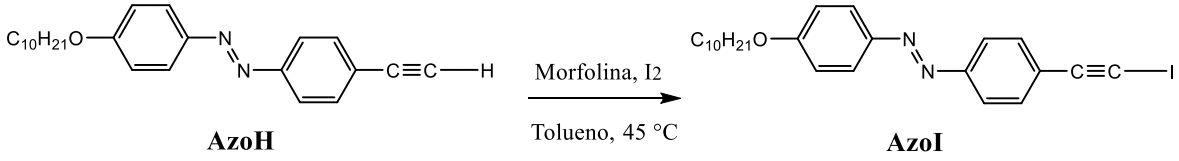


Figura 1. Esquema de reacción de yodación de AzoH para forma AzoI.

RESULTADOS

Los espectros de ^{1}H y ^{13} C NMR, correspondientes a AzoH y AzoI, son mostrados en la Figura 2a y 2b, respectivamente. De manera general, los espectros de protón de los compuestos AzoH y AzoI muestran desplazamientos (δ en ppm), multiplicidades e integrales correspondientes a protones alquílicos y aromáticos presentes en su estructura molecular. Cabe señalar, que el espectro de AzoH, a frecuencia altas, muestra un multiplete centrado en 7.5 ppm correspondiente a los protones *c* (*orto* al grupo azo) el cual muestra un desplazamiento a frecuencias mayores de 0.06 ppm con respecto al espectro de AzoI y una señal simple en 3.23 ppm correspondiente al protón *a* del grupo acetileno terminal, singlete que en el espectro del compuesto AzoI no es observable, tal como se esperaba. Estos resultados indican una halogenación satisfactoria del compuesto AzoH. Los espectros de ^{13} C muestran señales correspondientes a los carbonos de las estructuras moleculares de estudio, el espectro de AzoH muestra señales en 80, 83 y 124, ppm, correspondientes a los carbonos 10 y 9 del grupo etinilo y del carbono 8 que se ubica *orto* al etinilo. Es de comentar que las tres señales mencionadas muestran desplazamientos a frecuencias mayores de 13, 10 y 1 ppm en el espectro de AzoI respecto al AzoH, Figura 2b debido a la electronegatividad del Iodo.

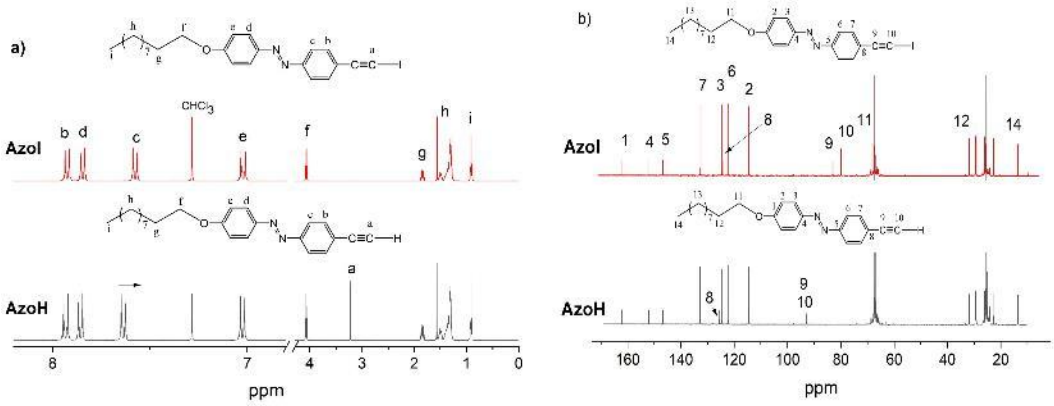


Figura 2. Espectros de a)^{1}H y b)^{13}C de los compuestos AzoH y AzoI.

Los espectros de FTIR de los compuestos AzoN y AzoI son mostrados en la Figura 3. De manera general, los espectros FTIR muestran bandas de estiramiento en 2956, 2916 y en 2848 cm^{-1}, características del enlace C-H de la cadena alquílica, una banda en 1248 cm^{-1} atribuida a los enlaces C-O-C y bandas en 1452, 1434, 1417 y 1406 cm^{-1} asociadas a la vibración C-N del grupo azo (N=N). De manera particular, el espectro del compuesto AzoH muestra una señal de estiramiento a 3285 cm^{-1} asociado a la vibración del protón del grupo etinilo (C≡C–H). Esta señal ya no aparece en el espectro de AzoI, lo que confirma la sustitución del hidrógeno por el yodo en la reacción mostrada en la Figura 1. El AzoI también muestra una banda en 642 cm^{-1} correspondiente al estiramiento C-I, indicando la presencia del yodo, lo que reitera la formación del compuesto esperado.

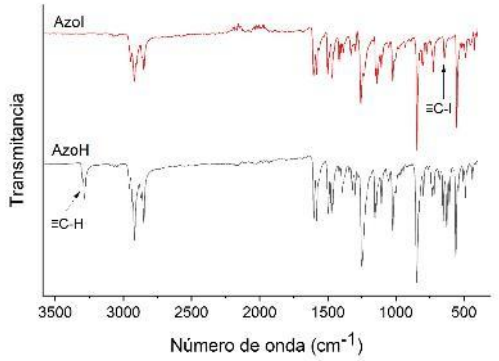


Figura 3. Espectros FTIR de los compuestos AzoH y AzoI.

Los compuestos AzoH y AzoI fueron caracterizados por TGA para determinar su estabilidad térmica. Los termogramas obtenidos muestran una temperatura de descomposición térmica mayor a 140 °C para los dos compuestos (Figura 4). Además, muestran una descomposición en dos etapas, atribuyendo la primera al rompimiento del enlace carbono-halógeno y la segunda a la descomposición del resto de la molecula. Se observa que el compuesto AzoI tiene una estabilidad térmica inferior de casi 25°C con respecto a su precursor AzoH, lo cual se atribuye a la menor energía del enlace C≡C–I respecto al enlace C≡C–H.

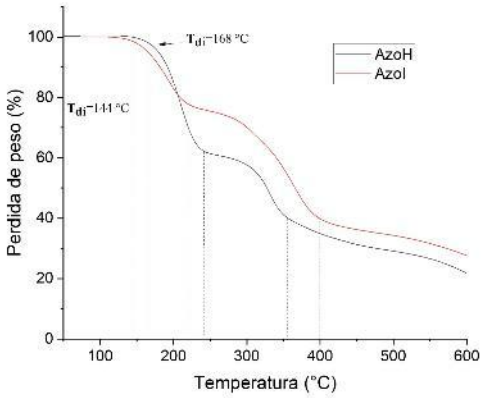


Figura 4. Termogramas TGA de los compuestos AzoH y AzoI.

La Figura 5 muestra los termogramas de DSC obtenidos durante el calentamiento y enfriamiento de los complejos AzoH y AzoI. El termograma de AzoH durante el enfriamiento muestra tres transiciones térmicas en 105, 104 y 81 °C y el termograma correspondiente a compuesto AzoI

muestra cuatro transiciones térmicas en 103, 100, 76 y 73 °C, indicando la presencia de fases de cristal líquido, fases estudiadas por microscopía óptica de luz polarizada. Los resultados de microscopía (imágenes a la derecha de los termogramas de DSC) confirman que los compuestos AzoH y AzoI desarrollan diferentes texturas típicas de cristales líquidos (abanico cónico focal, *Schileren*, etc).

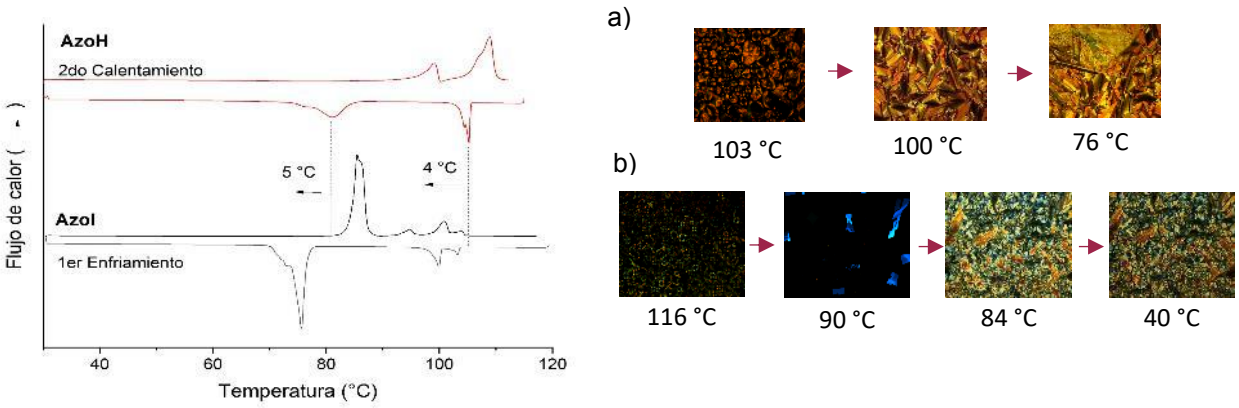


Figura 5. (*Izq*)Termogramas de DSC de AzoH y AzoI y (*Der*) Micrografías de POM de a) AzoH y b) AzoI obtenidas durante enfriamiento.

Finalmente, en la Figura 6 se muestran los espectros UV-vis de los compuestos AzoH y AzoI, obtenidos a diferentes tiempos de irradiación. Los espectros correspondientes a AzoH (Figura 6a) muestran un máximo en 364 nm y los correspondientes a AzoI (Figura 6b) un desplazamiento batocrómico de 6 nm, ambas series de espectros muestran una disminución pronunciada del espectro al ser irradiados en intervalos de tiempo, lo que indica una conversión mayor al 90 % del isómero *trans* al isómero *cis*. En la Figura 7 se grafica el grado de isomerización en función del tiempo de irradiación, lo cual se interpreta como una cinética de foto-isomerización inducida. En esta figura se observa un grado de foto-conversión *trans-cis* similar para ambos compuestos, aunque es notoria la alta velocidad (mayor pendiente de la curva) con la que responde el AzoH. En una siguiente etapa se espera realizar su evaluación en estado sólido (película delgada). La buena respuesta óptica de ambos compuestos indica que tienen potencial como precursores de complejos supramoleculares por puente de hidrógeno y halógeno, al combinarse con derivados de pidirina, como ha sido demostrado para compuestos similares en trabajos anteriores.[1]

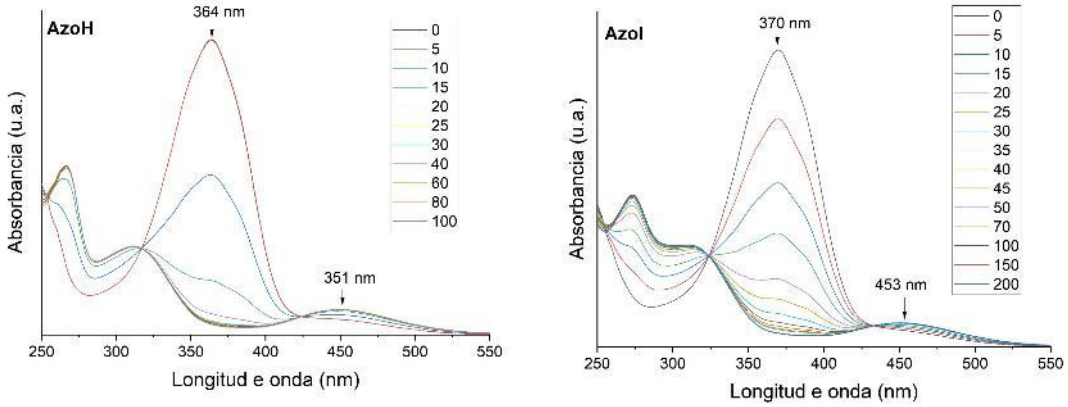


Figura 6. Espectros de UV-Vis de a) AzoH y b) AzoI

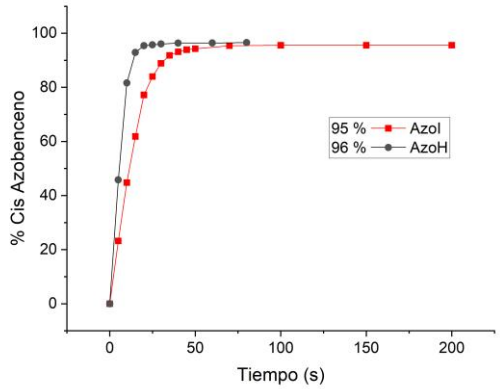


Figura 7. Gráfica de la cinética obtenida para de AzoH y AzoI

CONCLUSIONES

Se sintetizaron dos cristales líquidos de tipo azobenceno (AzoH y AzoI), los cuales muestran una estabilidad térmica de 140 °C y un comportamiento mesomórfico de tipo esméctico. En ambos, se observó una foto-conversión cercana al 94% del isómero *trans* al isómero *cis*. Estos compuestos pueden permitir la obtención de dímeros supramoleculares, vía puente de hidrógeno (AzoH--Piridina) y halógeno (AzoI--Piridina), que pudieran desarrollar alta birrefringencia en película con posible aplicación en dispositivos ópticos.

AGRADECIMIENTOS

A la SECIHTI por el financiamiento través del Proyecto de Ciencia Frontera CF-2023-I-2503 y por la aprobación a IFS de la Beca de “Estancia Posdoctoral para la Formación y Consolidación de las y los Investigadores por México”.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barcelona-Cazanave L. y col., “Synthesis and thermotropic liquid-crystalline properties of an alkyloxy-substituted pyridyl-ethynylene-azobenzene and its halogen-bonded complex with an akyl-substituted iodoperfluoroiodophenyl decanoate”, *Journal of Fluorine Chemistry* 244, p. 109739, 2021
2. Priimagi, A., Cavallo, G., Forni, A., Gorynsztejn–Leben, M., Kaivola, M., Metrangolo, P., Terraneo, G. “Halogen bonding in photoresponsive supramolecular polymers “. *Advanced Functional Materials*, (2012). 22, 2572–2579.
3. Saccone, M., Cavallo, G., Metrangolo, P., Pace, A., Pibiri, I., Pilati, T., Terraneo, G. “Halogen-bonded cocrystals of pyridyl-substituted azobenzenes and perfluorinated iodobenzenes “, (2013), *RSC Advances*, 3, 3102–3105.
4. O.L. Torres-Rocha, L. Larios-López, R.J. Rodríguez-González, I. Felix-Serrano, D. Navarro-Rodríguez, “Synthesis and phase transitions of monomers carrying a biphenylene-azobenzene or an azotolane group. Precursors of photo-responsive liquid crystal polymers”, *J. Mol. Liq*. 225 (2017) 251–259.
5. C.V. Castro-Pérez, N. Trejo-Carbajal, R.J. Rodríguez-González, L. Larios-López, I. Felix-Serrano, D. Navarro-Rodríguez, “Liquid crystal and photo-induced properties of polymers carrying, pyridylazobenzene groups and iodopentafluorobenzene rings self-assembled through halogen bond” *J. Fluor. Chem*. 222–223 (2019) 90–99.

EVALUACIÓN DE SULFÓXIDOS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER EN EL ACEITE DE AMARANTO (*Amaranthus Hypochondriacus* L.)

Tito Emilio Ariza Ortega[1], José Alberto Ariza Ortega[2], Joel Díaz Reyes[3], María Elena Ramos Cassellis[4], y María Dolores Castañeda Antonio[5]

[1]Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad de Medicina Familiar número 57, Puebla, Puebla, 72560, México. [2]Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Nutrición, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, 42090, México. [3]Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Unidad Tlaxcala, Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala, 90700, México.[4]Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química, Puebla, 72570, Puebla, México. [5]Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Puebla, 72570, Puebla, México. alberto190375@hotmail.com

RESUMEN

El aceite de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) se esta redescubriendo debido a su contenido lipídico que puede ser usado para la obtención de productos alimenticios, farmacéuticos, cosmetológicos entre otros y para su análisis se requiere instrumentos de medición rápida y que no contaminen. El objetivo de este trabajo fue evaluar sulfóxidos por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (EITF) en el aceite de amaranto. Se compró 1 kilo de semilla de amaranto y se homogeneizó hasta un tamaño de partícula de 250 µ. La extracción del aceite se realizó con un extractor Soxhlet (usando hexano como disolvente a 60 °C durante 4 h)[1] con 1 g de harina de amaranto homogeneizada. La evaluación de sulfóxidos fue con EITF (400-4000 cm^{-1}) mediante deconvoluciones de sus espectrogramas. En el aceite de amaranto se identificó en el número de onda a 1033 cm^{-1} al grupo funcional sulfóxido y se cuantificó 139.76 unidades arbitrarias y estos constituyentes pueden ser usados para producir copolímeros y obtener porductos biodegradables[2]. La EIFT es una alternativa para determinar compuestos bioactivos en el aceite de amaranto.

INTRODUCCIÓN

Los cereales son plantas monocotiledóneas que pertenecen a la familia *Poaceae* (gramíneas) y sus frutas se caracterizan por tener paredes delgadas adheridas a las semillas (arroz, maíz, trigo, avena, sorgo, centeno, cebada, mijo, entre otros)[3] comparado con las plantas dicotiledóneas, qué sus semillas son similares a los cereales y son clasificados como falsos cereales o pseudocereal[4], entre estos se encuentran quinoa (*Chenopodium quinoa*), chía (*Salvia hispanica*), trigo sarraceno (*Fagopyrum* spp.) y amaranto (*Amaranthus* spp.)[5].

El género Amaranthus comprende alrededor de 70 especies, de las cuales 40 son nativas del continente Americano y el resto de Australia, África, Asia y Europa[6], contiene proteínas entre un 15.4%-16.0 % similar al trigo (13.5-14.5 %), maíz (10.6%-13.8 %), cebada (10%-14.9%) y avena (12.4%-12.9 %)[7], carbohidratos como almidón (65%-75%) y fibra dietética (4%-5%)[8], vitaminas hidrosolubles como B1, B2, B3 y C con 0.12 mg/100 g, 0.20 mg/100 g, 0.92 mg/100 g y 4.20 mg/100 g respectivamente[9], minerales como magnesio (848 µg/g), calcio (519.3 µg/g), fósforo (330 µg/g) e hierro (65 µg/g) y lípidos entre 6.98%-7.22%[10].

Los lípidos son macromoléculas constituidas principalmente por átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno, fósforo y nitrógeno, que al unirse entre sí y con otros compuestos químicos, forman estructuras simples o complejas, en función de ello se clasifican en lípidos simples como los aceites (que por lo general en su composición química predominan los hidrocarburos alifáticos, que son ácidos monocarboxílicos, saturados e insaturados, unidos a ésteres de glicerol), lípidos compuestos (que son lípidos conjugados con moléculas no lipídicas, un ejemplo son los sulfóxidos, que contienen un grupo sulfinilo unido a dos átomos de carbono), y los lípidos asociados (que por sus

características químicas, no se encuentran dentro de la clasificación de un lípido simple o compuesto, como los pigmentos, las vitaminas liposolubles y los esteroles)[11].

En el aceite de amaranto predominan los ácidos grasos con dobles enlaces con un 71.58%-72.44%[10], donde el 70% son de ácidos grasos oleico y linoleico y un 1% de linolénico, y un 20% de ácidos grasos saturados como el esteárico[7] y su concentración de macronutrientes y micronutrimentos varía de acuerdo a la variedad de la planta, el clima, las condiciones del suelo y el método de fertilización[12].

Por lo anterior, es necesario evaluar sus propiedades rápidamente y en general, que no se empleen reactivos químicos, una opción es la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier, donde la radiación infrarroja pasa a través de una muestra y una parte de la radiación infrarroja es absorbida en la muestra y otra pasa a través de ella (se transmite), dando como resultado un espectrograma que representa la absorción y transmisión molecular, creando una huella molecular de la muestra única (huella digital), con picos de absorción que corresponden a las frecuencias de vibración entre los enlaces de los átomos que forman la muestra y para realizar su identificación, se requiere un medio de decodificación donde las frecuencias individuales pueden ser analizadas, para ello se emplea la técnica matemática conocida como transformada de Fourier, donde esta transformación la realiza la computadora[13], por lo que esta técnica es útil para identificar y cuantificar los posibles lípidos simples, compuestos y asociados en el aceite de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar sulfóxidos por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (EITF) en el aceite de amaranto.

TEORÍA

La semilla de amaranto es poco consumida a pesar de su contenido de nutrientes, por lo que se buscan alternativas para aprovecharlos y diversificar su uso, como es su contenido de sulfóxidos en su aceite, por lo que se podría comprobar por medio de la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, debido a que esta técnica permite analizar enlaces moleculares específicos (como el enlace S=O característico de los sulfóxidos), generando espectros únicos que pueden correlacionarse con su presencia y su concentración.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra

Se compró 1 kilo de semilla de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) del Estado de Puebla, Puebla; México. Las semillas fueron homogeneizadas en una licuadora (Procesador de Alimentos de Braun Multipractic, Alemania) durante 20 s. La muestra homogeneizada se tamizó hasta alcanzar un tamaño de partícula de 250 µ.

Extracción de lípidos

Para la extracción de lípidos, se pesó 1 g de muestra tamizada de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) y se colocó dentro de un porta-dedal de extracción. El porta-dedal se colocó dentro del extractor Soxhlet y al matraz de bola se añadió hexano como disolvente a 60 °C durante 4 h (método 920.39) Association of Official Agricultural Chemists[1]. La mezcla de disolvente-aceite se separó utilizando un evaporador rotatorio al vacío a 50 °C a velocidad de rotación media (Büchi, Heating Bath B-490, México) conectado a una bomba de vacío (Büchi, Vacuum Rump V-700, México).

Caracterización de lípidos

Para la evaluación del aceite de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.), se tomó una alícuota de 20 μL de aceite y se depositó en el vidrio del espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier (Bruker Vertex 70 Bruker Optics-Bruker Corporation, Billerica, MA, EUA). Las determinaciones se realizaron en la región espectral del infrarrojo medio (400–4000 cm^{-1}) a una resolución de ± 4 cm^{-1}, con un tiempo de integración de 60 s (1 s por barrido). La identificación de grupos funcionales en el aceite de amaranto se realizó por comparación con un estándar de referencia de 37 componentes

de ácidos grasos, grado cromatográfico (Food Industry FAMEs Mix, Restek, Bellefonte, PA, EE. UU.), La cuantificación de los sulfóxidos se realizó de acuerdo a las ecuaciones de Akrami et al.[14] y Abdulkadir et al.[15], a través de las deconvoluciones de los espectrogramas, a través de sus números de onda de sus absorbancias, utilizando una suma de distribuciones de líneas gaussianas. Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva (media ± desviación estándar) utilizando el Software SPECTRUM V5 3.0.

RESULTADOS

En el aceite de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) se identificaron en los números de onda a 1033 cm^{-1} al grupo funcional que corresponde al sulfóxido (Figura 1).

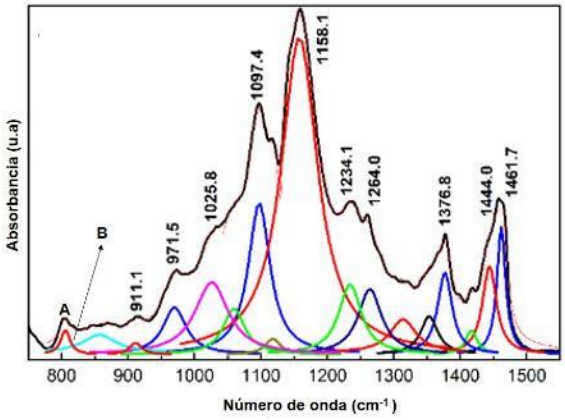


Figura 1. Espectrograma de las deconvulaciones en la región de 800-1500 cm^{-1}, donde A: Aceite de amaranto y B: Estándar.

Se cuantificó un contenido de sulfóxidos de 139.76 ± 0.15 unidades arbitrarias y debido a esta naturaleza química de los enlaces formados entre el azufre (proporcionado por aminoácidos) mediante una reacción de tioleno se adiciona a los hidrocarburos alifáticos insaturados, lo cual se forman compuestos organosulfurados derivados de ácidos grasos[16] y estos constituyentes pueden ser usados para producir copolímeros[2].

CONCLUSIONES

La evaluación de sulfóxidos en el aceite de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) permitió identificar de manera precisa grupos funcionales relacionados con estos compuestos (1033 cm^{-1}). La técnica FTIR se destacó por su sensibilidad, rapidez y capacidad para proporcionar información estructural sin requerir tratamientos complejos. Los espectros obtenidos revelaron señales características asociadas a los sulfóxidos, facilitando su monitoreo en muestras de aceite. Este enfoque analítico resulta útil para estudios de composición y calidad, brindando una herramienta eficaz para la caracterización de componentes menores presentes en matrices vegetales como el aceite de amaranto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Official Methods of Analysis of AOAC International (AOAC, EUA, 2019).
2. A. Abbasi, M. M. Nasef, W. Z. N. Yahya, “Copolymerization of vegetable oils and bio-based monomers with elemental sulfur: A new promising route for bio-based polymers (Review)”, Sustain. Chem. Pharm., 2019, pp. 14.
3. J. E. Hermsen, “Diversity and classification of grasses”, National Science Foundation, 2023. https://evolution.earthathome.org/grasses/diversity/
4. D. Morales, M. Miguel, M. Garcés-Rimón, “Pseudocereals: A novel source of biologically active peptides”, Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 2021, Vol. 61, pp. 1537-1544.

5. R. Reyes-Bautista, M. Barajas-Segoviano, J. J. Flores-Sierra, G. Hernández-Mendoza, L. A. Xoca-Orozco, “Biopéptidos derivados de los pseudocereales: Amaranto, quinoa, chía y trigo sarraceno”, TIP Rev. Espec. Cienc. Quím. Biol., 2023, Vol. 26, pp. 1-27.
6. N. Chungkham, N. Singh, “Utilization of amaranth grain flour at different products and its acceptability”, PIJ., 2021, Vol. 10, pp. 436-443.
7. D. Ogrodowska, R. Zadernowski, S. Czaplicki, D. Derewiaka, B. Wronowska, “Amaranth grains and products-the source of bioactive compounds”, Pol. J. Food Nutr. Sci., 2014, Vol. 64, pp. 165-170.
8. P. R. Venskutonis, P. Kraujalis, “Nutritional components of amaranth grains and vegetables: a review on composition, properties and uses”, Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 2013, Vol. 12, pp. 381-412.
9. D. Schmidt, M. R. Verruma-Bernardi, V. A. Forti, M. T. M. R. Borges, “Quinoa and amaranth as functional foods: a review”, Food Rev. Int., 2023, Vol. 39, pp. 2277-2296.
10. F. R. Alemayehu, M. A. Bendevis, S. E. Jacobsen, “The potential for utilizing the grain crop amaranth (*Amaranthus* spp.) in east Africa as an alternative crop to support food security and climate change mitigation”, J. Agron. Crop Sci., 2015, Vol. 201, pp. 321-329.
11. D. S. Badui, “Química de los Alimentos” (Pearson Educación, México, 2019).
12. J. H. Love, R. O. Nyankanga, “Response of growth and grain yield of amaranth (*A. hypochondriacus*) to combined manure and inorganic fertiliser pellets and non-pellets”, IJPSS., 2018, Vol. 24.
13. G. Yahui, C. Xuerong, W. Wei, “Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in sample preparation: Material characterization and mechanism investigation”, Adv. Sample Prep., 2024, Vol. 11.
14. H. A. Akrami, M. F. Yardim, A. Akar, E. Ekinci, “FT-IR characterization of pitches derived from Avgamasya asphaltite and Raman-Dinçer heavy crude”, Fuel., 1997, Vol. 76, pp. 1389-1394.
15. I. Abdulkadir, S. A. Uba, A. Salihu, M. N. Almustapha, “A rapid method of crude oil analysis using FT-IR spectroscopy”, Nig. J. Basic Appl. Sci., 2016, Vol. 24, pp. 47-55.
16. V. S. Wadi, K. K. Jena, K. Halique, S. M. Alhassan, “Linear sulfur-nylon composites: structure, morphology, and antibacterial activity”, ACS Appl. Polym. Mater., 2020, Vol. 2, pp. 198-208.

ESTUDIO DEL EFECTO DE MOLIBDENO EN LA DUREZA Y MICROESTRUCTURA DE UNA FUNDICIÓN CADI

Gustavo Amezcua Santos[1], Alejandro Cruz-Ramírez[2], Eduardo Colín-García[3], Edgar Ernesto Vera-Cárdenas[1], Armando Irvin Martínez-Pérez[1] y Marisa Moreno-Rios[1]

[1] División de Estudios de Posgrado TecNM Instituto Tecnologico de Pachuca, [2] Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Hidalgo IPN, [3] Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas (ESIQIE), IPN.
m24201287@pachuca.tecnm.mx

RESUMEN

Las fundiciones CADI (Compacted Austenitic Ductile Iron) son materiales ampliamente utilizados en diversas industrias debido a su combinación de versatilidad, durabilidad y buenas propiedades mecánicas¹. Sin embargo, en entornos donde las piezas están expuestas a condiciones de fricción y abrasión severas, la resistencia al desgaste de las fundiciones CADI convencionales puede ser un factor limitante². En este contexto, el estudio de la adición de elementos de aleación como el molibdeno (Mo) se presenta como una vía prometedora para mejorar significativamente las propiedades mecánicas y, en particular, la resistencia al desgaste de las fundiciones CADI. El molibdeno es conocido por su capacidad para modificar la microestructura de los materiales ferrosos, influyendo en la formación de carburos y en la matriz austenítica, lo que a su vez impacta en la dureza, la tenacidad y la resistencia al desgaste. El presente estudio se centra en investigar cómo la adición de molibdeno a las fundiciones CADI puede incrementar su dureza. Se plantea la hipótesis de que la adición controlada de molibdeno, en un rango de porcentajes específicos (0.1% y 0.3%), y la austemperización pueden generar una microestructura que maximice la dureza. Para llevar a cabo esta investigación, se propone la fabricación de probetas de fundición CADI con diferentes contenidos de molibdeno (0.1% y 0.3%). Estas probetas serán sometidas a tratamientos térmicos de 900°C por 1 hora y a un austemperizado de 60 y 180 minutos en sales de NaNO3 y KNO3. Posteriormente, se realiza un análisis microestructural de las probetas mediante técnicas de microscopía óptica y prueba de chispa para analizar su composición química. Para obtener imágenes de la superficie se utilizará un proceso de lijado y pulido, seguido de un ataque químico con Nital en concentración al 2% para revelar la microestructura y analizar la distribución de los carburos. La caracterización de las propiedades mecánicas se llevará a cabo mediante ensayos de dureza Rockwell C. Los resultados de la dureza con el tratamiento térmico de 60 minutos fueron 43HRC para 0.1% de Mo y 45HRC para 0.3%. Con el tratamiento a 180 minutos se obtuvo una dureza de 43HRC con 0.1% Mo y 48HRC con 0.3%. Los elementos químicos principales encontrados en las probetas fueron: Mo, C y Fe. Mientras tanto en la microestructura se observa la presencia de perlita, martensita y bainita al igual que nódulos de grafito explotados, la presencia de estas estructuras son las que mejoran su dureza, pero también indican que el proceso de tratamiento térmico no fue el óptimo para generar mayor dureza.

INTRODUCCIÓN

La Fundición Nodular Austemperada con Carburos (CADI) es una variante del ADI que busca mejorar la resistencia al desgaste a través del refuerzo con carburos, como Cr, V, Mo y B, resultando en una mejor resistencia al desgaste [1]. Diferentes estudios han realizado numerosas investigaciones sobre el CADI y se han obtenido abundantes datos experimentales. Estos resultados incluyeron los efectos de varios elementos de aleación en la microestructura y propiedades mecánicas de CADI. Estudios anteriores han demostrado que la incorporación de cromo (Cr) al 0.2% a 0.4% incrementa la dureza del acero dúctil tratado térmicamente a 265 °C teniendo como dureza base con Cr 0.2% de 29 HRC y en 0.4% de 33 HRC, al estar tratado térmicamente a 265°C y presentó una mejor resistencia al desgaste [2] [3].

En otro estudio se incorporó molibdeno (Mo) al 0.1 % y 0.3% en peso lo que también incrementó su dureza y se compara con probetas sin Mo, la cual presenta una dureza de 18HRC, mientras que para 0.3% se obtiene 20HRC y 24HRC en 0.1%. Tras el tratamiento térmico a 900 °C por 60 min y austenizado a 270 °C por 60 min, el CADI aleado con 0.3% Mo alcanza una dureza de 41 HRC y con 0.1% un valor de 40 HRC. Además, al estar aleado con Mo, se observa una mejor resistencia al desgaste, donde el material sin alear tiene una pérdida de 24.03 mm^3, mientras que el CADI-0.3% Mo presenta una pérdida de sólo 1.04 mm^3. Esto resalta la mejora en la resistencia al desgaste y la dureza debido a la estabilización de perlita y carburos, así como a la microestructura ausferrítica resultante del tratamiento [4]. En este estudio se realizó una aleación con Ni al 0.88% en peso. No aumentó su dureza, pero mantuvo propiedades mecánicas homogéneas [5].

Lo que ha demostrado que, gracias a la incorporación de carburos, se ha beneficiado la producción de diferentes piezas para distintos sectores, como automotriz, ferrocarriles, construcción, entre otros, lo que resulta en un menor costo de producción sin comprometer la resistencia de los componentes [6][3]. Los materiales austemperizados como el hierro dúctil también presentan un gran comportamiento tribológico gracias a la presencia del grafito y de ausferrita, ya que el grafito es un lubricante sólido y la ausferrita aumenta la dureza, lo que resulta en un material con mayor resistencia al desgaste [7].

El proceso de austenizado y austemperizado busca producir una mejor microestructura el cual concite en tres etapas, 1) Austenización, 2) enfriamiento rápido a la temperatura isotérmica y 3) tiempo de tratamiento a la temperatura de austemperizado, el control de estas etapas contribuye en las propiedades finales del hierro CADI [4]. Sin embargo, en ocasiones, la microestructura de estos materiales depende de una fundición adecuada, siendo los más cruciales los procesos de nodularización e inoculación. Si el proceso falla, esto puede desarrollar otros tipos de grafito, lo que causa imperfecciones en la microestructura [8].

El objetivo del presente trabajo es caracterizar la microestructura y evaluar dureza de las muestras de CADI aleadas con Mo al 0.1% y 0.3%, bajo las normas ASTM E3-01 y E18-22 respectivamente.

TEORÍA

El hierro dúctil se conforma de una matriz y carburos que se generan por el material aleante y los tratamientos de austenización y austemperado, por lo que los elementos que lo componen tienen un efecto en la generación y estabilidad de los carburos, así como en la formación de microestructuras como la ferrita y perlita.

La clasificación de las fundiciones y los hierros se basan en la formación de grafito y su composición química, especialmente el contenido de silicio, y la velocidad de enfriamiento. Esto determina las propiedades mecánicas y aplicaciones de cada tipo de hierro [4]. Los hierros se dividen en hierro blanco, que presenta un alto contenido de carbono, principalmente en forma de carburos de hierro, lo que le otorga gran dureza y resistencia al desgaste, el hierro gris, que contiene grafito en forma de hojuelas debido a su alto contenido de carbono y silicio, lo que le da color gris y lo hace susceptible a la fractura, ya que las hojuelas actúan como pequeñas grietas; el hierro maleable, que se obtiene a partir del hierro blanco mediante un tratamiento térmico que mejora su ductilidad y lo hace más resistente y dúctil y el hierro dúctil, también conocido como hierro nodular, que es una evolución del hierro gris, con grafito en forma de esferas o nódulos, lo que le confiere mejores propiedades mecánicas. Las microestructuras en los hierros tienen un impacto significativo en sus propiedades mecánicas, como la resistencia al desgaste. La ferrita en los hierros puede presentarse sola o en combinación con perlita, presentando más dureza en combinación con silicio. Por otro lado, la perlita es una mezcla de ferrita y cementita; aunque ofrece buena resistencia, su ductilidad y dureza son más bajas, y estas características pueden variar según el grado de grafitización. La austenita es fundamental en los hierros colados, aunque no es común a temperatura ambiente, y puede estabilizarse con la adición de aleantes. La bainita, proporciona un balance entre dureza, resistencia y ductilidad, dependiendo de la velocidad de enfriamiento. El cementita es dura y frágil,

lo que la convierte en una opción poco deseable para aplicaciones que requieren ductilidad y resistencia.

Los tratamientos térmicos en fundiciones de hierro dúctil modifican sus propiedades mediante el control de temperatura y tiempo, mejorando características como dureza, resistencia, ductilidad y maquinabilidad. Factores como la composición química, velocidad de enfriamiento y temperatura de austenización son clave en estos procesos. Los principales beneficios son mayor versatilidad, mejor rendimiento y mayor eficiencia en la producción. El austemperizado es un tratamiento térmico que mejora las propiedades mecánicas del hierro dúctil. Consiste en calentar el material a una temperatura específica, enfriarlo rápidamente a una temperatura intermedia y mantenerlo allí un tiempo determinado. El objetivo es obtener una microestructura de ausferrita, compuesta por ferrita acicular y austenita estable de alto contenido de carbono. Los elementos de aleación como níquel (Ni), cromo (Cr), molibdeno (Mo), cobre (Cu), manganeso (Mn) y vanadio (V) se añaden a las fundiciones de hierro dúctil para mejorar sus propiedades y conferirles características específicas. Su inclusión modifica la microestructura del material, lo que afecta directamente sus propiedades mecánicas [4].

PARTE EXPERIMENTAL

Tratamiento Térmico

Las muestras se obtuvieron de 3 lingotes con medidas de 4 x 12 x 1.5 cm (ver figura 1 A)), los parámetros de los tratamientos térmicos que se realizaron se presentan en la tabla 1. El austenizado se realizó en una mufla digital, el austemperado se realiza en sales $NaNO_3$ al 45% y KNO_3 al 55% y en un horno eléctrico.

Análisis químico

Las muestras de los hierros dúctiles sin alear y aleadas con 0.1 y 0.3% de molibdeno fueron evaluadas químicamente en un espectrómetro óptico PXC01 de emisión de chispa.

Caracterización metalográfica

Las muestras sin tratamiento y las tratadas térmicamente fueron preparadas metalograficamente con papel lija de 240, 320, 400, 600, 1000, 1200, 1500 y 2000 y se pulieron con alúmina de 0.5 µm hasta alcanzar un acabado espejo. Se limpiaron en un baño ultrasónico con una mezcla de acetona y alcohol, posteriormente se atacaron químicamente con Nital al 5%. La microestructura se observó en un microscopio óptico metalográfico Olympus. Se tomaron imágenes a 5 y 100x de cada una de las muestras.

Prueba de dureza Rockwell C

Las pruebas de dureza Rockwell C se realizaron bajo la norma ASTM E18-15 en un equipo PHASE II, la carga aplicada fue de 150 KgF. en la Figura 1 B), se muestra el procedimiento experimental descrito anterior mente.

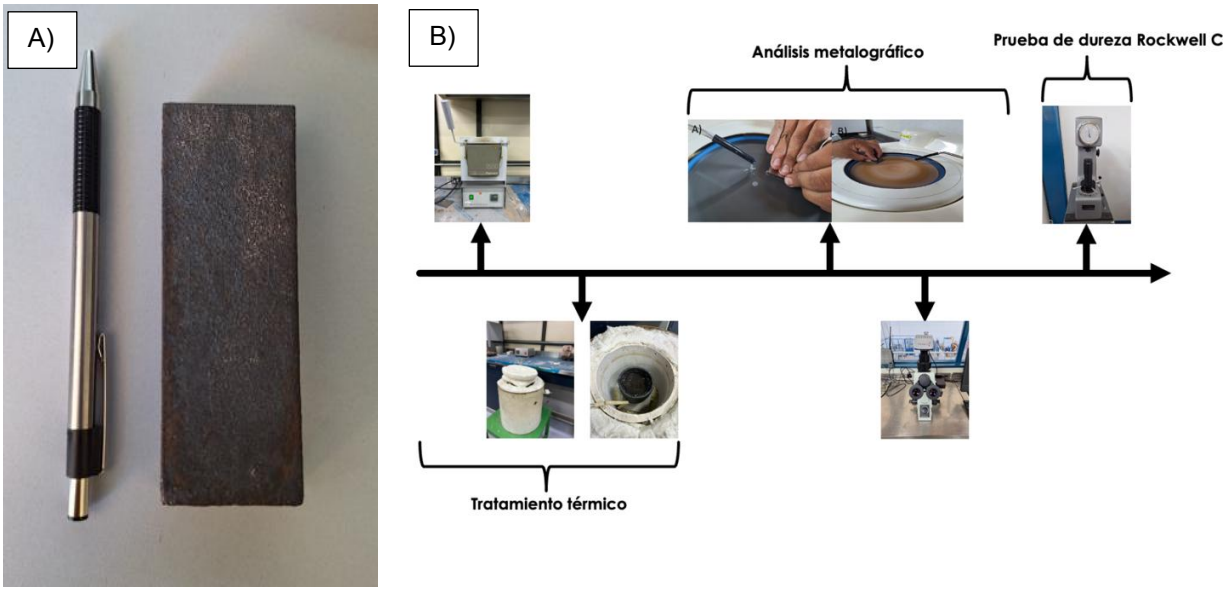


Figura 1. A) Lingote de acero dúctil, B) Procedimiento experimental.

Tabla 1. Temperaturas y tiempos aplicados en el tratamiento térmico.

Probeta	Temperatura de austenizado °C	Tiempo de austenizado min.	Temperatura de Austemperizado °C	Tiempo de austemperizado min.
Sin alear	900	60	270	60 y 180
0.1% Mo				
0.3% Mo				

RESULTADOS

Composición química

Los elementos encontrados en las muestras se reportan en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Composición química de las probetas austemperadas a 60 minutos.

Elemento (% en masa)	0%	0.1%	0.3%
C	1.8	1.8	1.8
Si	0.0778	0.338	0.191
Mn	0.009	0.011	0.009
P	0.003	0.003	0.003
S	0.005	0.008	0.003
Mo	0.014	0.007	0.0152
Cr	0	0	0.011

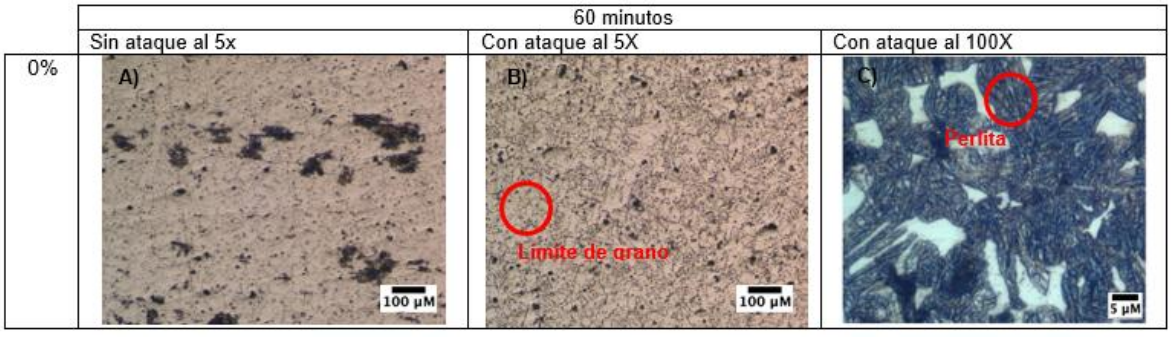
Tabla 3. Composición química de las probetas austemperadas a 180 minutos.

Elemento (% en masa)	0%	0.1%	0.3%
C	1.8	1.8	1.8
Si	0.304	0.507	0.191
Mn	0.009	0.013	0.009
P	0.003	0.003	0.003
S	0.008	0.008	0.114
Mo	0.007	0.008	0.016
Cr	0	0	0.011

Como se puede observar la cantidad de carbono para todas las muestras fue de 1.8 %, de acuerdo estudios previos [4],en porcentajes mayores a 1% el carbono favorece a la ferrita, pero disminuye la estabilidad de los carburos. El % del silicio se presentó con 0.0778% en la probeta sin Mo, 0.338% en la que agregó Mo al 0.1% y 0.191% en la probeta con 0.3% de Mo, para un tiempo de austenizado de 60 minutos, mientras que para el tiempo de 180 minutos se obtuvieron porcentajes de 0.304 para la probeta sin molibdeno, 0.507 en 0.1% Mo y 0.191 en 0.3% Mo, este elemento al igual que el carbono favorece a la ferrita, pero también disminuye la estabilidad de los carburos. Elementos como el Cr y el Mo, generan estabilidad en los carburos y favorece el aumento de la dureza y la formación de perlita, lo que mejora las propiedades mecánicas del hierro dúctil, solamente en la probeta con 0.3% de Mo se encontró este elemento, en un 0.011% para ambos tiempos. El Mo se presentó en todas las probetas en ambos tiempos, el % más alto 0.016 se obtuvo en la probeta con 0.3% a 180 minutos de autemperizado.

METALOGRAFÍA

En la figura 2 se presentan las micrografías obtenidas a 5 y 100x de las probetas austemperadas a 60 minutos y 180 minuto con y sin molibdeno.



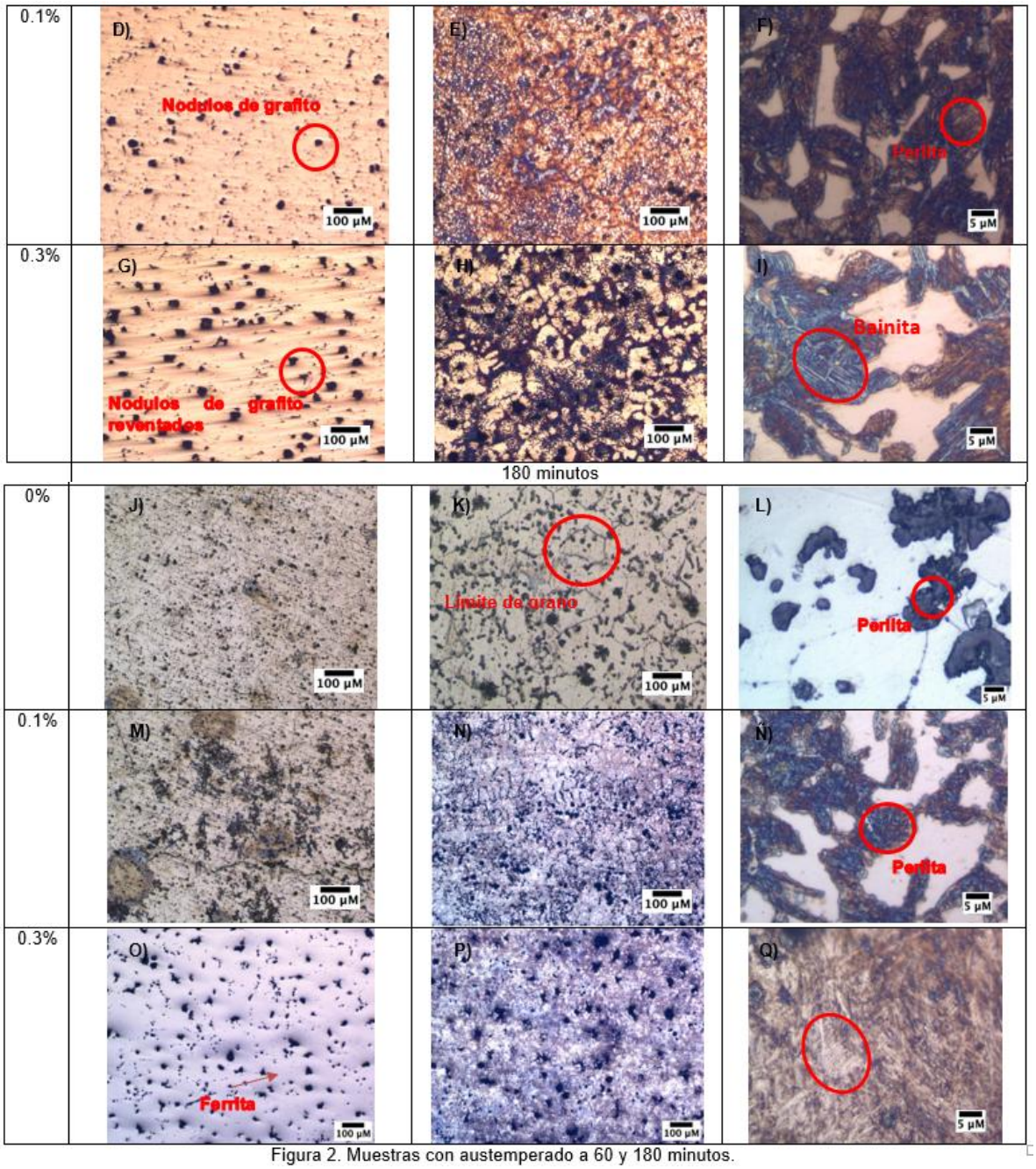


Figura 2. Muestras con austemperado a 60 y 180 minutos.

En la figura 2 se puede observar la presencia de nódulos de grafito. Asimismo, de manera muy tenue en las muestras atacadas, se aprecian los límites de grano, como se muestra en las imágenes B y K.

Los nódulos de grafito reventados y/o explotados que se observan en las imágenes D, G, H, K y O pueden deberse a una inoculación defectuosa o a la presencia de tierras raras, como se reporta en [8]. En la imagen M se pueden ver defectos del material, como una grieta. En imagen F se puede observar la presencia de perlita, mientras que en la imagen I se observa la formación de bainita.

DUREZA.

En la figura 3 se presentan los valores de dureza Rockwell C obtenidos.

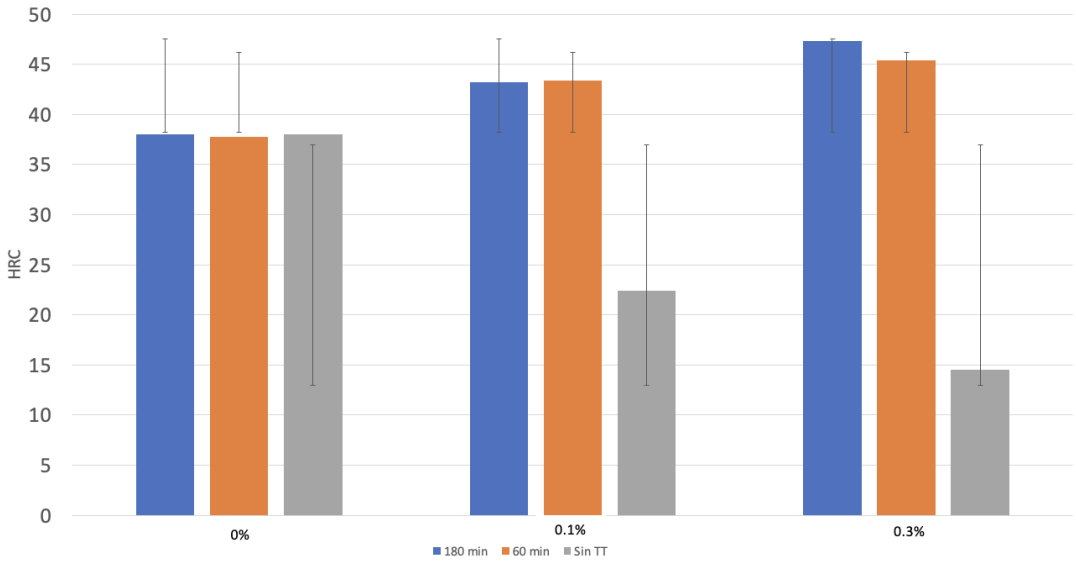


Figura 3. Dureza de las probetas con y sin tratamiento térmico.

Las probetas sin Mo y tratadas térmicamente a dos diferentes tiempos presentan un aumento en la dureza con respecto a los no tratadas, como se puede observar en la figura 3. Esto concuerda con lo reportado por [4], donde se muestra que al adicionar un aleante como el molibdeno y tratar las térmicamente genera una estructura con carburos estables y afina perlita lo que genera un aumento en la dureza, con respecto a las muestras sin Mo con y sin tratamiento la dureza no cambio manteniéndose un valor promedio de 38HRC aproximadamente. El mayor aumento de dureza se obtuvo en la probeta con 0.3% de Mo tratada térmicamente a 180 minutos con un valor de 47.3HRC, en comparación con el valor de 14.5HRC de la probeta sin tratar.

CONCLUSIONES

La composición química del hierro dúctil, influenciada por aleantes y tratamientos térmicos, determina la formación de carburos y microestructuras como ferrita y perlita. A un 1.8% de carbono favorece la ferrita, pero desestabiliza carburos, al igual que el silicio (0.0778-0.507%). Cromo y Molibdeno estabilizan carburos, aumentando dureza y la perlita. Microestructuras revelan nódulos de grafito, límites de grano y defectos. El tratamiento térmico y la adición de Mo incrementan notablemente la dureza (hasta 47.3 HRC con 0.3% Mo y 180 min), afinando la perlita y generando carburos estables.

BIBLIOGRAFÍA

[1] D. Iván Pedro, S. Laino y R. Cesar Dommarco, «Estudio del comportamiento de fundición CADI sometida a FCR,» Matéria, vol. 23, nº 02, pp. 1517-7076, 2018.
[2] Y. Penghui, F. Hanguang, Z. Xiangwei, L. Jian y L. Yongping, «Wear behavior of CADI obtained at different austenitizing temperatures,» Tribology International, vol. 140, p. 105876, 2019.

[3] A. Cruz Ramírez, E. Colin García, J. F. Chávez Alcalá, J. Téllez Ramírez y A. Magaña Hernández, «Evaluation of CADI low alloyed with chromium for camshafts application.,» Metals, vol. 12, nº 02, p. 249, 2022.
[4] J. F. Martinez Guzman, EFECTO DEL MOLIBDENO EN LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE HIERROS DÚCTILES AUSTEMPERIZADOS, Ciudad de mexico , 2020.
[5] E. colin-garcía, A. cruz-ramírez, G. reyes-castellanos, J. romero-Serrano, R. Sánchez-alvarado y M. hernández-chávez, «Influence of nIckel addItIon and caStIng ModuluS on the propertIeS of hypo-eutectIc ductIle caSt Iron,» Journal of Mining and Metallurgy, vol. 55, nº 2, pp. 283-293, 2019.
[6] S. LAINO, J. SIKORA y R. C. DOMMARCO, «Wear behavior of CADI operating under different tribosystems,» vol. 50, nº 3, pp. 418-424, 2010.
[7] Y. Du, X. Wang, X. Wang, Y. Ge y B. Jiang, «Tribological behavior of austempered ductile iron (ADI) obtained at different austempering temperatures.,» vol. 456, p. 203396, 2020.
[8] PDHonline Course M568 , Cast Irons; Types, Properties, Applications & Weldability, Meadow Estates Drive Fairfax: PDH Online, 2019.

PRODUCCIÓN DE TABLEROS ESTRUCTURALES BIOCOMPUESTOS DE FIBRA DE BAGAZO DE AGAVE MEZCALERO

Guillermo Andrade Espinosa, Claudia Palomares Rodríguez, Alberto Millán Montañez, Carmen Cecilia García Castillo, María Linda Herrera Herrera y Danna Noemi Anducho Miguel

Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico del Valle de Morelia.
guillermo.ae@vmorelia.tecnm.mx

RESUMEN

Los desechos de la industria mezcalera constituyen un grave problema de disposición de residuos al generarse 240 mil toneladas/año de bagazo del agave. Este desecho corresponde a la fibra resultante después de cocinar, moler y extraer el jugo fermentable de la piña del agave mezcalero. Debido a sus características fisicoquímicas es sumamente toxico provocando serios problemas medioambientales. Por lo que, es de suma importancia encontrar alternativas para la utilización de dicho residuo. En esta investigación se estudió la producción de Tableros Estructurales biocompuestos a base del bagazo para la elaboración de Agropaneles aglomerados. Mediante un diseño experimental de superficie de respuesta de tipo “Box Behnken” se determinaron las condiciones óptimas de producción de los Tableros. Se establecieron 4 factores distintos (reactivos que afectan la resistencia mecánica, hidrofobicidad, adherencia y textura) con tres niveles cada uno para conformar el aglutinante. A su vez, las respuestas medidas correspondieron a la resistencia a la tracción (esfuerzo máximo), la solubilidad y la prueba de flama, etc. Posteriormente, bajo los parámetros óptimos de producción arrojados por el resultado del diseño experimental se elaboró el tablero biocompuesto. Los resultados indicaron que la muestra optima cuenta con una resistencia a la tracción de entre 16 y 18 KN/cm2, no presentó hinchamiento severo (<3% de deformación con respecto a su forma original) después de estar sumergido en agua durante tres días y que el proceso de combustión es lento al consumirse la muestra sin encenderse al estar en contacto con flama. Estos resultados indican que los agropaneles producidos en esta investigación son buenos candidatos para ser utilizados tanto en exteriores e interiores y cuentan con las características de tableros industriales, contribuyendo a la solución de un grave problema ambiental de disposición de residuos de la industria mezcalera.

INTRODUCCIÓN

El agave es una de las cadenas productivas más antiguas y emblemáticas de México, las bebidas más importantes producto de dicho recurso son el tequila y el mezcal, cuya producción es de una de las principales agroindustrias, la fabricación de ambos productos dota de gran valor social y económico, como lo es para el caso de los municipios de La Piedad, Morelia, Queréndaro, Churintzio, Tzitzio, Madero, Jiquilpan, Los Reyes, Tocumbo, Villamar, Peribán y Jiménez, pertenecientes al estado de Michoacán; se estima que el estado cuenta con más de siete millones de plantas, 500 productores de agave, además de una producción que oscila en los 800 mil litros de tequila y 300 mil litros de mezcal por año, ocupando el tercer lugar nacional, dónde también destacan los estados de Jalisco, Oaxaca, Puebla, Guanajuato, entre otros.

Sin embargo, el gran crecimiento que ha estado teniendo esta agroindustria ha originado un impacto ambiental considerable en los recursos naturales, debido a la generación de grandes volúmenes de residuos que por sus características requieren de un manejo y tratamiento adecuado; dichos residuos generados durante la destilación del agave son los residuos líquidos como lo son las vinazas, y los residuos sólidos como lo es el bagazo.

El bagazo en especial, es la biomasa fibrosa constituida por materiales lignocelulósicos, restante del agave una vez que se le ha extraído los azucares, si bien es un residuo de origen orgánico y, por lo tanto se considera biodegradable, sin embargo, cuando no se efectúa un manejo adecuado puede provocar una gran problemática ya que va a producir lixiviados los cuales traerán como consecuencias la contaminación de los mantos freáticos, riesgos fitosanitarios, efectos negativos en

la fertilidad de las tierras de cultivo, mala calidad del aire debido a los malos olores y proliferación de fauna nociva que pueden convertirse en vectores de problemas a la salud. Para dimensionar mejor la gravedad de la situación, por cada litro de licor se generan 3.6 Kg de bagazo en base húmeda, teniendo que para el año del 2014 (ultima aproximación reportada) la industria del tequila y el mezcal generó aproximadamente 240 mil toneladas de bagazo, lo que equivale aproximadamente a 20 días de la generación de residuos de la zona metropolitana de Guadalajara.

Inicialmente el bagazo de agave era incinerado o enterrado, y entre sus incipientes aplicaciones destacan su utilización en la fabricación de ladrillos para la construcción de viviendas y para la fabricación de colchones. Debido a que estas alternativas de aprovechamiento del bagazo de agave resultan insuficientes para dar solución a los problemas que causa la generación de las grandes cantidades de este residuo sólido, en las nuevas alternativas para el aprovechamiento del bagazo del agave mezcalero se debe tomar en cuenta que este residuo sólido está compuesto de material lignocelulósico, azucares y otros compuestos que, dada sus características fisicoquímicas pueden ser utilizados para la elaboración de diversos productos de interés económico.

A pesar de que se vislumbren algunos usos y aprovechamientos de este residuo agroindustrial, es indispensable continuar con los trabajos de investigación científica enfocados a las nuevas tecnologías que tengan mayor auge, buscando modelos e ideas que contengan el desarrollo sustentable de tal manera que se pueda asociar armónicamente el bienestar social, la cuestión económica y la preservación del medio ambiente; y la alternativa para dicho aprovechamiento radica en los materiales de construcción.

Una de las alternativas viables y poco estudiada para la resolución a esta problemática es la transformación del bagazo del agave en tableros industriales, la cual proporciona una solución novedosa e interesante para un uso más efectivo del bagazo de acuerdo con un desarrollo sustentable; su aplicación consiste en sustituir elementos de la madera maciza con respecto al material en la industria de la construcción, así como a la tala clandestina o tala inmoderada de árboles, logrando así producciones limpias.

Con fundamento en lo anterior, el presente proyecto tuvi por objetivo desarrollar y producir tableros de aglomerado empleando como materia prima el bagazo de agave en lugar de madera, variando la composición de la mezcla. Para el desarrollo de los tableros aglomerados con residuo de bagazo de agave se deben de reunir diversos requisitos referentes a sus propiedades físico-mecánicas, sin embargo, se debe de desarrollar metodologías para lograr las condiciones adecuadas de su compactación y unión de los aglutinantes; para la unión de estas fibras se utilizaron diferentes tipos de aglomerantes y distintos adhesivos basados en reactivos que otorgan estabilidad mecánica, hidrofobicidad, viscosidad y adherencia. Para el desarrollo de las condiciones óptimas se realizó un diseño de experimentos de superficie de respuesta completamente al azar con los tratamientos teniendo 27 experimentos. Los efectos cubiertos en el modelo se probaron con un nivel de significancia del 95%.

Posteriormente, se mezcló el bagazo con el adhesivo obtenido, que actuará como aglutinante. Esta mezcla se distribuyó uniformemente sobre una superficie plana y se introdujo en una prensa hidráulica, donde se sometió a altas temperaturas y presión para compactar y solidificar el material. Una vez enfriado, el panel se cortó y se sometió a un proceso de lijado para obtener una superficie lisa y uniforme.

Los paneles desarrollados, pueden constituir una alternativa viable debido a que los productores de este licor, quienes viven en zonas vulnerables, podrán revalorizar el residuo del bagazo generando otra entrada de dinero, apoyando su economía y otorgando más empleos en sus comunidades.

TEORÍA

Materiales Sostenibles y Biocompuestos en la Construcción

Los materiales sostenibles son fundamentales para la transformación de la industria de la edificación, ya que minimizan el impacto ambiental y optimizan el uso de recursos durante todo su ciclo de vida. Estos materiales ofrecen beneficios significativos en tres dimensiones: ambiental, económica y social. Desde el punto de vista ambiental, se caracterizan por una reducida huella de carbono, bajo consumo energético en su producción y la capacidad de ser reciclados. Económicamente, se traducen en menores costos operativos a largo plazo y la generación de nuevas oportunidades de mercado. Socialmente, mejoran la calidad de vida de los ocupantes y fomentan comunidades más resilientes.

Los materiales biocompuestos representan una evolución en este campo. Se definen como híbridos que combinan componentes de origen biológico con matrices naturales o sintéticas, resultando en productos con propiedades superiores a las de sus constituyentes individuales. Entre sus ventajas, destacan una reducción sustancial de la huella de carbono y un menor consumo energético en su producción. Además, la naturaleza renovable de sus componentes contribuye a la conservación de recursos no renovables, y su capacidad de biodegradación ofrece una solución al problema de la disposición final de los materiales de construcción. Técnicamente, los biocompuestos presentan una relación resistencia-peso excepcional, permitiendo estructuras más ligeras y resistentes, junto con propiedades de aislamiento térmico y acústico superiores. Sin embargo, estos materiales enfrentan desafíos, como la variabilidad inherente en las propiedades de sus componentes naturales, que puede dificultar la estandarización y el control de calidad. También son susceptibles a la degradación ambiental, especialmente por humedad o microorganismos, y la compatibilidad entre las fibras y las matrices puede afectar su rendimiento mecánico. A pesar de estos retos, los biocompuestos ya se aplican en la construcción en paneles de carga, elementos de refuerzo, cerramientos, particiones interiores, acabados arquitectónicos y mobiliario.

Fibras Naturales como Refuerzo

La diversidad de fibras naturales disponibles, como el lino, cáñamo, yute (lignocelulósicas) o sisal y henequén (fibras de hoja), las convierte en recursos versátiles para la construcción sostenible. La selección de una fibra específica depende de su disponibilidad regional, propiedades mecánicas requeridas y consideraciones económicas y ambientales. La celulosa es el componente principal que les confiere resistencia mecánica, mientras que la lignina proporciona rigidez y protección contra la degradación biológica.

La incorporación de fibras naturales en materiales compuestos es un avance significativo hacia la construcción sostenible. Estas fibras, al ser obtenidas de recursos renovables, requieren menos energía en su producción y contribuyen a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero. Además, las plantas de las que se obtienen actúan como sumideros de carbono, mitigando el cambio climático. Su uso también promueve la diversificación agrícola y el desarrollo económico rural, aprovechando residuos agroindustriales y fomentando la economía circular. En cuanto a sus propiedades mecánicas, la resistencia y el módulo de elasticidad de muchas fibras naturales son comparables a los de las fibras de vidrio convencionales, con una baja densidad que permite la producción de compuestos ligeros con excelentes propiedades específicas.

No obstante, la aplicación de fibras naturales en la construcción presenta desafíos y limitaciones. La variabilidad y heterogeneidad de sus propiedades, influenciada por factores como las condiciones de cultivo y procesamiento, dificultan la estandarización y el control de calidad. Otro reto importante es su sensibilidad a la humedad y la degradación biológica, ya que su naturaleza hidrofílica puede causar cambios dimensionales y acelerar la degradación. Finalmente, la compatibilidad con matrices poliméricas y cementicias es crucial, pues la naturaleza hidrofílica de las fibras contrasta con la hidrofóbica de muchas matrices, lo que a menudo requiere modificaciones superficiales para mejorar la adhesión y el rendimiento.

Fibra de Bagazo de Agave Mezcalero como Refuerzo Biocompuesto

El proceso de producción de mezcal en México genera un importante subproducto fibroso: el bagazo de agave mezcalero. Este material, tradicionalmente considerado un residuo, se produce en grandes

volúmenes, con un contenido de fibra aprovechable que oscila entre el 30% y 40% del material total. Su estructura, compuesta por haces fibrovasculares ricos en celulosa (55-65%), hemicelulosa (15-25%) y lignina (8-15%), le confiere propiedades únicas para su uso en materiales compuestos.

El bagazo de agave mezcalero tiene un gran potencial para aplicaciones en materiales compuestos debido a su disponibilidad y abundancia en las regiones productoras de mezcal, lo que asegura un suministro constante y de bajo costo. Su utilización no solo ofrece una solución al problema de la disposición de residuos agroindustriales, sino que también genera un valor agregado significativo para la cadena productiva del mezcal, contribuyendo a la sostenibilidad económica y ambiental. Diversos estudios previos han demostrado resultados prometedores, revelando que las fibras de bagazo de agave, tras un procesamiento adecuado, pueden proporcionar propiedades mecánicas comparables a las de otras fibras naturales comúnmente usadas en composites, aptas para diversas aplicaciones estructurales y no estructurales.

Tableros Estructurales Biocompuestos

Los tableros estructurales biocompuestos representan una innovación significativa en la construcción, al combinar las ventajas de los materiales compuestos tradicionales con los beneficios de la sostenibilidad. Estos tableros se clasifican según su composición, proceso de fabricación y aplicación final, incluyendo tableros de partículas, tableros de fibras orientadas (OSB), tableros de fibras de densidad media (MDF) y tableros de alta densidad.

Para su uso en la construcción, los tableros estructurales deben cumplir con requisitos y normativas estrictas. En cuanto a las propiedades mecánicas, se exigen valores mínimos de resistencia a flexión, módulo de elasticidad, resistencia al corte y resistencia a la tracción perpendicular para garantizar un comportamiento estructural adecuado. La durabilidad y el comportamiento a largo plazo son igualmente críticos, incluyendo la resistencia a la humedad (con un límite máximo de hinchamiento), el comportamiento ante el fuego (clasificaciones estandarizadas) y la resistencia a agentes biológicos como hongos e insectos.

El diseño y fabricación de tableros estructurales biocompuestos implican consideraciones clave. La selección de matrices poliméricas o aglomerantes es crucial, buscando un equilibrio entre rendimiento mecánico, durabilidad y sostenibilidad, con opciones como resinas termoplásticas biodegradables (PLA, PHA) o termoestables de origen natural. Los procesos de fabricación comprenden una serie de etapas críticas, desde la preparación inicial de las materias primas (caracterización, control de humedad de las fibras) hasta el mezclado, prensado y consolidación, optimizando la temperatura, presión y tiempo de curado para cada formulación específica.

Tableros Estructurales Biocompuestos de Fibra de Bagazo de Agave Mezcalero

La justificación del uso de bagazo de agave mezcalero para la fabricación de tableros estructurales es sólida. Las ventajas específicas de este material incluyen la elevada resistencia de sus fibras, lo que permite producir tableros con una excelente relación resistencia-peso. Además, la disponibilidad regional garantizada por la industria mezcalera asegura un suministro constante y facilita la planificación de la producción y la optimización de costos. Este aprovechamiento contribuye directamente a la economía circular y al aprovechamiento de residuos agroindustriales, transformando un subproducto en un material de alto valor agregado, lo que reduce el impacto ambiental de la industria mezcalera y genera beneficios económicos adicionales, fomentando la sostenibilidad regional.

Sin embargo, el desarrollo de tableros estructurales a partir de bagazo de agave presenta desafíos y consideraciones técnicas específicas. Un procesamiento efectivo del bagazo requiere una limpieza y clasificación inicial para eliminar impurezas, así como tratamientos químicos o físicos (como alcalinos, silanización o mercerización) para mejorar la compatibilidad fibra-matriz. Es crucial optimizar la formulación y el proceso de fabricación de los tableros, ajustando la proporción fibra-matriz y las condiciones de procesamiento (temperatura, presión, tiempos de residencia) para maximizar el rendimiento. Finalmente, una evaluación y caracterización exhaustiva de las

propiedades de los tableros es indispensable, incluyendo ensayos mecánicos completos, estudios de durabilidad frente a la humedad, temperatura y agentes biológicos, y un análisis del ciclo de vida para cuantificar los beneficios ambientales y asegurar el cumplimiento normativo para su viabilidad comercial.

Existe una amplia investigación acerca de la elaboración de paneles de aglomerados utilizando elementos alternativos a los ya existentes entre los cuales encontramos los siguientes:

En el 2012 Montoya y colaboradores investigaron el desarrollo de aglomerados de matriz cementicia con fibras de fique pretratadas alcalinamente. Para ello, se prepararon morteros con diferentes porcentajes de fibras de fique tratadas con NaOH, evaluando su resistencia mecánica a flexión y compresión, así como la absorción de agua. Los resultados mostraron que el tratamiento alcalino mejoraba la resistencia a la flexión hasta un 0.5% de fibras, pero mayores porcentajes la reducían. Se concluyó que las fibras de fique pretratadas pueden mejorar la tenacidad en bajas proporciones, aunque se requiere optimizar la dispersión para altas proporciones [1].

Por otra parte, se evaluaron paneles de partículas hechos con residuos de madera de eucalipto y fibras de coco en distintas proporciones, usando resina ureica-formaldehído. Se midieron propiedades físico-mecánicas como densidad, hinchazón, y resistencias a flexión y tracción. La adición de fibras de coco mejoró la resistencia a la tracción perpendicular y redujo la hinchazón, aunque disminuyó ligeramente la resistencia a la flexión. Se concluyó que la combinación es viable para paneles con mejores propiedades, especialmente en estabilidad dimensional y unión interna [2].

Otros investigadores desarrollaron eco-composites con bagazo de caña de azúcar y almidón termoplástico, variando el contenido de bagazo. Se analizaron propiedades mecánicas y térmicas, encontrándose que el bagazo aumentó la resistencia a la flexión e impacto, mejoró las propiedades térmicas y ligeramente disminuyó la resistencia a la tracción. Se concluyó que el bagazo es un refuerzo efectivo para almidón termoplástico, generando materiales eco-amigables mejorados [3].

Además, se estudió el uso de fibras de hoja de piña (PALF) en morteros de cemento y cal, evaluando diferentes porcentajes y sus propiedades mecánicas y durabilidad. La adición de PALF mejoró notablemente la resistencia a la flexión en bajas proporciones para ambos tipos de mortero y redujo la absorción capilar y la retracción. Se concluyó que las fibras de hoja de piña son un refuerzo viable para mejorar la tenacidad y durabilidad de morteros [4].

Por otro lado, se fabricaron tableros de partículas con paja de trigo y resina urea-formaldehído, variando la densidad y evaluando propiedades físico-mecánicas. Los tableros cumplieron estándares mínimos no estructurales y sus propiedades mecánicas dependieron de la densidad. La hinchazón en espesor fue un aspecto a mejorar. Se concluyó que la paja de trigo es adecuada para tableros de partículas, aunque se necesita optimizar la estabilidad dimensional [5].

Zaini y colaboradores en el 2016 desarrollaron compositos de polipropileno (PP) reforzados con fibras de Kenaf, modificando las fibras con anhídrido maleico injertado en PP (MAPP) para mejorar la compatibilidad. Se evaluaron propiedades mecánicas y morfológicas. La modificación con MAPP mejoró significativamente la resistencia a la tracción y flexión debido a una mejor adherencia y dispersión de las fibras. Se concluyó que la modificación con MAPP es efectiva para mejorar propiedades de composites PP/Kenaf [6].

También, se evaluó el uso de fibras de bambú para reforzar cemento Portland en aplicaciones de bajo costo. Se incorporaron fibras en mortero de cemento, evaluando propiedades mecánicas y retracción. La adición de fibras de bambú mejoró la resistencia a la flexión hasta en un 50% con 1% de fibra y redujo la retracción. Se concluyó que las fibras de bambú son un refuerzo económico para mejorar la tenacidad y reducir fisuras en morteros [7].

En investigaciones similares se desarrollaron materiales compuestos con residuos de tallo de algodón y resina poliéster, variando el contenido de fibra y evaluando propiedades mecánicas y absorción de agua. La adición de tallo de algodón mejoró la resistencia a la flexión e impacto, aunque la tracción se mantuvo similar y la absorción de agua aumentó. Se concluyó que los residuos de tallo de algodón son un refuerzo valioso para poliéster con buenas propiedades mecánicas [8].

En otros trabajos se estudió el uso de fibras de pasto elefante (napier grass) en matrices de yeso, evaluando diferentes porcentajes y propiedades mecánicas y absorción de agua. La adición de fibras mejoró significativamente la resistencia a la flexión en bajas proporciones y redujo la absorción de agua. Se concluyó que las fibras de pasto elefante son un refuerzo efectivo para mejorar la tenacidad y reducir la absorción de agua en matrices de yeso [9].

Finalmente ha sido reportado la evaluación de la viabilidad de usar fibras de tallo de plátano para reforzar matrices de arcilla para ladrillos. Se incorporaron fibras en diferentes porcentajes y se evaluaron propiedades mecánicas y retracción. La adición de fibras de tallo de plátano mejoró significativamente la resistencia a la flexión y redujo la retracción. Se concluyó que estas fibras son un refuerzo adecuado para ladrillos de arcilla, mejorando la tenacidad y reduciendo fisuras [10].

PARTE EXPERIMENTAL

Para la producción de tableros aglomerados a base del residuo del bagazo de agave, se elaboró un diseño de experimentos de superficie de respuesta tipo Box Behnken, con ello se obtuvieron las condiciones óptimas de producción. El diseño de experimentos se llevó a cabo a través del programa Statistica el cual con 4 factores y dos niveles desarrolló 27 experimentos.

Los experimentos se llevaron a cabo de la misma forma y se variaron los factores designados que son las cantidades de residuo de agave, y los diferentes reactivos para obtener la mezcla de bagazo y aglutinante. Los valores a variar serán los siguientes: 5 a 35 g del reactivo 1, 10 a 30 g del reactivo 2, 5 a 25 g del reactivo 3, 5 a 25 g del reactivo 4 y 5 a 15 mL del reactivo 5.

Las probetas experimentales de paneles se llevaron a cabo de la siguiente manera: El reactivo 1 se diluyó en 250 mL de agua desiónizada a 80º C, posteriormente se añadió el reactivo 2 hasta formarse un líquido viscoso, se agregó el reactivo 3 y se mezcló a 150 RPM durante 1 min, enseguida se agregó gota a gota reactivo 4, finalmente se agregó el bagazo como reactivo 5 hasta que quedó completamente embebido. La mezcla se colocó en un cilindro de polipropileno y se compactó durante 1 h. El aglomerado se retiró del molde y se dejó secar durante 72 h a temperatura ambiente. Una vez que el peso se mantuvo constante se cortó para dar forma a una probeta de análisis de la maquina universal.

Determinación de resistencia a la tracción
Los ensayos de tracción se realizaron utilizando la máquina de ensayos universales. Este ensayo se hizo de acuerdo con las recomendaciones de la norma ASTM. Para realizar este ensayo se marcaron las probetas en la zona calibrada, midiendo su longitud inicial, ancho y espesor con un vernier, sujetando firmemente los extremos de la probeta a las mordazas de la máquina de tracción y se aplico la carga estirando o comprimiendo la probeta hasta ocurrir la fractura. Con la información obtenida de los ensayos se construyeron curvas de esfuerzo deformación, a partir de estas curvas se obtuvo el esfuerzo de fluencia identificando el límite elástico de los tableros aglomerados a base del residuo del bagazo.

Los resultados se analizarán en el programa matemático obteniendo la tabla de análisis de varianza, el análisis de residuales, etc. Finalmente, se obtendrán los modelos de deseabilidad y se encontrarán las cantidades optimas de cada reactivo.

RESULTADOS

Con la finalidad de obtener las condiciones óptimas de producción de los paneles, utilizando como precursor el desecho del bagazo mezcalero, se llevó a cabo un diseño experimental de superficie de respuesta del tipo Box-Behnken. Este tipo de diseño no tiene un diseño factorial o factorial fraccionada incrustada, además los puntos de diseño se sitúan en combinaciones de los niveles altos y bajos de los factores y sus puntos medios. No cuentan con puntos axiales, por lo que todos los puntos de diseño se encuentran dentro de la zona de operación segura. También aseguran que no se establezcan todos los factores en sus niveles altos al mismo tiempo. Este diseño se desarrolló variando 4 reactivos diferentes para formar el aglutinante y manteniendo la masa del residuo agrícola constante. El diseño arrojo 27 experimentos tomándose como respuesta la resistencia a la tracción (esfuerzo máximo) en kN/cm2. La Fig. 1 muestra los valores de la respuesta correspondiente a cada experimento.

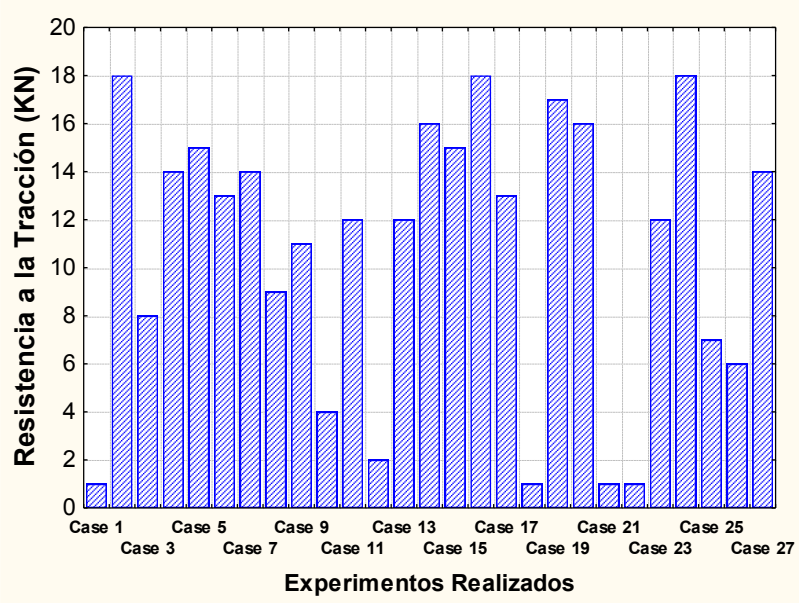


Figura 1. Resistencia a la tracción (esfuerzo máximo) de los 27 experimentos producidos con diferentes condiciones.

Es posible observar en la Fig. 1 que cada muestra cuenta con diferente resistencia a la tracción y no hay una tendencia clara entre ellas. Lo anterior es debido a que cada muestra fue producida bajo diferentes condiciones de cantidad de reactivos 1, 2, 3, y corroborando que las propiedades mecánicas y estructurales de los paneles dependen de las condiciones de producción. Una vez obtenidas las respuestas de los experimentos se procedió a analizar el diseño y validar el modelo que se ajustó a los datos experimentales. La primera parte del análisis consistió en la revisión de la tabla ANOVA (Tabla 1) y el comportamiento de los residuales (Figura 2).

La Tabla 1 muestra el análisis de varianza del diseño experimental. El análisis de varianza es una herramienta estadística útil para determinar si hay diferencias significativas entre los tratamientos y si esas diferencias pueden ser atribuibles al azar o no. En esta tabla se muestran como conclusión los valores “p” un estadístico de prueba, donde a valores $p \leq 0.05$ se determina que no existen diferencias significativas de los factores sobre la producción de los paneles y que las diferencias que se presentan pueden ser atribuibles al azar o al error experimental. Por otra parte, a valores $p>0.05$ se determina que si hay diferencias significativas y que estas diferencias no son producto del azar o error experimental. Por lo que al observar que el reactivo 2 tiene un valor p de 0.087065 y el reactivo 3 de 0.264530 indica que ambos reactivos son los que generan mayores efectos en la

producción de los paneles y que estos reactivos son fundamentales en su variación para poder alcanzar un producto óptimo. En lo que respecta a los otros factores y su interacción no se encuentra evidencia de que produzcan efectos significativos en la producción ya que sus valores p son menores a 0.05. El análisis anterior se efectuó con un nivel de significancia del 95%.

Tabla 1. Análisis de Varianza del diseño experimental de superficie de respuesta.

ANOVA; Var.:Res. a la Tracción; R-sqr=.93731; Adj:.90945 (Spreadsheet1) 4 3-level factors, 1 Blocks, 27 Runs; MS Residual=3.078704 DV: Res. a la Tracción					
	SS	df	MS	F	p
(1)Reactivo 1(L)	65.3333	1	65.3333	21.2211	0.000219
Reactivo 1(Q)	120.3333	1	120.3333	39.0857	0.000007
(2)Reactivo 2(L)	10.0833	1	10.0833	3.2752	0.087065
Reactivo 2(Q)	18.7500	1	18.7500	6.0902	0.023847
(3)Reactivo 3(L)	4.0833	1	4.0833	1.3263	0.264530
Reactivo 3(Q)	30.0833	1	30.0833	9.7714	0.005838
(4)Reactivo 4(L)	408.3333	1	408.3333	132.6316	0.000000
Reactivo 4(Q)	300.0000	1	300.0000	97.4436	0.000000
Error	55.4167	18	3.0787		
Total SS	884.0000	26			

Por otra parte, la Figura 2 muestra las gráficas de los residuales. Los residuales son la diferencia entre la respuesta observada y su valor correspondiente en el modelo calculado. La Figura 2 muestra dicho comportamiento. Las gráficas de residuales se utilizan para examinar el ajuste en la regresión y ANOVA. Si se comprueban los supuestos establecidos, entonces la regresión de mínimos cuadrados ordinarios producirá estimaciones de coeficientes no sesgadas con la varianza mínima. La gráfica de probabilidad observada en la Figura 2A muestra que los residuales siguen aproximadamente una línea recta, lo cual indica que los datos siguen una distribución de probabilidad normal. Sin embargo, también presentan una leve forma de “s” invertida lo cual indica una distribución con colas cortas. Por otro lado, la gráfica de residuales vs valores (Figura 2B) observados muestra que los residuales tienen una tendencia aleatoria por lo que son similares al error aleatorio lo cual indica que el modelo utilizado es el correcto. El histograma de los residuos mostrados en la Figura 2C muestra que los valores son asimétricos, sin embargo, existe un valor atípico que no influye significativamente y por lo cual favorece la aplicación del modelo matemático correctamente. Estos resultados indican que el modelo matemático utilizado se ajusta adecuadamente a los valores de las observaciones.

Una vez que se validó el modelo matemático se generaron las gráficas de superficie de respuesta y las gráficas de contorno. En base a estas gráficas se optimizó la respuesta y se determinaron estadísticamente las condiciones óptimas de producción de paneles que arrojan la mayor resistencia a la tracción. Las Figuras 3 y 4 muestran los resultados. La Figura 3 muestra que la resistencia a la tracción, es decir el esfuerzo máximo, es altamente dependiente del reactivo 2 y del reactivo 3. Además, es posible observar que la resistencia a la tracción aumenta cuando los valores de estos reactivos se encuentran oscilan entre 8-32 y 4-26, respectivamente, encontrándose la máxima resistencia a la tracción cuando los valores de los reactivos 2 y 3 están entre 23 y 14, respectivamente. Además, la Figura 3 muestra que para alcanzar la máxima resistencia a la tracción los valores del reactivo 1 y reactivo 4 deben estar alrededor de 25 y 19, en conjunto con los valores del reactivo 2 y 3. Las zonas rojo oscuro de la graficas de contorno muestran donde se encontrarán los valores óptimos de producción.

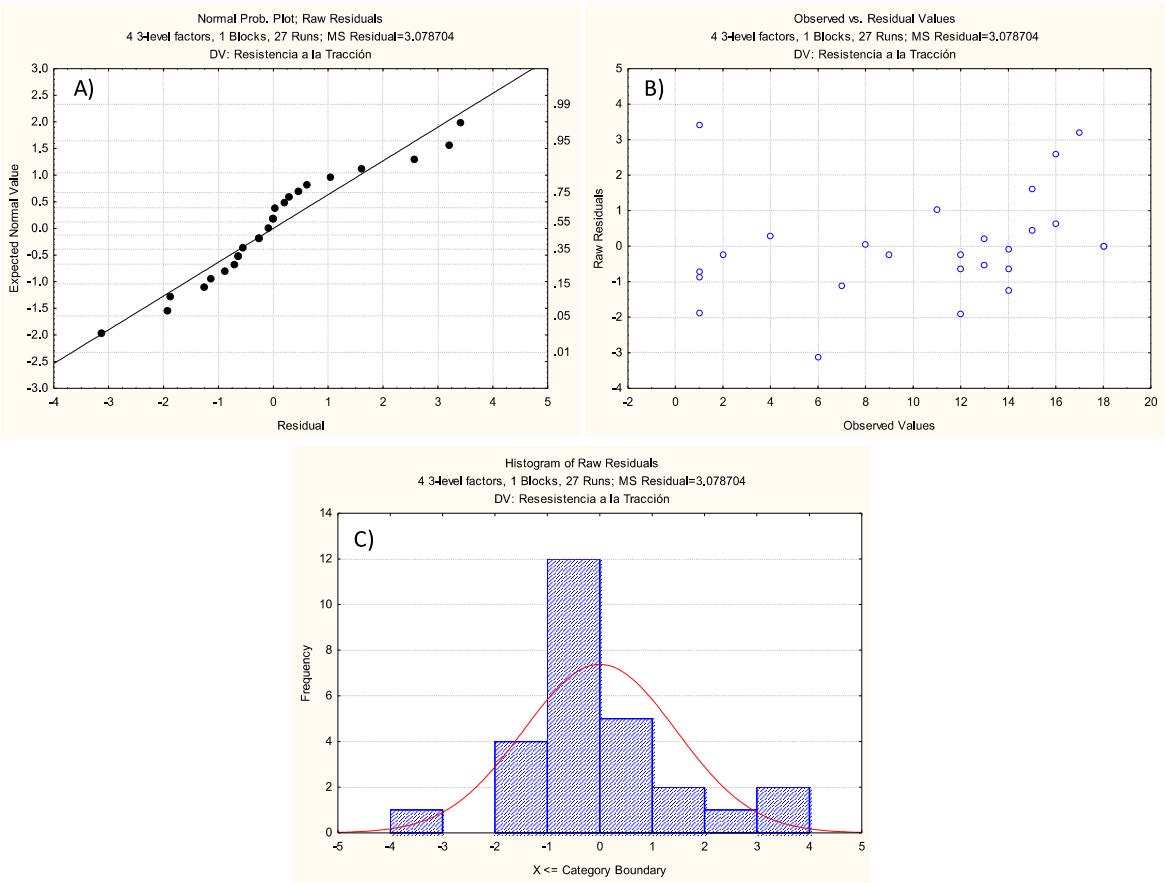


Figura 2. Análisis de Residuales: A) Gráfica de probabilidad Normal de los residuos; B) Gráfica de residuales contra valores observados; C) Histograma de los residuos.

Por otro lado, en la Figura 4 se puede ver el perfil de los valores predichos y la deseabilidad de la optimización al buscar la mayor resistencia a la tracción por parte de los paneles producidos. Según el modelo de regresión aplicado y validado es posible observar las condiciones óptimas estadísticamente determinadas de producción de los paneles con base en los desechos agrícolas del bagazo del agave mezcalero son: cantidad de reactivo 1 = 20, cantidad de reactivo 2=20, cantidad de reactivo 3=15 y cantidad de reactivo 4=15. Bajo estas condiciones se Produjo la muestra considerada la óptima.

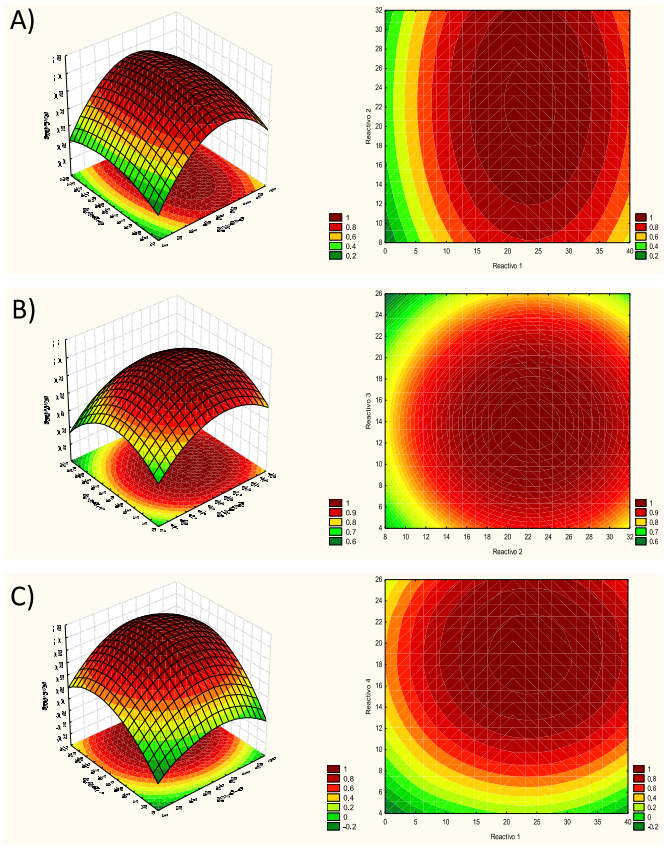


Figura 3. Superficies de respuesta y su correspondiente gráfica de contorno para la respuesta de resistencia a la tracción (esfuerzo máximo).

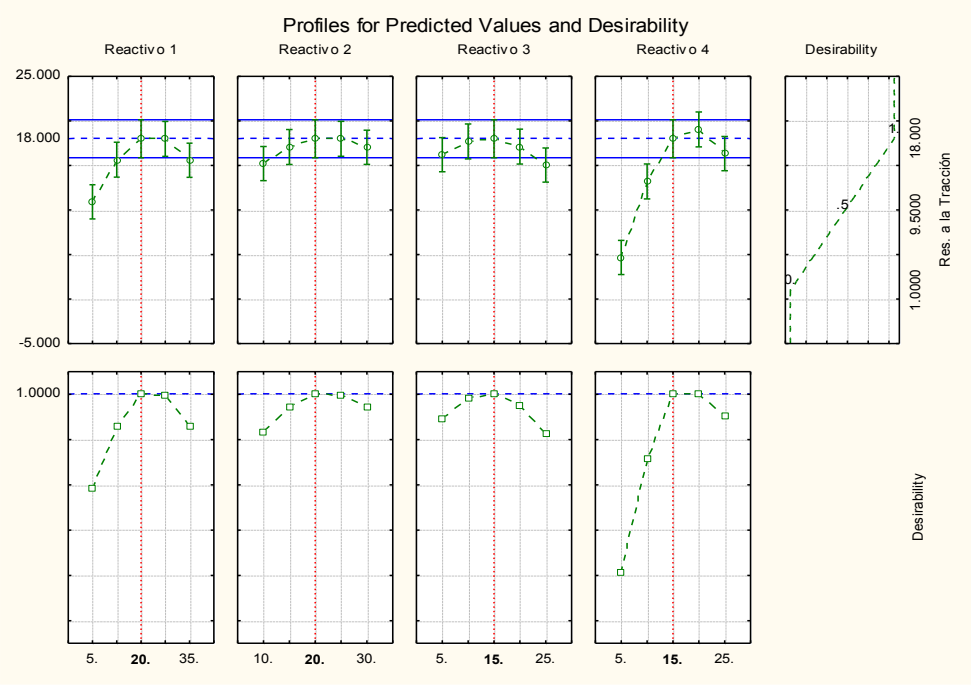


Figura 4. Optimización de la respuesta

CONCLUSIONES

Al realizar las pruebas que arrojo el diseño de experimentos de superficie de respuesta, se obtuvieron muy buenos resultados del material elaborado, teniendo que el residuo del bagazo de agave presente un gran potencial para su utilización como material principal en la elaboración de tableros aglomerados con grandes propiedades físico-mecánicas, los cuales puedes ser utilizados en la industria de la construcción como materiales a muy bajos costos que pueden ser accesibles para toda la población que lo requiera, así mismo, dicho material presento alta resistencia a la tracción, además de que no es flamable ni hidrofóbico y contiene alta resistencia mecánica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Montoya-Rodríguez, J., Mejía de Gutiérrez, R., & Delvasto, S. (2012). Effect of alkali treatment on fique fiber reinforced cement composites. Construction and Building Materials, 29, 370-378.

2. Iwakiri, S., Keinert Junior, E., Trianoski, R., Prata, J. G., & Matos, J. L. M. (2014). Particleboards made from eucalyptus wood and coconut fiber. Materials Research, 17, 788-794.

3. Rosa, M. F., Santos, E. S., Ferreira, B. S., Andrade, N. J., & Araújo, J. M. (2010). Sugar cane bagasse and thermoplastic starch blends: Processability and properties. Industrial Crops and Products, 32, 605-610.

4. Munawar, S. S., Umemura, K., Hassan, A., & Tanaka, S. (2007). Development of natural fiber reinforced cement composites using pineapple leaf fibers. Construction and Building Materials, 21, 1918-1923.

5. Sotannde, O. A., & Oluyinka, D. N. (2008). Properties of particleboards from wheat straw. Industrial Crops and Products, 28, 1-7.

6. Zaini, M. J., Sapuan, S. M., & Jawaid, M. (2016). Mechanical properties of kenaf fibre reinforced maleated polypropylene composites. Materials & Design, 89, 1054-1062.

7. Agar-Ozbek, A. M., & Baradan, S. (2007). Effect of bamboo fiber on mechanical and drying shrinkage properties of cement mortars. Construction and Building Materials, 21, 578-583.

8. Jawaid, M., & Abdul Khalil, H. P. S. (2011). Cellulosic fibre reinforced polymer composites: Macroscopic and microscopic aspects. Express Polymer Letters, 5, 171-187.

9. Ogunjobi, J. K., & Mustapha, A. (2012). Mechanical properties of gypsum reinforced with napier grass fiber. Journal of Materials in Civil Engineering, 24, 1051-1056.

10. Sutcu, M., & Gencel, O. (2014). The effect of banana pseudo-stem fibers on properties of clay bricks. Construction and Building Materials, 73, 651-658.

SÍNTESIS ORGANOCATALÍTICA Y EVALUACIÓN NEUROFARMACOLÓGICA DE UN DERIVADO DE 13*H*-INDOLO[2,3-A]TIOPIRANO[2,3-G]QUINOLIZINA

Clarisa Villegas Gómez, David Cruz Cruz

Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Gto. 36050, México.
clarisa.villegas@ugto.mx

RESUMEN

La depresión y ansiedad han afectado a la población mundial. Estos trastornos provocan niveles importantes de discapacidad afectando función mental y física, con una muerte prematura. 280 millones de personas en todo el mundo sufren depresión y 301 de ansiedad. El 75% de los pacientes con trastornos mentales, no reciben ningún tratamiento farmacológico debido al estigma social y falta de instalaciones médicas. Después del COVID-19, el número de personas con trastornos mentales aumentó un 25% de ahí, la necesidad de desarrollar nuevos compuestos para el descubrimiento de agentes terapéuticos.

Estudios realizados por nuestro grupo de investigación han demostrado que, derivados quirales del tipo tetrahidrocarbazol sintetizados mediante diversas estrategias en organocatálisis, poseen una importante actividad ansiolítica, siendo el primer reporte sobre la actividad neurofarmacológica de este tipo de compuestos.

En el presente trabajo desarrollamos una estrategia organocatalítica en cascada para la síntesis de un derivado de 13H-indolo[2,3-a]tiopirano[2,3-g]quinolizina, a través del modo de activación trienamina. La metodología realizada fue mediante una reacción de Diels-Alder organocatalítica entre un 2,4-dienal y un derivado de ditioamida sustituido con triptamina, el cual seguido de una reacción en cascada derivó a la formación del producto deseado con un rendimiento del 60% y un exceso enantiomérico del 97%, caracterizado mediante RMN, EM y la configuración absoluta mediante difracción de rayos-X.

El compuesto fue evaluado para medir su efecto antidepresivo mediante la prueba de suspensión de cola (1-50 mg/kg) utilizando fluoxetina (FLX) como control positivo. Los resultados mostraron una disminución en el tiempo de inmovilidad con un efecto independiente de la dosis ($p>0.05$) donde, el efecto del compuesto no fue comparable con el presentado por FLX, ya que este fármaco mostró una reducción del tiempo de inmovilidad del 66.2% mientras que el compuesto sintetizado mostró un rango de inmovilidad entre el 19.7 y 25.9%, indicando una baja actividad antidepresiva.

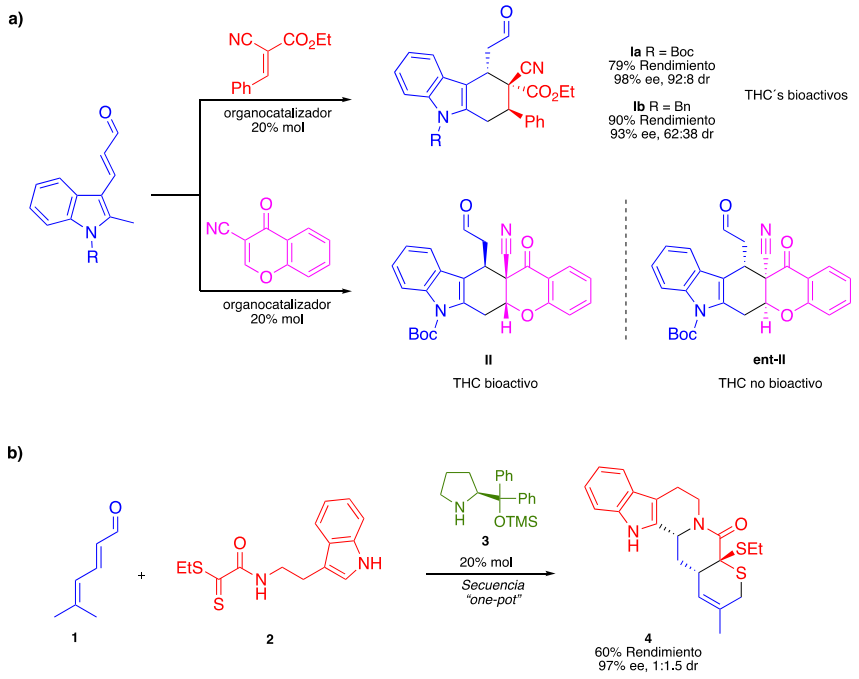
Del mismo modo, fue evaluada la actividad ansiolítica mediante la prueba del tablero perforado usando Clonazepam (CNZ) como fármaco de referencia, encontrando una importante actividad ansiolítica en un modelo dependiente de la dosis con una ED_{50}= 13 mg/kg. Los estudios del mecanismo de acción una posible participación del sistema serotoninérgico.

Se desarrolló una metodología útil, rápida y eficiente para la síntesis estereoselectiva de este tipo de compuestos, mostrando una importante actividad ansiolítica.

INTRODUCCIÓN

Los trastornos depresivos y de ansiedad causan niveles significativos de discapacidad, los cuales afectan la función física y mental, dando como resultado un mayor riesgo de muerte prematura.[1] Actualmente, aproximadamente 280 millones de personas en todo el mundo sufren depresión y más de 301 millones de personas sufren de ansiedad.[1] Los trastornos de ansiedad son los más comunes de todos los tipos de trastornos mentales.[2] De manera desafortunada, aproximadamente el 70-75% de los pacientes con trastornos mentales que viven en países de ingresos bajos y medios no reciben

ningún tratamiento farmacológico, esto debido al estigma social y a la falta de instalaciones médicas.[1] Después de la pandemia derivada del COVID-19, el número de personas con trastornos mentales, incluida la ansiedad y la depresión aumentó en más del 25%. Aunado a esto, los medicamentos actuales causan reacciones adversas, y en este sentido, hoy en día existe una creciente necesidad de encontrar nuevos agentes terapéuticos para tratar a este tipo de trastornos.[2] Con base en lo anterior, recientemente en nuestro grupo de investigación iniciamos un programa enfocado en la síntesis estereoselectiva y en la evaluación biológica de derivados de tetrahidrocarbazol (THC´s). En este contexto, describimos el primer estudio de la actividad ansiolítica de dos THC´s quirales (**Ia, Ib**), los cuales fueron obtenidos mediante una estrategia organocatalítica vía activación trienamina (Esquema 1a). Dichos compuestos, mostraron resultados prometedores debido a la reducción del comportamiento ansiolítico en ratones, el cual es dependiente de la dosis, con un efecto máximo del 72% (25mg/kg, **Ia**) y del 83.4% (25mg/kg, **Ib**) y valores de ED50 de 3.3 mg/kg (**Ia**) y 7.7 mg/kg (**Ib**).[3] De manera reciente, reportamos la actividad biológica de un compuesto de cinco anillos fusionados, el cual contiene dentro de su estructura un núcleo de THC unido a un núcleo de tetrahidrocromeno (**II**), sintetizado a través de una metodología similar (Esquema 1a). Este estudio demostró que II presenta una importante actividad ansiolítica. Sin embargo, la actividad ansiolítica para su enantiómero (***ent*-II**) es mucho menor. Este resultado demuestra la importancia de la estereoquímica para la actividad biológica.[4] En el presente proyecto, desarrollamos una estrategia en cascada organocatalítica para la diversificación de tiopiranos mediante el modo de activación trienamina. En esta investigación, se logró incorporar un andamio de tetrahidrocarbolina (un análogo del THC) al producto final **4**, en un solo paso de reacción, con buen rendimiento y un excelente exceso enantiomérico (Esquema 1b).[5]



Esquema 1. Trabajo previo. a) Síntesis organocatalítica de THC´s y su actividad ansiolítica. b) Síntesis de derivados de tetrahidrocarbolinas vía estrategias organocatalíticas en cascada.

Finalmente, e intrigados por la actividad biológica que pudiera estar asociada este sistema de cinco anillos fusionados **4**, el cual, involucra estructuras de tetrahidrocarbolina, piperidona y tiopirano, centramos nuestra atención en investigar su comportamiento en términos de efectos antidepresivo y actividad ansiolítica, este proyecto muestra los resultados experimentales y los hallazgos de un estudio de acoplamiento "*docking*".

PARTE EXPERIMENTAL

General

Todos los reactivos y catalizadores utilizados para la síntesis de **4** y para los ensayos biológicos (**CNZ**, **KET** y **FLX**) se adquirieron a través de Sigma-Aldrich. La síntesis de los materiales de partida y las reacciones organocatalíticas se monitorearon mediante TLC (placas de gel de sílice con indicador F-254) y las manchas se visualizaron bajo luz UV (254 o 365 nm). La cromatgrafía en columna "*flash*" se realizó utilizando gel de sílice (Kiesegel 60, malla 70-230) como fase estacionaria y mezclas de hexano/acetato de etilo previamente destilado como eluente. Los datos espectrales de los compuestos se adquirieron en un espectrómetro Bruker-Ascend^{TM} (500 MHz para ^{1}H y 126 MHz para ^{13}C) en cloroformo deuterado. Para la medición de los excesos enantioméricos se realizó en un sistema HPLC Shimadzu utilizando n-hexano/isopropanol como fase móvil, la pureza enantiomérica de 4 se determinó con Diacel OD-H. Para el análisis de rayos X, se seleccionó un cristal adecuado y se colocó en un difractómetro SuperNova, la estructura se resolvió mediante el software SHELXT.

Síntesis de (4aR,13bR,14aS)-4a-(etiltio)-2-metil-7,8,13,13b,14,14a-hexahidro-3H-indolo[2,3-a]tiopirano [2,3-g]quinolizin-5(4aH)-ona 4

Los materiales de partida para la síntesis del compuesto **1**, se prepararon acorde a la metodología ya descrita en la literatura.[5-9] El compuesto **4** se obtuvo siguiendo nuestro trabajo previo, en escala de 3 x 20 mg). En un vial de vidrio con tapón de rosca, equipado con una barra de agitación magnética, se mezcló el 2,4-dienal **1** (0.1 mmol, 1.5 equiv.), ácido benzoico (0.014 mmol, 0.2 equiv.) y el aminocatalizador **3** (0.014 mmol, 0.2 equiv.) en 0.5 mL de cloroformo y se dejó en agitación por 10 minutos. A continuación, se añadió la ditioamida **2** (0.07mmol, 1 equiv.) y la mezcla se agitó durante 24 h. Una vez formado el hemiaminal mediante una secuencia en cascada de cierre de anillo tio-Diels-Alder/nucleófilo, se añadió 20 mol% de ácido trifluoroacético (TFA) a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura ambiente por 2 h, esto para promover la reacción intramolecular de Pictet-Splenger. Cuando se completó la reacción, se eliminó el disolvente al vacío y el crudo de reacción se sometió a purificación mediante cromatografía "*flash*", con gradiente 90:10 de hexano/acetato de etilo. El producto se obtuvo con un dr del 1:1.5 y un rendimiento del 60% del diastereoisómero principal y un e.e del 97%. Los datos espectroscópicos mostraron evidencia del compuesto y la configuración absoluta se estableció como (4a R, 13b R, 4a S) esto mediante análisis de rayos X.

Animales

Los ratones CD-1 machos, se adquirieron en el Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México en Juriquilla, Querétaro. Los ratones se colocaron y alojaron en grupos de 5 ratones por jaula de policarbonato, con libre acceso a agua y dieta estándar (LabDiet 5001 Rodent Diet) y se mantuvieron en un programa de luz/oscuridad de 12 h:12 h. Después de 1 semana de adaptación, los animales se distribuyeron aleatoriamente en grupos experimentales de ocho ratones por grupo, teniendo un peso de 37 ± 3.2 g y de 6 a 8 semanas de edad. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Guanajuato (CIBIUG-P03-2020).

Administración de los medicamentos

El compuesto **4** y todos los fármacos se suspendieron en una solución salina fisiológica de carboximetilcelulosa al 0.5% (p/v). Los tratamientos se administraron 1 h antes de cada prueba. Los ratones recibieron **4** (1, 10 y 50 mg/kg), controles positivos clonazepam **CNZ** (1.5 mg/kg) o fluoxetina **FLX** (1.5 mg/kg) por vía oral. La selección de las dosis de 4 se basé en estudios preliminares realizados por nuestro grupo de investigación y las dosis de los fármacos de referencia por la literatura.[10]

Pruebas de toxicidad aguda

Se suministró a los ratones una sola dosis única de **4** (500 mg/kg) por vía oral y se observó a los animales por 5 días para detectar posibles signos de toxicidad (salivación, diarrea, letargo, temblores, agresividad, ataxia, convulsiones, piloerección, etc). Al finalizar, se pesó a los ratones y

se les practicó la eutanasia, extrayendo los órganos, y así observando cualquier signo visible de toxicidad.[11]

Prueba se suspensión de cola
Con esta prueba se midió la actividad antidepresiva, suspendiendo a los ratones de manera individual por la cola a 40 cm del suelo, utilizando una mesa metálica. La cola del ratón se fijó con cinta adhesiva y el tiempo de inmovilidad de evaluó por 6 minutos, según la técnica descrita por Castagné.[12]

Prueba de tablero de agujeros
Acorde a la técnica descrita por File y Wardill,[13] mediante una caja de 42 X 42 X 30 cm con cuatro agujeros equidistantes de 3 cm de diámetro separados del suelo. La prueba inició colocando un ratón en el centro del tablero, cuyo comportamiento se observó por 5 minutos. El parámetro evaluado fue el número total de inmersiones de la cabeza en los agujeros. El mecanismo de acción similar al del ansiolítico, se determinó utilizando 2 mg/kg de flumazenil **FMZ** (antagonista de GABAa) y 1 mg/kg de ketanserina **KTS** (antagonista de 5-HT_2), suministrándolos 15 minutos antes de la administración de la dosis de 10 mg/kg del compuesto **4**. La prueba dio inicio a los 45 minutos de la administración de **4**.

Prueba exploratoria de cilindro
Cada uno de los ratones se colocaron en un cilindro de acrílico de 45 cm de alto y 20 cm de diámetro con grosor de pared de 3 mm, con papel filtro e iluminación constante. Se contabilizó número de levantamientos a través del cilindro por 5 minutos.[14]

Prueba de rotarod
Se seleccionaron ratones que fuera capaces de caminar sobre un rodillo giratorio a 4 rpm durante 4 minutos, exigiéndoles mantener el equilibrio, la coordinación y la planificación motora. Se registró el tiempo en que cada animal permaneció sobre la barra giratoria a los 60 y 120 minutos después del tratamiento.[15]

Estudios de acoplamiento molecular "*docking*"
Se realizó el estudio de acoplamiento molecular del compuesto **4** con el receptor 5-HT_{2A} (PDBid: 6A93, resolución: 3.00 Å, en complejo con la antipsicótico risperidona) mediante el software AutoDock Vina v.1.2.0.[16,17] Se eliminaron todas las moléculas de agua y los ligandos co-cristalizados (risperidona) del receptor 5-HT_{2A}. En este punto del estudio, solo se añadieron átomos de hidrógeno polares y se asignaron cargas de Gasteiger a todas las moléculas (ligandos y 5-HT_{2A}R). Posteriormente, se permitió libremente que las torsiones de los compuestos rotaran durante todos los estudios de acoplamiento. La cuadrícula se centró en las coordenadas cristalográficas de la risperidona (centro_x = 14.231; centro_y = −1.196 y centro_z = 60.438) de HT_{2A}R Las dimensiones de la cuadrícula fueron de 18 X 14 X 14 puntos con espaciado predeterminado (1 Å). Finalmente, la exhaustividad empleada fue de 20. Todas las visualizaciones se obtuvieron con el software PyMOL v1.9 (The PyMol Molecular Graphics System, versión 1.9 Schrödinger, LCC) y los diagramas 2D de las interacciones se obtuvieron con Discovery Studio Visualizer, DSV v 21.1.

Análisis estadístico
Los resultados se expresaron como media ± error estándar de la media (SEM) y se compararon mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey ($p < 0.05$), utilizando el software GraphPad Prism 5.

RESULTADOS

Síntesis de *(4aR,13bR,14aS)-4a-(etiltio)-2-metil-7,8,13,13b,14,14a-hexahidro-3H-indolo[2,3-a]tiopirano [2,3-g]quinolizin-5(4aH)-ona 4*
El estudio inició con la síntesis de **4**, acorde a la metodología en cascada de tio-Diels-Alder/cierre de anillo nucleofílico/Pictet-Spengler, utilizando el modo de activación trienamina organocatalítica a menor escala (20 mg). Con esta ligera modificación, el producto **4** se obtuvo con un rendimiento del

60% y un d.r de 1:1.5, determinada mediante RMN de ^{1}H (isómero mayoritario), como un sólido blanco. $[\alpha]^{25.5}$ = +254.88 ($CHCl_3$, *c* 0.1) RMN de ^{1}H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.89 (s, 1H), 7.52 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.19 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.14–5.09 (m, 1H), 4.70 (dd, *J* = 11.7, 4.8 Hz, 1H), 3.24 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 3.08 (s, 1H), 3.03–2.94 (m, 1H), 2.90–2.85 (m, 2H), 2.85–2.81 (m, 1H), 2.78 (dd, *J* = 12.5, 8.6 Hz, 2H), 2.20 (dt, *J* = 13.4, 4.5 Hz, 1H), 2.03 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H) RMN de ^{13}C (126 MHz, $CDCl_3$) δ 166.1, 136.3, 135.6, 132.9, 126.9, 123.2, 122.2, 119.9, 118.3, 111.0, 109.7, 51.7, 41.3, 40.3, 31.3, 31.1, 29.7, 24.7, 24.4, 21.3, 14.3. HRMS (ESI+) m / z calculado para $C_{21}H_{24}N_2OS_2^+$ 385.1403 encontrado 385.1414 HPLC OD-H, 95:5 Hex/IPA, 1 mL/min, t_{mayor} = 56.7 min; t_{menor} = 52.1 min. (97 % ee). pf 203 °C. La configuración absoluta se estableció como (4a R, 13b R, 14a S) mediante análisis de rayos X (Figura 1, Tabla 1).

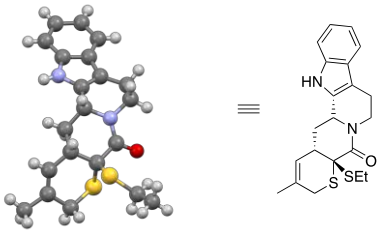


Figura 1. Estructura de Rayos X del compuesto **4** (CCDC: 2349471)

Tabla 1. Datos cristalográficos y detalles experimentales del compuesto **4**

Empirical formula	$C_{21}H_{24}N_2OS_2$	Radiation	MoKα (λ = 0.71073)
Formula weight	384.54	2Θ range for data collection/°	6.77 to 52.744
Temperature/K	293(2)	Index ranges	-8 ≤ h ≤ 8, -9 ≤ k ≤ 9, -42 ≤ l ≤ 49
Crystal system	orthorhombic	Reflections collected	9771
Space group	$P2_12_12_1$	Independent reflections	4082 [R_{int} = 0.0346, R_{sigma} = 0.0526]
a,b,c(Å)	6.7485(2), 7.4980(3), 39.920(2)	Data/restraints/parameters	4082/0/238
Volume/Å^3	2019.96(14)	Goodness-of-fit on F^2	1.132
Z	4	Final R indexes [I>=2σ (I)]	R_1 = 0.0673, wR_2 = 0.1327
ρ_{calc}g/cm^3	1.264	Final R indexes [all data]	R_1 = 0.0877, wR_2 = 0.1423
μ/mm^{-1}	0.276	Largest diff. peak/hole / e Å^{-3}	0.21/-0.29
F(000)	816.0	Flack parameter	0.04(18)
Crystal size/mm^3	0.7 × 0.2 × 0.2	CCDC dep. no.	2349471

Toxicidad aguda

Tras 6 h de tratamiento, los ratones presentaron cólico intestinal que duró 4 h. Tras 24 h de tratamiento, hasta el final del experimento, no se registraron más signos de toxicidad. Tras 5 días de una sola administración del compuesto **4**, no se registró mortalidad (DL_{50} > 500 mg/kg por vía oral) y los ratones presentaron una pérdida de peso del 4%. Además, no se observaron cambios visibles en los órganos vitales (corazón, hígado y riñones) de los ratones.

Efectos antidepresivos

En la prueba de suspensión de cola, el compuesto **4** (1-50 mg/kg), disminuyó el tiempo de inmovilidad en los ratones, en un rango del 19.7 al 25.96 %, en comparación con el vehículo. Sin embargo, este efecto fue independiente de la dosis ($p > 0.05$) (Figura 2). Por otro lado, de manera desafortunada, **4** no mostró un efecto antidepresivo en referencia con la fluoxetina **FLX** ($p < 0.05$)

ya que este fármaco produjo una reacción en el tiempo de inmovilidad de hasta el 66.23% (Figura 2), indicando una baja actividad antidepresiva para el compuesto **4**.

Actividad ansiolítica de 4 y su posible mecanismo de acción.

En la prueba del tablero con agujeros, **4** mostró una actividad similar a la ansiolítica (ED_{50} = 13 mg/kg po) de manera dependiente de la dosis (Figura 3A). Las dosis de 10 y 50 mg /kg aumentaron la ocurrencia de inmersión de la cabeza en 2.3 y 2.6 veces en comparación con el grupo vehículo. Este efecto es comparable con el fármaco de referencia clonazepam **CNZ** (2.8 veces) (Figura 3A). La actividad ansiolítica de **4** se abolió con el pretratamiento de los antagonistas del receptor $GABA_A$ flumazenil (2mg/kg) y el receptor selectivo 5-HT_{2A} ketanserina (1mg/kg).

En el estudio del cilindro exploratorio, 4 mostró una actividad ansiolítica del tipo independiente de la dosis al reducir el número de elevaciones (Figura 4), este efecto no fue comparable para la concentración de 1.5 mg/kg.

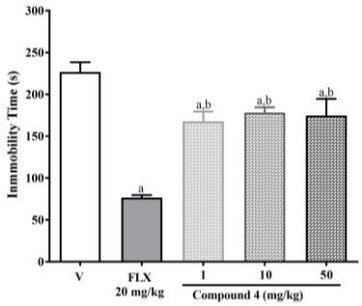


Figura 2. Efectos antidepresivos de **4**. Efecto a diferentes dosis (1-50 mg/kg) el tiempo de inmovilidad fue determinado usando la prueba de suspensión de cola. Fluoxetina **FLX** fue utilizada como control positivo. Las barras representan las medias estándar para el grupo experimental, n=8, p<0.05 comparado con el grupo vehículo (V), y P<0.05 comparado con la fluoxetina (**FLX**).

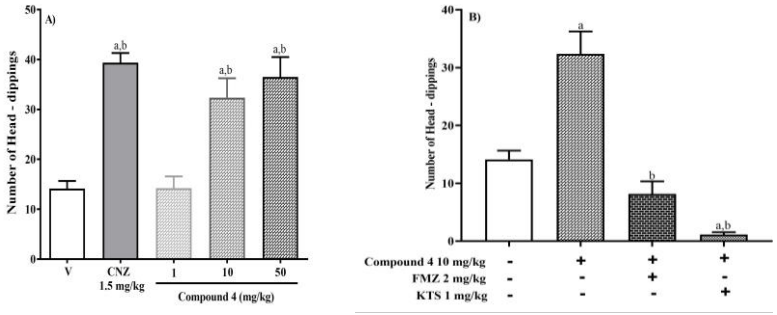


Figura 3 Efectos ansiolíticos de **4** (1-50 mg/kg p.o) en la prueba de tablero de agujeros (A) y su posible mecanismo de acción (B). Flumazenil **FMZ** y ketanserina **KTS** fueron utilizados como antagonistas. El clonazepam **CNZ** fue utilizado como fármaco de referencia. Las barras representan las medias estándar para el grupo experimental n=8. En (A) a y b significan p<0.05 comparado con el grupo vehículo (V) y p<0.05 comparado con grupo de 4 a 1mg/kg respectivamente. En (B) a y b representan p<0.05 comparado con el grupo vehículo (V) y p<0.05 comparado con el grupo de 4 a 10 mg/kg, respectivamente.

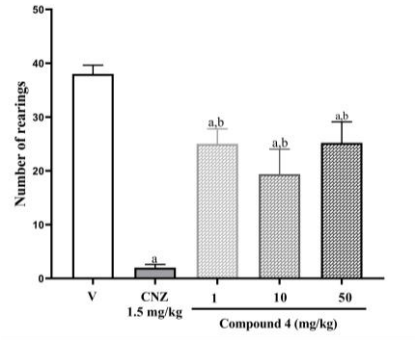


Figura 4. Efectos ansiolíticos de **4** (1-50 mg/kg p.o) en la prueba de cilindro exploratorio. Clonazepam **CNZ** fue utilizado como fármaco de referencia. Las barras representan las medias estándar para el grupo experimental n=8. En (A) a y b significan p<0.05 comparado con el grupo vehículo (V) y p<0.05 comparado con 1.5 mg/kg de **CNZ**, respectivamente.

Efectos en la coordinación motora.

Como se muestra en la figura 5. El compuesto **4** (1-50 mg/kg p.o) no mostró afectaciones en la coordinación motora, indicado por la ausencia de la alteración en el tiempo de permanencia del ratón en el rotarod, esto a los 60 y 120 minutos después del tratamiento. El CNZ (1.5 mg/kg) disminuyó considerablemente el tiempo de permanencia en el rotarod a los 60 y 120 minutos después del tratamiento.

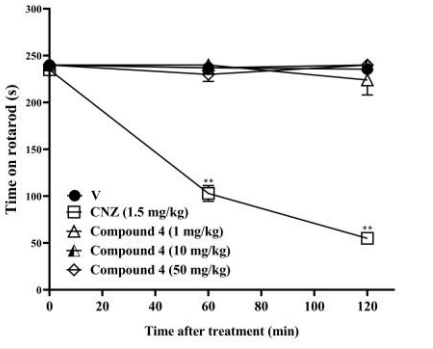


Figura 5. Efectos de 4 /1-50 mg/kg p.o) en la coordinación motora del ratón. Clonazepam **CNZ** fue utilizado como fármaco de referencia. Las barras representan las medias estándar para el grupo experimental n=8. ** representan p<0.05 comparado con el grupo vehículo (V).

Estudios de acoplamiento molecular "*docking*"

La estructura del receptor 5-HT_{2A} presenta dos cavidades importantes: la primera es una hendidura del tipo hidrofóbica inferior en la parte de unión del ligando, y la segunda es la cavidad lateral extendida que se ubica entre TM4 y TM5.[18] Se realizó un estudio de acoplamiento para el compuesto **4** con el fin de examinar el modo de acción con el receptor 5-HT_{2A}, sugiriendo que **4** puede formar interacciones favorables dentro del 5-HT_{2A} (Figura 6A).

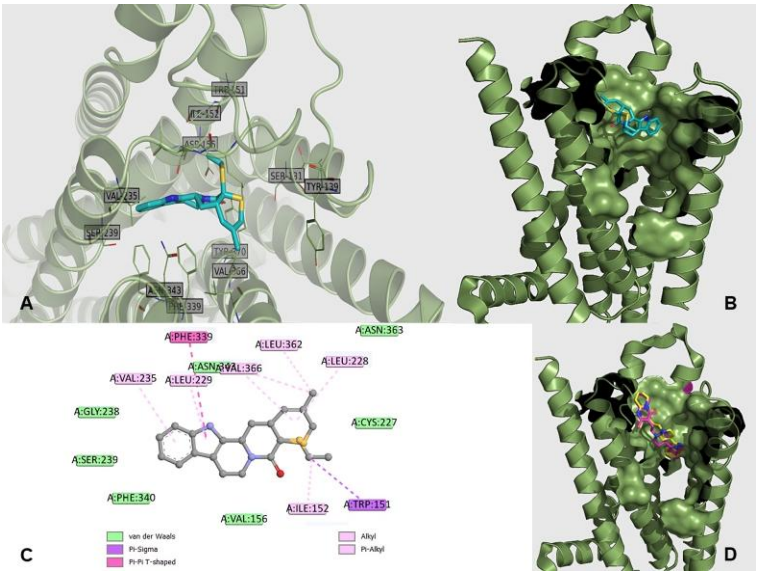


Figura 6. Estudio de acoplamiento molecular, compuesto 4 y receptor 5-HT_{2A}.

El acoplamiento de **4** se encuentra sobre la hendidura hidrofóbica inferior, cerca de la parte exterior de la unión del ligando (Figura 6B vista lateral). Por otro lado, **4** forma varias interacciones del tipo alquilo-π con Ile152, Leu228, Leu229, Val335, Leu362 y Val366; una interacción $\pi-\pi$ con Phe339 y una interacción $\pi-\sigma$ con Trp151 (Figura 6C). La información farmacológica in vivo fue corroborada por el estudio de acoplamiento, que mostró que el compuesto 4 puede formar interacciones favorables dentro del receptor 5-$HT2_A$.

Discusión

El compuesto **4** se preparó acorde la metodología descrita por nuestro grupo de investigación, esto mediante una secuencia en cascada organocatalítica, realizándola a menor escala, dando como resultado que, con esta modificación, la relación diastereomérica (1:1.5) y el rendimiento mejoraron considerablemente.[4]

La prueba de comportamiento de suspensión de cola fue la utilizada para evaluar el efecto antidepresivo y la de tablero con agujeros adicional con el cilindro exploratorio, se emplearon para medir los efectos similares a la ansiedad. En la suspensión de cola, los ratones mostraron un comportamiento relacionas con la "desesperanza", reflejado en la inmovilidad, debido a la situación ineludible de encontrarse suspendidos.[11] El efecto antidepresivo de **4** fue el mismo para las diferentes dosis evaluadas (1, 10 y 50 mg/kg) y menor que la de la fluoxetina **FLX** (20 mg/kg), por lo que se demuestra la baja efectividad.

La prueba de tablero con agujeros provoca un comportamiento similar a la ansiedad en ratones cuando exploran un entorno desconocido, con esta prueba, se evalúan el número de inmersiones de la cabeza en los orificios.[13] Un mayor número de inmersiones de cabeza refleja un efecto ansiolítico, mientras que un numero bajo de inmersiones indica una actividad ansiogénica. Con base en esto, **4** a dosis de 10 y 50 mg/kg mostró efectos ansiolíticos en comparación con el clonazepam CNZ a 1.5 mg/kg. (**CNZ**, pertenece a la familia de las benzodiacepinas y es un agonista del receptor $GABA_A$ con actividad serotoninérgica que aumenta la síntesis de serotonina.[9]

La prueba del cilindro exploratorio consiste en colocar al roedor en un entorno desconocido que induce el efecto ansiogénico reflejado en el numero de levantamientos que el ratón hace sobre sus patas traseras, una reducción en el número de elevaciones el efecto es ansiolítico, mientras que el

aumento de elevaciones indica actividad ansiogénica.[14] El compuesto **4** mostró actividades ansiolíticas en ambos modelos in vivo.

La prueba del cilindro rotatorio evalúa la coordinación motora y el equilibrio en roedores.[15] Cuando el cilindro gira, los ratones que no tienen efectos en el sistema nervioso central debido al consumo de fármacos deben avanzar, el compuesto **4** no afectó a la actividad motora de los ratones.
La serotonina es un neurotransmisor que regula estados emocionales y el sueño, también regula los comportamientos de ansiedad en humanos y roedores y una falta del receptor 5-HT_{2A} conduce a niveles elevados de ansiedad.[20]

El mecanismo de la actividad ansiolítica de **4** se determinó utilizando agonistas del receptor $GABA_A$ (2mg/kg de flumazenil) y 5-HT_{2A} (1mg/kg de ketanserina). Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que **4** podría ejercer sus efectos ansiolíticos a través de la participación del sistema serotoninérgico, mientras que los receptores 5-HT2A se expresan principalmente en la sección del neocórtex (corteza prefrontal, parietal y somatosensorial) y del tubérculo olfativo.

El receptor 5-HT_{2A} modula la respuesta conductual a eventos de novedad o amenaza, las cuales están involucradas en estados de ansiedad.[19] Esta información fue corroborada por el estudio de acoplamiento molecular, donde se mostró que **4** presenta varias interacciones π–p e interacciones π–σ en el receptor 5-HT_{2A}.

CONCLUSIONES

Se logró la síntesis enantioselectiva de derivados de alcaloides con esqueletos base de carbolinas y fragmentos sustituidos con azufre, con buenos rendimientos y excelentes excesos enantioméricos. Los efectos ansiolíticos de este derivado están mediados por la posible participación del sistema serotoninérgico, demostrado por medio de un estudio docking y del uso de inhibidores de la neurotransmisión.

El presente proyecto promueve a seguir realizando estudios sobre la relación estructura-actividad y al desarrollo de nuevas metodologías para la síntesis enantioselectiva de esta clase de estructuras.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (WHO). Depressive disorder (depression). Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression/?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA0PuuBhBsEiwAS7fsNTGmMmrluKz7vLW7zswd5xRVoO429nelt8gq7xVB6N-5UnCT78DzOBoCBsUQAvD_BwE
2. World Health Organization (WHO). Mental disorders. Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders/?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA0PuuBhBsEiwAS7fsNfssn9C-NPTMHCNFVe6gvL1Fl4YJEU8F6YOUJqLF6QRwMYJp7FJYfxoCFpkQAvD_BwE
3. T. J Pawar, E .E, Maqueda-Cabrera, A. J. Alonso-Castro, J. L. Olivares-Romero, D. C. Cruz, C. V Gómez, “Enantioselective synthesis of tetrahydrocarbazoles via trienamine catalysis and their anxiolytic-like activity”, Bioorg. Med. Chem. Lett., Vol. 30, 2020, pp.127063.
4. C. E. Castillo-Espinoza, T. J. Pawar, A. J. Alonso-Castro, J. L. Olivares-Romero, M. A. Vázquez, D. C. Cruz, C. V. Gómez, “First enantioselective synthesis of tetrahydrochromeno[2,3-b]carbazolyl-acetaldehyde via trienamine catalysis and its biological activity”, Chem. Heterocycl. Compd., Vol. 58, 2022, pp. 358-362.
5. S. B. Mitkari, A. Medina-Ortíz, J. L. Olivares-Romero, M. Vázquez-Guevara, C. V Gómez, D. C. Cruz, “Organocatalytic cascade reactions for the diversification of thiopyrano-piperidone fused rings utilizing trienamine activation”, Chem. Eur. J., Vol. 27, 2021, pp. 618-621.
6. O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, “OLEX2: A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program”, J. Appl. Cryst., Vol. *42*, 2009, pp. 339-341.

7. G. M. Sheldrick, “SHELXT-Integrated Space-Group and Crystal-Structure Determination”, Acta Cryst., Vol. A71, 2015, pp. 3-8.
8. G. M. Sheldrick, “Crystal Structure Refinement with SHELXL”, Acta Cryst., Vol. C71, 2015, pp. 3-8.
9. G. Battistuzzi, S. Cachi, G. Fabrizi, “An efficient palladium-catalyzed synthesis of cinnamaldehydes from acrolein diethyl acetl and aryl iodides and bromides”, Org. Lett., Vol. 5, 2003, pp. 777-780.
10. A. Bilkei-Gorzo, I. Racz, K. Michael, A. Zimmer, “Diminished anxiety-and depression-related behaviors in mice with selective deletion of the *Tac1* gene”, J. Neurosci., Vol. 22, 2002, pp. 10046-10052.
11. Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD. 2002. Up-and-down-procedure: acute oral toxicity guideline No. 425. OECD guidelines for testing of chemicals. Paris, France.
12. C. Castagné, P. Moser, S. Roux, R. D. Porsolt, “Rodent models of depression: Forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice”, Curr. Protoc. Neurosci, Vol. 5, 2011, pp. 8.10A.1–8.10A.14.
13. S. E. File, A. G. Wardill, “Validity of head-dipping as a measure of exploration in modified hole-board”, Psychopharmacol., Vol. 44, 1975, pp. 53-59.
14. M. Ugalde, V. Reza, M. E. Gonzalez-Trujano, B, Avula, I. A. Khan, A. Navarrete, “Isobolographic analysis of the sedative interaction between six central nervous system depressant drugs and Valeriana edulis hydroalcoholic extract in mice”, J. Pharm. Pharmacol., Vol. 57, 2005, pp. 631–640.
15. J. R. Jacobs, M. R. Carey, “Move Over Rotarod, Here Comes RotaWheel”, Neurosci., Vol. 466, 2021, pp. 258-259.
16. O. Trott, A. J. Olson, “AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading”, J. Comput. Chem., Vol. 31 2010, pp. 455–461.
17. J. Eberhardt, D. Santos-Martins, A. F. Tillack, S. Forli, “AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings” J. Chem. Inf. Model., Vol. 61, 2021, pp. 3891–3898.
18. K. T. Kimura, H. Asada, A. Inoue, A, F. M. N. Kadji, D. Im, C. Mori, T. Arakawa, K. Hirata, Y. Nomura, N. Nomura, J. Aoki, S. Iwata, S. Shimamura, “Structures of the 5-HT_{2A} receptor in complex with the antipsychotics risperidone and zotepine”, Nat. Struct. Mol. Biol., Vol. 26, 2019, pp. 121–128.
19. H. Basit, C. I. Kahwaji, “Clonazepam. In: StarPearls”, StarPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2022. PMID:32310470
20. N. V. Weisstaub, M. Zhou, A. Lira, E. Lambe, J. González-Maeso, J. P. Hornung, E. Sibille, M. Underwood, S. Itohara, W. T. Dauer, M. S. Ansorge, E, Morelli, J. J. Mann, M. Toth, G. Aghajanian, S. C. Sealfon, R. Hen, J. A. Gingrich, “Cortical 5-HT_{2A} receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice”, Science, Vol. 313, 2006, pp. 536–540.
21. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th ed.; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2011.

OBTENCIÓN DE HYDROCHAR UTILIZANDO POLIÉSTER COMO MATERIA PRIMA

Brenda Sofia Morales Verdin[1], Oscar Manuel Rodríguez Narváez[1], Alain Salvador Conejo Dávila[2]

[1]Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), Calle Omega 201, Industrial Delta, León Gto., México, [2]MicroPrime S RL de CV, El colorado, 76246 Santiago de Querétaro, Qro.

Bmorales.estudiantepicyt@ciatec.mx

RESUMEN

Los microplásticos (MPs) representan un serio problema ambiental por su presencia persistente en sistemas acuáticos y su resistencia a los métodos convencionales de tratamiento de agua. Una alternativa prometedora es la carbonización hidrotermal (HTC), que convierte los MPs en materiales carbonosos. En este estudio se aplicó HTC al poliéster (PES) a 200°C durante 24 horas, variando las dosis de PES (40, 80 y 120 g L^{-1}) y el tipo/concentración de ácido (sulfúrico y nítrico, 0.0 a 0.2 M). Se evaluó la capacidad de los hydrochar (HC) sintetizados para adsorber el tinte Reactive Orange 84. Los HC preparados en agua mostraron baja eficacia, mientras que los generados en medio ácido demostraron una mayor capacidad de adsorción, atribuida a la incorporación de grupos funcionales y mayor actividad superficial.

INTRODUCCIÓN

Los microplásticos (MPs) se han consolidado como uno de los contaminantes emergentes más persistentes y problemáticos en ambientes acuáticos y terrestres. Estos materiales, con tamaños inferiores a los 5 mm, provienen de la fragmentación de plásticos más grandes o son generados directamente como partículas pequeñas, como es el caso de las microfibras textiles. Una vez en el ambiente, los MPs presentan una alta resistencia a la biodegradación, lo cual les permite acumularse en cuerpos de agua, suelos y organismos vivos, generando efectos adversos en la fauna, flora y potencialmente en la salud humana, al entrar en la cadena alimenticia.

Uno de los grandes desafíos que enfrentan las plantas de tratamiento de aguas residuales es la baja eficiencia en la remoción de estos contaminantes debido a su tamaño diminuto, densidad variable y propiedades hidrofóbicas. Si bien se han desarrollado tecnologías avanzadas para separar MPs, como la coagulación-floculación, la flotación por aire disuelto o la filtración por membranas, estas soluciones tienden a concentrar los MPs sin resolver el problema de su eliminación definitiva. En consecuencia, existe un interés creciente en transformar estos residuos mediante procesos termoquímicos que permitan su valorización, convirtiéndolos en materiales útiles en lugar de simples desechos.

Una de las rutas más prometedoras en este contexto es la carbonización hidrotermal (HTC), un proceso que, bajo condiciones subcríticas (180–250°C) y presión autógena, permite la conversión de compuestos orgánicos en un material carbonoso denominado hydrochar (HC). Esta tecnología ha sido utilizada exitosamente con residuos orgánicos, biomasa y recientemente con polímeros sintéticos. El hydrochar resultante puede modificarse químicamente durante su síntesis para mejorar sus propiedades superficiales y funcionales, ampliando así su aplicación como adsorbente de contaminantes orgánicos e inorgánicos en soluciones acuosas.

Este estudio se enfoca en aprovechar fibras de poliéster (PES), un microplástico común derivado de textiles sintéticos, como materia prima para la producción de hydrochar. Se investiga cómo la variación del tipo de ácido (H_2SO_4 o HNO_3) y su concentración afectan las características del HC sintetizado, así como su capacidad para adsorber el tinte Reactive Orange 84 (RO84), una molécula orgánica representativa de contaminantes persistentes en aguas residuales.

TEORÍA

La carbonización hidrotermal (HTC) es un proceso de transformación termoquímica que simula condiciones naturales de formación del carbón pero en escalas temporales mucho más cortas. Bajo temperaturas entre 180 y 250°C y en presencia de agua como medio de reacción, las moléculas orgánicas sufren una serie de reacciones, como hidrólisis, deshidratación, decarboxilación, aromatización y condensación, dando lugar a un producto sólido rico en carbono denominado hydrochar (HC). A diferencia del biochar (producto de la pirólisis seca), el HC tiene características que pueden ser sintonizadas mediante el control del medio químico de síntesis, como la acidez, la temperatura, el tiempo de residencia y la concentración del precursor.

En el caso de microplásticos como el poliéster, este proceso puede inducir una ruptura controlada de los enlaces ésteres en su estructura, generando grupos funcionales como –OH, –COOH, y en presencia de ciertos reactivos, incluso grupos sulfonados (–SO_3H) o nitro (–NO_2). Estos grupos incrementan la polaridad superficial del HC y su afinidad con contaminantes aniónicos, como ciertos colorantes sintéticos, metales pesados o pesticidas. Además, el proceso de HTC también puede modificar la porosidad del material, creando estructuras más accesibles para las moléculas que se desean remover del agua.

Los ácidos utilizados como medio de reacción cumplen un papel dual: actúan como catalizadores que favorecen la hidrólisis y oxidación del polímero, y al mismo tiempo, como agentes funcionalizantes que introducen grupos activos específicos en la superficie del hydrochar. El ácido sulfúrico (H_2SO_4), por su carácter fuerte y deshidratante, tiende a inducir reacciones más agresivas, promoviendo una mayor degradación de la matriz polimérica, mientras que el ácido nítrico (HNO_3), con propiedades oxidantes moderadas, genera modificaciones más selectivas y controladas. Estas diferencias se traducen en un comportamiento adsorbente distinto, lo cual es esencial para su aplicación en el tratamiento de aguas contaminadas.

La eficacia del HC como adsorbente depende entonces de su composición elemental (relaciones H/C y O/C), la presencia de grupos funcionales específicos, la morfología superficial y su capacidad para establecer interacciones fisicoquímicas (electrostáticas, de Van der Waals o de enlace por puente de hidrógeno) con los contaminantes. Técnicas como la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) y los diagramas de Van Krevelen permiten identificar estas transformaciones y proponer mecanismos de reacción que explican el comportamiento del material.

Finalmente, la adsorción de colorantes como el RO84 puede verse influida no solo por la composición química del HC, sino también por factores experimentales como la dosis de adsorbente, el pH del medio, la concentración del contaminante y el tiempo de contacto. De ahí la importancia de un diseño experimental sistemático que permita evaluar de forma precisa el efecto de cada variable sobre la eficiencia del proceso.

PARTE EXPERIMENTAL

El poliéster (PES) utilizado como materia prima fue extraído de telas comerciales de poliéster 100%, las cuales fueron previamente lavadas y secadas para eliminar posibles impurezas superficiales o tratamientos textiles residuales. Posteriormente, el material fue triturado y tamizado para obtener fragmentos homogéneos con tamaños aproximados de 1–3 mm, facilitando su interacción con el medio ácido durante la carbonización hidrotermal.

Los ácidos utilizados fueron ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido nítrico (HNO_3), ambos adquiridos de grado analítico de la marca Jaimex. El tinte modelo Reactive Orange 84 (RO84), con fórmula molecular $C_{58}H_{30}ClN_{14}Na_8O_{26}S_8$, se obtuvo de Química-Mexifibras. Todos los reactivos se utilizaron sin purificación adicional, y el agua utilizada en los procedimientos fue desionizada.

La síntesis del hydrochar se realizó mediante carbonización hidrotermal (HTC) utilizando reactores de teflón colocados en autoclaves de acero inoxidable. Se prepararon soluciones ácidas con diferentes concentraciones molares (0.0, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 y 0.2 M) de H_2SO_4 y HNO_3. Para cada ensayo, se colocaron 50 mL de la solución ácida en el reactor, al que se añadió PES en proporciones correspondientes a tres concentraciones: 40, 80 y 120 g L^{-1}.

Una vez sellados, los reactores se introdujeron en un horno de convección y se sometieron a tratamiento térmico a 200°C durante 24 horas. Este tiempo y temperatura fueron seleccionados con base en reportes previos que demostraron condiciones efectivas para la conversión de polímeros en hydrochar sin alcanzar una carbonización completa que comprometa la estructura funcional deseada. Después del tratamiento térmico, los reactores fueron enfriados a temperatura ambiente de forma natural. El contenido fue posteriormente filtrado utilizando papel de filtro Whatman n.° 42 (15 µm) hasta alcanzar un pH neutro, asegurando la eliminación de residuos ácidos. El sólido obtenido fue secado en horno a 80°C durante 12 horas, triturado manualmente con mortero de ágata y finalmente tamizado para obtener una fracción granulométrica homogénea de aproximadamente 35 µm.

La capacidad adsorbente del hydrochar se evaluó mediante la remoción del tinte aniónico Reactive Orange 84 (RO84) en solución acuosa. Se preparó una solución stock de 100 mg L^{-1} de RO84 en agua desionizada. En frascos de vidrio de 30 mL se colocaron 25 mL de esta solución, a la cual se le adicionó una dosis conocida de HC (2, 4, 6, 8 o 10 g L^{-1}). Las muestras se agitaron a 180 rpm en un agitador orbital durante 24 horas a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) para alcanzar el equilibrio de adsorción. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 3 mL que fueron filtradas utilizando jeringas con filtros de membrana de 0.22 µm. La concentración residual del tinte fue determinada por espectrofotometría UV-Vis utilizando un espectrofotómetro Jenway modelo 6705 a una longitud de onda de 494 nm, correspondiente al máximo de absorción del RO84. Todas las pruebas se realizaron por duplicado para asegurar la reproducibilidad de los datos.

Finalmente, para evaluar los cambios estructurales y funcionales inducidos por el tratamiento ácido, se realizó espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) en los materiales tratados, utilizando un espectrofotómetro Bruker en modo ATR. Las muestras fueron analizadas en el rango de 4000–400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 64 escaneos acumulados por muestra.

Además, se calcularon las razones atómicas H/C y O/C a partir del análisis elemental CHNS-O, utilizando un analizador elemental LECO. Estos valores fueron graficados en diagramas de Van Krevelen para estudiar las posibles rutas de reacción (oxidación, deshidratación y desmetilación) sufridas por el poliéster durante la carbonización hidrotermal.

RESULTADOS

Los espectros FT-IR obtenidos para los hydrochars sintetizados bajo diferentes condiciones ácido-base revelaron transformaciones químicas significativas en la estructura del poliéster original. En particular, la disminución de la banda correspondiente al grupo carbonilo (C=O ~1710 cm^{-1}) y el aumento de la intensidad de las bandas asociadas a grupos hidroxilo (–OH ~3400 cm^{-1}) y vibraciones aromáticas (C=C ~1600 cm^{-1}) indicaron una hidrólisis parcial de los enlaces éster y una funcionalización superficial del material.

El tratamiento con H_2SO_4 favoreció reacciones de deshidratación y sulfonación, especialmente evidentes a concentraciones de 0.05 y 0.1 M, donde se observó una marcada disminución de grupos alifáticos (–CH_3 y –CH_2–) y una mayor presencia de señales en el rango 1000–1300 cm^{-1}, típicas de enlaces sulfonados o fenólicos. Por su parte, el tratamiento con HNO_3 indujo una oxidación controlada que resultó en la incorporación de grupos –NO_2 y –COOH, manteniendo la integridad estructural del polímero, como lo indican las bandas más definidas y sin desplazamiento significativo en los picos aromáticos.

Los diagramas de Van Krevelen confirmaron estos hallazgos: en materiales tratados con H_2SO_4, se observó una tendencia hacia la disminución de la relación H/C, asociada con procesos de deshidratación y demetilación, y un incremento de O/C, reflejo de la funcionalización con grupos oxigenados. En el caso de HNO_3, la relación H/C se mantuvo o incluso aumentó ligeramente,

especialmente a concentraciones medias (0.05 M), sugiriendo la formación de grupos oxigenados sin pérdida de hidrógeno, lo que indica una funcionalización más conservadora.
Por su parte, la evaluación de la capacidad adsorbente del hydrochar mostró diferencias marcadas según las condiciones de síntesis. el hc preparado únicamente en agua presentó una eficiencia de remoción limitada (máxima de 8.2% a 40 g L^{-1}), lo cual se relaciona con su baja funcionalización superficial y limitada accesibilidad a sitios activos.

En contraste, los hydrochar obtenidos mediante tratamiento ácido mostraron incrementos notables en la remoción del tinte RO84. Con H_2SO_4, se alcanzó una eficiencia máxima de 23.4% utilizando una concentración de 0.05 M y 120 g L^{-1} de PES, mientras que con HNO_3 la máxima remoción fue de 18.6% con 40 g L^{-1} de PES a la misma concentración ácida. Este comportamiento sugiere que la sinergia entre concentración moderada de ácido y carga controlada de precursor permite una funcionalización óptima sin inducir colapsos estructurales.

Se observó una relación no lineal entre la concentración del ácido y la eficiencia de adsorción: concentraciones bajas (0.0125–0.025 M) inducen modificaciones parciales que no siempre resultan suficientes, mientras que concentraciones muy altas (0.2 M) pueden ocasionar sobre oxidación o bloqueo de poros. Así, se identificó un intervalo óptimo de activación ácida entre 0.025 y 0.05 M.

La dosis de hidrochar también influyó significativamente. A mayor dosis, disminuyó la eficiencia específica de adsorción (q_e), probablemente debido a la sobresaturación superficial o a la aglomeración de partículas, lo que limita la difusión del tinte. Los mejores resultados de remoción porcentual se observaron a dosis entre 2 y 4 g L^{-1} de HC.

CONCLUSIONES

Los resultados experimentales demuestran que la carbonización hidrotermal de poliéster en presencia de medios ácidos permite obtener hydrochars con propiedades fisicoquímicas ajustables y adecuadas para la adsorción de contaminantes orgánicos como el tinte RO84. Las principales conclusiones derivadas del estudio son:

- La modificación superficial del poliéster depende fuertemente del tipo y concentración del ácido empleado. H_2SO_4 induce una transformación más agresiva y profunda, útil para generar superficies altamente activas, mientras que HNO_3 promueve una oxidación controlada que preserva parcialmente la matriz polimérica, siendo más adecuado cuando se requiere equilibrio entre funcionalización y estabilidad.

- La síntesis sin ácido no permite generar suficiente funcionalización superficial, lo que se traduce en un rendimiento muy bajo en la adsorción. La presencia de grupos funcionales introducidos por los ácidos es clave para establecer interacciones efectivas con los colorantes en solución.

- Existe una ventana óptima de concentración ácida (0.025–0.05 M) donde se logra un balance adecuado entre activación química y conservación estructural del material, permitiendo una mayor remoción del tinte sin colapsar la porosidad ni saturar de grupos funcionales inactivos.

- La dosis de hydrochar debe ser cuidadosamente ajustada. Dosis elevadas no necesariamente mejoran la remoción y pueden incluso reducir la eficiencia específica (q_e) por efectos de agregación o saturación de sitios activos. Se recomienda trabajar con dosis entre 2–4 g L^{-1} para maximizar el rendimiento por unidad de masa.

- La concentración de PES influye de manera secundaria, pero puede afectar la eficiencia del tratamiento ácido y, por tanto, la calidad del hydrochar obtenido. Dosis más bajas de PES permiten una mayor interacción reactivo–precursor, favoreciendo la funcionalización.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kraber, S. (2023). Dive into diagnostics for DOE model discrepancies. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, *39*(4), 371-374.
2. Pellegrini, J., & de Celis, J. (2024). Refinement of a kinetic adsorption model through Artificial Intelligence. *Brazilian Journal of Development*, *10*(12), e75662-e75662.
3. Zhang, Z., Wang, F., Shen, Q., Zhang, X., Li, G., Zhu, B., ... & Zhao, Q. (2024). Integrating machine learning to uncover homogeneous catalytic mechanisms in N-vinyl-pyrrolidone synthesis. *AIChE Journal*, e18724.
4. Tâmega, G. S., Costa, M. O., de Araujo Pereira, A., & Barbosa Ferreira, M. A. (2024). Data Science Guiding Analysis of Organic Reaction Mechanism and Prediction. *The Chemical Record*, *24*(12), e202400148.
5. Zhu, J., Zhang, Q. H., & Wang, W. W. (2024). Pattern Recognition of Alkaloids by Inhibiting the Catalytic Activity of Dopzymes for Dopamine. *Analytical Chemistry*, *96*(30), 12424-12432.
6. Rodríguez-Narvaez, O. M., Pandita, B., Goyal, O., Rallapalli, S., Ranasinghe, M. I., Conejo-Dávila, A. S., ... & Goonetilleke, A. (2025). Efficacy of biochar as a catalyst for a Fenton-like reaction: Experimental, statistical and mathematical modeling analysis. Journal of Water Process Engineering, 70, 107014.
7. Y. Pico, A. Alfarhan, D. Barcelo, Nano- and microplastic analysis: Focus on their occurrence in freshwater ecosystems and remediation technologies, TrAC - Trends Anal. Chem. 113 (2019) 409–425. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.022.
8. A. Zhou, Y. Zhang, S. Xie, Y. Chen, X. Li, J. Wang, J. Zou, Microplastics and their potential effects on the aquaculture systems: a critical review, Rev. Aquac. 13 (2021) 719–733. https://doi.org/10.1111/raq.12496.
9. B. Ma, W. Xue, C. Hu, H. Liu, J. Qu, L. Li, Characteristics of microplastic removal via coagulation and ultrafiltration during drinking water treatment, Chem. Eng. J. 359 (2019) 159–167. https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.155.
10. B. Ma, W. Xue, Y. Ding, C. Hu, H. Liu, J. Qu, Removal characteristics of microplastics by Fe-based coagulants during drinking water treatment, J. Environ. Sci. (China). 78 (2019) 267–275. https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.10.006.
11. D.W. Skaf, V.L. Punzi, V.L. Rolle, K.A. Kleinberg, Removal of micron-sized microplastic particles from simulated drinking water via alum coagulation, Chem. Eng. J. 386 (2020) 123807. https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123807.
12. O.M. Rodríguez-Narvaez, A. Goonetilleke, L. Perez, E.R. Bandala, Engineered technologies for the separation and degradation of microplastics in water: A review, Chem. Eng. J. 414 (2021). https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128692.
13. J. Kang, L. Zhou, X. Duan, H. Sun, Z. Ao, S. Wang, Degradation of Cosmetic Microplastics via Functionalized Carbon Nanosprings, Matter. 1 (2019) 745–758. https://doi.org/10.1016/j.matt.2019.06.004.
14. V.P. Ranjan, S. Goel, Degradation of Low-Density Polyethylene Film Exposed to UV Radiation in Four Environments, J. Hazardous, Toxic, Radioact. Waste. 23 (2019) 1–11. https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000453.
15. Z. Zhang, Z. Zhu, B. Shen, L. Liu, Insights into biochar and hydrochar production and applications: A review, energy. 171 (2019) 581–598. https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.01.035.
16. D. Mohan, A. Sarswat, Y.S. Ok, C.U. Pittman, Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent - A critical review, Bioresour. Technol. 160 (2014) 191–202. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.120.
17. T. Wang, Y. Zhai, Y. Zhu, C. Li, G. Zeng, A review of the hydrothermal carbonization of biomass waste for hydrochar formation: Process conditions, fundamentals, and physicochemical properties, Renew. Sustain. Energy Rev. 90 (2018) 223–247. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.071.
18. J.T. Petrović, M.D. Stojanović, J. V. Milojković, M.S. Petrović, T.D. Šoštarić, M.D. Laušević, M.L. Mihajlović, Alkali modified hydrochar of grape pomace as a perspective adsorbent of

Pb2+ from aqueous solution, J. Environ. Manage. 182 (2016) 292–300. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.081.
19. J. Deng, X. Li, X. Wei, Y. Liu, J. Liang, N. Tang, B. Song, X. Chen, X. Cheng, Sulfamic acid modified hydrochar derived from sawdust for removal of benzotriazole and Cu(II) from aqueous solution: Adsorption behavior and mechanism, Bioresour. Technol. 290 (2019) 121765. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121765.

EFECTO DE LA INGESTA DE *Hibiscus Sabdariffa* SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE MALONDEALDEHÍDO EN RATAS WISTAR Y SU PROGENIE

Yelin Tobanche Mireles, Marisol Galván Valencia, Blanca Patricia Lazalde Ramos

Maestría en Ciencias Biomédicas. Unidad Académica de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, México.
blancalazalde@gmail.com, yelintomi@gmail.com

RESUMEN

Hibiscus sabdariffa (*Hs*) es una planta utilizada mundialmente en la industria alimentaria, cosmética y médica. Su potencial antioxidante está relacionado con su alto contenido de flavonoides, sin embargo, recientemente se ha demostrado que los flavonoides administrados a altas dosis pueden actuar como prooxidantes. Con base en lo anterior, en el presente estudio se cuantificó la concentración de malondealdehído (MDA) en ratas Wistar expuestas a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de *Hibiscus sabdariffa* (EH*Hs*) así como en su progenie. Se estudiaron 25 ratas Wistar de 3 meses de edad las cuales se dividieron en cinco grupos, los grupos del 1-3 fueron administrados con el EH*Hs* a las dosis de 500, 1000 y 2000 mg/Kg respectivamente, el grupo 4 recibió H_2O tridestilada a una proporción de 1mL/10g de peso, y el grupo 5 fue administrado con Ciclofosfamida (CPA) a una dosis de 30 mg/Kg. Todas las administraciones fueron vía oral con cánula esofágica durante los últimos 5 días de la gestación para los grupos 1-4. El grupo 5 sólo se administró en el día 19 y 20 de la gestación. Los animales fueron sacrificados el día del parto, así como seis de sus neonatos, se recolectaron muestras de los diferentes órganos para su posterior análisis. En las madres gestantes EH*Hs* mostro un efecto prooxidante a las dosis de 500 y 2000 mg/Kg a nivel renal y hepático y a nivel sérico un efecto antioxidante. En los neonatos de madres expuestas a las dosis de 500 y 2000 mg/Kg de igual manera se observó un efecto prooxidante a nivel hepático, renal, cerebral y muscular. La dosis de 1000 mg/Kg no presento efecto sobre los niveles de MDA en los diferentes órganos con relación al control. Estos resultados señalan que el EH*Hs*, en función de la dosis, puede presentar efectos prooxidantes, afectando tanto a las madres gestantes como a la progenie por lo cual se deben establecer parámetros de seguridad para su consumo durante la gestación.

INTRODUCCIÓN

Hibiscus sabdariffa (Hs), también conocida como “Jamaica” “Hibisco” o “roselle”, es una planta que crece principalmente en regiones tropicales y subtropicales, en México, el principal productor es el estado de Guerrero. La planta está conformada por un tallo el cual puede ser verde o rojo y sus calices, los cuales conforman sus frutos (SADER. 2016). A lo largo de la historia, ha sido explotada tanto en la industria cosmética, alimenticia, botánica y medicinal, siendo esta ultima la de mayor impacto. Sus propiedades terapéuticas reportadas incluyen, efecto antioxidante, antihipertensivo, antiinflamatorio, hipoglucemiante, antilipidémico y reductor de la obesidad, todos estos, han sido asociados a los diversos compuestos bioactivos presentes en la planta (Abdelmonem M., *et al*. 2022; Ellis L., *et al*., 2022; Olasehinde TA., 2023; Dilokthornsakul P., *et al*. 2024). Se ha establecido que dentro de los compuestos bioactivos de *Hs* se encuentran flavonoides, ácidos orgánicos, antocianinas, glucósidos y fibra (Izquierdo-Vega, J. A*., et al*. 2020).

Los flavonoides son compuestos sintetizados por una gran variedad de plantas a partir de fenilalanina y malonil-CoA para protegerse de factores externos (Hernández Guiance, SN., *et al*., 2019), además, se ha demostrado que poseen propiedades bioactivas importantes en el organismo humano, como hepatoprotector, antiinflamatorio, quimiopreventivo y antioxidante, siendo este último, uno de los efectos mayormente estudiados (Hamsalakshmi, A., *et al.,* 2022; Kandaswami, C., *et al*. 2005). Es por esto que, en los últimos años, el interés por su consumo ha ido en aumento. Del mismo modo, se ha demostrado el doble papel que juegan los flavonoides como antioxidantes y prooxidantes en estudios *in vitro.* El flavonoide quercetina, presente en *Hs*, ha demostrado en

estudios *in vitro* un efecto antioxidante a dosis bajas y prooxidante a dosis altas (Yen et al., 2003; Wilms, L. C., *et al.,* 2008*).* Sin embargo, no se encontraron estudios *in vivo* en los cuales se haya evaluado el efecto dual de los flavonoides presentes en *Hs*
Aunado a esto, se ha reportado que la exposición intrauterina a extractos de *Hs* ocasionó aumentos en el peso y el índice de masa corporal (IMC) de las crías, además de retrasos en el inicio de la pubertad (Iyare, E., *et al* 2008; de Arruda, A., *et al*. 2016), sin embargo, no existen estudios en los cuales se evalúe el efecto de la administración de *Hs* sobre el estrés oxidativo en neonatos expuestos.

Es por ello que en este estudio se determinó el efecto de la ingesta del extracto hidroalcohólico de *Hibiscus sabdariffa* (EH*Hs*) sobre los niveles de Malondealdehído (MDA) durante la gestación, así como en su progenie en los diferentes órganos.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención del EH*Hs*

Los cálices secos y pulverizados de *Hs* se maceraron con agitación mecánica durante 24 con una mezcla de etanol, agua destilada y ácido acético en una proporción 20%, 79.3% y 0.7% respectivamente en una proporción 1:4 p/v. La suspensión de la muestra se burbujeó con nitrógeno gaseoso para evacuar el oxígeno. Se realizaron 3 extracciones de la materia vegetal cada 24h. El sobrenadante se filtró y almacenó en refrigeración protegido de la luz. El macerado fue concentrado mediante un evaporador rotatorio a baja presión. El concentrado se congeló a -20ºC y se liofilizo. El liofilizado se almaceno en un recipiente hermético a -20°C y protegido de la luz hasta su uso.

Población de estudio

Se evaluaron 25 ratas Wistar hembras de 3 meses de edad las cuales fueron divididas en 5 grupos de 5 animales. Las ratas fueron apareadas con ratas macho, confirmando el inicio de la gestación (día cero) mediante la presencia de espermatozoides o tapón vaginal. Se calendarizó el periodo de gestación y se programó la administración de las dosis correspondientes dependiendo del grupo asignado (tabla 1).

Tabla 1. Grupos de experimentación

Grupo	Tratamiento	Dosis	Vía de administración	Tiempo de administración	
1	EH*Hs*	2,000 mg/Kg.	Oral	5 día	Cada 24 horas. Del día 16 al 20 de gestación
2		1,000 mg/Kg.		5 día	
3		500 mg/Kg.		5 día	
4	H_2O tridestilada *(Control negativo)*	0.1 mL/10 g de peso.		5 día	
5	Ciclofosfamida *(Control positivo)*	30 mg/Kg		2 días	Dia 19 y 20 de la gestación

Se utilizó ciclofosfamida como control positivo y H_2O tridestilada como control negativo. Las administraciones fueron hechas con cánula esofágica.

El proyecto contó con el aval del Comité de Ética en Investigación de la Unidad Académica de Enfermería de la Universidad Autónoma de Zacatecas con número de registro: **CI-UAE-02-2024**. Los animales se manejaron y sacrificaron con base en lo establecido en las normas mexicanas NOM-062-ZOO-1999, NOM-033-SAG/ZOO-2014, NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Cuantificación de MDA

La cuantificación los niveles de MDA en hígado, riñón de las ratas gestantes e hígado, riñón, musculo y cerebro de los neonatos mediante el método modificado de Uchiyama y Mihara (1978).

Se realizó un homogenizado al 10% de los tejidos con KCl al 1.15%. Se tomó 0.5mL del homogenizado y se le adicionó 3mL de H_3PO_4 al 1% más 0.3mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0.6%. La mezcla se puso en baño maría a ebullición durante 45 minutos, pasado el tiempo se dejó enfriar y se les agregó 3mL de 1-butanol, posteriormente la mezcla se agitó durante 20 minutos por inversión y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. La fase orgánica se leyó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 534nm. Para la cuantificación de la concentración se realizó una curva de calibración con MDA (1, 1, 3,3-tetramethoxypropane) *(Uchiyama et al., 1978).*

RESULTADOS

Niveles de MDA en las ratas gestantes

Los resultados obtenidos de los niveles de MDA en las ratas gestantes en los diferentes tejidos evaluados, se muestran en la figura 1.

A nivel sérico, los animales administrados con CP y la dosis de 1,000 mg/Kg fueron los que presentaron los niveles más elevados de MDA. La dosis de 1,000 mg/Kg del EH*Hs* mostro niveles de MDA estadísticamente mayores con relación a las dosis de 500 (p=0.0252) y 2000 mg/Kg (p =0.0376). La dosis de 500 y 2000 mg/Kg del EH*Hs* presentaron un efecto antioxidante al mostrar valores de MDA sérico menores al control negativo (H_2O).

A nivel renal y hepático se observaron comportamientos similares de las medianas de MDA entre los grupos. Las dosis de 500 y 2000 mg/Kg del EH*Hs* mostraron un efecto prooxidante en relación al control negativo (H_2O), siendo significativa esta diferencia solamente entre la dosis de 2000mg/Kg del EH*Hs* y el control a nivel renal (p=0.049). El grupo administrado con CP mostro los niveles más bajos de MDA a nivel renal y hepático, siendo estadísticamente significativo en relación a la dosis de 2000 mg/Kg del EH*Hs* a nivel renal y hepático (p= 0.0018 y 0.021 respetivamente)

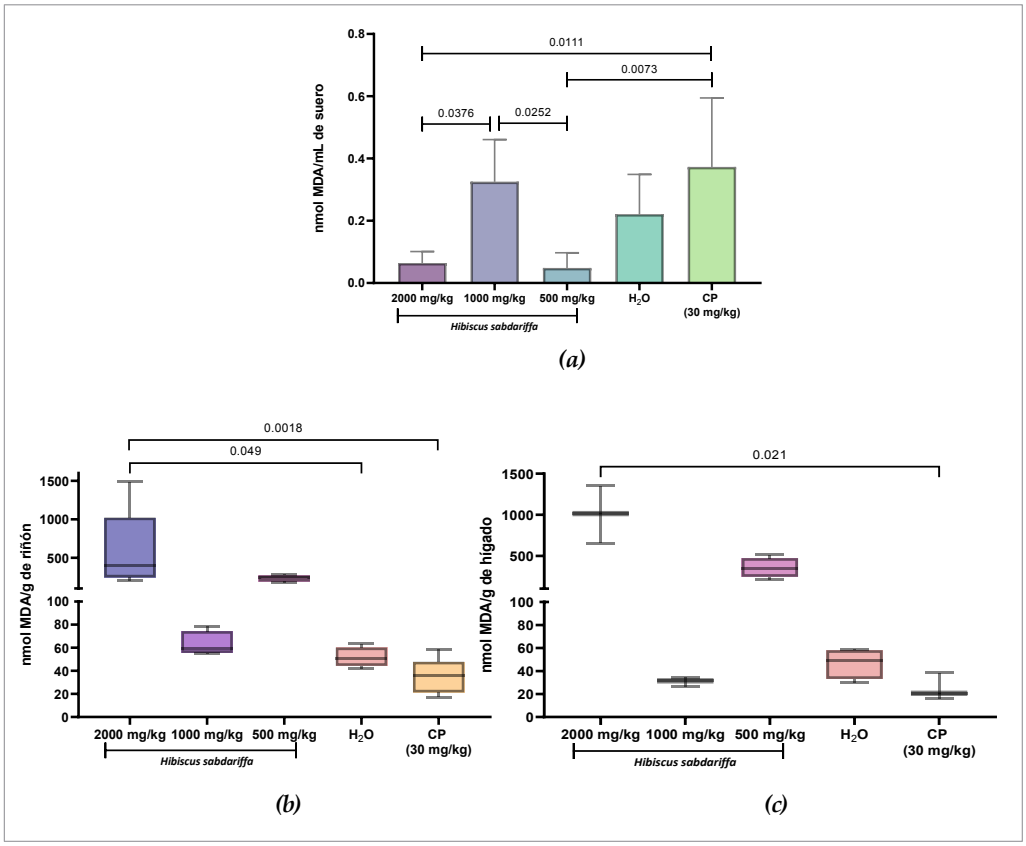


Figura 1. Niveles de MDA en ratas gestantes a nivel sérico, renal y hepático. Los resultados se muestran como promedio ± desviación estándar y mediana con máximos y mínimos. Los análisis se

realizaron mediante las pruebas de ANOVA de una vía con el post-hoc de Tukey y mediante Kruskal-Wallis con un post-hoc de Dunn. Se consideró estadísticamente significativo cuando p≤0.05. H_2O: Agua; CP: Ciclofosfamida; MDA: Malondealdehído; nmol: nanomol; g: gramos; mL: mililitros.

Niveles de MDA en neonatos

Los niveles de MDA a nivel hepático, renal, cerebral y muscular de los neonatos de las madres expuestas a las diferentes dosis de EH*Hs,* CP y agua muestran un comportamiento muy similar (figura 2). Las dosis de 500 y 2000 mg/Kg del EH*Hs* presentaron un efecto prooxidante al observarse concentraciones más elevadas de MDA con relación al grupo control (H_2O), siendo este incremento estadísticamente significativo solamente a las dosis de 2000 mg/kg en cerebro (p=0.0034). La dosis de 1000 mg/Kg del EHHs mostro niveles de MDA similares a los del grupo control en los diferentes órganos evaluados. El grupo expuesto a CP mostro niveles más elevados de MDA en los diferentes órganos con relación al grupo control, no siendo significativo este incremento.

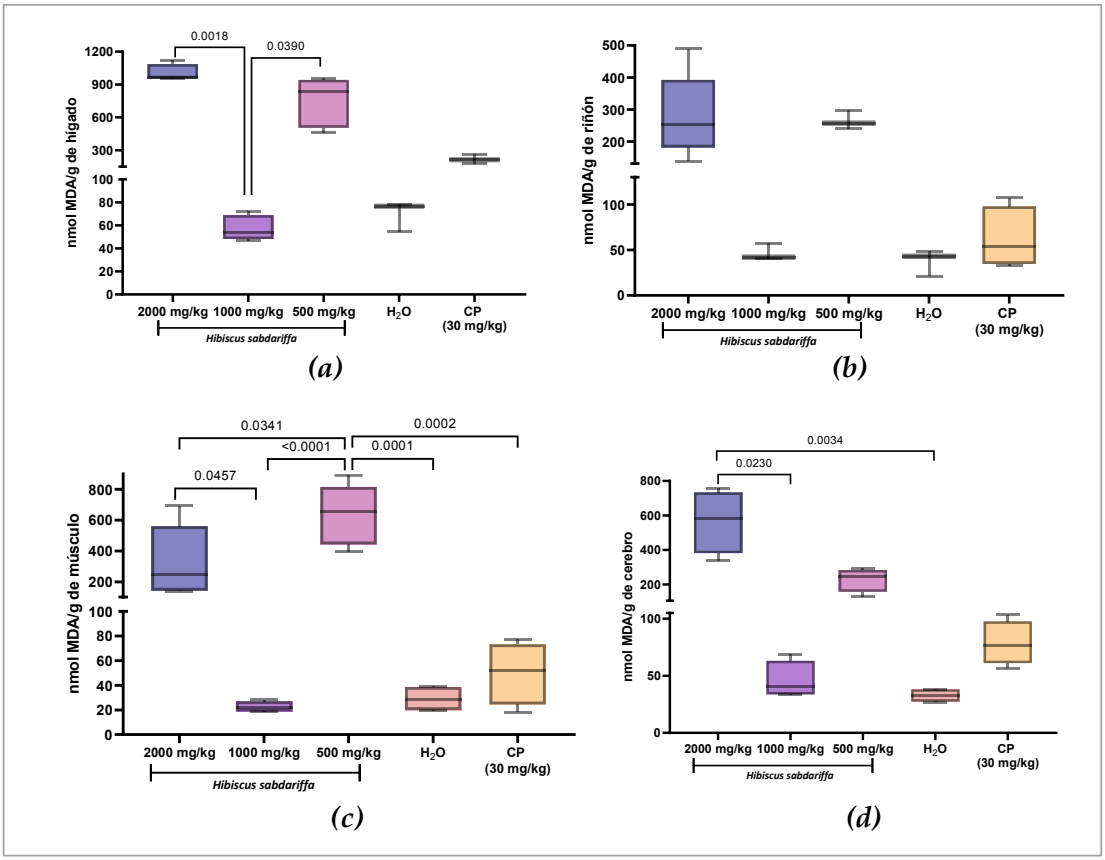


Figura 2. Niveles de MDA en la progenie de ratas expuestas a EHHs. Los resultados se muestran como mediana con máximos y mínimos. Los análisis se realizaron mediante la prueba no paramétrica de hipótesis para muestras múltiples Kruskal-Wallis con un post hoc de Dunn. Se considero estadísticamente significativo cuando p ≤0.05. H20: agua; CP: ciclofosfamida; MDA: malondealdehído; nmol: nanomol; g: gramos; mL: mililitros.

CONCLUSIONES

El EH*Hs* a la dosis de 500 y 2000 mg/Kg presentó un efecto prooxidante a nivel hepático y renal en ratas gestantes y a nivel renal, muscular, hepático y cerebral en los neonatos de las madres expuestas y un efecto antioxidante a nivel sérico en las madres gestantes. Evidenciándose el comportamiento dual, actuando tanto como antioxidante y prooxidante dependiendo del órgano evaluado. Es necesario destacar la importancia de conducir investigaciones futuras que continúen

evaluando el doble comportamiento de los flavonoides en modelos *in vivo* o ensayos clínicos, todo esto con el fin de garantizar su inocuidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdelmonem, M., Ebada, M. A., Diab, S., Ahmed, M. M., Zaazouee, M. S., Essa, T. M., ElBaz, Z. S., Ghaith, H. S., Abdella, W. S., Ebada, M., & Negida, A. (2022). Efficacy of Hibiscus sabdariffa on Reducing Blood Pressure in Patients With Mild-to-Moderate Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis of Published Randomized Controlled Trials. Journal of cardiovascular pharmacology, 79(1), e64–e74. https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000001161
2. Almajid, A., Bazroon, A., AlAhmed, A., & Bakhurji, O. (2023). Exploring the Health Benefits and Therapeutic Potential of Roselle (Hibiscus sabdariffa) in Human Studies: A Comprehensive Review. Cureus, 15(11), e49309. https://doi.org/10.7759/cureus.49309.
3. de Arruda, A., Cardoso, C. A., Vieira, M.doC., & Arena, A. C. (2016). Safety assessment of Hibiscus sabdariffa after maternal exposure on male reproductive parameters in rats. Drug and chemical toxicology, 39(1), 22–27. https://doi.org/10.3109/01480545.2014.1003938
4. Dilokthornsakul, P., Rattanachaisit, N., Thimkorn, P., Pongpattanawut, S., Dilokthornsakul, W., & Dhippayom, T. (2024). Clinical effects of Hibiscus sabdariffa Linn. on obesity treatment: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Complementary therapies in medicine, 84, 103063. https://doi.org/10.1016/j.ctim.2024.103063
5. Eghbaliferiz, S., & Iranshahi, M. (2016). Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. Phytotherapy research: PTR, 30(9), 1379–1391. https://doi.org/10.1002/ptr.5643.
6. Ellis, L. R., Zulfiqar, S., Holmes, M., Marshall, L., Dye, L., & Boesch, C. (2022). A systematic review and meta-analysis of the effects of Hibiscus sabdariffa on blood pressure and cardiometabolic markers. Nutrition reviews, 80(6), 1723–1737. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab104
7. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Jan 15;482(3):419-425. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086. Epub 2017 Feb 3. PMID: 28212725; PMCID: PMC5319403.
8. Ghazala Riaz, Rajni Chopra, A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L., Biomedicine & Pharmacotherapy, Volume 102, 2018, Pages 575-586, ISSN 0753-3322, https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023.
9. Hamsalakshmi, Alex, A. M., Arehally Marappa, M., Joghee, S., & Chidambaram, S. B. (2022). Therapeutic benefits of flavonoids against neuroinflammation: a systematic review. Inflammopharmacology, 30(1), 111–136. https://doi.org/10.1007/s10787-021-00895-8
10. Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of nutritional biochemistry, 13(10), 572-584.
11. Hernández Guiance, S. N., Marino, L., Isern, D. M., Coria, I. D., & Irurzun, I. M. (2019). Flavonoides: aplicaciones medicinales e industriales. Invenio, 22.
12. Iyare, E. E., & Adegoke, O. A. (2008). Mechanism of the delayed puberty onset in offspring of rats that consumed aqueous extract of Hibiscus sabdariffa during pregnancy. Nigerian journal of physiological sciences: official publication of the Physiological Society of Nigeria, 23(1-2), 71–77. https://doi.org/10.4314/njps.v23i1-2.54929
13. Izquierdo-Vega, J. A., Arteaga-Badillo, D. A., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J. A., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar, E., & Madrigal-Santillán, E. (2020). Organic Acids from Roselle (Hibiscus sabdariffa L.)-A Brief Review of Its Pharmacological Effects. Biomedicines, 8(5), 100. https://doi.org/10.3390/biomedicines8050100
14. Kandaswami, C., Lee, L. T., Lee, P. P., Hwang, J. J., Ke, F. C., Huang, Y. T., & Lee, M. T. (2005). The antitumor activities of flavonoids. In vivo (Athens, Greece), 19(5), 895–909.

15. Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American journal of clinical nutrition, 74(4), 418-425.
16. OECD (2016), Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264264861-en.
17. Olasehinde, T. A., Ekundayo, T. C., Okaiyeto, K., & Olaniran, A. O. (2023). Hibiscus sabdariffa (Roselle) calyx: a systematic and meta-analytic review of memory-enhancing, anti-neuroinflammatory and antioxidative activities. Inflammopharmacology, 31(1), 231–240. https://doi.org/10.1007/s10787-022-01101-z
18. Secretaria de Agricultura y desarrollo Rural (SADER), (2016). “Conoce mas sobre la flor de Jamaica”. Tomado de: https://www.gob.mx/agricultura/articulos/conoce-mas-sobre-la-flor-de-jamaica.
19. Wilms, L. C., Kleinjans, J. C., Moonen, E. J., & Briedé, J. J. (2008). Discriminative protection against hydroxyl and superoxide anion radicals by quercetin in human leucocytes in vitro. Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA, 22(2), 301–307. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.09.002

CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DEL RÍO BITZAL, TABASCO: ANÁLISIS COMPARATIVO DE 2018 Y 2024

Noemi Monserrato Goñi Vera[1], Hermicenda Pérez Vidal[2], María Antonia Lunagómez Rocha[3], Ciro Eliseo Márquez Herrera[4]

[1,2,3]División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. [4]Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

232A28002@alumno.ujat.mx

RESUMEN

La contaminación por metales pesados en sistemas acuáticos representa un problema significativo debido a sus efectos en la salud humana y la biodiversidad. En México, específicamente en el estado de Tabasco, en 2018 se presentó una contingencia entre mayo y octubre que cobró la vida de 48 especímenes de manatí del Caribe (*Trichechus manatus*), especie catalogada en peligro de extinción de acuerdo según la NOM-059-SEMARNAT-2010[1], siendo más del 50% el número de cuerpos muertos encontrados en el Rio Bitzal localizado en el municipio de Macuspana. El objetivo de este estudio fue analizar las muestras de sedimentos de la zona de los Bitzales tomadas en los años 2018 y 2024 y comparar las concentraciones de metales y metaloides con la normatividad vigente. Las muestras se pretrataron física y químicamente pasando por una digestión ácida asistida por microondas de acuerdo con la norma y se analizaron mediante la técnica de Espectrofotometría de Emisión Óptica por Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES). Los resultados obtenidos fueron los siguientes: en las muestras del año 2018, los metales se encontraron en las siguientes concentraciones medias en mg/Kg As (17.8) > Zn (12.3) > Pb (5.9) > V (3.4) > Ni (1.05), mientras que, en las muestras del año 2024, las concentraciones encontradas fueron V (523.0) > Ni (285.5) > Zn (117.1) > Pb (8.2) > As (3.7). Se compararon los resultados obtenidos las con la norma nacional NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 y con las normas internacionales de Canadá: Guías de Calidad Ambiental Canadiense para Sedimentos de Cuerpos de Agua Continental (CEQG-ISQG) y de Estados Unidos: Administración Oceanográfica y Atmosférica de los Estados Unidos de América (NOAA). Las concentraciones medias del 2024 de Ni, V y Zn aumentaron con respecto a valores obtenidos en monitoreo de 2018. El As y Pb en cambio, disminuyeron y se encontraron por debajo de los límites permisibles en la mayoría de los sitios muestreados de acuerdo con la normativa nacional e internacional, los cambios climáticos y la hidrodinámica del río, representan posible influencia en la variación de los valores obtenidos. Dada la relevancia ecológica de la zona, se recomienda continuar con el monitoreo de la zona y la implementación de medidas de mitigación para reducir los aportes de contaminantes y salvaguardar este hábitat crítico de una especie en peligro como el manatí del Caribe.

INTRODUCCIÓN

Desde hace varios años, la contaminación por metales pesados en los ríos de México ha cobrado importancia debido a que este recurso es de suma relevancia para el ecosistema, la salud y la economía del país, especialmente en Tabasco, que cuenta con un sistema hidrológico importante, ya que, según (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 2001), en este Estado se registran algunas de las mayores precipitaciones pluviales, esta gran cantidad de agua favorece la formación de un importante número de cuerpos de agua, pantanos y llanuras de inundación.
En los últimos años, en Tabasco se han presentado cambios climáticos y desastres naturales como inundaciones, que han afectado la flora y la fauna de ríos, lagos, lagunas y cuencas.

De acuerdo con el Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (2019), la cuenca baja del Río Grijalva ha sido afectada por la actividad antropogénica, que, junto con la creación de canales en los Bitzales, han fragmentado el sistema hidrológico.

La combinación de los factores antes mencionados provocó la muerte de un gran número de especímenes del manatí del Caribe (*Trichechus manatus*), siendo esta una especie considerada en

peligro de extinción en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y con estatus de especie vulnerable por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2010).

Esta mortandad tuvo lugar en Tabasco, particularmente en los municipios de Macuspana, Jonuta y Centla, y el mayor número se registró en la zona de los Bitzales en Macuspana, Tabasco, en el año 2018, por lo que se creó un grupo multidisciplinario para investigar las causas de este evento, incluyendo a la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), en conjunto con la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), quienes dirigieron una investigación en la que se recolectaron muestras de agua, sedimento, plancton y vegetación aledaña, para ser analizados por tres laboratorios: UNAM, Universidad Tecnológica de Boca del Río, Veracruz y Laboratorios ABC. (Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, 2018).

En el presente trabajo se pretende comparar los resultados obtenidos de concentraciones de metales pesados en muestras de sedimentos del año 2018 y los obtenidos en una campaña de muestreo que se llevó a cabo en 2024, analizando las muestras por medio de la técnica de Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES).

TEORÍA

Los sedimentos se originan por medio de procesos de desgaste de materiales geológicos, comienza con la erosión del suelo y el transporte de partículas por gravedad y el flujo del agua, son arrastrados hacia arroyos y ríos para depositarse temporalmente en el lecho y áreas circundantes, siendo los sedimentos fluviales un componente esencial de los ecosistemas acuáticos y terrestres aledaños, se clasifican en sedimentos solubles e insolubles, los primeros son minerales precipitados a partir de materiales en solución acuosa, y los segundos son fragmentos de roca o minerales sólidos derivados de la erosión de una masa continental que se mantienen como partículas sólidas. (Charruau, Michallet, & Monzón Alvarado, 2022).

En sistemas acuáticos, los sedimentos son matrices complejas dinámicas compuestas de materia orgánica en diversos estados de descomposición, material particulado que varía en tamaño y composición química, así como material de origen biológico y antropogénico. (Vázquez Jiménez, Brito-Manzano, Vargas-Falcón, Perera García, & Bernat-Rodríguez, 2021). Todo esto representa un grado de contaminación que es depositado en los sedimentos y posteriormente se integra a la columna de agua del cuerpo ya sea arroyo, lago, laguna o río, afectando los ecosistemas y la salud pública, entre los principales compuestos químicos que contaminan los sedimentos, se encuentran los plaguicidas organoclorados (OCs), los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), los combustibles y metales pesados, que, aunque son naturales en la corteza terrestre, han cambiado sus concentraciones debido al cambio climático y las actividades antropogénicas como desechos domésticos, actividades agrícolas e industriales. (Charruau et al., 2022).

En México, la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio y es la norma aplicable en la determinación de estos metales pesados en sedimentos, por otro lado, la normativa internacional que establece los límites máximos permisibles de metales pesados en sedimentos son: Guías de Calidad Ambiental Canadiense (CEQG), Guía Provisional de Calidad del Sedimento (ISQG) y Administración Oceanográfica y Atmosférica de Estados Unidos de América (NOAA).

La detección de metales mediante la digestión ácida de muestras de sedimentos para su lectura por ICP-OES (Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente) es una técnica comúnmente utilizada en la química analítica para cuantificar la concentración de metales en diversas muestras, como suelos, aguas, alimentos, y tejidos biológicos. (Cámara Aceituno, 2021). El principio del ICP-OES utiliza un plasma inducido por radiofrecuencia (generalmente argón o nitrógeno) para ionizar los elementos presentes en la muestra. Los iones y átomos excitados emiten luz a longitudes de onda específicas cuando regresan a su estado basal, este método es altamente

sensible y puede detectar trazas de metales en concentraciones muy bajas, lo que lo hace ideal para una amplia gama de aplicaciones en análisis ambiental, de alimentos, clínico y de materiales. (Jiménez Heinert, Grijalva Endara, & Ponce Solórzano, 2020)

PARTE EXPERIMENTAL

Las muestras de sedimentos del año 2018 fueron tomadas en los sitios en los que se hallaron cuerpos de manatíes en la zona de los Bitzales en Macuspana, Tabasco, las cuales fueron resguardadas en el Laboratorio Análisis Químico de Ingeniería Metalúrgica de la Facultad de Química de la UNAM y analizadas con la técnica ICP-OES, contabilizando un total de 13 muestras, mientras que en 2024 el muestreo se realizó en los mismos sitios marcados en 2018 incluyendo nuevos sitios de muestreo por las características de la zona en esa temporalidad, con posible acumulamiento de contaminantes y dando un total de 16 sitios que se muestrearon por triplicado, dando un total de 48 muestras de sedimentos. Se realizó mapeo con las coordenadas UTM utilizando QGIS versión 3.34.0. (Figura 1)

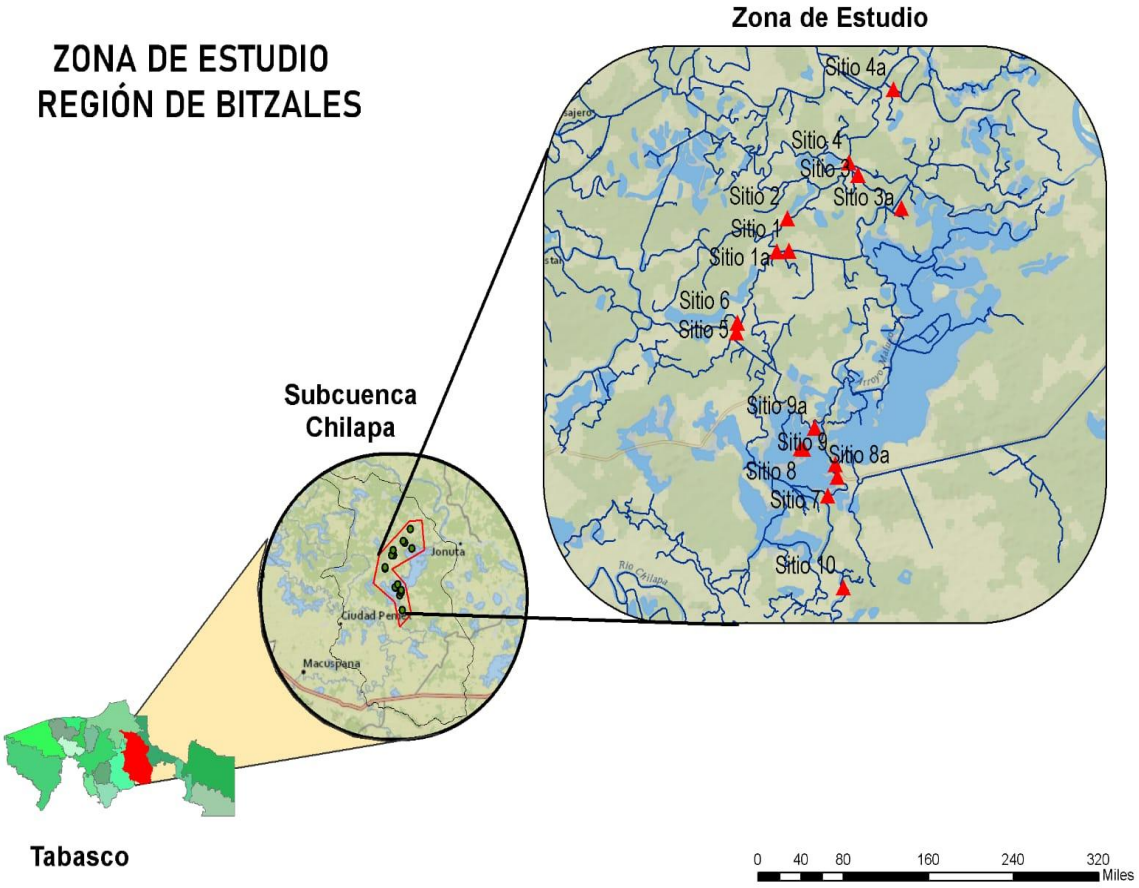


Figura 1. Localización de la zona de estudio. País: México; Estado: Tabasco; Municipio: Macuspana.

En ambos muestreos los materiales utilizados y los métodos aplicados obedecieron a lo marcado en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, iniciando con la toma de muestras (Figura 2), el resguardo de la cadena de custodia de estas hasta el laboratorio donde se llevó a cabo el pretratamiento físico (Figura 3) que consistió en secado en estufa a 40°C por 24 horas, disgregado y tamizado para su posterior almacenamiento en bolsas de plástico negras etiquetadas con la identificación de cada una.



Figura 2. Toma de muestras de sedimentos 2024.


Figura 3. Pretratamiento físico de las muestras.

El pretratamiento químico (Figura 4) consistió en una digestión ácida con ácido nítrico y ácido clorhídrico en proporción 9:3 asistida por horno de microondas MILESTONE-MLS, EM-45 y lectura en el Espectrómetro de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES) Perkin Elmer, Avio 500. El material de referencia utilizado fue Montana Soil II NIST® SRM® 2711a.



Figura 4. Pretratamiento químico de las muestras.

RESULTADOS

Una vez analizadas las muestras con la técnica ICP-OES, los datos se procesaron con el Software Syngistix para ICP Enhanced Security. Las concentraciones de metales cuantificables en las muestras de sedimentos de 2018 se encontraron en las siguientes concentraciones medias en mg/Kg As (17.8) > Zn (12.3) > Pb (5.9) > V (3.4) > Ni (1.05). En 2024, las concentraciones medias en mg/Kg encontradas fueron, en orden descendente: V (523.0) > Ni (285.5) > Zn (117.1) > Pb (8.2) > As (3.7).

Las gráficas que se observan en las Figuras 5, 6 y 7 representan estas concentraciones de los metales pesados cuantificables por el equipo, As, Ni, Pb, V y Zn en un comparativo la norma nacional NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 que establece criterios para determinar metales en suelos contaminados, la guía de Canadá CEQG (Canadian Environmental Quality Guidelines) para sedimentos de cuerpos de agua continental, en el apartado ISQG: Guía Provisional de la Calidad del Sedimento (Interin Sediment Quality Guideline) y la referencia de Estados Unidos NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration), niveles de fondo (background levels) de la tabla de referencia (Screening Quick Reference Table for Inorganics in Freshwater Sediment) (Tabla 1).

Tabla 1. Normas, guías y referencias

Norma		As	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	V	Zn
		mg/kg								
NOM-147		22	37	-	-	23	1600	400	78	-
CEQG	ISQG	5.9	0.6	37.3	35.7	0.17	-	35	-	123
NOAA		1.1	0.1-0.3	7-13	10-25	0.004-0.051	9.9	4-17	-	7-38

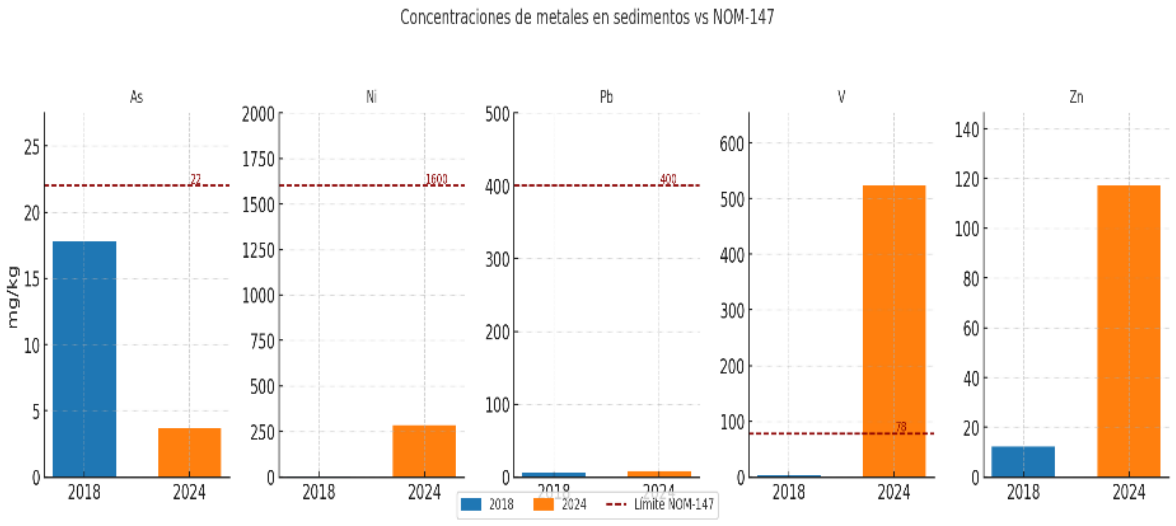


Figura 5. Gráfico comparativo 2018 vs 2024 con la NOM-147 de México.

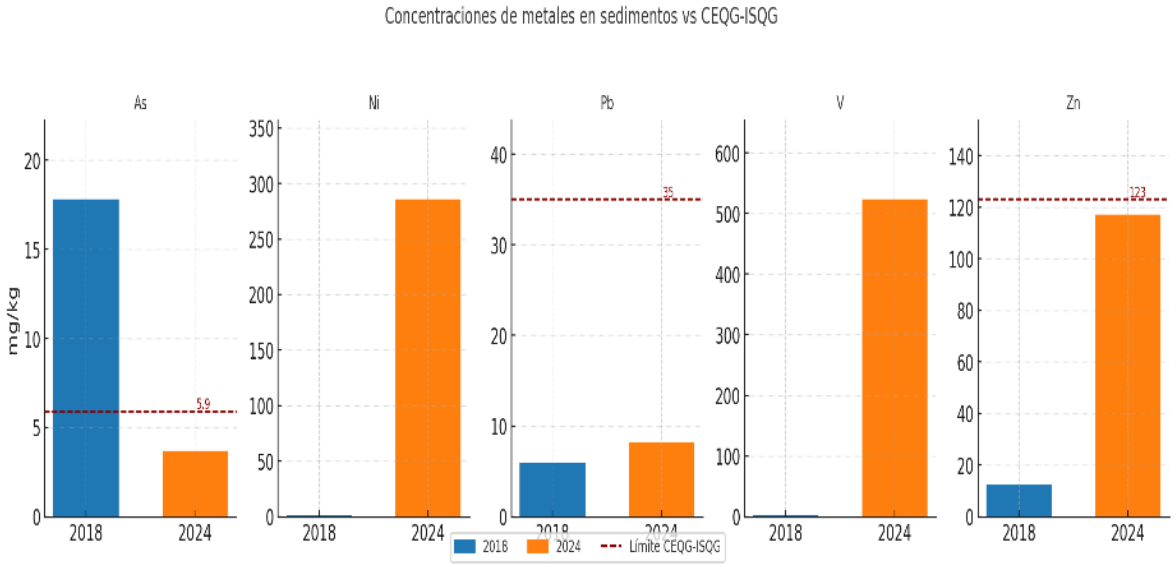


Figura 6. Gráfico comparativo 2018 vs 2024 con la CEQG de Canadá.

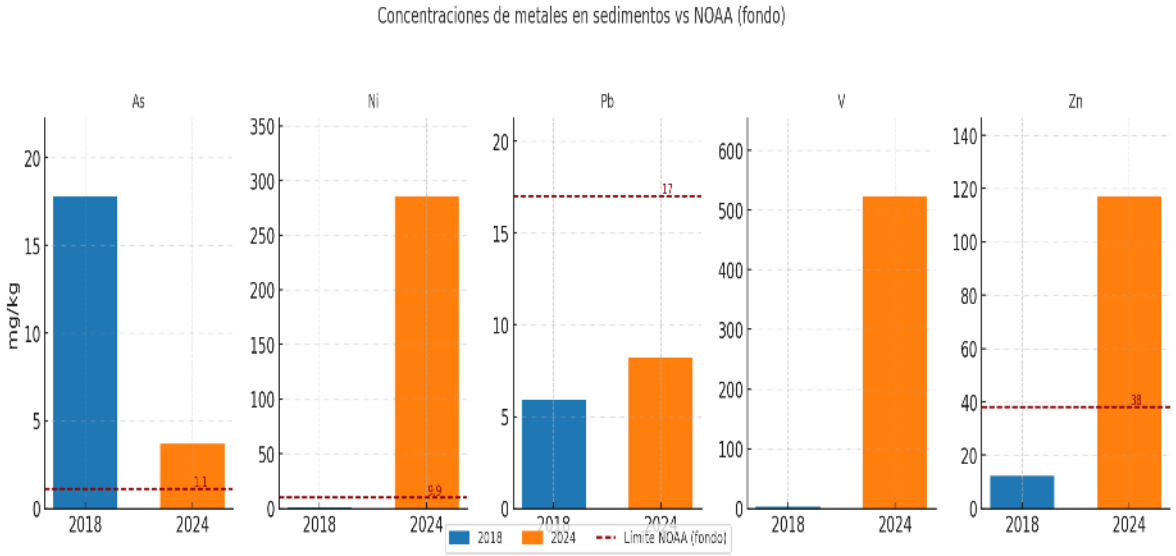


Figura 7. Gráfico comparativo 2018 vs 2024 con la NOAA de Estados Unidos.

En la Figura 8 se observa el diagrama de caja y bigotes que proporciona una visión de la distribución de las concentraciones de metales en las muestras de 2018 y de 2024, esto permite detectar visualmente la variabilidad entre años.

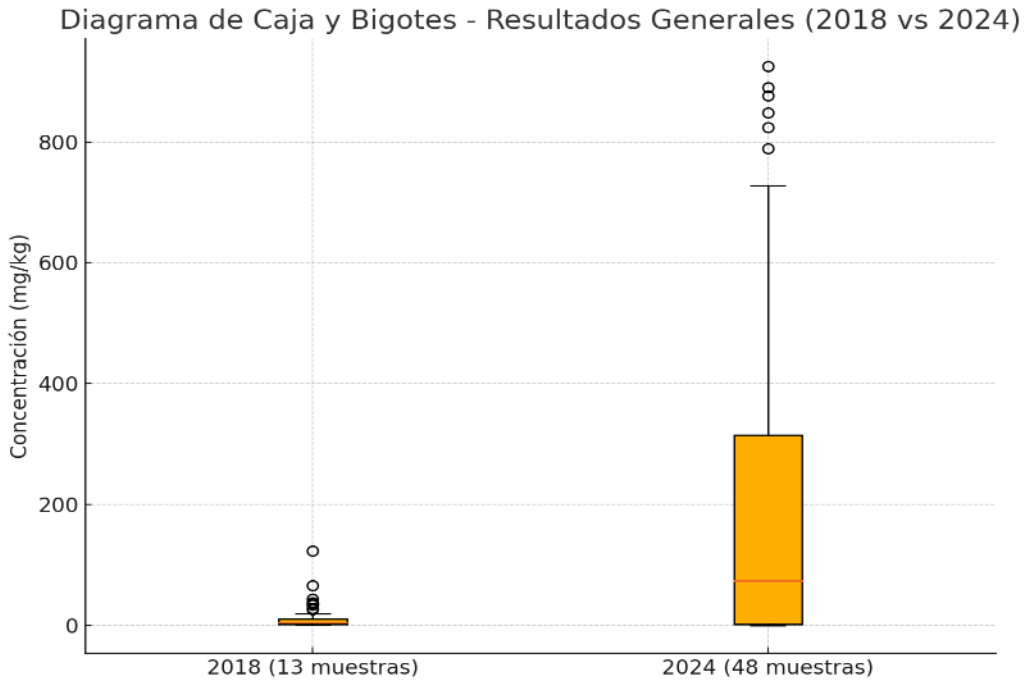


Figura 8. Diagrama de caja y bigotes 2018 vs 2024.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran un cambio drástico en la disposición de contaminantes metálicos en la zona de los Bitzales entre 2018 y 2024. Mientras que en 2018 el As (17.8 mg kg^{-1}) lideró el perfil de riesgo rebasando la guía canadiense y los criterios de la NOAA, en 2024 el As (3.7 mg kg^{-1}), Ni (285 mg kg^{-1}), V (523 mg kg^{-1}) y Zn (117.1 mg kg^{-1}), pasaron a primer plano, superando los criterios de la NOAA para As, Ni y Zn y el límite nacional (NOM-147) en el caso del V. Esta diferencia cuantitativa remarca la variabilidad de los datos comparativos entre 2018 y 2024, lo que podría indicar la influencia de diferentes factores, como mayor contaminación, cambios en las fuentes de entrada de metales o diferencias en las condiciones ambientales. Las principales fuentes de contaminación por metales y metaloides se asocian a actividades humanas como el uso de pesticidas y herbicidas, emisiones de gasolina con plomo, descargas industriales y la quema de combustibles. Aun cuando As, Pb y Zn se mantienen dentro de la NOM-147, el incremento en la concentración de V y la superación de los límites de los criterios internacionales como la NOAA de As, Ni y Zn, obligan a replantear la gestión ambiental en la zona debido a la toxicidad y capacidad de bioacumulación de estos elementos que representan riesgos significativos para el ecosistema y la salud humana, especialmente en ambientes sensibles como el hábitat del manatí del Caribe.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2005). *Toxicological profile for zinc* (Draft for public comment). U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
2. Angrand, R. C., Collins, G., Landrigan, P. J., & col. (2022). *Relation of blood lead levels and lead in gasoline: An updated systematic review*. *Environmental Health, 21*, 138. https://doi.org/10.1186/s12940-022-00936-x
3. Bencko, V., & Yan Li Foong, F. (2017). The history of arsenical pesticides and health risks related to the use of Agent Blue. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 24(2), 312–316. https://doi.org/10.26444/aaem/74715

4. Cámara Aceituno, M. V. (2021). Métodos de análisis de metales pesados en amaranto (Trabajo Fin de Grado, Universidad de Jaén). Universidad de Jaén.
5. Charruau, P., Michallet, I., & Monzón Alvarado, C. (Eds.). (2022). Los sedimentos de la cuenca del Usumacinta en 12 preguntas. El Colegio de la Frontera Sur; Centro del Cambio Global y la Sustentabilidad A. C.; Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social; Institut National des Sciences Appliquées; Université Jean Moulin; Graie. https://www.sedimentos-usumacinta.mx/:contentReference[oaicite:0]{index=0}:contentReference[oaicite:1]{index=1}
6. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). (2019). Detección de florecimientos algales producidos por cianobacterias, como posible causante de la mortandad de manatíes y peces, así como la hidrodinámica del sistema fluvial del río Bitzales, Macuspana, Tabasco. México. Proyecto TC1906.1 Recuperado el 24 de mayo de 2023 de http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/2195/TC-1906.1.pdf?sequence=1&isAllowed=y
7. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). (2001). Síntesis de información geográfica del estado de Tabasco (1.ª ed., 100 p.). INEGI. https://www.inegi.org.mx
8. Jiménez Heinert, M. E., Grijalva Endara, A. de las M., & Ponce Solórzano, H. X. (2020). Plasma acoplado inductivamente en espectroscopia de emisión óptica (ICP-OES). *Recimundo, 4*(4), 4-12. https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(4).octubre.2020.4-12
9. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA). (2018, 5 de noviembre). Reporte final: Atención de contingencia de manatíes en Tabasco. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. https://www.gob.mx/profepa
10. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) & Secretaría de Salud (SSA). (2007, 2 de marzo). Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio [Publicación en el Diario Oficial de la Federación]. https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1392/1/nom-147-semarnat_ssa1-2004.pdf
11. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2010, 30 de diciembre). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo [Publicación en el Diario Oficial de la Federación]. https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/nom_059_semarnat_2010.pdf
12. Schlesinger, W. H., Klein, E. M., & Vengosh, A. (2017). *Global biogeochemical cycle of vanadium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 114*(47), E11092–E11100. https://doi.org/10.1073/pnas.1715500114
13. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). (2023). *Sedimentología (HEPA 640106)* [Apuntes de clase en PDF]. Dirección General de Administración Escolar, Sistema SICCAAD. https://www.siccaad.unam.mx/media/materials/HEPA640106/Sedimentologia_2023-1.pdf
14. Vázquez Jiménez, C. G., Brito-Manzano, N. P., Vargas-Falcón, P. M., Perera García, M. A., & Bernat-Rodríguez, J. (2021). Metales pesados en agua y sedimentos de dos lagunas costeras de Tabasco, México. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, 4*(4), 5993-6002. https://doi.org/10.34188/bjaerv4n4-092

DETECCIÓN DE BACTERIAS FOTÓTROFAS ROJAS NO SULFUROSAS EN TRES ESTANQUES DE LAS SALINAS CHIQUITAS (ZAPOTITLAN SALINAS, TEHUACAN)

María Teresa Núñez Cardona[1], Patricia Castilla Hernández[2], Yair Cruz Narváez[3]

Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento El Hombre y su Ambiente, Laboratorio de Plancton y Bioenergética[1] y Laboratorio de Biotecnología Ambiental[2]; Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, IPN (Ciudad de México)[3], mtnunez@correo.xoc.uam.mx[1].

RESUMEN

La Salinas Chiquitas, se ubican en la reserva de la Biosfera Tehuacan-Cuicatlan (Zapotitlan Salinas, Puebla), la producción de sal en este lugar es una práctica ancestral que inicia con el llenado de estanques (de 10 cm de profundidad, aproximadamente) con agua subterránea; después de varios meses y tras la evaporación (temperatura ambiente) se recolectan los cristales del mineral. En estos ambientes extremos, son habituales las bacterias tanto halófilas como halotolerantes; fotótrofas y heterótrofas. Estos microorganismos, entre otros procesos, participan en la mineralización de la materia orgánica y los ciclos biogeoquímicos que se llevan a cabo en todo sistema acuático; en especial, las bacterias fotótrofas realizan la fotosíntesis sin producción de oxígeno (son anoxigénicas) para ello cuentan con bacterioclorofilas de diversos tipos (bacterioclorofilas a, b, c, d , e, f y g) y en el caso de las bacterias rojas (púrpuras) no sulfurosas pueden contar con bacterioclorofilas a o b y pigmentos accesorios que las protegen del daño fotooxidativo[1]. Las bacterias fotótrofas rojas no sulfurosas (BFRNS), han sido utilizadas para el tratamiento de aguas residuales, la producción de biohidrógeno y fertilizantes (Ej. indolacético), plásticos biodegradables (polihidroxibutirato y poli-β-hidroxialcanoatos), proteína unicelular (biomasa), pigmentos, etc. Como productores primarios son iniciadores de las tramas tróficas y se emplean en la acuicultura (Ej. alimento vivo)[2]. El objetivo del presente estudio fue detectar la presencia de bacterias fotosintéticas rojas no sulfurosas en tres estanques de las Salinas Chiquitas. Las muestras de agua fueron colectadas, directamente, con botellas estériles y utilizadas para enriquecer tubos de ensaye conteniendo medio de cultivo líquido específico para BFRNS (composición: 0.5 g KH_2PO4; 0.4 g NH_4Cl; 0.4 g $MgCl_2.6.H_2O$; 0.05 g $CaCl_2 \cdot 6.H2O$; 1.0 ml solución de elementos traza; 1.0 ml vitamina B12; 1.0 ml de cloruro férrico; 1.0 g succinato de sodio: 1.0 L de agua destilada). Los cultivos fueron incubados a temperatura ambiente, a 2,200 lux y un fotoperiodo (16/8 horas luz/obscuridad)[2]Una vez que se observó crecimiento en los cultivos, se determinó la presencia pigmentos (bacterioclorofilas y carotenos) por espectrofotometría (Shimadzu UV160) previa extracción con una mezcla de acetona:metanol (7:2); además del análisis de pigmentos *in vivo,* con glicerol como agente de soporte. Después de 30 días de incubación, se observó la presencia de color (rojo, marrón, rosado) en los cultivos. El análisis de los pigmentos extraídos reveló la presencia de bacterioclorofila (Bchl) a (364, 597- 598, 770 nm), Bchl b (790 nm), esferoidenona (482 nm) y rodovibrin (488 nm); el análisis *in vivo* ratificó la presencia de Bchl a (375 y 388; 883 nm) y Bchl b (400, 408 nm); también se detectó Bchl g (783, 790, 792) y rodopin (499 nm). El uso de un medio de cultivo estandarizado permitió detectar BFRNS en tres estanques de las Salinas Chiquitas, evidenciado por la producción de bacterioclorofilas a y b, además de carotenos (esferoideno y rodovibrin).

INTRODUCCIÓN

Las bacterias fotosintéticas rojas no sulfurosas (BFRNS) constituyen el grupo más diverso de bacterias fotosintéticas anoxigénicas (BFA), con al menos 28 géneros y más de 97 especies identificadas[2] Estos microorganismos convierten la luz en energía química mediante el proceso de fotosíntesis anoxigénica (no producen oxígeno). Cuentan con pigmentos fotosintéticos, como las bacterioclorofilas (Bchl) a y b, además de una gran variedad de pigmentos accesorios (carotenoides), alojados en sus membranas internas[1].

La gran versatilidad metabólica, de las BFRNS les permite habitar en una gran variedad de ambientes, aunque son habituales en sistemas acuáticos[3] es posible encontrarlas en aquellos que son considerados extremos (Ej. hipersalinos, ácidos, alcalinos), además de ventilas hidrotermales[4]. Se han detectado en el agua de humedales destinados a la agricultura (especialmente en los cultivos de arroz), en suelos lechosos, en las riveras e inclusive en aguas de alcantarilla[5]

Durante más de cinco décadas se han realizado investigaciones sobre el uso de estos microorganismos en diferentes procesos, como el tratamiento de aguas residuales, la producción de biohidrógeno, el crecimiento vegetal y la biorremediación de entornos afectados, por ejemplo, por contaminantes orgánicos, metales pesados, aguas residuales domésticas y hospitalarias, y otras fuentes. Además, de combustibles (biohidrógeno) producen compuestos como el ácido indol acético (IAA), ácido 5-aminolevulínicos (ALA), plásticos biodegradables (polihidroxibutirato y poli-β-hidroxialcanoatos) y proteínas unicelulares (biomasa) razones ´por lo que resultan de gran interés para la industria biotecnológica, farmacéutica y alimentaria. Por otro lado, como productores primarios, son iniciadores de redes tróficas y se utilizan en la acuicultura como alimento vivo[2]. En México, estos microorganismos han sido escasamente estudiados y se conoce poco, acerca de la microbiota que habita en las Salineras de Zapotitlan Salinas, por ello el objetivo del presente estudio fue detectar la presencia de bacterias fotosintéticas rojas no sulfurosas en los estanques donde se obtiene y procesa la sal, de manera artesanal, en las Salinas Chiquitas en Zapotitlán Salinas (Tehuacán Puebla).

.

TEORÍA

Las bacterias fotosintéticas o fotótrofas, son microorganismos anaerobios (estrictos y facultativos) y anoxigénicos, esto es que no producen oxígeno como resultado de la fotosíntesis, lo cual se debe a que en lugar de agua utilizan como donadores de electrones al azufre, formas de reducidas de este o compuestos que lo contienen (Ej. cisteína, metionina, tiosulfato, etc.) así como a una gran variedad de compuestos orgánicos de peso molecular bajo (Ej. acetato, succinato, benzoato, etc.).
Dentro de las bacterias fotosintéticas anoxigénicas (BFA) están las bacterias rojas (púrpuras) y verdes del azufre, en las primeras están las familias Chomatiaceae y Ectothiorhodospiraceae (ambas γ–Proteobacteria) y las verdes del azufre que incluye a la familia Chlorobiaceae, estas tres familias son anaerobias estrictas y el azufre (y derivados) es su donador de electrones principal.
Las bacterias fotosintéticas rojas no sulfurosas (BFRNS) son anaerobias facultativas y pueden ser foto-organótrofas (la luz es la fuente de energía luz y el donador de electrones es algún compuesto orgánico), fotolitotrofas (Ej. el hidrógeno es el donador de electrones) y quimiorganotrofas (la fuente de energía y donador de electrones es un compuesto orgánico)[6]

Para realizar la fotosíntesis, las bacterias fotosintéticas anoxigénicas cuentan con bacterioclorofilas (Bchl) que pueden ser de los tipos *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f* y *g*, aunque se conoce que algunas bacterias heterótrofas aerobias también pueden presentan bacterioclorofila *a*[1].

La bacterioclorofila *a* (Bchl *a*) es la más abundante en la naturaleza y está presente en la mayoría de los miembros de las familias Chromatiaceae, Ectothiorhodospiraceae y en BFRNS (Ej. Rhodospirillaceae, Comamonadaceae, Acetobacteriaceae, Rhodobacteraceae) y en la familia Chlorobiaceae es un pigmento minoritario. Esta bacterioclorofila, *in vivo,* absorbe las longitudes de onda: 375, 590, 800-810 y 830-890 nm[1,3.]

La Bchl *b* (máximos de absorción in vivo: 400, 605, 835-850, 1015-1135 nm) es la menos frecuente en entre las bacterias fotosintéticas, su presencia se limita a un número mínimo de especies identificadas, es característica de *Rhodopseudomonas viridis* (BFRNS) y de algunos miembros de la familia Chromatiaceae (Ej. *Thiocapsa pfennigii* y *Thioflavicoccus mobilis*) y Ectothiorhodospiraceae (*Ectothiorhodospira halochloris*, *Ectothiorodospira halophila*)[1,3].

La Bchl *c* (absorción máxima *in vivo*: 335, 460, 745-760 nm), BChl *d* (absorción máxima *in vivo*: 325, 450, 725-745 nm), BChl *e* (absorción máxima *in vivo*: 345, 450-460 nm, 715-725 nm), son

características de las bacterias fotosintéticas verdes del azufre (Ej. Chlorobiaceae) y bacterias fotosintéticas verdes no sulfurosas (Ej. Chloroflexaceae)[1,3]

La BChl *f* (absorción máxima *in vivo:* 453, 522, 722 nm) es característica de *Chlorobaculum limnaeum*, una bacteria verde del azufre[7], en tanto que la BChl *g* (absorción máxima *in vivo*: 370, 419, 575, 670, 780-790 nm), es exclusiva de la familia Heliobacteriaceae (Ej. *Heliobacterium*, *Heliophilum*, *Heliorestis*) e inicialmente fue detectada en *Heliobacterium chlorum*[7]*.*

Actualmente el análisis in vivo de los pigmentos de las BFA, son incluidas en la descripción e identificación de sus especies ya que estos son únicos y los espectros resultantes muestran diferencias importantes entre especies, esto se debe a que los pigmentos forman complejos con proteínas y que, al ser sometidos a compuestos orgánicos, experimentan cambios durante el proceso de extracción, además los registros varían dependiendo de la naturaleza del compuesto utilizado dando origen, por ello a espectros de absorción parecidos en especies diferentes. Por ejemplo, en acetona:metanol (7:2) la Bchl *a* absorbe a 770-773 nm; a 790 nm la Bchl *b* y a 660 nm la Bchl *c*, en tanto que la Bchl d absorbe a 659 nm con metanol y a 654 nm con acetona, por lo que, para su registro, es esencial considerar el compuesto orgánico utilizado para la extracción y análisis pigmentario.

Las BFA presentan una gran diversidad de carotenos clasificados en Grupos o Series y son los siguientes: Grupo 1 o Serie normal de la espiriloxantina (Ej. licopeno, rodopin, espiriloxantina), Grupo 2 o Serie del rodopinal (Ej. rodopinal), Grupo 3 Serie altenativa de la espiriloxantina (Ej. esferoideno, esferoidenona), Grupo 4 o Serie de la Okenona (okenona), Grupo 5 o Serie del Isorrenierateno (Isorrenierateno, a-caroteno) y Serie del Clorobacteno (clorobacteno y b-caroteno), generalmente in vivo, se les puede distinguir cuando se presentan máximos de absorción in vivo entre 400 y 550 nm[3].

Cabe señalar que las bacterias fotosintéticas rojas y verdes del azufre tienen respuesta negativa a la tinción de Gram, por ello las BFR (del azufre y BFRNS) pertenecen a las Proteobacteria (incluye Eubacteria Gram negativas) en tanto que las Heliobacteriaceae (Orden Clostridiales, Clase Heliobacteria) son positivas a la tinción de Gram, generalmente presentan formas bacilar y esporas (están en el Orden de los Clostridios), que les permiten habitar en ambientes extremos.

Las bacterioclorofilas de las BFA no sólo son útiles para su taxonomía, también lo son para cuantificar su biomasa, su participación en la producción primaria, etc.; las técnicas para crecimiento en el laboratorio, permiten detectarlas en ambientes diversos, así el enriquecimiento de medios de cultivo líquidos (específicos y diferenciales) es una alternativa para su detección ratificado con el análisis de sus pigmentos fotosintéticos, especialmente la producción de bacterioclorofilas.

PARTE EXPERIMENTAL

La Salinas Chiquitas, están en la reserva de la Biosfera Tehuacan-Cuicatlan (Zapotitlan Salinas, Puebla), la producción de sal en este lugar es una práctica ancestral que inicia con el llenado de estanques (de 10 cm de profundidad, aproximadamente) con agua subterránea; después de varios meses y tras la evaporación (temperatura ambiente) se recolectan los cristales del mineral, el cual es comercializado por los habitantes de la región (figura 1)



Figura 1. Salinas Chiquitas

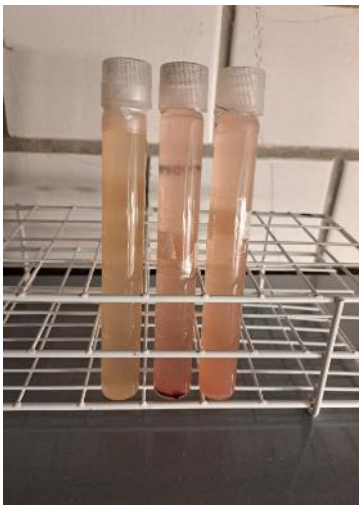


Figura 2. Cultivos líquidos de BFRNS

Con botellas (100 ml de capacidad), fueron colectadas (directamente) muestras de agua de tres estanques de las Salinas Chiquitas, y se utilizaron para enriquecer, tubos de ensaye conteniendo medio de cultivo líquido específico para BFRNS (composición: 0.5 g KH_2PO_4; 0.4 g NH_4Cl; 0.4 g $MgCl_2.6.H_2O$; 0.05 g $CaCl_2.6.H_2O$; 1.0 mL solución de elementos traza; 1.0 ml vitamina B12; 1.0 ml de cloruro férrico; 1.0 g succinato de sodio: 1.0 L de agua destilada)[2]. Los cultivos fueron incubados a temperatura ambiente, a 2,200 lux y un fotoperiodo (16/8 h luz/obscuridad)[2]. Una vez que se observó crecimiento en los cultivos, se determinó la presencia pigmentos fotosintéticos tanto extraídos con una mezcla de acetona:metanol (7:2) como en células intactas (in vivo) por espectrofotometría.

Para el análisis de los pigmentos extraídos, fueron centrifugados (5,000 rpm durante 20 minutos) 10 ml de cultivo líquido, enseguida se adicionó 5.0 ml de acetona:metanol (7:2) y se mantuvieron a 5°C, en la obscuridad. durante 18 h. Pasado este tiempo nuevamente se centrifugó (5,000 rpm) y evitó suspender a las células; con el sobrenadante se realizaron las lecturas en un espectrofotómetro Shimadzu UV160, previa calibración con la mezcla de solventes[8].

Para el análisis de los pigmentos in vivo, se utilizaron 10 ml de cultivo, fueron centrifugados a 5,000 rpm, se eliminó el sobrenadante, se agregó 5.0 ml de glicerol y se agitó con un vórtex para suspender las células (mezcla de las células en glicerol). Para las lecturas, el espectrofotómetro fue calibrado colocando en las dos celdas glicerol; en todos los casos los registros se realizaron a 250-1,100 nm.

RESULTADOS

Después de 30 días de incubación, se observó la presencia de color (rojo, marrón, rosa) en los cultivos (figura 2). Las tablas 1 y 2 contienen los registros de los máximos de absorción de los pigmentos producidos en los cultivos de BFRNS, analizados in vivo y extraídos con acetona:metanol, respectivamente.

El análisis de los pigmentos extraídos reveló la presencia de BFRNS, ya que se detectó Bchl a, el pigmento más frecuente entre los BFRNS (se utiliza para el tratamiento fotodinámico contra el cáncer) y Bchl b, presente, por ejemplo en Rhodopseudomonas viridis,. El análisis con células intactas (in vivo), detectó a las Bchls a, b y g esta última es característica de la familia Heliobacteriaceae (único grupo fototrófico Gram positivo); también se detectó un pico a 715 nm que corresponde a la Bchl e, característica de bacterias fotosintéticas verdes del azufre (Ej. Chlorobiaceae), aunque a 715 nm también absorbe la clorofila d presente en algas rojas3. Cabe

señalar que la identidad de los pigmentos producidos en los cultivos requiere de técnicas con técnicas y equipos precisos.

Tabla 1. Máximos de absorción *in vivo* (nm) de las bacterioclorofilas y los pigmentos accesorios

Muestra	Bchl *b*	Bchl *a*	Bchl *g*	Bchl *e* o Chl *d*	Bchl *a*	Rodopin	Bchl *b*	Bchl *a*
C4		883	790		597			388
M	910		783	715		499	408	
R1		883	792		588		400	375

Tabla 2. Máximos de absorción de las bacterioclorofilas y pigmentos accesorios extraidos con acetona:methanol

Muestra	Bchl *b*	Bchl *a*	Bchl *g*	Bchl *e* o Chl *d*	Bchl *a*	Rodopin	Bchl *b*	Bchl *a*
C4		883	790		597			388
M	910		783	715		499	408	
R1		883	792		588		400	375

CONCLUSIONES

Con el medio de cultivo utilizado, se logró detectar a las BFRNS en tres estanques de Salineras Chiquitas. La diversidad de organismos fototrófos se evidenció mediante la detección de bacterioclorofilas *a*, *b*, *c* y *g* (análisis *in vivo*). Estas son específicas para diferentes grupos fisiológicos, aunque su identidad química requiere técnicas analíticas más precisas, que se aplicarán en el futuro.

AGRADECIMIENTOS

Se extiende un agradecimiento a los productores de Salineras Chiquitas, especialmente al Sr. Juan Diego Hernández Cortés, por su apoyo en la recolección de muestras de agua y por compartir sus conocimientos sobre la producción de sal y la biodiversidad de la Reserva de la Biosfera Cuicatlán-Zapotitlán. También se agradece a los habitantes del municipio de Zapotitlán Salinas por su hospitalidad, especialmente a la Sra. Josefina Pacheco Palacios y al Sr. Pedro Mendoza Navarro, propietarios del Hotel El Calvario en Zapotitlan Salinas

BIBLIOGRAFÍA

1. M.T. Núñez-Cardona, M. Chávez-Hernández, M. Signoret-Poillon M. Aislamiento y caracterización de bacterias rojas no sulfurosas provenientes del humedal de la Mixtequilla, Veracruz (México). Revista ECIPerú, Vol. 8, 2, 2011, pp. 187-206T.
2. . M. T. Núñez-Cardona, L. Toledo, E. U. Quezada A. Martínez. Producción de bacterioclorofila a por cultivos puros de bacterias fotosintéticas anoxigénicas (no sulfurosas) en compuestos orgánicos. En: Investigaciones y Desarrollos Tecnológicos en México (CIO-Léon. CONAHCyT). México, 2023, Tomo 1, pp. 99-102.
3. M. T. Núñez-Cardona. Las bacterias rojas del azufre en ambientes marinos mexicanos. En: De las Bacterias al Clima, un enfoque ecológico. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (México) Serie Académicos CBS. 2008. 52-72.
4. I. Yasa, B. H. Cadirci, A. Kocyigit y T. Öztürk. 2006. Enrichment and isolation of anoxigenic phototrophic bacteria in Winogradsky column. *Fish. Aquat. Sci.* Vol., 23, 1-2, 2006, pp. 71-73
5. T, Khanta, Ch. Chaiyasut, D. Kantachote, S. Kukrong and A. Muangprom. Selection of photosynthetic bacteria producing 5-aminolevulinic acid from soils of organic saline paddy fields from the Northeast region of Thailand. *J. Fish. Aquat. Sci.,* Vol. 4,17, 2010, 1848-1855.
6. J. Overmann J., F. Garcia-Pichel. 2006. The phototrophic way of life. In: *The Prokaryotes.* Springer Verlag, Amsterdam. 2, 2006, pp. 32-85.
7. C.H. Yang, K. S. Huang KS, Y. T. Wang, J. F. Shaw . A Review of Bacteriochlorophyllides: *Chem. Str. Appl. Mol..* Vol. 27, 5, 2021, 293.

8. M. T. Núñez-Cardona MT. 2010. Crecimiento y aislamiento de bacterias fotótrofas anoxigénicas. En: Métodos y técnicas de laboratorio aplicables al estudio de ecosistemas. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México. CBS. 31, 2010, pp. 20-26.

INFLUENCIA DE LA FUNCIONALIZACIÓN CON EXTRACTOS VEGETALES EN LA CITOTOXICIDAD Y ESTABILIDAD DE NANODIAMANTES

Deyani Nocedo-Mena[1], Oxana V. Kharissova[1], Laura Verenis López De Arriba[1], Luis Pablo Doria Cuellar[1], Leticia González-Maya[2]

[1]Centro de Investigaciones en Ciencias Físico Matemáticas, Facultad de Físico Matemáticas, Universidad Autónoma de Nuevo León, [2]Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos
deyani.nocedomn@uanl.edu.mx

RESUMEN

Los nanodiamantes (NDs) han surgido como materiales prometedores en biomedicina debido a su química de superficie adaptable, biocompatibilidad y baja toxicidad. Para ampliar su gama de aplicaciones biomédicas, los ND pueden ser sometidos a modificaciones adicionales, que incluyen dopaje y funcionalización de la superficie. La funcionalización de su superficie permite mejorar su solubilidad y compatibilidad biológica, facilitando su aplicación en diagnóstico y administración de fármacos. Por otro lado, ha habido un creciente interés en las nanopartículas obtenidas a través de síntesis verde utilizando extractos de plantas debido a la contribución de los fitoquímicos a la estabilidad y seguridad de estas.

En este estudio, se evaluó la influencia del tipo y concentración de extracto vegetal en la citotoxicidad de nanodiamantes funcionalizados (NDf), así como su estabilidad en el tiempo. La funcionalización se llevó a cabo mediante síntesis verde, utilizando extractos obtenidos por maceración con cloroformo-metanol (1:1) a partir de tallos y hojas de *Cissus incisa*, una planta de la medicina tradicional mexicana. Los NDs prístinos (10 mg) disueltos en 10 mL de agua destilada se doparon con 1 mg de teraftal (T) y sometidos a ultrasonido (40 kHz) durante 20 h. Posteriormente, se funcionalizaron con 5 y 50 µL de cada extracto vegetal por separado. Las funcionalizaciones fueron confirmadas por diversas técnicas: FTIR para identificar grupos funcionales, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos X (EDX), y Dispersión Dinámica de Luz (DLS) para evaluar la estabilidad coloidal. Las muestras fueron almacenadas a 25ºC y analizadas por FTIR y espectroscopia UV-vis a los 3 y 6 meses para evaluar su estabilidad, además del pH.

La citotoxicidad se evaluó en células HaCaT (queratinocitos humanos normales), utilizando el ensayo de proliferación celular CellTiter 96®. Paclitaxel fue el control positivo. Se determinó la absorbancia a 490 nm utilizando un lector de placas. Los datos se analizaron con Prism 5.0, determinando los valores de IC_{50} mediante análisis de regresión.

Todas las funcionalizaciones afectaron significativamente la citotoxicidad de los NDs, en comparación con los prístinos. La viabilidad celular disminuyó de manera dependiente al aumento de la concentración del extracto. El nanosistema ND/Teraftal/ExtractoTallo (50µL) fue el de menor valor de IC_{50} (54.8µg/mL), lo que sugiere la presencia de compuestos bioactivos en los tallos de la planta, mostrando un efecto antiproliferativo de interés para otros estudios. Los resultados mostraron que tanto el tipo de extracto como su concentración afectan la citotoxicidad de los NDf. El monitoreo de la estabilidad de los NDf no mostró cambios ni indicios de desestabilización según los resultados obtenidos con las técnicas empleadas.

Mediante la síntesis verde fue posible obtener nanodiamantes funcionalizados con extractos naturales no tóxicos para el ser humano. Aunque se requieren estudios adicionales, estos resultados respaldan su potencial en el desarrollo de nanomateriales estables y seguros para aplicaciones en diagnóstico y administración de fármacos.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de diamante, conocidas como NDs, son diamantes monocristalinos compuestos principalmente de carbono, conocidos por sus excepcionales características. Entre sus propiedades clave se incluyen un núcleo químicamente inerte, una dureza notable y una excelente conductividad térmica. El tamaño promedio de estas nanopartículas es de 4 a 5 nm, lo que las hace miles de veces más pequeñas que un cabello humano [1]. Los NDs tienen una amplia gama de aplicaciones, que abarcan desde usos electromecánicos y químicos hasta posibles aplicaciones biomédicas terapéuticas y diagnósticas. Esta versatilidad se atribuye a sus propiedades mecánicas, ópticas y químicas únicas, en particular a su química superficial adaptable, que ha demostrado ser muy beneficiosa para usos biomédicos [2].

Para ampliar su gama de aplicaciones biomédicas, los NDs deben someterse a modificaciones adicionales, como el dopaje y la funcionalización de la superficie. La superficie de los NDs se puede funcionalizar mediante reacciones físicas y químicas, lo que permite la unión de diversos grupos funcionales, incluidos polímeros [3], péptidos [4], [5] aminoácidos [6], [7] e incluso materiales genéticos como ADN y ARN [8], [9] , fitocompuestos [10], [11], extractos naturales, etc.[2]
La funcionalización de la superficie es una estrategia de modificación que introduce fracciones químicas, como grupos funcionales o ligandos, en la superficie de un material para impartir las propiedades deseadas. En el caso de los ND, se ha demostrado que la funcionalización mejora la solubilidad, la seguridad y la biocompatibilidad, a la vez que reduce la toxicidad [12].

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron extractos vegetales obtenidos a partir de tallos y hojas de *Cissus incisa*, una especie vegetal empleada tradicionalmente en la medicina popular mexicana. La obtención de los extractos se realizó mediante un procedimiento de maceración en una solución cloroformo y metanol (1:1, v/v), lo que permitió la extracción de compuestos fitoquímicos con potencial actividad funcionalizante [13], [14]. La modificación superficial de los NDs se llevó a cabo mediante un proceso de funcionalización basado en un enfoque de química verde.

Inicialmente, se dispersaron 10 mg de NDs prístinos en 10 mL de agua destilada, a lo que se añadió 1 mg de teraftal (T) como agente dopante. Esta mezcla fue sometida a irradiación ultrasónica durante 20 horas a una frecuencia de 40 kHz, con el objetivo de favorecer una adecuada dispersión y facilitar la interacción entre la superficie del ND y el dopante. Posteriormente, se procedió a la funcionalización con los extractos vegetales, añadiendo volúmenes de 5 µL y 50 µL por separado a cada sistema, con el propósito de evaluar el efecto de la concentración del extracto sobre las propiedades finales de los NDs [15].

Las funcionalizaciones se confirmaron por un conjunto de técnicas analíticas. FTIR se utilizó para la identificación de grupos funcionales introducidos en la superficie de los NDs. La caracterización morfológica y elemental se realizó mediante SEM y espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDX), respectivamente. Por su parte, la estabilidad coloidal y el tamaño hidrodinámico de las partículas funcionalizadas fueron determinados mediante DLS.

Las muestras se conservaron a temperatura ambiente (25 °C) y fueron reevaluadas a los tres y seis meses posteriores a la funcionalización. Para ello, se aplicaron nuevamente técnicas espectroscópicas (FTIR y UV-Vis) y se registraron los valores de pH, con el fin de analizar posibles variaciones en la estabilidad química y estructural a lo largo del tiempo.

Finalmente, la evaluación de la citotoxicidad se efectuó utilizando la línea celular HaCaT (queratinocitos humanos inmortalizados), mediante el ensayo colorimétrico CellTiter 96® que permite cuantificar la viabilidad celular. Paclitaxel se empleó como control positivo de inhibición. Las mediciones de absorbancia se realizaron a 490 nm utilizando un lector de microplacas, y los datos obtenidos fueron procesados con el software Prism 5.0. Los valores de concentración inhibitoria

media (IC_{50}) se determinaron a través de ajustes de regresión no lineal, a fin de establecer la relación dosis-respuesta de los sistemas evaluados. Los ensayos se realizaron por triplicado [16] .

RESULTADOS

En la figura 1 corresponde a la muestra bND-T, se observa una morfología compacta y densa, con regiones oscuras que indican aglomeración de material y una porosidad aparentemente baja. El espectro de XPS (figura 2) confirmó la presencia de Co proveniente de la molécula de teraftal.

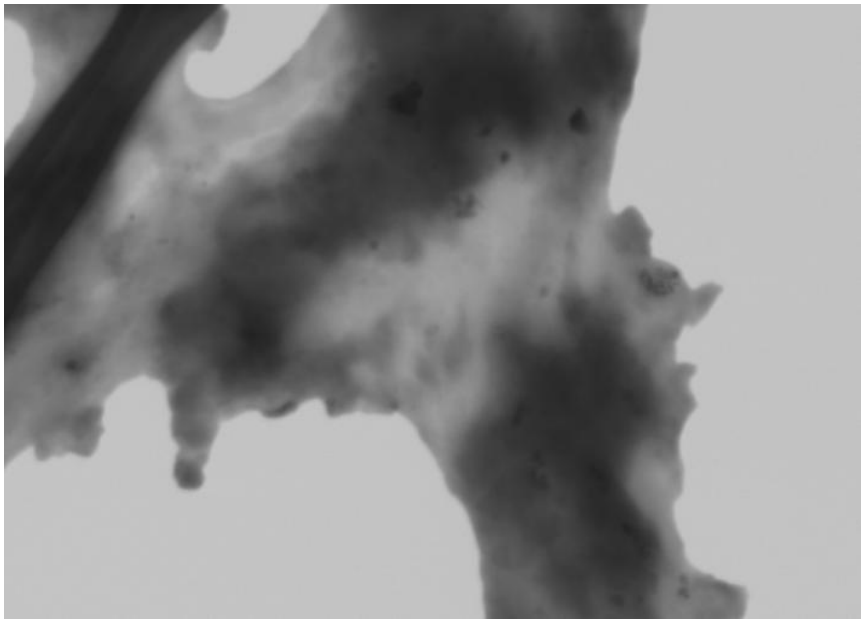


Figura 1. SEM de la muestra ND-T

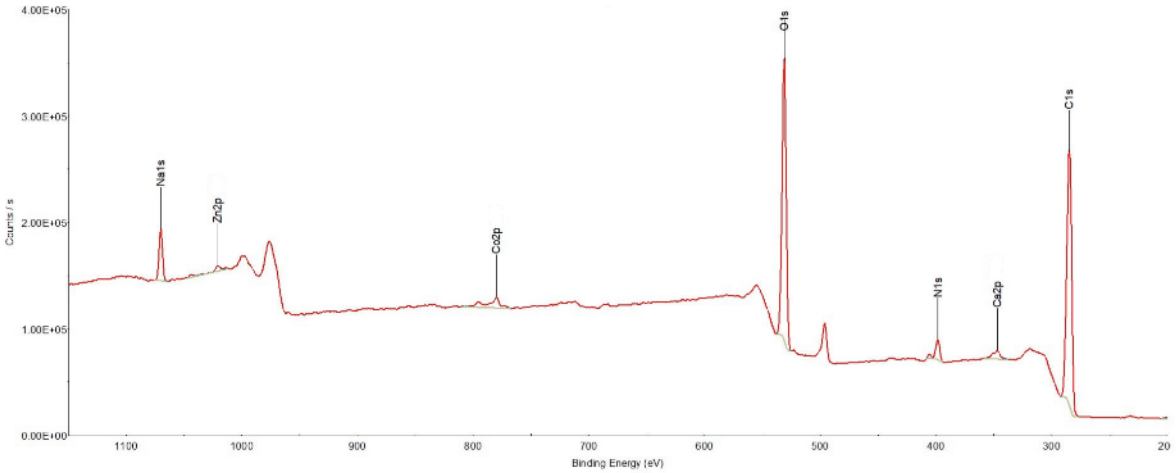


Figura 2 . XPS de la muestra ND-T

El espectro FTIR (figura 3) muestra una banda ancha en la región de 3400–3200 cm^{-1}, atribuida a la vibración de estiramiento del grupo hidroxilo (O–H). Esta banda se intensifica notablemente en

ND+T+Ex, lo cual indica una mayor presencia de grupos –OH, posiblemente introducidos por los compuestos fenólicos del extracto vegetal.

En ND+T se mantiene una señal en la región de 2900 cm^{-1}, asociada a estiramientos C–H, mientras que en ND+T+Ex se observa un incremento en las bandas entre 1650 y 1500 cm^{-1}, correspondientes a vibraciones N–H de enlaces amida o grupos aminos, lo cual evidencia una funcionalización nitrogenada inducida por el dopaje con teraftal y reforzada por compuestos del extracto vegetal. Adicionalmente, aparecen nuevas bandas intensas por debajo de los 1200 cm^{-1} en ND+T+Ex, destacando señales en ~1100 cm^{-1} (posiblemente atribuibles a C–O–H) y alrededor de 1000 cm^{-1} que pueden asociarse a enlaces C–N o Co–N, lo cual sugiere la incorporación de estructuras nitrogenadas complejas o metálicas propias del T. Estos resultados espectrales confirman la incorporación exitosa de nuevos grupos funcionales en la superficie de los NDs, validando el éxito del proceso de funcionalización.

Por otro lado, el espectro UV-vis (figura 4) muestra que los NDs prístinos presentaron una absorbancia mínima en toda la región espectral, lo que indica una baja densidad de estados electrónicos absorbentes. Tras el dopaje con teraftal (ND+T), se observa un aumento significativo en la absorbancia, especialmente por debajo de los 300 nm, lo que sugiere la incorporación de grupos cromóforos que incrementan la capacidad de absorción en la región ultravioleta. Este aumento se asocia a la presencia de estructuras aromáticas y enlaces conjugados introducidos por el teraftal.

En la muestra ND+T+Ex, la absorbancia también se incrementa respecto a los ND prístinos, aunque es ligeramente menor que en ND+T, lo que podría atribuirse a la competencia entre los componentes del extracto vegetal y el dopante por los sitios activos en la superficie. Sin embargo, el espectro sigue mostrando una elevada absorción en el UV profundo (~200–300 nm), lo que indica que ambos tratamientos modificaron exitosamente la respuesta óptica del ND. Se puede evidenciar que el dopaje y la funcionalización con extractos vegetales alteran la estructura electrónica superficial de los NDs, mejorando sus propiedades ópticas, lo cual puede ser de interés para su aplicación en sensores ópticos.

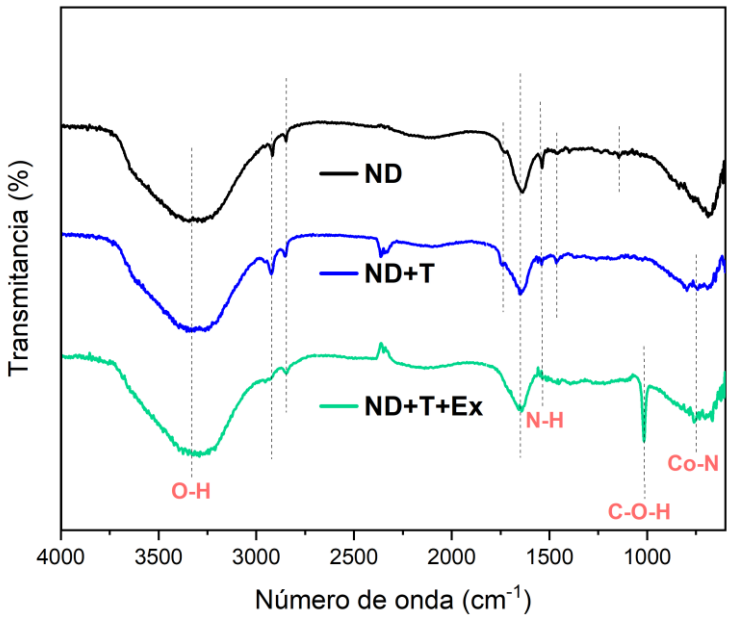


Figura 3. FT-IR de las muestras **ND**; **ND-T** y **ND-T-Ex** (tallos).

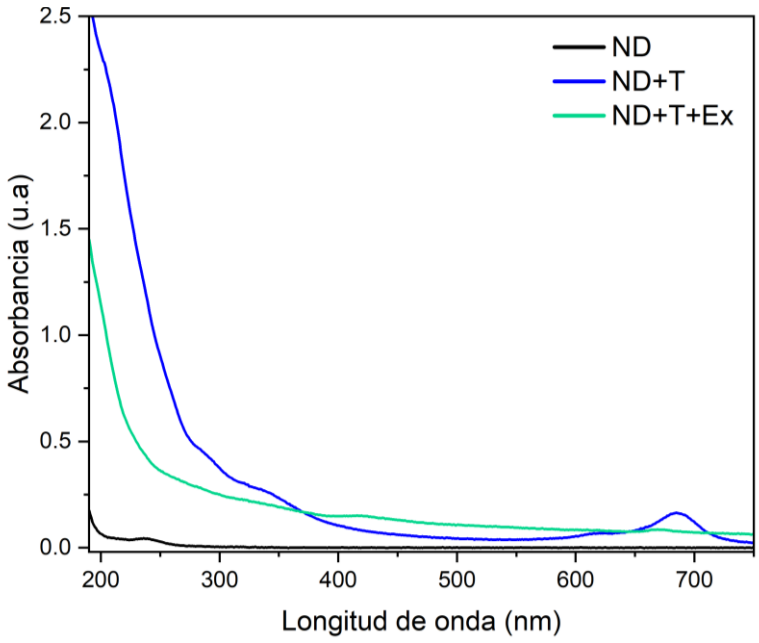


Figura 4. UV-vis de las muestras **ND**; **ND-T** y **ND-T-Ex** (tallos)

La figura 5 muestra los resultados de distribución de tamaño de partícula por volumen obtenidos. En el caso de los NDs prístinos, la distribución es relativamente homogénea con un rango de tamaño menor a 100 nm, lo que indica una buena dispersión y ausencia de agregación significativa. En ND+T, se observa un desplazamiento hacia diámetros mayores (alrededor de 100–200 nm), sugiriendo la formación de agregados moderados o una ligera cobertura superficial por el T. Sin embargo, en la muestra ND+T+Ex se detecta un pico prominente por encima de los 1000 nm, lo cual indica una fuerte tendencia a la agregación tras la incorporación del extracto vegetal. Esta aglomeración puede atribuirse a la presencia de compuestos macromoleculares del extracto. Estos resultados demuestran que el dopaje y la funcionalización modifican significativamente la estabilidad coloidal de los NDs, siendo la etapa con extracto vegetal la que más impacta en el aumento del tamaño hidrodinámico y en la formación de agregados.

La Tabla 1 muestra los resultados de citotoxicidad. Los NDs prístinos presentan un IC_{50} elevado (25.56 mg/mL), lo que indica baja citotoxicidad y, por tanto, una alta biocompatibilidad. Al incorporar teraftal (ND+T), se observa una disminución drástica del IC_{50} a 1.46 mg/mL, sugiriendo un aumento importante en la actividad citotóxica atribuible al dopante. Se puede concluir que la funcionalización con extractos vegetales modifica notablemente la bioactividad de los NDs, y que la fuente vegetal y la concentración del extracto son determinantes en el perfil citotóxico del nanosistema.

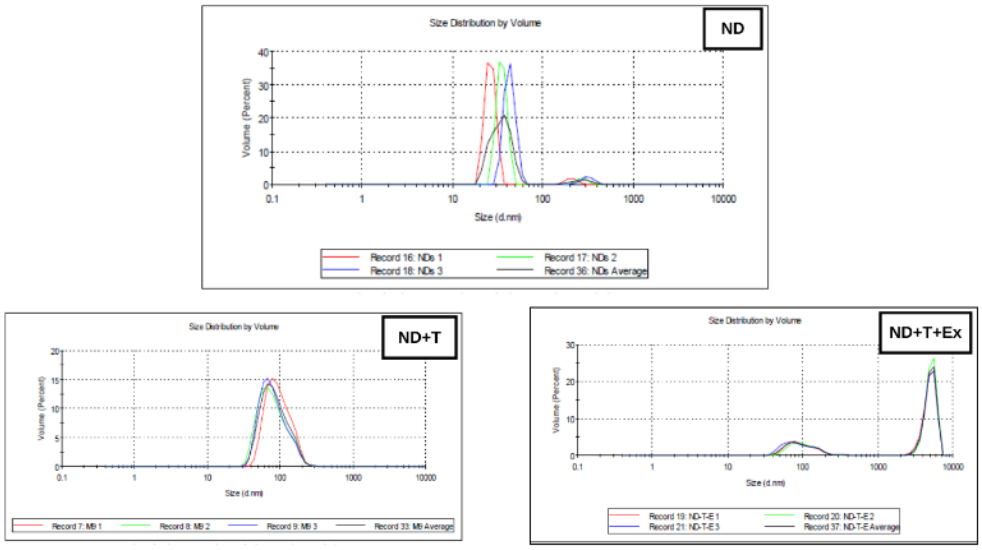


Figura 5. Distribución de tamaño de partícula por volumen de muestra de **ND; ND-T; ND-T-Ex** (tallos)

Tabla 1. Resultados de estudios de citotoxicidad

Muestras	Cantidad de extracto añadido (µL)	IC_{50} (mg/mL)
ND	-	25.5637
ND+T	-	1.4647
M1+ 5µl extracto CLMHF	5	9.538
M1+ 50µl extracto CLMHF	50	1.16
M1+ 5µl extracto CLMT	5	0.0548
M1+ 50µl extracto CLMT	50	15.5843

CONCLUSIONES

La funcionalización de NDs mediante síntesis verde con extractos de *Cissus incisa* permitió obtener nanosistemas estables, sin evidencias de desestabilización a lo largo del tiempo. Los ensayos de citotoxicidad revelaron que tanto el tipo de extracto (proveniente de hoja o tallo) como su concentración tienen un efecto significativo sobre la viabilidad celular, mostrando una relación compleja entre dosis y respuesta biológica. Los resultados confirman su biocompatibilidad y su potencial para aplicaciones biomédicas.

BIBLIOGRAFÍA

[1] V. Georgakilas, J. A. Perman, J. Tucek, and R. Zboril, “Broad Family of Carbon Nanoallotropes: Classification, Chemistry, and Applications of Fullerenes, Carbon Dots, Nanotubes, Graphene, Nanodiamonds, and Combined Superstructures,” Chem Rev, vol. 115, no. 11, pp. 4744–4822, Jun. 2015, doi: 10.1021/cr500304f.

[2] D. H. Jariwala, D. Patel, and S. Wairkar, “Surface functionalization of nanodiamonds for biomedical applications,” Materials Science and Engineering: C, vol. 113, p. 110996, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.msec.2020.110996.

[3] H. Huang et al., “Facile modification of nanodiamonds with hyperbranched polymers based on supramolecular chemistry and their potential for drug delivery,” J Colloid Interface Sci, vol. 513, pp. 198–204, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.jcis.2017.11.009.

[4] A. D. Salaam, P. Hwang, R. McIntosh, H. N. Green, H.-W. Jun, and D. Dean, “Nanodiamond-DGEA peptide conjugates for enhanced delivery of doxorubicin to prostate cancer,” Beilstein Journal of Nanotechnology, vol. 5, pp. 937–945, Jul. 2014, doi: 10.3762/bjnano.5.107.
[5] S. Vial et al., “Peptide-Grafted Nanodiamonds: Preparation, Cytotoxicity and Uptake in Cells,” ChemBioChem, vol. 9, no. 13, pp. 2113–2119, Sep. 2008, doi: 10.1002/cbic.200800247.
[6] H. Guo, H. Hu, X. Yu, K. Naito, and Q. Zhang, “Covalent Functionalization of Nanodiamonds with Natural Amino Acids and Ascorbic Acids,” J Nanosci Nanotechnol, vol. 19, no. 12, pp. 7574–7583, Dec. 2019, doi: 10.1166/jnn.2019.16740.
[7] I. Badea et al., “Lysine-functionalized nanodiamonds: synthesis, physiochemical characterization, and nucleic acid binding studies,” Int J Nanomedicine, p. 3851, Jul. 2012, doi: 10.2147/IJN.S32877.
[8] L. Schmidheini, R. F. Tiefenauer, V. Gatterdam, A. Frutiger, T. Sannomiya, and M. Aramesh, “Self-Assembly of Nanodiamonds and Plasmonic Nanoparticles for Nanoscopy,” Biosensors (Basel), vol. 12, no. 3, p. 148, Feb. 2022, doi: 10.3390/bios12030148.
[9] M. Zandieh and J. Liu, “Metal-Mediated DNA Adsorption on Carboxylated, Hydroxylated, and Hydrogenated Nanodiamonds,” Langmuir, vol. 39, no. 33, pp. 11596–11602, Aug. 2023, doi: 10.1021/acs.langmuir.3c01066.
[10] A. Gismondi, V. Nanni, G. Reina, S. Orlanducci, M. L. Terranova, and A. Canini, “Nanodiamonds coupled with 5,7-dimethoxycoumarin, a plant bioactive metabolite, interfere with the mitotic process in B16F10 cells altering the actin organization,” Int J Nanomedicine, p. 557, Feb. 2016, doi: 10.2147/IJN.S96614.
[11] A. Gismondi et al., “Nanodiamonds coupled with plant bioactive metabolites: A nanotech approach for cancer therapy,” Biomaterials, vol. 38, pp. 22–35, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.10.057.
[12] A. P. Alekhin et al., “Synthesis of biocompatible surfaces by nanotechnology methods,” Nanotechnol Russ, vol. 5, no. 9–10, pp. 696–708, Oct. 2010, doi: 10.1134/S1995078010090144.
[13] D. Nocedo-Mena and O. V. Kharissova, “Nanoparticles derived from the Cissus genus and their antibacterial potential,” Environ Nanotechnol Monit Manag, vol. 22, p. 100967, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.enmm.2024.100967.
[14] D. Nocedo-Mena, M. Y. Ríos, M. Á. Ramírez-Cisneros, L. González-Maya, J. N. Sánchez-Carranza, and M. del R. Camacho-Corona, “Metabolomic Profile and Cytotoxic Activity of Cissus incisa Leaves Extracts,” Plants, vol. 10, no. 7, p. 1389, Jul. 2021, doi: 10.3390/plants10071389.
[15] L. V. L. De Arriba, O. V. Kharissova, D. N. Mena, and B. I. Kharisov, “Synthesis and characterization of fluorescent nanodiamonds (FNDs) by functionalization with Cissus Incisa in theraphthal–containing media,” MRS Adv, Jan. 2025, doi: 10.1557/s43580-025-01123-z.

OBTENCIÓN DE CARBÓN ACTIVADO A PARTIR DE RESIDUOS DE CAFÉ EN UN SOLO PASO SIN ATMOSFERA INERTE

Jairo Francisco Juárez Vera[1], Araceli Jacobo Azuara[2], Merced Martínez Rosales[3], Sonia Judith Segovia Sandoval[4] y Brett González Cárdenas[5]

Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Col. Noria Alta, C.P. 36050, Guanajuato, México.
jf.juarezvera@ugto.mx.

RESUMEN

El carbón activado es un adsorbente ampliamente usado debido a que puede obtenerse de una amplia variedad de materiales con elevados valores de área superficial por medio de métodos físicos o químicos. En los métodos físicos primero se carboniza el material de partida en una atmosfera inerte y posteriormente se activa a una temperatura de entre 800 °C-1000 °C con una atmosfera de O_2, H_2O o CO_2[1]. Por otra parte, los métodos químicos emplean un agente que propicie la oxidación del carbón para inducir la formación de estructuras porosas con temperaturas y tiempos menores a la activación física, aunado al hecho de que estos agentes pueden producir reacciones de condensación y deshidratación en la celulosa y semi-celulosa permitiendo efectuar la activación y formación de los poros al mismo tiempo que se carboniza la biomasa pudiendo obtener muestras con áreas específicas de hasta 2210 m2/g empleando KOH y un flujo de nitrógeno constante[2]. No obstante, la necesidad de una atmosfera inerte sigue siendo una limitante para la obtención de este tipo de materiales, por lo que en este trabajo se explora la posibilidad en obtener carbón activado sin emplear una atmosfera inerte para lo cual se preparó 500 ml de una solución de KOH 5.34 M a la cual se añadió 100 g de café granulado, posteriormente se transfirió el café, aún húmedo, a un crisol tapado para calcinarlo a 800 °C por 2 h con una rampa de temperatura de 2 °C/min y posteriormente se lavó con HCl 1 M hasta alcanzar un pH 7. Posteriormente se caracterizó el carbón activado obtenido, así como una muestra de carbón activado comercial y una muestra de café por medio de fisisorción de nitrógeno. Mientras el café granulado presentó un área específica de 0.5 m2/g, el carbón activado sin atmosfera inerte exhibió un valor de 1067.42 m2/g lo que si bien ni si quiera la mitad del método original es un resultado destacable al compararlo con el carbón activado comercial que obtuvo un valor de 667.76 m2/g. En resumen, a pesar de lo rudimentario de esta metodología es posible obtener muestras de carbón activado con un área específica superior al carbón activado comercial a partir de residuos de café sin la necesidad de emplear un gas inerte en el proceso de carbonización, aunque, con la limitación de obtener valores de área significativamente menores a otras metodología que emplean este tipo de gases.

INTRODUCCIÓN

El carbón activado es un adsorbente ampliamente usado gracias a su su elevada área superficial, porosidad, y la posibilidad de utilizar casi cualquier tipo de biomasa como materia prima para su obtención como loes residuos de café. Esto por medio de la carbonziación la materia prima seguida de un paso de activación que dé lugar a la formación de estructuras del carbón en el material ya sea por medio de una ruta la física o química[1] (Jaber et al, 2024).

La activación física consiste en el uso de una atmósfera controlada con una determinada cantidad de gases como O_2, H_2O o CO_2 que propicien la combustión controlada del carbono dando lugar a los poros esto a temperaturas de entre 800 °C- 1000 °C[2]. Por otra parte, la activación química consiste en el uso de un agente que propicie la oxidación del carbono como el KOH con ayuda de una atmosfera inerte que ayude a controlar la combustión del material. No obstante, existe la posibilidad de efectuar ambos procesos forma simultánea debido a que estos agentes pueden inducir reacciones de condensación de la materia vegetal conforme se carboniza la materia y libera de gases de combustión[2].

No obstante, al tener en cuenta la rápida liberación de gases de combustión (CO_2 y H_2O) durante el proceso de activación química en un solo paso y el hecho de que dichos gases favorecen la formación de estructuras microporosas en el carbón debido a su efecto como agentes oxidantes selectivos y de baja reactividad es razonable suponer que al retener dichos gases de combustión y usarlos como atmosfera sería posible efectuar el proceso de activación en un solo paso sin la necesidad de un flujo constante de N_2 como atmosfera inerte y aún obtener un carbón activado con propiedades aceptables.

TEORÍA

El carbón activado es un material ampliamente usado debido a sus propiedades adsorbentes, su elevada área superficial, estructura fibrosa, elevada porosidad, procesamiento simple y la variedad de posibles fuentes de obtención, pudiendo utilizar casi cualquier tipo de biomasa como materia prima incluyendo residuos orgánicos de distintitos procesos como lodos del tratamiento de aguas, residuos de la agricultura, llantas, resinas y residuos de café. Esto por medio de dos procesos, el primero consiste en la carbonización de la materia orgánica a elevadas temperaturas y el segunda es la activación del carbón propiciando la formación de estructuras porosas, lo cual se puede lograr por medio de dos rutas distintas la física y la química[1] (Jaber et al, 2024).

La activación física consiste en el uso de una atmósfera controlada con una determinada cantidad de gases como O_2, H_2O o CO_2 que actúen como agentes oxidantes del carbono transformándolo en gases de combustión de forma controlada dando lugar a los poros empleando temperaturas de entre 800 °C- 1000 °C[2]. Reportándose que una atmosfera de H_2O y CO_2 se obtiene el mayor valor de área específica de 250 m^2/g, mientras que al solo usar H_2O se obtiene 192 m^2/g y con CO_2 el área es de 215 m^2/g, observándose que en las muestras obtenidas con CO_2 presentaron un elevado volumen de microporos y las obtenidas con H_2O exhibieron un mayor ensanchamiento de poros, indicando que el CO_2 contribuye a un proceso de oxidación selectivo que genera una estructura microporosa de carácter fractálico en el material mientras que el H_2O contribuye a la evolución de las estructuras mesoporosas y a que la superficie desarrolle un carácter fractálico[3].

Por otra parte, la activación química consiste en el uso de un agente activante capaz de inducir la formación de la estructura porosa del carbón activado bajo una atmosfera inerte como el KOH, NaOH, o el H_3PO_4. No obstante, existe la posibilidad de efectuar el proceso de activación química de forma simultánea al proceso de carbonización al emplear la ruta de activación química debido a que estos agentes pueden inducir reacciones de deshidratación y condensación de la celulosa y la hemicelulosa acelerando la liberación de gases de combustión al contrario de la activación en dos pasos en la cual se propicia tanto la formación de productos gaseosos como no gaseosos capaces de bloquear las estructuras porosas, principalmente en la carbonización de la biomasa[2].

En el caso específico de la elaboración de carbón activado en un paso a partir de las cascaras de semillas de *Acer truncatum* al emplear KOH como agente activante en una proporción de masa biomasa:KOH de 1:1,5 fue posible obtener un material con área superficial de 2210.7 m^2/g al emplear una temperatura de 800 °C con una rampa de 2 °C/min con un flujo de nitrógeno constante de 20 ml/min.

PARTE EXPERIMENTAL

Se pesaron 100 g de residuos de café molido previamente secado a 100 °C y se sumergieron en 500 ml de una solución de KOH 5.34 M (300 g/l) por 2 horas posteriormente se transfirió el café, aún húmedo, a un crisol tapado con otro crisol para calcinarlo a 800 °C por 2 h con una rampa de temperatura de 2 °C/min y se lavó con HCl 1 M hasta alcanzar un pH 7. Posteriormente, se caracterizó el carbón activado obtenido, así como una muestra de carbón activado comercial y una muestra de café carbonizada a 800°C por medio de espectroscopia infrarroja para determinar los principales grupos funcionales de cada muestra, después se procedió a analizar por medio de fisisorción de N_2 las muestras anteriores y una muestra de residuos de café molido para comparar sus valores de área específica y distribución de tamaño de poro.

RESULTADOS

Al comparar los espectros de infrarrojo de cada muestra es posible apreciar un cambio significativo en los grupos funcionales del carbón obtenido a partir del café sin activar el cual presenta una notable cantidad de aminas secundarias y organosulfurados a diferencia del carbón activado obtenido a partir del café el cual presenta señales mucho más atenuadas de grupos amino, por otra

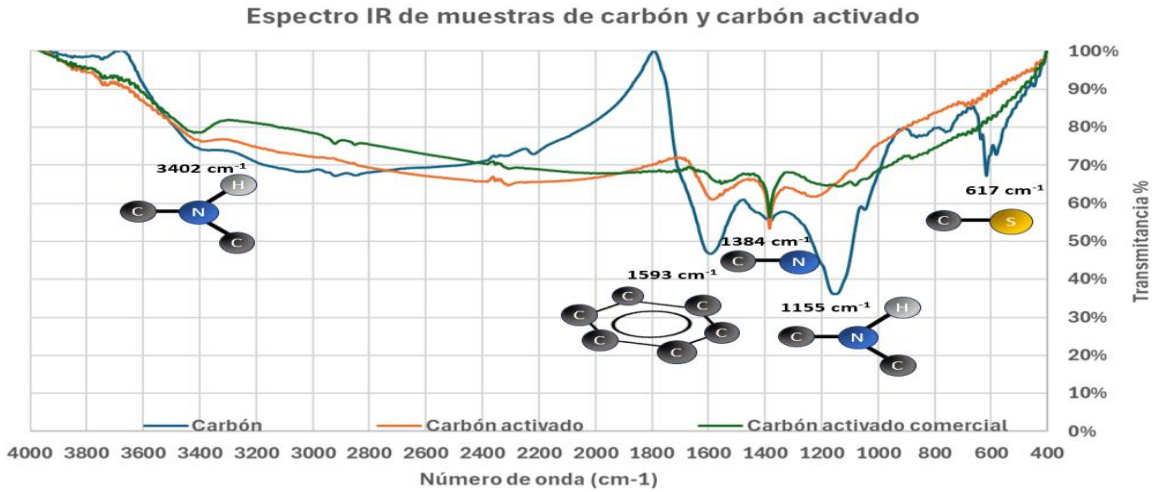


Ilustración 1 Espectro infrarrojo con los respectivos grupos funcionales de las muestras de carbón activado comercial, carbón activado en un solo paso y carbón obtenido a partir de residuos de café.

parte, el carbón activado comercial presento señales atribuibles a aminas secundarías aún más tenues, dichas aminas funcionales podrían aprovechar se futuro para la adsorción de contaminantes afines a dichos grupos funcionales como el cobre, níquel u otros metales de transición.

Al analizar los datos de fisisorción de nitrógeno de las distintas muestras es posible apreciar una marca diferencia entre los valores de área superficial de las mismas siendo que el carbón obtenido del café presentó el menor valor de área específica, estando por debajo del café sin carbonizar cosa atribuible a la obstrucción de poros pro la formación de productos de combustión no gaseosos en la carbonización. Mientras que el carbón activado en un solo paso obtuvo un valor de 1067.4 m^2/g lo cual supera al carbón activado comercial por un 59.8% siendo que su área superficial es de tan solo 667.7 m^2/g.

Muestra	Área BET	Muestra	Área BET
Café	0.521 m^2/g	**Carbón Activado comercial**	667.7 m^2/g
Carbón	0.251 m^2/g	**Carbón activado**	1067.4 m^2/g

Tabla 1 Valores de área específica obtenidos por medio de fisisorción de N_2 de café, carbón obtenido de residuos de café, carbón activado obtenido de residuos de café y carbón activado comercial.

Por otra parte, al comparar las isotermas de adsorción del carbón activado comercial y el carbón activado en un solo paso es posible apreciar una marcada diferencia entre ambos materiales a pesar de adsorber un volumen de N_2 similar, siendo que el carbón activado elaborado presento una rápida adsorción sin presentar una histéresis apreciable indicativo de una elevada población de microporos mientras que el material comercial presento una histéresis observable indicativo de la presencia de estructuras mesoporosas en el material comercial.

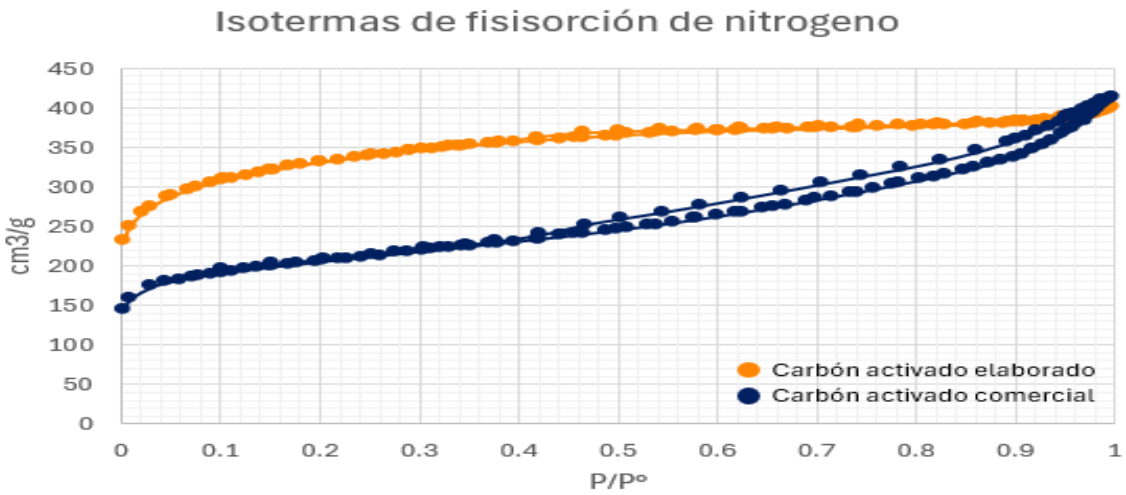


Ilustración 2 isotermas de adsorción de N_2 del carbón activado obtenido de residuos de café y carbón activado comercial.

Lo que se corrobora por medio del análisis BJH de distribución de tamaño de poro en el cual se observa una marcada distribución en el tamaño de poro del carbón activado comercial cuyo diámetro se extiende hasta los 20 nm predominando poros con un diámetro de 8 nm mientras que el carbón obtenido a partir de los residuos del café presento una distribución acotada a un valor máximo de 7 nm predominando los poros de 2 nm.

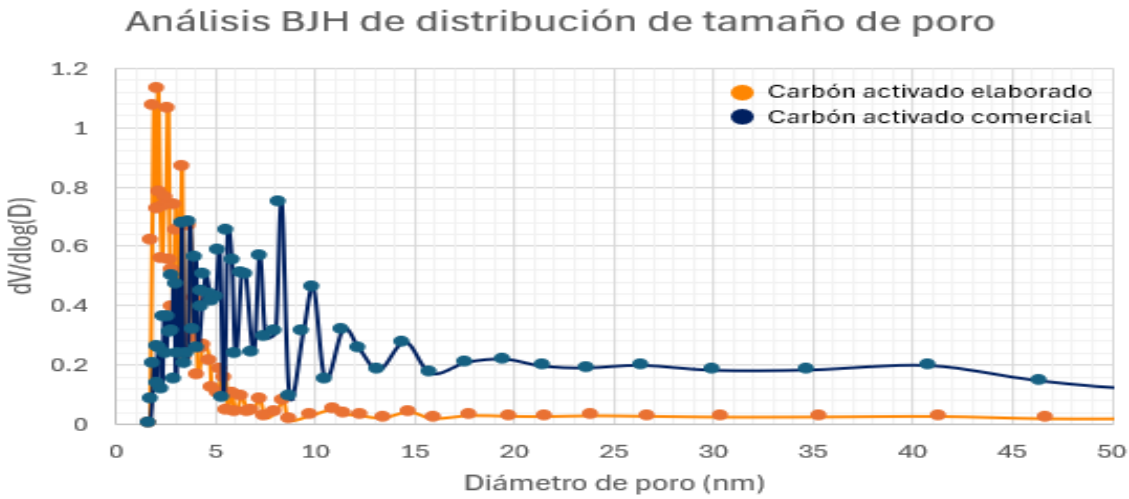


Ilustración 3 Análisis BJH de distribución de tamaño de poro del carbón activado obtenido de residuos de café y carbón activado comercial.

CONCLUSIONES

Pese a la ausencia de una atmosfera inerte debido a un flujo constante de N_2 que suele emplearse en el proceso de activación química del carbón se logró obtener un método capaz de proveer muestras de carbón activado con un área específica de 1067.4 m^2/g, lo cual si bien no es tan siquiera la mitad del área que se ha reportado para este tipo de métodos este material sigue superando al carbón activado comercial en un 59.8 % su área de 667.6 m^2/g, aunado a que la muestra obtenida presentó una mayor presencia de aminas secundarias y menor distribución de tamaño de poro con valores menores a los 7 nm.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jaber, L., Namboorimadathil Backer, N., Laoui, T., Abumadi, F., Said Koujan, M. M., Abdelrazek Khalil, K., Shanableh, A. y Ali Athie, Muataz, “Recent trends in surface impregnation techniques on activated carbon for efficient pollutant removal from wastewater”, *Desalination and Water Treatment*, Vol. 319, 2024.
2. L. Zhu , Q. Wang , H. Wang , F Zhao y D. Li, “One-step chemical activation facilitates synthesis of activated carbons from Acer truncatum seed shells for premium capacitor electrodes”, *Industrial Crops & Products*, Vol. 187, 2022, pp. 1-12.
3. I. Skoczkoa, R. Guminskia E. Bosb y I. Zglobicka, “Impact of chemical activation on selected adsorption features of powdered activated carbon”, *Desalination and Water Treatment*, Vol. 243, 2021, pp. 165–179.

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A METALES PESADOS DE BACTERIAS AISLADAS DE LA PRESA "LA PURISIMA"

Karla Odil Macías Cervantes[1]*, Alma Hortensia Serafín Muñoz[2], Elcia Margareth Souza Brito[2], Aurelio Álvarez Vargas[3], Norma Leticia Gutiérrez Ortega[2].

[1]Doctorado en Ciencia y Tecnología del Agua, División de Ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, [2] Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, División de Ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato,[3] Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

*karla.macias@ugto.mx; sermuah@ugto.mx; emsbrito@gmail.com

RESUMEN

La presencia de metales y metaloides en cuerpos de agua se ha convertido en un tema prioritario de salud ambiental. La presa "La Purísima" es un importante embalse ubicado en la ciudad de Guanajuato, que además de abastecer un distrito de riego, también es empleada con fines turístico-recreativos, sin embargo, hace décadas se ha detectado que los afluentes que desembocan en la presa han estado contaminándola. El objetivo del presente trabajo fue determinar la concentración de metales y metaloides en agua, y en paralelo, aislar e identificar microorganismos presentes en este cuerpo de agua para evaluar su resistencia a metales. Los parámetros fisicoquímicos analizados de las muestras de agua fueron con base a lo establecido en la NOM-127-SSA1-2021. El análisis de los metales y metaloides fue realizado por espectrofotometría UV-vis y por espectrometría de Absorción Atómica. Para el cultivo de los microorganismos se utilizó agar nutritivo (AN) a pH 7. Para la resistencia a los metales se realizó en cajas de medio AN, LB y PYT enriquecidos con mercurio (Hg), plomo (Pb) y cromo (Cr). En la identificación de estos, se extrajo el ADN genómico (QIAamp DNA Micro Kit) que fungió como molde para la obtención del gen ribosomal 16S por PCR (LAbNet-Multigen). Los amplicones se secuenciaron en el LANBAMA del IPICYT, y los datos fueron procesados con softwares libres (BLAST del NCBI, MEGA13, MAFFT). Con base en las normas mexicanas NOM-001-SEMARNAT-2021 y NOM-127-SSA1-2021, los metales que exceden los límites máximos permisibles son Ni (0.178 ± 0.04 mgL^{-1}), Pb (0.337 ± 0.2 mgL^{-1}) y Cr (0.151 ± 0.07 mgL^{-1}); siendo Hg (0.223 ± 0.24 mgL^{-1}) el más elevado en ambas normas. Respecto a la población microbiana, se aislaron 18 cepas bacterianas. Tres de ellas mostraron resistencias los metales evaluados: *Exiguobacterium indicum* B4 (10 mM de Cr), *Klebsiella pneumoniae* B5 (5 mM de As y 3 mM de Pb) y *Citrobacter freundii* B6 (50 µM de Hg). Estos resultados sugieren que las bacterias presentes en la presa pudieron haber adquirido la resistencia a metales por adaptación al medio contaminado, así mismo esto muestra un posible riesgo a la salud de la población que emplea estas aguas por los altos niveles de metales presentes en el agua.

INTRODUCCIÓN

La presencia de metales y metaloides en cuerpos de agua se ha convertido en un tema prioritario de salud ambiental. Actualmente, en México más del 80% de los cuerpos superficiales de agua se encuentran contaminados, Este es el caso de La presa "La Purísima" ubicada en la ciudad de Guanajuato, aunque la función principal de este importante embalse es abastecer el distrito de riego No. 11, también es empleada con fines turístico-recreativos(SMAOT, 2005),y existe evidencia que desde hace décadas los afluentes que desembocan en ella, han estado contaminándola con agentes como metales pesados(Cano Rodriguez et al., 2000).

Estos agentes son altamente tóxicos, incluso a bajas concentraciones, y pueden afectar la salud poblacional desde corto a largo plazo(Yin et al., 2019), pues una de sus características es que son persistentes en el medio ambiente, son bioacumulables y no biodegradables(Donati, 2016). Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo principal de este trabajo es aislar bacterias del sitio y evaluar su resistencia a metales, como indicador de la contaminación del agua con los mismos.

TEORÍA

Las bacterias juegan un papel fundamental dentro de todos los ecosistemas en el planeta. En ambientes contaminados con metales pasa lo mismo, pues un factor determinante en la evolución y adaptación de algunas especies bacterianas es el entorno en el que se encuentran y, si este presenta elevadas concentraciones de metales pesados. Este fenómeno les permite desarrollar mecanismos para adaptarse y sobrevivir a estos sitios a pesar de los grados de contaminación que pueda tener(Cervantes et al., 2006), algunos de estos mecanismos son:

- Componentes celulares de captura de iones que neutralizan la toxicidad del metal.
- Enzimas que modifican el estado redox convirtiéndolos en formas menos tóxicas.
- Transportadores de membrana que expulsan las especies tóxicas del citoplasma celular.

Diversos estudios han demostrado que hay una gran variedad de géneros que son capaces de tolerar, bioacumular y biotransformar metales, haciéndolos opciones viables para emplearlos como biorremediadores, entre los cuales destacan *Bacillus sp., Pseudomonas sp., Actinomyces sp., Serratia sp., Enterobacter sp., Thiobacillus sp.,* y *Rhodobacter sp.* (Santana-Flores et al., 2020).
Así mismo, existe un factor importante que se relaciona directamente con la resistencia bacteriana: la resistencia a antibióticos. Este es un fenómeno ampliamente estudiado el cual se desarrolla en los plásmidos (Baker-Austin et al., 2006), razón por la cual es probable que una bacteria patógena pueda ser multirresistente a metales.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un muestreo de campo exploratorio en la zona de influencia de la Presa La Purísima (20°53'35.50" Norte, 101°16'53.70" Oeste) ubicada al sur de la Ciudad de Guanajuato, Gto, para determinar los puntos de interés, siguiendo el protocolo de la normativa mexicana. Se tomaron 5 muestras de agua y 5 de sedimentos; Las muestras de agua fueron almacenadas en botellas de plástico estériles y se ajustó el pH a 2, y las de sedimento en bolsas ziploc. Ambas fueron preservadas a 4°C hasta su traslado al laboratorio para posteriores análisis. Los parámetros fisicoquímicos analizados de las muestras de agua fueron determinados con base a lo establecido en la NOM-127-SSA1-2021. El análisis de los metales y metaloides fue realizado por espectrofotometría UV-vis y por espectrometría de Absorción Atómica, una vez que las muestras de agua fueron filtradas.

Para el cultivo de los microorganismos se inocularon las muestras en Caldo Nutritivo (CN) a pH7 y se incubaron a 37°C por 24 hrs a 120 rpm. Una vez que hubo desarrollo de biofilm se realizaron diluciones seriadas y se sembró una alícuota de 100 µl en cajas de agar nutritivo (AN) a pH 7 mediante la dispersión de la muestra con asa triangular. Posterior a ello, se realizaron resiembras de las diluciones para lograr el aislamiento de cepas puras.

Una vez que se obtuvieron los aislados bacterianos, se realizó la prueba de resistencia a los metales que se encontraron en las muestras de agua, para ello, se inocularon los aislados en cajas de AN enriquecido con Cr a pH 8, agar Luria Bertani (LB) a pH 8.5 adicionado con Hg y cajas de agar PYT a pH 8 adicionado con Pb, en diferentes concentraciones y se dejaron incubando por 48 hr a 37°C. Se seleccionaron las cepas que mayor resistencia tuvieron a los metales y se realizó la extracción de ADN de estas para determinar su género y especie. Para ello, se empleó el QIAamp DNA Micro Kit, para la obtención del gen ribosomal 16S por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Termociclador LAbNet-Multigen). Los amplicones obtenidos se secuenciaron en el LANBAMA del IPICYT, y los datos fueron procesados con softwares libres (BLAST del NCBI, MEGA13, MAFFT). Finalmente, las secuencias depuradas fueron comparadas con la base de datos del NCBI (GenBank®).

RESULTADOS

Se obtuvieron 5 muestras de agua y sedimento de la presa La Purísima (Fig.1). Tres puntos corresponden a la zona norte, por donde se recibe el afluente principal que es la conexión con el río Guanajuato. Los otros puntos se localizan en la zona sur cerca de la cortina de la presa.



Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo

Tabla 1. Coordenadas de los puntos de muestreo

Punto	Zona	Latitud Y	Longitud X
A1	Molineros	20.89841	-101.28
A2	Molineros	20.89786	-101.28
A3	Molineros	20.8977	-101.28
P1	Zangarro	20.5238	-101.16
P2	Zangarro	20.5278	-101.16

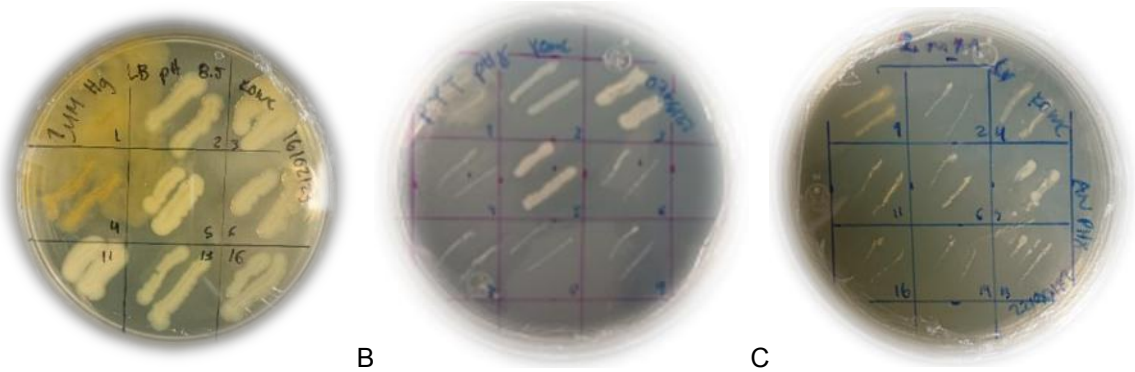
Se cuantificaron los niveles de Cr, Hg, Ni y Pb en las muestras de agua. Las concentraciones se muestran detalladamente en la tabla 2, así como su comparación con los Límites Máximos Permisibles (LMP) establecidos en las normas mexicanas NOM-001-SEMARNAT-2021 y NOM-127-SSA1-2021 que evalúan los niveles de metales en agua potable y aguas que son propiedad de la nación respectivamente.

Tabla 2. Cuantificación de metales en agua

Metal	Cuantificación	LMP NOM-001	LMP NOM-127
Cr	0.151 ± 0.07 mgL^{-1}	1.5 mgL^{-1}	0.05 mgL^{-1}
Hg	0.223 ± 0.24 mgL^{-1}	0.015 mgL^{-1}	0.006 mgL^{-1}
Ni	0.178 ± 0.04 mgL^{-1}	4 mgL^{-1}	0.07 mgL^{-1}
Pb	0.337 ± 0.2 mgL^{-1}	0.4 mgL^{-1}	0.01 mgL^{-1}

Como se puede observar en la tabla anterior, el metal que se encuentra en niveles por encima de los LMP permisibles en ambas normas es el Hg, mientras que el Cr, Ni y Pb, exceden solamente la NOM-127. La presencia de estos metales en agua puede atribuirse a diversas causas de origen antropogénico como la contaminación por el uso de gasolinas con plomo en transportes acuáticos, lixiviación de contaminantes de sitios de disposición final, descargas de aguas residuales domésticas, entre otras(Covarrubias & Cabriales, 2017). La persistencia de concentraciones elevadas de Hg puede deberse a la industria minera, por la disposición de residuos de jales de amalgamación (Menéndez & Muñoz, 2021) localizados en la ciudad desde hace varias décadas atrás (Arroyo et al., 2004), puesto que estas industrias se ubican en zonas cercanas a cuerpos de agua superficiales como ríos que, por la topografía de la ciudad funcionan como medio de transporte de contaminantes hacia la presa evaluada.

Respecto a la población microbiana determinada, se aislaron 18 cepas bacterianas, todas ellas fueron expuestas a los metales encontrados en el agua, y tres de ellas mostraron altas resistencias a los mismos, por lo que éstas fueron identificadas por técnicas moleculares. La comparación de las secuencias obtenidas con la base de datos del GenBank arrojó las siguientes asignaciones: la cepa B4 corresponde a *Exiguobacterium indicum* con un porcentaje de similitud de 99.74%, la cepa B5 corresponde a *Klebsiella. pneumoniae* con un porcentaje de similitud de 100% y finalmente la cepa B6 corresponde a *Citrobacter freundi* con un porcentaje de similitud de 100%.



A B C

Figura 2. Cepas bacterianas expuestas a medios de cultivo con metales. A) medio LB con Hg, B) medio PYT con Pb, C) medio AN con Cr.

Al exponer las cepas a metales se encontró que *E. indicum* tuvo una resistencia máxima a 10 mM de Cr, *K. pneumoniae* a 5 mM de As y 3 mM de Pb, en el caso de *C. freundi*, su máxima resistencia fue a 50 µM de Hg. Estos resultados coinciden con lo reportado por Mohapatra et al., (2017) y Yan et al., (2018). Así mismo hay evidencia que antecede su empleo en tratamientos de biorremediación de Cr, Pb y Cu (Banerjee et al., 2015; Mohapatra et al., 2017; Mohseni, 2014; Rodriguez-Castrejón et al., 2022; Sharma & Fulekar, 2009) con buenas eficiencias. Sin embargo, un factor muy importante a considerar es que algunas de estas bacterias son patógenas(Effah et al., 2020; Kasana & Pandey, 2018), lo cual es también un indicador de la mala calidad del agua de la presa.

CONCLUSIONES

Los resultados corroboran la persistencia de metales pesados en el agua del embalse, y la identificación de las cepas aisladas demostró que son patógenas y resistentes a altas concentraciones de Cr, Hg y Pb, los antecedentes de contaminación en el sitio sugieren que las cepas pudieron haber desarrollado esta característica debido al constante aporte de influentes contaminados. Es por lo anterior que se proyecta un posible riesgo a la salud (por el contacto con metales y carga microbiana patógena) de la población que está expuesta a estas aguas de manera cotidiana, ya sea por actividades domésticas, económicas o recreativas. Este trabajo presenta una gran contribución dentro del campo de estudio de la microbiología del sitio y su potencial uso para el tratamiento de aguas contaminadas con las cepas identificadas, puesto que este es el primer reporte de ello.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arroyo, Y. R. R., Ledesma, R. M. P., & Grabach, C. D. S. (2004). Características geológicas y mineralógicas e historia de extracción del Distrito de Guanajuato, México. Posibles escenarios geoquímicos para los residuos mineros. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 21(2), 268-284.
2. Baker-Austin, C., Wright, M. S., Stepanauskas, R., & McArthur, J. (2006). Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends in microbiology*, 14(4), 176-182.
3. Banerjee, G., Pandey, S., Ray, A. K., & Kumar, R. (2015). Bioremediation of heavy metals by a novel bacterial strain Enterobacter cloacae and its antioxidant enzyme activity, flocculant production, and protein expression in presence of lead, cadmium, and nickel. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226, 1-9.
4. Cano Rodriguez, I., Vallejo, F., Mendez, V., Barbosa, P., Rodriguez, E., & Alvarado, A. (2000). Determinacion de contaminantes en la presa la purisima y su efecto en el sistema de pozos puentecillas de Guanajuato. In Spanish.
5. Cervantes, C., Espino-Saldaña, A., Acevedo-Aguilar, F., León-Rodríguez, I., Rivera-Cano, M., Avila-Rodríguez, M.,…Rodríguez-Zavala, J. (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. *Revista latinoamericana de microbiología*, 48(2), 203-210.

6. Covarrubias, S. A., & Cabriales, J. J. P. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33, 7-21.
7. Donati, E. R. (2016). Heavy metals in the environment: microorganisms and bioremediation. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 100, 2967-2984.
8. Effah, C. Y., Sun, T., Liu, S., & Wu, Y. (2020). Klebsiella pneumoniae: an increasing threat to public health. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 19, 1-9.
9. Kasana, R. C., & Pandey, C. (2018). Exiguobacterium: an overview of a versatile genus with potential in industry and agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(1), 141-156.
10. Menéndez, J., & Muñoz, S. (2021). Contaminación del agua y suelo por los relaves mineros. *Paideia XXI*, 11(1), 141-154.
11. Mohapatra, R. K., Parhi, P. K., Thatoi, H., & Panda, C. R. (2017). Bioreduction of hexavalent chromium by Exiguobacterium indicum strain MW1 isolated from marine water of Paradip Port, Odisha, India. *Chemistry and Ecology*, 33(2), 114-130.
12. Mohseni, M. (2014). Bioremediation activity of Pb (II) resistance Citrobacter sp. MKH2 isolated from heavy metal contaminated sites in Iran. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran,* 25(2), 105-110.
13. Rodriguez-Castrejón, U. E., Serafin-Muñoz, A. H., Alvarez-Vargas, A., Cruz-Jímenez, G., & Noriega-Luna, B. (2022). Isolation and molecular identification of native As-resistant bacteria: As (III) and As (V) removal capacity and possible mechanism of detoxification. *Archives of Microbiology,* 204(3), 191.
14. Santana-Flores, A., Sánchez-Ayala, A., Romero-Ramírez, Y., Toledo-Hernández, E., Ortega-Acosta, S. Á., & Toribio-Jiménez, J. (2020). Aislamiento e identificación de bacterias tolerantes y bioacumuladoras de metales pesados, obtenidas de los jales mineros El Fraile, México. *Terra Latinoamericana,* 38(1), 67-75.
15. Sharma, J., & Fulekar, M. (2009). Potential of Citrobacter freundii for bioaccumulation of heavy metal–copper. *Biol Med*, 1(3), 7-14.
16. SMAOT. (2005). Presa La Purísima y su Zona de Influencia. Guanajuato.gob
17. Yan, J., Zhong, K., Wang, S., Chen, Z., Hu, H., Jian, Z.,…Zhang, H. (2018). Carbon metabolism and sulfate respiration by a non-conventional Citrobacter freundii strain SR10 with potential application in removal of metals and metalloids. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 238-246.
18. Yin, K., Wang, Q., Lv, M., & Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, 360, 1553-1563..

HORMIGA CHICATANA (*Atta Mexicana*): FUENTE DE ACEITE Y DE ÁCIDOS GRASOS

Tito Emilio Ariza Ortega[1], José Alberto Ariza Ortega[2], José Arias Rico[3], Alejandro Chehue Romero[4], y Judith Coyotl Huerta[5]

[1]Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad de Medicina Familiar número 57, Puebla, Puebla, 72560, México. [2]Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Nutrición, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, 42090, México. [3]Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Enfermería, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, 42090, México. [4]Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud, Área Académica de Farmacia, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo, 42090, México. [5]Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala, San Diego Xocoyucan, Tlaxcala, 90122, México.
alberto190375@hotmail.com

RESUMEN

La hormiga chicatana (*Atta mexicana*) es la hembra reproductora de las hormigas cortadoras de hojas por lo que se les consideran como una plaga, y en temporada de lluvias salen volando del hormiguero para reproducirse y morir y en este proceso son recolectadas para su consumo en diferentes Estados de México. Sin embargo, hay pocos estudios sobre su aceite y sus ácidos grasos. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue cuantificar ácidos grasos (AG) en la hormiga chicatana. La hormiga fue homogeinizada hasta alcanzar un tamaño de partícula de 250 µ. Se peso 1 g de polvo de hormiga que se introdujo en un dedal para extraer su aceite con un equipo de Soxhlet y la cuantificación de los AG fue realizada por cromatografía de gases. Se extrajo un 32.00% de aceite y los AG saturados fueron los mayoritarios (58.40 %) comparado con los AG insaturados (41.60%) donde los AG predominantes fueron el ácido heneicosanoico (C21:0) y eicosadienoico (C20:2) con 46.35 % y 31.43 % respectivamente. La hormiga chicatana es una opción para extraer aceite y obtener AGs.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos pueden clasificar de acuerdo a su concentración de nutrientes como proteínas, lípidos, carbohidratos y componentes menores (minerales y vitaminas)[1]. Los alimentos tanto vegetales como animales contienen una mezcla de nutrientes, pero su contenido y función fisiológica dependen de factores que los afectan, como el estrés ambiental[2]. Además, cuando existen restricciones en el acceso a los alimentos por razones económicas principalmente, las necesidades nutricionales básicas de energía y nutrientes esenciales pueden no satisfacerse, lo que puede causar desnutrición y afectar la salud[3].

Por lo anterior, una opción serían los insectos comestibles que aportan cantidades adecuadas pero no excesivas de todos estos nutrientes y son económicos. Sin embargo, en algunas especies se desconoce su composición química como en la hormiga chicana (*Atta mexicana*)[4]. Las hormigas chicatanas viven en colonias y son las hembras reproductoras de las hormigas cortadoras de hojas y este material vegetal, se suministra a hongos simbiontes del género *Leucoagaricus* para su cultivo y estas hormigas necesitan grandes cantidades de follaje y durante este proceso se producen infestaciones severas, defoliando una planta al día, por lo que se consideran una plaga[4]. En temporada de lluvias estas hormigas salen volando del hormiguero para reproducirse y morir[4] y es en este proceso donde se recolectan para su consumo, formando parte de la gastronomía en diferentes estados de México y para su preparación, se les retiran las alas y la cabeza, se asan y se consumen en salsa, en tacos o frescas, añadiendo chile en polvo y limón y su precio ronda los $1,000.00 pesos por kilogramo[5]. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue cuantificar ácidos grasos (AG) en la hormiga chicatana.

TEORÍA

Los insectos debido a su morfología son muy poco usados como alimento, como lo es la hormiga chicatana (*Atta mexicana*) que contiene una mayor concentración lípidos, y actualmente se buscan alternativas para la obtención de estos compuestos químicos, por lo que se podría comprobar por medio de la cromatografía de gases su identificación y cuantificación de ácidos grasos y diversificar su aceite con un uso en industrias.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra

Para este trabajo, se adquirieron 500 g de hormiga chicatana deshidratada en diciembre tal como se consume en las ciudades del estado de Tlaxcala, México. Posteriormente, la muestra de estudio se homogeneizó hasta alcanzar un tamaño de partícula de 250 µm.

Extracción de aceite

Extracción por Soxhlet

La muestra homogeneizada de hormiga deshidratada (1 g) se colocó en un dedal de extracción. El dedal se depositó dentro del extractor Soxhlet. A continuación se vertió hexano en un matraz de fondo redondo conectado al extractor y al matraz, junto con el refrigerante. El matraz de fondo redondo con hexano se calentó (60 °C) y este disolvente se volatilizó. El condensado de hexano se vertió en el extractor que contenía el portadedal y durante la extracción, el extractor se llenó gradualmente con disolvente condensado. Cuando el disolvente alcanzaba un nivel de rebose se crea un sifón que contiene los analitos del portadedal y los descarga de nuevo en el matraz de fondo redondo reiniciando el ciclo. El proceso tuvo una duración de 4 h[6]. La mezcla de solvente y aceite se separó mediante un evaporador rotatorio al vacío a una temperatura de 50 °C y una velocidad de rotación media (Büchi, Baño Calefactor B-490, México), acoplado a una bomba de vacío (Büchi, Vacuum Rump V-700, México).

Análisis instrumental

Cromatografía de gases (GC) acoplada a espectrómetro de masas (SM).

El contenido de ácidos grasos se calculó como el porcentaje total de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs). Para esta determinación, se utilizó un cromatógrafo de gases (GC HP-7890 USA) equipado con un espectrómetro de masas 5973N. Se empleó una columna con las siguientes especificaciones: DB-5ms, columna GC J&W Agilent J&W Ultra Inert, de 30 m de longitud × 0.25 mm de diámetro interior × película de 0.25 µm (5 % fenil) metilpolisiloxano. Los FAMEs se extrajeron según la metodología de la International Union of Pure and Applied Chemistry[7]. El volumen de inyección fue de 2 µL (con un radio de división de 20:2). La temperatura del horno fue de 100 °C (con 4 min de retención) y se incrementó a 250 °C a una velocidad de 3 °C min^{-1} (con 10 min de retención). El sistema de inyección y el detector se mantuvieron a 230 y 250 °C, respectivamente. El gas portador fue N_2 con un flujo de 1.2 mL min^{-1}. La comparación de los ácidos grasos se realizó con el estándar de 37 componentes de ácidos grasos (Food Industry FAMEs Mix, Restek). Cada análisis se realizó por duplicado.

Análisis estadístico

Los resultados se obtuvieron mediante estadística descriptiva (media ± desviación estándar) utilizando el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 22.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa un aumento en el contenido de ácidos grasos saturados, que podría deberse al estrés causado por el déficit hídrico y la temperatura a la que se desarrolla la planta[8] y cando estas plantas son consumidas por insectos, estos compuestos químicos incrementan en su metabolismo[9].

Tabla 1. Porcentaje de ácidos grasos en la hormiga chicatana (*Atta mexicana*).

Número	Nombre	Fórmula	Ácidos grasos
Saturados			
1	Butanoico	C4:0	0.69 ± 0.00
2	Caproico	C6:0	0.29 ± 0.00
3	Caprílico	C8:0	0.65 ± 0.00
4	Undecanoico	C11:0	0.32 ± 0.00
5	Láurico	C12:0	1.22 ± 0.10
6	Tridecanoico	C13:0	0.48± 0.00
7	Pentadecanoico	C15:0	0.34 ± 0.00
8	Palmítico	C16:0	0.42 ± 0.00
9	Margárico	C17:0	0.50 ± 0.00
10	Esteárico	C18:0	1.91 ± 0.10
11	Nonadecanoico	C19:0	1.96 ± 0.00
12	Araquidónico	C20:0	1.84 ± 0.00
13	Heneicosanoico	C21:0	46.35 ± 0.46
14	Behénico	C22:0	0.63 ± 0.00
15	Tricosanoico	C23:0	0.82 ± 0.00
Total			58.40
Insaturados			
Número	Nombre	Fórmula	Chicatana
1	Linoleico	C18:2	5.78 ± 0.50
2	Paulínico	C20:1	2.29 ± 0.20
3	γ-Linolénico	C18:3	2.09 ± 0.20
4	Eicosadienoico	C20:2	31.43 ± 0.30
Total			41.60

Los valores son promedios de dos repeticiones ± DE.

Además, Hazel[10] indicó que los lípidos de membrana saturados mejora el estado de empaquetamiento lipídico, lo que provoca una mayor eficiencia de acoplamiento, lo que permite a los seres vivos ectotérmicos mantener la actividad enzimática y la homeostasis energética en ambientes térmicos fluctuantes. Por otro lado, el porcentaje de ácidos grasos insaturados en la hormiga chicatana fue menor. Holmbeck y Rand[11] suplementaron una dieta con ácido oleico y ácido araquidónico en larvas y adultos de *Drosophila* expuestos a una temperatura fría, y observaron que la suplementación con ácido araquidónico originó la presencia de ácido γ-linolénico y cambios en la distribución de la longitud de la cadena hacia ácidos grasos más largos y en los perfiles lipídicos en su metabolismo, debido a que los ácidos grasos de la dieta se incorporan a sus sistemas celulares, modulando su función mitocondrial y su longevidad, por lo que en la hormiga pudo haber ejercido esos beneficios,.

CONCLUSIONES

La hormiga chicatana (*Atta mexicana*) representa una fuente alternativa y sostenible de aceite y ácidos grasos con potencial nutricional y funcional. El análisis de su composición lipídica reveló un perfil equilibrado de ácidos grasos esenciales, destacando su contenido de ácido eicosadienoico, benéfico para la salud humana. Además, su recolección estacional y bajo impacto ambiental la convierten en una opción prometedora dentro de la alimentación sustentable. La valorización de esta especie como recurso alimenticio contribuye a la diversificación de fuentes de lípidos, al aprovechamiento de la biodiversidad regional y al rescate de tradiciones alimentarias de comunidades locales.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Fardet, “Complex foods versus functional foods, nutraceuticals and dietary supplements: differential health impact (Part 1)”, AIHTEI., 2015.
2. M. S. Adams, B. R. Adams, A. C. Wessman, B. Demmig-Adams, “Nutritional cues tie living organisms to their environment and its sustainability”, Front. Nutr., 2016, pp. 3:28.
3. J. A. Caswell, A. L. Yaktine, “Individual, household, and environmental factors affecting food choices and access”, NAP., 2013.
4. R. D. A. Infante, G. J. E. Valenzuela, “Chicatanas: las hormigas que corta hojas para cultivar hongos”, INECOL. 2020. https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/469-chicatanas-las-hormigas-que-cortan-hojas-para-cultivar-hongos
5. Y. Matías, “Aumenta demanda y precio de chicatanas en Oaxaca”, El imparcial el mejor diario de Oaxaca, Economía., 2018. https://imparcialoaxaca.mx/economia/176913/aumenta-demanda-y-precio-de-chicatanas-en-oaxaca/
6. Official Methods of Analysis of AOAC International (AOAC, EUA, 2019).
7. International Union of Pure and Applied Chemistry (Blackwell Scientific Oxford, Great Britain, 2009).
8. Q. Ali, M. Ashraf, “Exogenously applied glycinebetaine enhances seed and seed oil quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions”, Environ. Exp. Bot., 2011, Vol. 71, pp. 249-259.
9. D. Stanley, “Prostaglandins and other eicosanoids in insects: biological significance”, Ann. Rev. Entomol., 2006, Vol. 51, pp. 25-44.
10. J. R. Hazel, “Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation?”, Ann. Rev. Phys. 1995, Vol. 57, pp. 19-42.
11. A. M. Holmbeck, M. D. Rand, “Dietary fatty acids and temperature modulate mitochondrial function and longevity in *Drosophila*”, J. Gerontol. Translational Articles., 2015, Vol. 70, pp. 1343-1354.

SÍNTESIS DE UN MATERIAL ADSORBENTE A BASE DE ÓXIDO DE GRAFENO PARA LA REMOCIÓN DE PARACETAMOL EN SOLUCIÓN ACUOSA

Daniel Ramírez de Alba, Rita Patakfalvi, José Antonio Pérez Tavares, Juan José Maldonado Ríos

Universidad de Guadalajara Centro Universitario de los Lagos.
daniel.ramirez2539@alumnos.udg.mx

RESUMEN

El paracetamol es ampliamente utilizado como analgésico y ha sido identificado en diversos cuerpos de agua, incluyendo los superficiales, subterráneos y residuales. Este compuesto es considerado un contaminante emergente debido a sus posibles efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente ante una exposición a largo plazo[1,2]. En respuesta a esta problemática, surge la necesidad de crear tecnologías y materiales novedosos que permitan la remoción efectiva de contaminantes del agua. La adsorción es una de las técnicas más empleadas por su eficiencia y versatilidad en procesos de tratamiento[3].

En este trabajo, se presenta el diseño de un material adsorbente constituido por óxido de grafeno y un polímero estabilizante, que posee la capacidad de remover paracetamol presente en soluciones acuosas y que fue puesto a prueba para evaluar la capacidad de adsorción de dicho contaminante.

Se sintetizó óxido de grafeno con el método de Hummers modificado a partir de grafito en un proceso químico utilizando permanganato de potasio, ácido sulfúrico y ácido fosfórico[4]. Para la síntesis del compuesto óxido de grafeno-polímero se utilizó polietilenimina (PEI). Los materiales obtenidos, se caracterizaron por medio de espectroscopía infrarroja. Para la evaluación de la capacidad de adsorción, se prepararon disoluciones acuosas con concentraciones de 20 y 50 ppm de paracetamol. El cambio de concentración del paracetamol después del proceso de adsorción se evaluó con espectroscopia UV-visible.

Los resultados de las pruebas de adsorción mostraron que los compuestos óxido de grafeno-PEI tienen mayor capacidad de remover el paracetamol del agua en comparación con el óxido de grafeno que se sintetizó a través de la metodología previamente descrita. Las pruebas de adsorción realizadas demostraron que la capacidad de adsorción de los materiales óxido de grafeno-PEI dependen del adecuado tratamiento térmico en el compuesto ya que se logró una remoción desde el 50 % hasta el 70 % con los mejores materiales adsorbente. Dicha capacidad de adsorción disminuye considerablemente con materiales semejantes sin algún tipo de tratamiento térmico, ya que no fueron capaces de adsorber más del 7 % de las concentraciones iniciales de paracetamol.

El óxido de grafeno-PEI destaca como un material prometedor para remover paracetamol en soluciones acuosas. Su eficacia puede optimizarse mediante tratamientos térmicos y ajustes en su composición, lo que abre oportunidades para desarrollar materiales más eficientes en la eliminación de contaminantes emergentes. Este trabajo subraya la importancia de seguir innovando en tecnologías para enfrentar los desafíos ambientales actuales.

INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes químicos antropogénicos son un grupo de compuestos que provienen de actividades industriales y representan un riesgo potencial para la salud de las personas, los animales y el medio ambiente. Su descubrimiento es relativamente reciente y abarcan una gran variedad de productos creados por el ser humano con fines específicos como artículos de cuidado personal, productos de limpieza, pesticidas, herbicidas, aditivos industriales, petroquímicos, polímeros y medicamentos tanto legales como ilegales[5].

Se les llama "emergentes" porque no fue hasta el siglo XX que comenzaron a ser detectados en el medio ambiente a pesar de que comenzaron a dispersarse de manera global desde la Revolución Industrial en el siglo XVIII. Por esta razón se les denomina como emergentes, debido a los recientes descubrimientos y monitoreos para este tipo de contaminantes en la naturaleza. De hecho, fue en 2001 cuando se usó por primera vez el término “contaminante emergente”[5].

Los contaminantes emergentes químicos se dispersan en la naturaleza como consecuencia de actividades humanas que están relacionadas con el consumo como en la disposición de residuos de cualquier producto sintetizado a nivel industrial. En el caso de los fármacos, en la naturaleza se pueden presentar en el medio ambiente principalmente al ser desechados sin ningún tratamiento como residuo o a través de la excreción de desechos humanos luego del consumo de una dosis[6,7] como se ilustra en la figura 1.

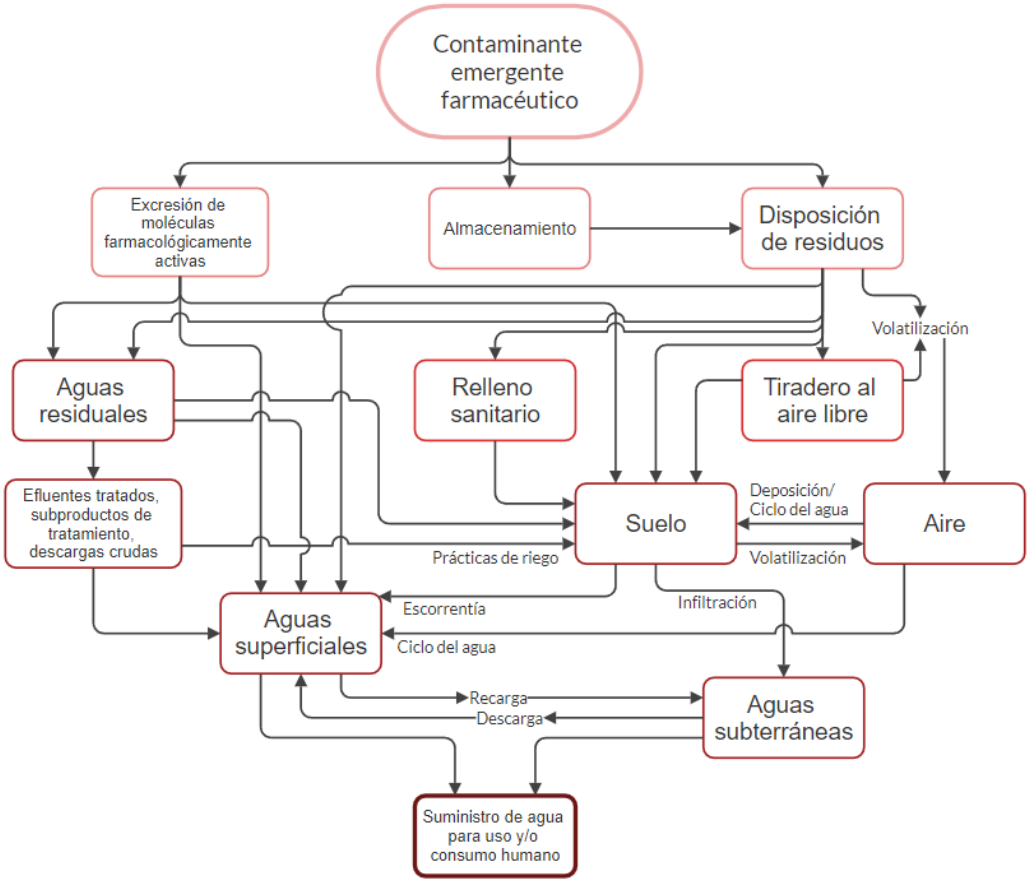


Fig. 1. Rutas de propagación para contaminantes emergentes farmacéuticos. Elaboración propia a partir de referencias 6 y 7.

Uno de los primeros aportes que dirigió a la humanidad hacia el estudio de los contaminantes emergentes fue el libro *Primavera silenciosa*[8] publicado en 1962, escrito por la bióloga estadounidense Rachel Carson. En esta obra, Carson destacó el uso del pesticida diclorodifeniltricloroetano (DDT) y otros productos químicos agrícolas como una amenaza para la salud humana, animal y ambiental[9]. Esta investigación marcó un hito que sería en inicio para la prohibición del uso masivo de DDT en Estados Unidos en 1972 y eventualmente en el resto del mundo debido a los daños al sistema nervioso humano por el uso de DDT.

Otro estudio pionero sobre contaminantes emergentes fue publicado en 1965 en el artículo titulado *Contaminated and natural lead environments of man*[10]. Su autor, el geoquímico estadounidense Clair Patterson, presentó pruebas de un aumento significativo en los niveles de plomo en la sangre de los estadounidenses en comparación con un nivel de referencia. Patterson atribuyó esta exposición a la liberación de aproximadamente un millón de toneladas de plomo a la atmósfera cada año. Su investigación alertó a la comunidad científica sobre este peligro generalizado y contribuyó a la prohibición del uso del tetraetilo de plomo, un aditivo utilizado para mejorar la eficiencia de los motores de automóviles que al consumirse en una reacción de combustión se libera el plomo al aire. Actualmente, el uso de plomo en gasolinas está prohibido debido a sus graves efectos sobre la salud[11].

En cuanto a los contaminantes emergentes farmacéuticos en el agua, una de las primeras investigaciones se llevó a cabo en 1977. En ese año, Charles Higaite y Daniel L. Azarnoff reportaron la presencia de clorofenoxiisobutirato (un medicamento empleado para tratar alteraciones en los niveles de colesterol) y ácido salicílico (un metabolito de la aspirina) en efluentes de aguas residuales[12].

Los contaminantes emergentes pueden encontrarse en el aire, el agua y el suelo en concentraciones muy bajas. Los órdenes de concentración varían desde nanogramos por litro o por kilogramo (ng/L o ng/kg) y pueden incrementar hasta órdenes de microgramo por litro o por kilogramo (µg/L o µg/kg)[5]. Detectar, medir y remover con efectividad este tipo de contaminantes son desafíos que han impulsado el desarrollo de nuevas tecnologías y métodos para su análisis, así como para la remoción del medio ambiente.

El interés por este tipo de contaminantes ha incrementado en las últimas décadas. Entre 2000 y 2019, países como Estados Unidos, China, España, Italia, Canadá, Brasil, Alemania, Francia, Reino Unido e India lideraron las investigaciones en este campo[9].Específicamente se tiene información recopilada de diferentes investigaciones en las que se reportan ubicaciones de agua en diferentes ubicaciones del mundo en las que se ha detectado presencia de paracetamol en diferentes concentraciones[1].

En México la información sobre estos contaminantes es más limitada. Esto se debe, en parte, a la complejidad de analizar muestras ambientales que por lo general contienen mezclas de múltiples componentes. A pesar de esto, es evidente que los contaminantes emergentes también están presentes en el medio ambiente del país, aunque no se hayan estudiado con la misma profundidad que en otras naciones. En el caso del paracetamol se tiene el antecedente de investigaciones en las que se logró demostrar la presencia de este fármaco en cuerpos de aguas residuales en hospitales que eventualmente tendrán que ser tratadas[13].

Esta investigación busca aportar en el campo de contaminantes emergentes, específicamente para la separación de paracetamol, también conocido como acetaminofén utilizando el proceso de adsorción. El paracetamol es uno de los analgésicos y antipiréticos más consumidos en el mundo[1]. La propuesta consiste en utilizar un compuesto conformado por óxido de grafeno y polietilenimina (OG-PEI) como material adsorbente para remover el paracetamol del agua a partir de una solución preparada en laboratorio.

TEORÍA

Paracetamol: Uso, demanda, características fisicoquímicas y excreción

El paracetamol, conocido también como acetaminofén, es un medicamento ampliamente utilizado para aliviar el dolor y reducir la fiebre, lo que lo convierte en uno de los fármacos más consumidos a nivel mundial. Otras formas en las que se le conoce son con la nomenclatura de 4-hidroxiacetanilida, N-acetil-para-aminofenol o 4-acetamidofenol[14].

Su fórmula química es $C_8H_9NO_2$, con un peso molecular de 151.16 g/mol. Presenta un punto de ebullición entre 169 y 171 °C, un punto de autoignición de 540 °C y se caracteriza por tener baja solubilidad en solventes no polares e hidrocarburos clorados, aunque es altamente soluble en solventes de polaridad media como por ejemplo la dietilamina. Su densidad es de 1.293 g/cm³ y tiene un pH ligeramente ácido, que varía entre 5.5 y 6.5[15,16,17]. Además, está identificado con el número CAS 103-90-2, y su estructura química se muestra en la figura 2.

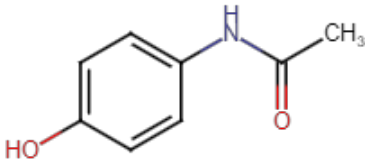


Fig. 2. Estructura química de molécula de paracetamol. Elaboración propia a partir de referencia 16.

Cuando el paracetamol ingresa al cuerpo humano, al igual que otros medicamentos, es absorbido por el torrente sanguíneo y metabolizado por diversas enzimas. Una de las formas en que el paracetamol llega a las aguas residuales es a través de su excreción por la orina. En 1993, un estudio realizado por S.H.L. Thomas titulado *Paracetamol (acetaminophen) poisoning*[14], reveló que en individuos sanos que consumen una dosis normal de paracetamol por vía oral, este se elimina del cuerpo en forma de metabolitos y como compuesto sin modificar en diferentes proporciones, según lo indicado en la tabla 1.

Tabla 1. Presencia de paracetamol y metabolitos encontrados en la orina después de consumir una dosis normal de paracetamol administrada vía oral según S.H.L Thomas. Elaboración propia a partir de la referencia 14.

Fármaco/Metabolito	% respecto a la dosis consumida
Paracetamol	5
Conjugado de glucurónido	55
Conjugado de sulfato	30
Conjugado de ácido mercaptúrico	8
Total	**98**

Dicho lo anterior, no hay que perder de vista otra causa por la que los medicamentos se pueden propagar en el medio ambiente. Si bien el paracetamol, al igual que todos los medicamentos, está diseñado para su ingesta, no sólo puede presentarse en el medio ambiente a través de la excreción, sino que también puede ocurrir debido a una disposición inadecuada de residuos[6,7].

Situación del paracetamol como contaminante emergente en el mundo

En cuanto información reciente sobre las concentraciones de paracetamol presentes específicamente en el agua, se han llevado a cabo diversas investigaciones para comprender y estimar cantidades de este medicamento que se encuentra en distintos cuerpos de agua. Aunque el tema sigue en evolución y cada año surgen nuevos hallazgos, en 2016 se realizó un estudio que recopiló datos sobre la presencia de 16 medicamentos, incluido el paracetamol, en diferentes partes del mundo en aguas superficiales, subterráneas y fuentes destinadas al consumo o uso humano[2]. En dicha investigación se reportaron hallazgos de paracetamol en 29 países. También se reportaron los valores máximos y promedio de las concentraciones de estos contaminantes en aguas superficiales de diversas regiones, así como el número de muestras analizadas para cada uno de los 16 medicamentos. Las concentraciones para el caso del paracetamol se presentan en la tabla 2.

En el caso de México se tiene conocimiento de investigaciones en las que se ha monitoreado concentraciones de este contaminante en específico en aguas residuales de hospitales. Prueba de

ello es la investigación llamada "*Análisis de fármacos en aguas residuales de tres hospitales de la ciudad de Puebla, México*"[13] en la que se cuantificaron nueve fármacos, incluido el paracetamol, encontrados en las aguas residuales de tres diferentes hospitales de esa localidad. Se registraron valores de concentración de paracetamol que oscilaban desde cero hasta 110 µg/L. Sin embargo, se requiere mayor cantidad de monitoreos a nivel nacional para darle seguimiento a la situación actual de contaminantes emergentes.

Tabla 2. Concentraciones de paracetamol encontradas en cuerpos de agua superficial en diferentes regiones del mundo. Elaboración propia a partir de referencia 2.

Número de muestras de agua superficial analizadas				
África	Asia-Pacífico	Este de Europa	Latinoamérica y el Caribe	Oeste de Europa y otros
6	132	68	112	629
Promedio de concentración de paracetamol encontrado en agua superficial (µg/l)				
5.667	0.023	0.028	0.740	0.046
Concentraciones máximas encontradas de paracetamol en agua superficial (µg/l)				
16	9.07	0.61	37	230

Ecotoxicología del paracetamol

El paracetamol está diseñado para aliviar el dolor y disminuir la fiebre. Una dosis normal de paracetamol para adultos con funciones hepáticas saludables varía desde 325 mg hasta 1 g y se recomienda que el tiempo entre cada dosis sea de 4 a 6 horas y evitar consumir menos de 3 g de paracetamol al día[18]. Se sabe también que una sobredosis de este medicamento afectará principalmente al hígado[14]. Sin embargo, se desconoce cuáles podrían ser los efectos de una exposición a bajas concentraciones a largo plazo en seres humanos. Aunque se han estudiado valores críticos de concentraciones de paracetamol que provocan daños en la fisiología de diferentes especies acuáticas (tabla 3)[1].

Tabla 3. Efectos ecotoxicológicos encontrados en algunas especies ante exposición a paracetamol. Elaboración propia con referencia 1.

Especie	Valor crítico ecotoxicológico de concentración	Efectos observados
Cyprinus carpio **(carpa común)**	0.0013 mg/L	• Malformaciones embrionarias.
Rhamdia quelen **(bagre negro)**	0.0025 mg/L	• Interrupciones en el sistema cerebral, específicamente en el hipotálamo e hipófisis. • Alteraciones en la espermatogénesis y hematología. • Daño hepático
Ruditapes philippinarum **(almeja japonesa)**	0.50 mg/L	• Estrés oxidativo • Alteraciones en el metabolismo • Neurotoxicidad
Embriones de *Xenopus* (género de ranas carnívoras)	755.81 mg/L	• Alteraciones metabólicas • Edema • Malformaciones en órganos internos y en cola • Muerte
Daphnia magna **(crustáceo planctónico)**	5.00 mg/L	• Alteración genética • Alteración en la homeostasis producida por estrés oxidativo
Danio rerio **(pez cebra)**	0.74 mg/L	• Hipopigmentación • Malformaciones embrionarias

- Muerte

Adsorción como método de separación

Para el tratamiento de aguas existe un método de separación ampliamente utilizado y estudiado para la separación de contaminantes disueltos en el agua[9]. Este proceso implica la transferencia de moléculas desde un fluido, como el agua, a una superficie sólida, aunque el fluido también puede encontrarse en fase gaseosa. Se le conoce como adsorbato a la molécula que se desea separar y como material adsorbente al sólido que entra en contacto con el fluido para llevar a cabo la separación.

La adsorción se puede clasificar en dos tipos de acuerdo a la interacción que se presente entre el adsorbato y el material adsorbente: quimisorción (interacción química) o físisorción (interacción física). La adsorción suele ser reversible, lo que permite regenerar el adsorbente para su reutilización, dependiendo de la naturaleza física o química de la interacción entre ambos componentes[3].

En el presente trabajo se presentan experimentos preliminares de adsorción que permiten observar diferencias en cuanto al desempeño de diferentes materiales para remover paracetamol de una solución acuosa.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de óxido de grafeno

El óxido de grafeno (OG) se sintetizó mediante el método de Hummers modificado por Marcano *et al*.[4] Para ello, se dispersaron 3 g de polvo de grafito, <20 µm, sintético de Sigma Aldrich en un recipiente de un litro, al que se añadió una mezcla de 360 mL de ácido sulfúrico 95-98% y 40 mL de ácido fosfórico 85% de Karal (proporción 9:1 en volumen). La mezcla se sometió a agitación magnética a 200 rpm, y posteriormente se incorporaron cuidadosamente 18 g de permanganato de potasio grado de ensayo de Baker Analyzed. La reacción se llevó a cabo a 50 °C durante 18 horas con agitación constante.

Tras este tiempo, se detuvieron el calentamiento y la agitación, y la temperatura de la mezcla se redujo mediante un baño de hielo hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se preparó una mezcla de 400 mL de hielo y 3 mL de peróxido de hidrógeno al 50 % marca Karal, manteniéndola en un baño de hielo. Luego, la mezcla de reacción se añadió lentamente a esta solución, observándose una reacción exotérmica. La suspensión resultante se agitó magnéticamente a 200 rpm hasta alcanzar la temperatura ambiente.

Posteriormente, se llevó a cabo una centrifugación a 6000 rpm durante 30 minutos. Se descartó el sobrenadante y se conservó el precipitado, el cual presentó una coloración café-blanquecina. Para eliminar impurezas, el sólido se sometió a lavados secuenciales con diferentes solventes, centrifugando a 6000 rpm por 30 minutos en cada etapa. Primero, se realizaron dos lavados con agua destilada de la marca Quiabsa, seguidos de tres lavados con ácido clorhídrico al 30 % preparado a partir de una solución al 36.5-38% de la marca J.T Baker y dos lavados finales con etanol al 96 % de Golden Bell Reactivos. En cada ciclo, el sobrenadante se desechó y el precipitado se redispersó en el solvente correspondiente antes de la siguiente centrifugación.

El producto obtenido, de color café, se sometió a diálisis en agua desionizada de la marca Golden Bell Reactivos utilizando una membrana de celulosa dentro de un recipiente de 4 litros. Se aplicó agitación magnética a 400 rpm para favorecer la transferencia de masa, reemplazando el agua cada 24 horas. Este proceso se mantuvo por 15 días para asegurar la eliminación de residuos ácidos y otras impurezas.

Finalmente, el óxido de grafeno dializado se transfirió a una botella de propileno con tapa y se almacenó protegido de la luz solar. Como último paso, el material se liofilizó para su conservación obteniendo una masa aproximada de 3.66 g.

Síntesis de óxido de grafeno-polietilenimina (OG-PEI)

Para la realización de pruebas de adsorción preliminares, se sintetizaron cinco productos de OG-PEI en el que cada uno de ellos contuvo diferentes proporciones másicas de óxido de grafeno y PEI. Se siguió la metodología propuesta por Geng *et al.*[19] con algunas modificaciones. Brevemente, se pesaron 0.19 g de óxido de grafeno liofilizado y se diluyó en 40 mL de etilenglicol y cierta cantidad de PEI en solución 50 % w/v en agua (H_2O) Mw 750,000 de Sigma Aldrich de acuerdo a la tabla 4. Cada solución de óxido de grafeno y PEI se dispersó utilizando un ultrasonicador marca Vibra-Cell modelo GEX130 con una amplitud al 40 % durante una hora con intervalos de cinco segundos de dispersión seguidos de cinco segundos de inactividad y los productos fueron centrifugados a 6500 rpm durante 15 minutos. Se realizaron tres lavados con etanol y tres con agua desionizada y finalmente fueron liofilizados. Para los casos de OG:PEI 1:2-180 y de OG:PEI 1:3-180, una vez dispersadas las soluciones, se transfirieron a un recipiente de teflón con recubrimiento de acero inoxidable y la reacción solvotermal se colocó a 180 °C durante 20 horas aproximadamente y posteriormente fueron centrifugados y liofilizados.

Tabla 4. Descripción de la composición de los materiales adsorbentes para las pruebas preliminares

Identificador	OG:PEI 1:1	OG:PEI 1:2	OG:PEI 1:2-180	OG:PEI 1:3	OG:PEI 1:3-180
Descripción	Óxido de grafeno y PEI en proporción másica 1 a 1	Óxido de grafeno y PEI en proporción másica 1 a 2	Óxido de grafeno y PEI en proporción másica 1 a 2 y con tratamiento térmico a 180 °C	Óxido de grafeno y PEI en proporción másica 1 a 3	Óxido de grafeno y PEI en proporción másica 1 a 3 y con tratamiento térmico a 180 °C
Masa de PEI utilizada	0.38 g	0.76 g		1.14 g	

Los productos se caracterizaron con espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y se utilizó la técnica de pastilla de bromuro de potasio (KBr) para la visualización de las señales como se observa en la figura 3..

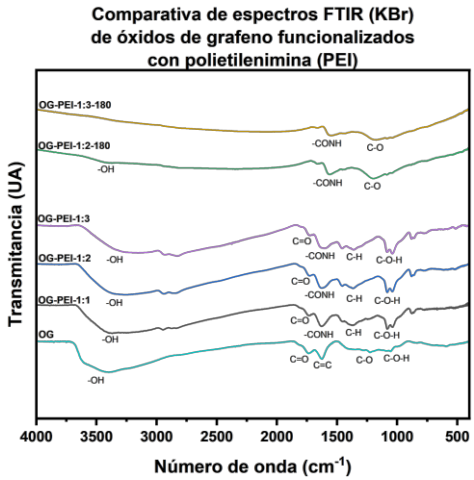


Fig. 3. Comparativa de espectros FTIR de resultados de los materiales sintetizados a partir de óxido de grafeno y PEI

Pruebas de adsorción

Se realizaron dos pruebas de adsorción con los materiales sintetizados de OG-PEI ante diferentes concentraciones iniciales de paracetamol en agua desionizada. Se prepararon soluciones de paracetamol a partir del producto en el catálogo de Sigma Aldrich USP, 98.0-102.0% a determinada concentración con un volumen de 25 mL utilizando agua desionizada y a cada solución se agregó 25 mg del material adsorbente. Además, se preparó una solución de paracetamol sin ningún material adsorbente como referencia para la concentración inicial. Para garantizar un mezclado homogéneo se utilizó un agitador rotativo con una velocidad de 40 rpm y además cada experimento se repitió dos veces a temperatura ambiente. Después de 24 horas se detuvo el proceso de adsorción y los materiales adsorbentes fueron separados mediante centrifugación a 10000 rpm. El sobrenadante fue analizado mediante espectroscopía ultravioleta para el cálculo de la concentración de paracetamol después del proceso de adsorción ya que esta molécula tiene la característica de presentar una señal a una longitud de onda de 243 nm como se observa en la figura 4.

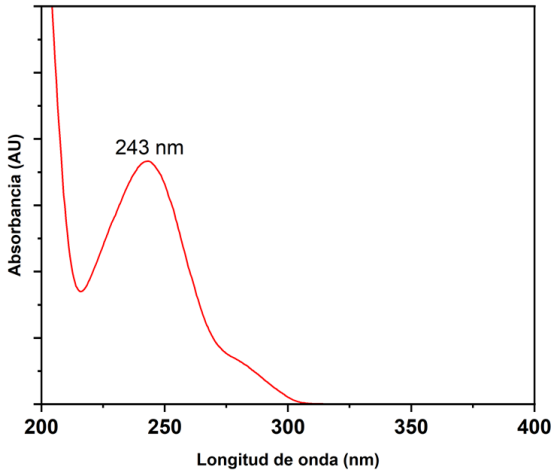


Fig. 4. Representación del espectro en región ultravioleta – visible para la molécula de paracetamol.

RESULTADOS

De acuerdo a los resultados de las pruebas de adsorción, se encontró una mayor adsorción de paracetamol en aquellos materiales constituidos por óxido de grafeno y PEI sometidos al tratamiento térmico de 180 °C comparado con los materiales homólogos sin este tratamiento térmico. En las figuras 5 y 6 se observan los espectros de paracetamol antes y después de la adsorción.

Se puede apreciar una diferencia importante ente las absorbancias del conjunto de materiales que no recibieron tratamiento térmico con respecto a los que sí fueron calentados a 180 °C. De acuerdo a la ley de Beer-Lambert, a menores valores de absorbancia menor es la concentración de paracetamol. Usando una curva de calibración, se calcularon las concentraciones de paracetamol y así el porcentaje de su remoción para cada muestra.

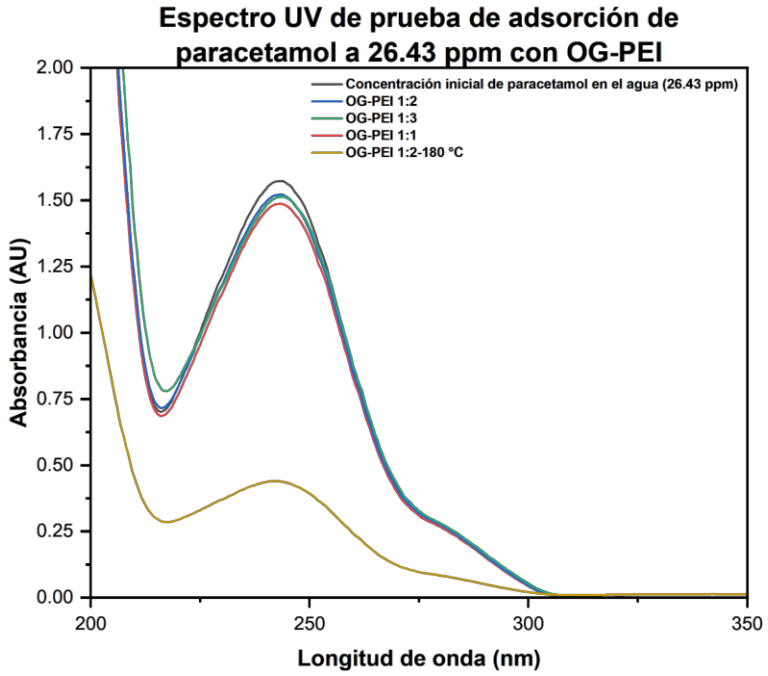


Fig. 5. Espectros UV de resultados de prueba de adsorción de paracetamol (26.43 ppm) utilizando materiales de óxido de grafeno-PEI.

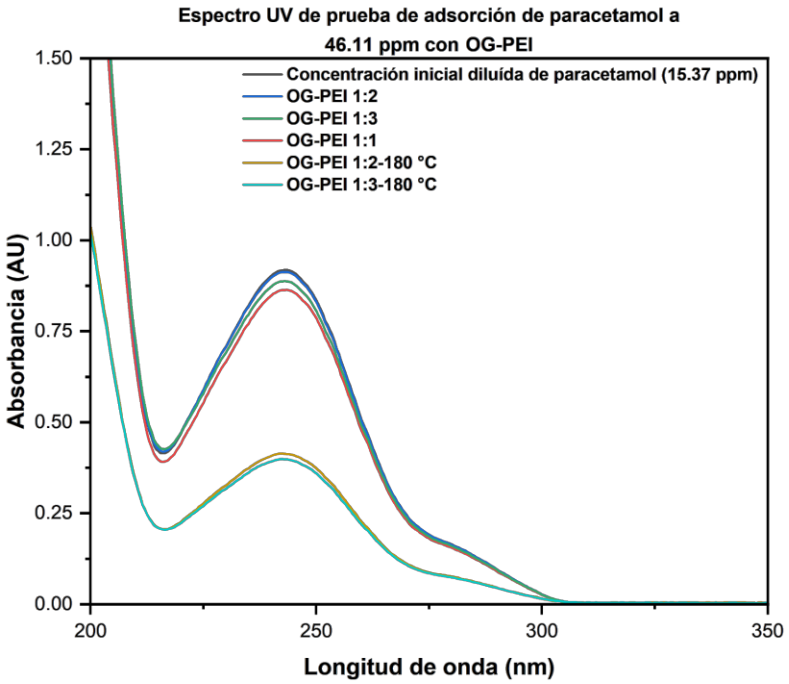


Fig. 6. Espectros UV de resultados de prueba de adsorción de paracetamol (46.11 ppm) utilizando materiales de óxido de grafeno-PEI.

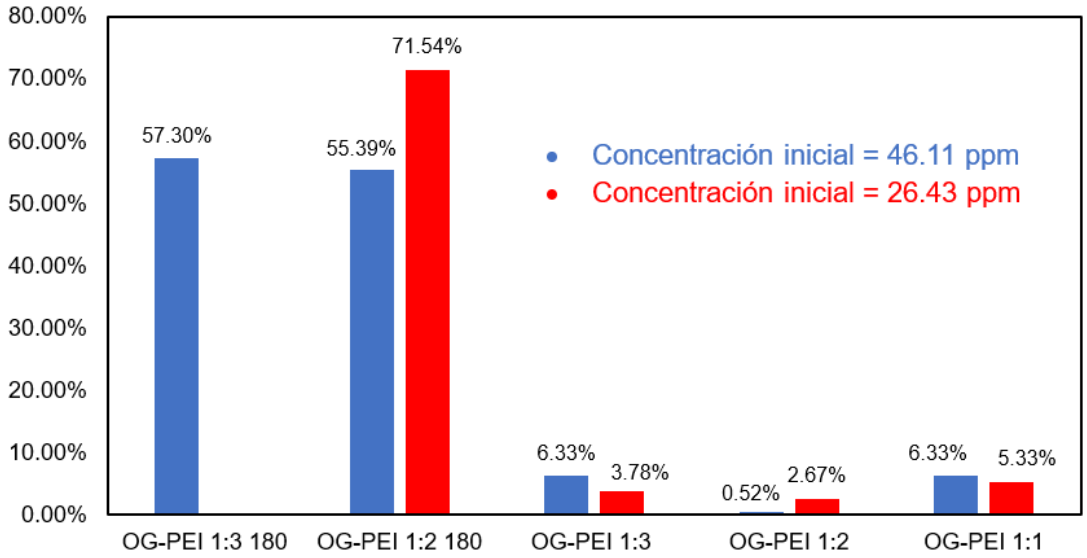


Fig. 7. Porcentajes de remoción de paracetamol después de las pruebas de adsorción

Los resultados encontrados indican que aquellos materiales conformados por óxido de grafeno y PEI en esta investigación que demostraron ser mejores adsorbentes de paracetamol en solución acuosa fueron aquellos que recibieron tratamiento térmico (OG:PEI 1:2-180 y OG:PEI 1:3-180). Se logró una remoción de más del 50 % del paracetamol en la prueba de adsorción de paracetamol a partir de una solución de 46.11 ppm en el caso de ambos y para el OG:PEI 1:2-180, logró remover más del 70 % de paracetamol de una solución con concentración inicial de 26.43 %. Mientras que los materiales semejantes que no recibieron el tratamiento térmico, no lograron remover más del 7 % en ningún caso.

CONCLUSIONES

Los resultados de las pruebas de adsorción indicaron que no existe un impacto notorio en el desempeño de adsorción de paracetamol de los materiales constituidos por óxido de grafeno y PEI en proporciones másicas 1:1, 1:2 ni 1:3. La afirmación se basa en los resultados similares en cuanto a la concentración de paracetamol después de un proceso de adsorción para los grupos de materiales sin el tratamiento térmico (OG:PEI 1:1, OG:PEI 1:2 y OG:PEI 1:3) y valores cercanos entre sí en el grupo de materiales que cuentan con el tratamiento térmico (OG:PEI 1:2-180 y OG:PEI 1:3-180) aunque no se descarta ni se niega la existencia de un material cuya composición de óxido de grafeno y PEI maximice la adsorción y que sea diferente a las analizadas en la presente investigación. Se observa que el tratamiento térmico aplicado a los compuestos, mejora la capacidad de adsorción del material óxido de grafeno-PEI de manera significativa. Estos hallazgos sugieren que existe una consecuencia en el material después de ser sometido a un calentamiento que mejoran las interacciones físicas entre el mismo cuando se utiliza como material adsorbente y entre el paracetamol como adsorbato a pesar de que existe una reducción parcial en el óxido de grafeno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Y. Vieira et al., “Paracetamol environmental remediation and ecotoxicology: a review,” Oct. 01, 2024, Springer Nature. doi: 10.1007/s10311-024-01751-1.
2. T. aus der Beek et al., “Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives,” Environ Toxicol Chem, vol. 35, no. 4, pp. 823–835, Apr. 2016, doi: 10.1002/etc.3339.
3. K. Y. Foo and B. H. Hameed, “Insights into the modeling of adsorption isotherm systems,” Jan. 01, 2010. doi: 10.1016/j.cej.2009.09.013.
4. D. C. Marcano et al., “Improved synthesis of graphene oxide,” ACS Nano, vol. 4, no. 8, pp. 4806–4814, Aug. 2010, doi: 10.1021/nn1006368.
5. F. Wang et al., “Emerging contaminants: A One Health perspective,” Jul. 01, 2024, Cell Press. doi: 10.1016/j.xinn.2024.100612.
6. J. Blasco and A. Delvalls, “Impact of emergent contaminants in the environment: Environmental risk assessment,” Handbook of Environmental Chemistry, Volume 5: Water Pollution, vol. 5 S1, pp. 169–188, 2008, doi: 10.1007/698_5_107.
7. J. E. Cortés Muñoz, A. Martín, D. César, G. Calderón, M. Leticia, and M. Palacios, “REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES DE IMPORTANCIA AMBIENTAL Y SANITARIA INFORME FINAL TC1003.1 Remoción de contaminantes emergentes de importancia ambiental y sanitaria. Segunda etapa,” Dec. 2010. Accessed: Sep. 15, 2024. [Online]. Available: http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/1467/TC-1003.1.pdf
8. R. Carson, “Primavera silenciosa,” Boston, Jun. 1962. Accessed: Sep. 15, 2024. [Online]. Available: https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2023/10/Primavera-Silenciosa-SMCEE.pdf
9. H. Ramírez-Malule, D. H. Quiñones-Murillo, and D. Manotas-Duque, “Emerging contaminants as global environmental hazards. A bibliometric analysis,” Emerg Contam, vol. 6, pp. 179–193, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.emcon.2020.05.001.
10. C. C. Patterson, “Contaminated and natural lead environments of man,” Arch Environ Health, vol. 11, no. 3, pp. 344–360, 1965, doi: 10.1080/00039896.1965.10664229.
11. Organización Mundial de la Salud, “Intoxicación por plomo y salud.” Accessed: Sep. 15, 2024. [Online]. Available: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health
12. C. Higaite and D. L. Azarnoff, “Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent,” 1977. doi: 10.1016/0024-3205(77)90329-0.
13. L. I. Castro-Pastrana, M. Cerro-López, M. L. Toledo-Wall, L. M. Gómez-Oliván, and M. D. Saldívar-Santiago, “Análisis de fármacos en aguas residuales de tres hospitales de la ciudad de Puebla, México,” Ingeniería del agua, vol. 25, no. 1, p. 59, Jan. 2021, doi: 10.4995/ia.2021.13660.
14. S. H. L. Thomas, “PARACETAMOL (ACETAMINOPHEN) POISONING,” 1993. doi: https://doi.org/10.1016/0163-7258(93)90023-7.
15. Thermo Fisher Scientific, “FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD PARACETAMOL,” Belgium, Sep. 2023. Accessed: Sep. 21, 2024. [Online]. Available: https://www.fishersci.es/chemicalProductData_uk/wercs?itemCode=10306310&lang=ES
16. Frank. Ellis, Paracetamol : a curriculum resource. Royal Society of Chemistry, 2002.
17. R. A. Granberg and Å. C. Rasmuson, “Solubility of paracetamol in pure solvents,” J Chem Eng Data, vol. 44, no. 6, pp. 1391–1395, Nov. 1999, doi: 10.1021/je990124v.
18. B. T. Saragiotto, C. Abdel Shaheed, and C. G. Maher, “Paracetamol for pain in adults,” Dec. 31, 2019, BMJ Publishing Group. doi: 10.1136/bmj.l6693.
19. J. Geng, Y. Yin, Q. Liang, Z. Zhu, and H. Luo, “Polyethyleneimine cross-linked graphene oxide for removing hazardous hexavalent chromium: Adsorption performance and

mechanism," Chemical Engineering Journal, vol. 361, pp. 1497–1510, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.cej.2018.10.141.

ELECTROCOAGULACIÓN CON EXTRACTO DE *Moringa Olifeira* EN EL TRATAMIENTO DE AGUA PARA LA REMOCIÓN DE DUREZA

Fabricio G. Mendez-Landin[1], Neali Valencia-Espinoza[1], Locksley F. Castañeda[2], Patricio Espinoza-Montero[3], Alain S. Conejo-Dávila[4] y Oscar M. Rodríguez-Narváez[5]

[1]Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato, [2]Universidad de Guanajuato, [3]Pontificia Universidad Católica del Ecuador, [4]MicroPrime, [5]Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas.
orodriguez@ciatec.mx

RESUMEN

La electrocoagulación (EC) es una tecnología no convencional de tratamiento de agua basado en emplear electrodos (e.g., hierro y aluminio) para la eliminación de contaminantes con altas eficiencia en comparación con la coagulación convencional (e.g., química), así como una menor generación de lodos y evita el almacenamiento de productos químicos. Sin embargo, estas presentan desventajas, como la formación de lodos con una alta concentración de hierro y/o aluminio (dependiendo del electrodo utilizado), el costo de la electricidad y la formación de óxidos impermeables en la película del cátodo que causa pérdida de energía y eficiencia del proceso. Por lo tanto, se han utilizado procesos acoplados, destacando el acoplamiento con materiales de origen vegetal como coagulantes. De los diferentes procesos, se destacó el desempeño utilizando Moringa oleifera (MO) para el proceso acoplado, es decir, proceso EC/MO por lograr altas tasas de eliminación de contaminantes del agua (e.g., flúor) y es viable, de bajo costo y de fácil acceso para comunidades rurales aisladas. Tomando en cuenta esto, se procedió a utilizar el proceso EC/MO para la remoción de dureza de calcio y magnesio del agua, donde el proceso de generación de extracto de Moringa fue utilizado el método salting-out, que consiste en el uso de NaCl para la extracción de polifenoles, flavonoides, proteínas y azúcar, donde su cuantificación arrojó valores de 34.418, 1.614, 0.192 y 79.033 mg/L, respectivamente. Finalmente, el extracto caracterizado se añadió en diferentes relaciones volumen/volumen a un reactor de tipo Batch que contenía una solución sintética de dureza con una concentración de 400 mg/L de cada una de las sales (CaCO y MgCO). Una vez preparada la solución, se insertaron diferentes configuraciones de electrodos (Al/Al, Al/Fe, Fe/Al y Fe/Fe) en la solución, finalmente se sometió a diferentes densidades de corriente (32.89 y 57.45 mA/cm2). Obteniendo una remoción del 100% de dureza de ambas sales con la configuración de electrodos de hierro como cátodo y aluminio como ánodo. No obstante, para la remoción de magnesio se necesitaron dosis de extracto de 12.5 a 25 mL y densidades de corriente de 32.89 a 57.45 mA/cm2.

INTRODUCCIÓN

La dureza del agua, provocada principalmente por presencia de iones de calcio y magnesio, representan un desafío significativo para la potabilización y su uso dentro de la industria. Las aguas duras pueden ocasionar incrustaciones en sistemas de distribución, calderas e intercambiadores de calor, reduciendo su eficiencia operativa y aumentado los costos de mantenimiento. Para abordar este problema se cuenta con diversos métodos de tratamiento, entre ellos la electrocoagulación, siendo esta una técnica basa en electroquímica que utiliza electrodos metálicos de hierro o aluminio para generar coagulantes in situ capaces de remover sólidos disueltos y otros contaminantes.

La electrocoagulación presenta limitaciones como la formación de lodos con alta concentración metálica y el consumo energético derivado de la resistencia eléctrica del sistema. No obstante, la electrocoagulación tiene desventajas, principalmente relacionados con el gasto y costo energético, es por ello que, para reducir el consumo de energía, estudios se han centrado en mejorar la eficiencia de la electrocoagulación, particularmente mediante la incorporación de extractos de aceites esenciales de semillas que actúan de manera similar a los coagulantes y electrolitos químicos, dentro de los cuales ha destacado el uso de la *Moringa oleifera* (MO) debido a que se ha

informado que el extracto es un compuesto eficaz para mejorar la eficiencia de eliminación en los procesos de coagulación. Esto se atribuye principalmente a la presencia de proteínas catiónicas con pesos moleculares que oscilan entre 6,5 y 48 kDa y puntos isoeléctricos entre 9 y 11, todo ello permitiendo que este actúe como un polielectrolito con carga positiva, que ayuda a neutralizar la carga negativa de las partículas coloidales.

Por ello, en el presente estudio evalúa la eficacia del proceso combinando electrocoagulación con *Moringa oleífera* ya que esta ha demostrado propiedades coagulantes notables gracias a su contenido de flavonoides, polifenoles, proteínas y azucares, por lo que se analiza la eficiencia de la remoción de dureza ($CaCO_3$ y $MgCO_3$) en agua sintética. Se analiza la variación de diferentes configuraciones de electrodos, densidad de corriente y concentración del extracto de semilla de *Moringa*. Esta investigación busca contribuir al desarrollo de tecnologías de tratamiento de agua sostenible, accesibles y aplicables en comunidades rurales o con recursos limitados.

TEORIA

Dureza del agua

La dureza del agua es la cantidad de magnesio (Mg) y calcio (Ca) disueltos en el agua, por lo que la dureza total se puede definir como la suma de las concentraciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} que se expresan así mg/L de CaCO3 (Shariati-Rad et al., 2020). Además, se puede medir en ppm (partes por millón), donde se considera blanda si es inferior a 60 ppm o dura si es superior a 180 ppm. Por otro lado, la dureza del agua se clasifica como agua blanda, moderadamente blanda, ligeramente dura, dura o muy dura, dependiendo de la concentración de carbonato cálcico presente en ella (Shariati-Radet al., 2020).

A nivel industrial, el agua dura presenta grandes inconvenientes en cuanto a la eficiencia de los equipos (Raziani et al., 2020). Esto se debe a que, al calentarse, se forman precipitados de carbonatos metálicos insolubles que conducen a la generación de incrustaciones, que pueden obstruir las tuberías y reducir el calor (Contruvo et al., 2017). Además, se puede producir la presencia de gases ácidos, como el dióxido de carbono CO2 debido a que disminuye la presión en la fase acuosa y aumenta su valor de pH, lo que conlleva una menor eficiencia y rendimiento de las bombas de agua (Arce et al., 2017).

Tratamiento de eliminación de la dureza.

La dureza del agua está causada principalmente por la presencia de iones de calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), que pueden provocar incrustaciones en tuberías, calderas e intercambiadores de calor, reduciendo su eficiencia y vida útil. Se han desarrollado diversos métodos físicos, químicos y electroquímicos para eliminar la dureza, como, por ejemplo, ablandamiento con cal y ceniza de sosa, intercambio iónico, ósmosis inversa (OI), electrodiálisis (ED). No obstante, existen otros métodos no convencionales, dentro de los cuales han resaltado los procesos electroquímicos como la electrocoagulación. El proceso de electrocoagulación (EC) es un tipo de tratamiento de aguas residuales en el que se exponen a un medio electroquímico en el que se introducen coagulantes. A partir de este tratamiento se pueden eliminar sólidos en suspensión, material coloidal y metales, así como otros sólidos disueltos en el agua y en las aguas residuales. (García et al., 2017) Además, genera coagulantes in situ mediante la electrólisis de electrodos de aluminio o hierro, formando hidróxidos metálicos capaces de adsorber y precipitar iones de dureza. Es una alternativa prometedora por su menor uso de productos químicos y su alta eficacia en la eliminación de contaminantes.

Recientemente, la electrocoagulación ha sido acoplada con extractos de plantas, pero, aunque la información específica sobre esta combinación es limitada, se ha explorado el uso de coagulantes naturales derivados de plantas, en procesos de coagulación. Estos coagulantes naturales pueden complementar la EC, mejorando la eficiencia del tratamiento y reduciendo la dependencia de productos químicos sintéticos. Es importante destacar que la investigación en esta área está en

etapas iniciales, y se requieren más estudios para comprender completamente las entre la EC y los extractos de plantas.

Moringa oleífera

La *Moringa oleifera* es un árbol con raíces gruesas, abundantes flores y frutos elongados. Este tiene una esperanza de vida de aproximadamente 20 años, puede crecer en suelos con un pH de entre 4.5 y 8 y llega a una altura de entre 5 y 10 metros en periodos de tiempo relativamente cortos (Gandji et al., 2018; Milla et al., 2021). La especie es originaria del sur de Asia, sin embargo, se ha logrado naturalizar en distintas partes del mundo debido a su adaptabilidad tanto a climas húmedos como secos (Gandji et al., 2018). Y principalmente sus hojas cuentan con cantidades sustanciales de vitaminas A, C y E, así como proteínas, potasio, hierro, calcio, magnesio y fitonutrientes como carotenoides, ácido ascórbico y tocoferoles. También cabe destacar que esta planta es una excelente fuente de antioxidantes, mostrando contenidos significativamente mayores a otros frutos que son conocidos por tener una alta concentración de los mismos (i.e. fresas, bayas de goji y manzanas granny smith) (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018
;Patil et al., 2022).

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del extracto de semilla de *Moringa oleífera* (coagulante)

Para preparar el extracto, se utilizó un método de salting-out preparando una solución salina con NaCl a una concentración de 50 g/L, añadiendo polvo de semilla pulverizada de *M. oleífera*, a una concentración de 100 g/L y agitando durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez templado o terminada la agitación del extracto, este fue filtrado a vacío dos veces, con papel de filtro de 100 µm de poro.

Determinación de la concentración de flavonoides

Las muestras secas se mezclaron con metanol al 70% en una proporción de 1 mL por cada 50 mg. Las muestras se mantuvieron en agitación durante 24 h en la oscuridad a temperatura ambiente y una vez transcurrido el tiempo se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante. Este proceso se repitió hasta obtener una solución clara sin partículas en suspensión. Para la cuantificación de flavonoides, se colocó en la placa 12.5 µL de la muestra con metanol, se añadió 75 µL de $NaNO_2$ al 5% y se incubó durante 5 min a temperatura ambiente en ausencia de luz. Posteriormente, se añadieron 15 mL de $AlCl_3$*$6H_2O$ al 10% y se incubó de nuevo durante 5 min a temperatura ambiente, igualmente en ausencia de luz. Por último, se añadieron 50 mL de NaOH 1 M y 165 mL de H_2O destilada estéril y se realizó la lectura de absorbancia a 510 nm. Al mismo tiempo, se leyó la curva de calibración preparada a partir de una solución madre de quercetina a 0.5 mg/mL. Los ensayos se realizaron un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos.

Determinación de la concentración de polifenoles

Se añadieron 250 µL de metanol al 70% a las muestras secas en un tubo Eppendorff y se dejaron agitando en ausencia de luz durante 24 h. Se centrifugaron durante 15 min a 10,000 rpm y se separó el sobrenadante. Para medir la absorbancia, se añadieron 237 µL de agua destilada estéril, 45 µL de Na2CO3 al 15%, 3 µL de muestra con metanol y 15 µL de reactivo de Folin al 10%. Se incubó en ausencia de luz durante 5 min a temperatura ambiente y se leyeron las absorbancias a 760 nm. Del mismo modo, se llevó a cabo la lectura de la curva de calibración preparada a partir de una solución madre de ácido gálico a una concentración de 2 mg/mL.

Determinación de la concentración de proteínas

Las muestras secas se suspendieron mediante agitación en vórtex en 50 µL de agua destilada estéril. Posteriormente, se colocaron 10 µL de las muestras suspendidas en sus respectivos pocillos y se añadieron 200 µL de una solución de reactivo de Bradford preparada en una proporción volumétrica 1:4. Se incubaron en ausencia de luz durante 5 min a temperatura ambiente y se realizó la lectura de absorbancia a 595 nm. Además, se preparó una curva de calibración de una solución madre de BSA a 2 mg/mL y se realizó la lectura de absorbancia a la misma longitud de onda. Los ensayos se realizaron un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos.

Determinación de la concentración de azúcar

Para la concentración total de azúcar, las muestras secas se prepararon mezclándolas con etanol al 96% en una proporción de 1.5 mL por 100 mg y se incubaron a 4°C durante 15 min. A continuación, se añadieron a cada placa perforada 40 µL de la muestra pretratada, 100 µL de una solución de antrona y H_2SO_4 con una concentración de 2 mg/mL. La placa se incubó a 92°C durante 3 min a baño maría y se dejó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, se secó en un horno a 45°C durante 15 min. Por último, las muestras se midieron a una longitud de onda de 630 nm. La curva de calibración se realizó utilizando una solución madre de glucosa de 0.4 g/L y su lectura fue llevada a cabo en la misma placa que el resto de las muestras. Los ensayos se realizaron un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos.

Electrocoagulación en sistema Bach

Se preparó un agua contaminada sintética con una concentración de 400 mg/mL de $CaCO_3$ o $MgCO_3$ en un matraz de 500 mL. En esta se agregaron 12.5 o 25 mL del extracto de semilla para poder empezar la MO/EC. Se utilizó una fuente de energía para poder llegar a densidades de corriente 32.89 o 57.45 mA/cm^2 y un soporte para colocar unas barras de metales (Al/Al, Fe/Fe, Al/Fe, Fe/Al) como cátodos y ánodos, con una separación de 1 cm entre cada una, y teniendo un área cada una de 79.7 cm^2. Este proceso se llevó a cabo durante 40 min y se tomaron muestras cada 10 min, para poder analizar la remoción de la dureza a lo largo del proceso.

Tabla 1. Nomenclatura de las corridas realizadas en la MO\EC

Muestra	Ánodo	Cátodo	Contaminante	Densidad de corriente (mA/cm^2)	Volumen del extracto (mL)
C1	Fe	Fe	$MgCO_3$	32.89	25
C2	Fe	Fe	$MgCO_3$	57.449	12.5
C3	Fe	Al	$CaCO_3$	32.89	12.5
C4	Al	Al	$MgCO_3$	57.449	25

RESULTADOS

Caracterización de el extracto.

Del extracto se realizó la caracterización de la concentración de proteínas, polifenoles, flavonoides y azucares totales. Como se muestra en la Tabla 2 el contenido de proteínas en el extracto tiene un valor por debajo de las demás biomoléculas, siendo esta menor al 0.1% de las biomoléculas cuantificadas. Esto nos puede indicar que las proteínas no contribuyen en la coagulación en el proceso, dado que se encuentran en menor proporción.

Por otro lado, la presencia de los flavonoides y polifenoles nos pueden indicar que serán los encargados de realizar la coagulación y sedimentar el contaminante, dado que estas biomoléculas presentan cadenas largas con grupos funcionales ácidos carboxilos, los cuales, al estar en contacto, podrían interactuar entre ellos formando los lodos en el proceso y encapsulando los iones metálicos

disueltos, como también al contaminante utilizado (Herrera- Rocha et al., 2022).

Tabla 2. Concentración de biomoléculas (flavonoides, proteínas, azucares y polifenoles) de *Moringa oleífera* en el extracto de semilla.

Fuente	Flavonoides (mg/L)	Proteínas (mg/L)	Azúcares (mg/L)	Polifenoles (mg/L)
Semilla	1.614	0.192	79.033	34.418

Análisis de Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR ATR)

El espectro FT-IR ATR de la muestra C1 (Figura 1a), revela la presencia de diversos grupos funcionales característicos de compuestos orgánicos e inorgánicos. La banda ancha observada alrededor de 3400 cm^{-1} se asocia a la vibración de elongación del grupo hidroxilo (O–H), que se puede atribuir tanto al agua retenida en la matriz del lodo como a los polisacáridos y alcoholes presentes en el extracto de semilla. Asimismo, las bandas identificadas entre 2920 y 2850 cm^{-1} corresponden a los estiramientos C–H de grupos metilo ($–CH_3$) y metileno ($–CH_2–$), demostrando la presencia de compuestos orgánicos alifáticos como lípidos, proteínas y polisacáridos de origen vegetal. No obstante, en la región de carbonilos, el espectro muestra una banda definida entre 1740 y 1700 cm^{-1}, asociada a los estiramientos C=O de ácidos carboxílicos, ésteres o amidas, la cual nos puede indicar la presencia de los componentes del extracto vegetal, particularmente ácidos grasos y proteínas. Adicionalmente, la banda en el intervalo de 1600–1550 cm^{-1} combina la deformación N–H (banda amida II de proteínas) con vibraciones de enlaces C=C aromáticos, indicando la presencia de compuestos fenólicos derivados de la *Moringa oleifera.*

Por otro lado, otras bandas significativas incluyen una señal entre 1400 y 1380 cm^{-1}, asignable a grupos carboxilato (COO^-), que evidencia la formación de sales orgánicas producto de la interacción entre cationes metálicos (Ca^{2+}, Mg^{2+}) y los ácidos carboxílicos presentes en la solución tratada. En el rango de 1100 a 1000 cm^{-1}, se observan múltiples bandas asociadas a estiramientos C–O, características de polisacáridos y azúcares del extracto natural. Finalmente, en la región de bajas frecuencias (600–500 cm^{-1}), las vibraciones metal-oxígeno (M–O) confirman la presencia de hidróxidos metálicos como $Al(OH)_3$, $Fe(OH)_3$, $Ca(OH)_2$ y $Mg(OH)_2$, formados durante el proceso de electrocoagulación.

Para el espectro FT-IR ATR de la muestra C2 (Figura 1b), se aprecia una variación en la composición de los grupos funcionales, derivada de una diferencia en los parámetros de operación (tipo de electrodo, volumen del extracto usado o densidad de corriente). En la muestra C2 se observa una banda ancha alrededor de 3300 cm^{-1}, asociada al estiramiento O–H, lo cual confirma la presencia de grupos hidroxilo provenientes de agua retenida o compuestos orgánicos hidroxilados. También se presenta un conjunto de bandas entre 2950 y 2850 cm^{-1}, correspondientes a estiramientos C–H de cadenas alifáticas, lo que evidencia la presencia de compuestos orgánicos como proteínas o lípidos. La región entre 1700 y 1600 cm^{-1} muestra una banda bien definida, indicando presencia de grupos carbonilo (C=O) y enlaces N–H, lo que se asocia a proteínas o amidas del extracto de semilla.

El espectro de C3 (Figua 1c) presenta una banda ancha e intensa alrededor de 3400 cm^{-1}, correspondiente al estiramiento O–H, que confirma una alta presencia de hidroxilos, relacionados tanto con agua retenida como con polisacáridos o compuestos fenólicos. Se observan bandas entre 2920–2850 cm^{-1} que indican grupos alifáticos C–H. En la región entre 1700–1600 cm^{-1}, se registra una señal amplia que corresponde a grupos carbonilo (C=O) y enlaces N–H, lo que señala la presencia de proteínas y flavonoides. Como también se destaca un patrón complejo y definido en la región de 1500–500 cm^{-1}, con picos múltiples que indican una alta concentración de compuestos inorgánicos como sales metálicas e hidróxidos, así como una fuerte interacción metal-orgánica.

No obstante, el espectro de C4 (Figura d) también presenta un grupo O–H marcado (~3400 cm^{-1}), aunque menos intenso que en C3, indicando presencia de agua y alcoholes, pero en menor proporción. Las bandas alifáticas (C–H) se mantienen en 2850–2920 cm^{-1}, pero con menor

profundidad. La región 1700–1600 cm^{-1} sigue indicando la presencia de proteínas y compuestos carbonílicos, aunque con menor intensidad comparada con C3. En la región baja del espectro (1500–500 cm^{-1}), se observan picos más definidos que en C2 pero menos complejos que en C3, lo cual sugiere una composición intermedia en cuanto a contenido metálico y orgánico.

El análisis de los cuatro espectros FTIR evidencia cómo las condiciones operativas del proceso de electrocoagulación (tipo de electrodo, densidad de corriente, dosificación del coagulante natural) influyen directamente en la composición química de los lodos generados. C3 representa el perfil más cargado, mientras que C2 refleja la matriz más limpia y menos compleja, siendo C1 y C4 casos intermedios. Esta información es esencial para optimizar el tratamiento y la gestión de los residuos sólidos derivados del proceso.

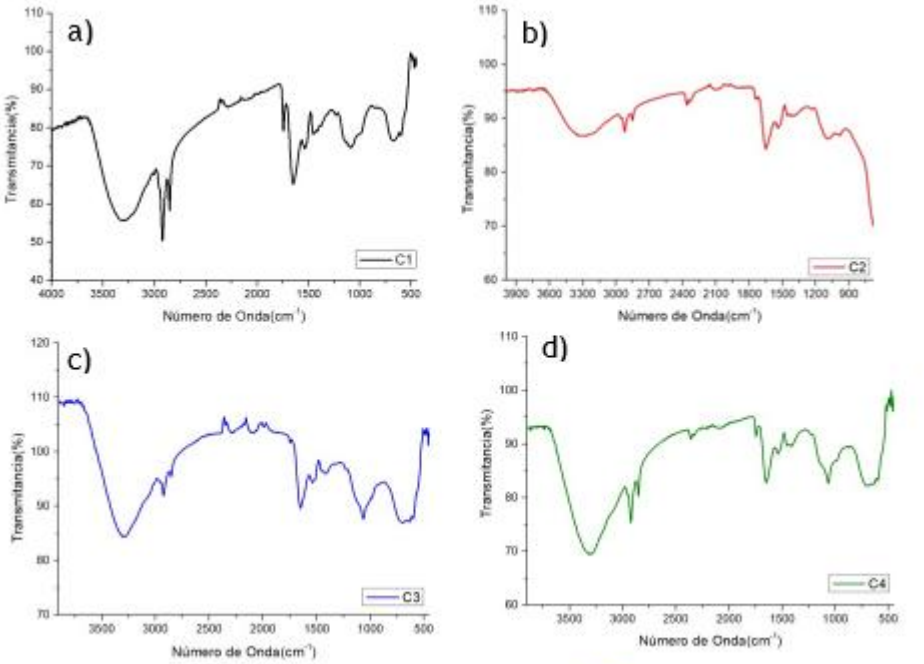


Figura 1. Espectros FT-IR ATR de las corridas a)C1, b)C2, c)C3 y d)C4

Análisis de la Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Mediante este análisis se pueden visualizar las imágenes de las muestras C1, C2, C3 y C4, en el que se muestran partículas irregulares con formas fibrosas, entrelazadas en una membrana de origen biológico, lo cual nos puede decir, que se encuentran entrelazados los sedimentos en el extracto de semilla. También se observan partículas más pequeñas obscuras los cuales los podemos inferir al contaminante que se removió.

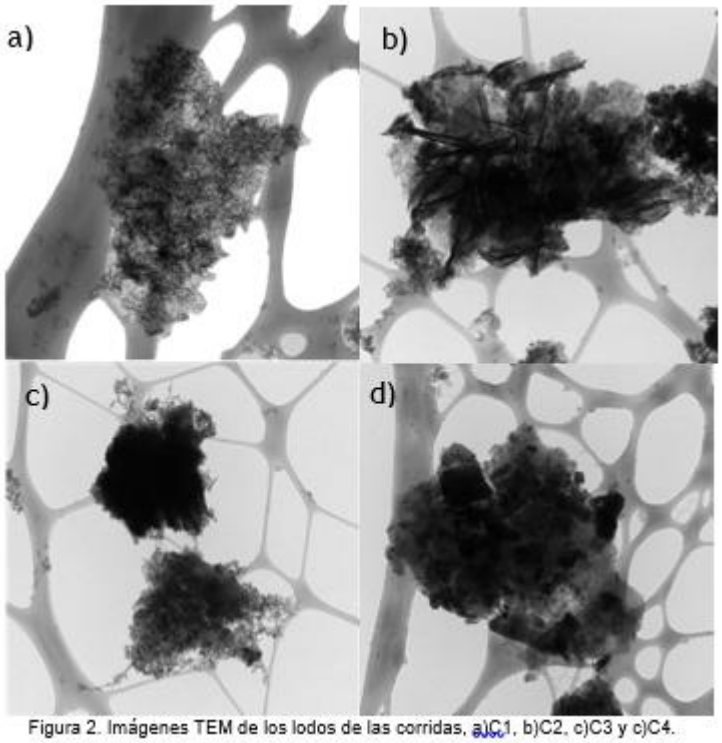


Figura 2. Imágenes TEM de los lodos de las corridas, a)C1, b)C2, c)C3 y c)C4.

Remoción del contaminante

Para analizar la remoción del contaminante se realizó la prueba de dureza a las diferentes muestras a lo largo de tiempo. Se observa como se empieza con una concentración de 400 mg/mL del contaminante en cada una de las corridas. Al paso del tiempo estas van disminuyendo hasta llegar a 0 en el caso de la corrida C3 y C1, para el caso de la C4 está a los 40 min se queda en una concentración de alrededor de 250 mg/L del contaminante. Como se observa la muestra C2, no se observa en la gráfica, esto es debido a que a los 10 min este ya había removido el 100% del contaminante. Siendo este quien presenta la remoción más rápida a comparación de las corridas C1, C3 y C4.

Se ha revelado que la eficiencia de remoción de tintes, pinturas y metales pesados con el electrodo de hierro es más alta que el de electrodo de aluminio y el uso del híbrido Fe/Al. El electrodo es capaz de reducir el 99 % de los metales pesados (Arturi et al., 2019). Esto concuerda con nuestros resultados, dado que nuestras corridas C1, C2 y C3 se realizaron con cátodos y ánodos de Fe/Al y se obtuvieron remociones mayores al 99%. Caso contrario al uso de Al/Al, que a los 40 todavía no se obtenía la remoción completa del contaminante.

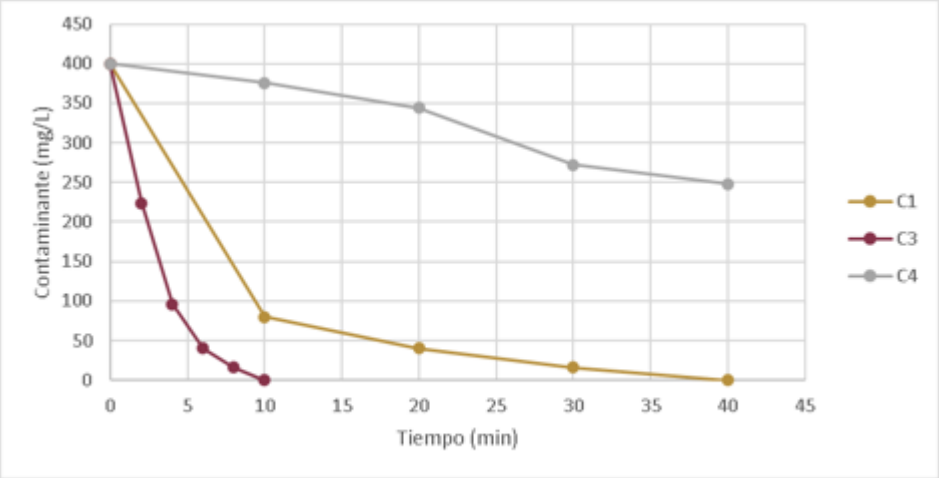


Figura 3. Remoción de los contaminantes a lo largo de 40 min.

CONCLUSIONES

La electrocoagulación con extracto de *Moringa oleífera* demostró ser una técnica efectiva y ecológica para la remoción de dureza del agua, obteniendo remociones de hasta el 99%. Las distintas pruebas realizadas ayudaron a identificar que tanto influye en la eficiencia del proceso las distintas variables que pueden ser modificadas (densidad de corriente, concentraciones del extracto de moringa, electrodos), pudiendo observarse en los resultados de FT-IR ART, las distintas composiciones en el lodo resultado de modificar estas variables. Así también la configuración de los electrodos siendo más eficiente la utilización de electrodos de hierro. Finalmente, el uso de extracto natural de moringa demostró disminuir la producción de lodos y presenta una alternativa económica y sostenible frente a los métodos tradicionales.

BIBLIOGRAFÍA

Osei, E. A., & Donkor, A. K. (2024). Electrocoagulation process using soursop (Annona muricata) seed extract for brewery wastewater treatment. Heliyon, 10(5), e16425. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e16425

Shariati-Rad, M. &. (2020). Classification of and determination of total hardness of water using silver nanoparticles. Obtenido de Talanta, 121297: doi:10.1016/j.talanta.2020.121297

Raziani, A. y. (2020). Modeling and optimization study by response surface methodology on magnesium ions removal from hard water through a biosorbent. Obtenido de Journal of Applied Research in Water and Wastewater 13, 77: https://arww.razi.ac.ir/article_1422_f2c59f78b2823fce06474bb969e480b1.pdf

Contruvo, J. A. (2017). Magnesium, Hard Water, and Health. Obtenido de Journal American Water Works Association 109, 63: doi:10.5942/jawwa.2017.109.0146

Arce, C. M. (2017). CONSECUENCIAS ECONÓMICAS POR USO DE AGUAS DURAS EN EL GRAN SANTIAGO (TESIS de Pregrado). Santiago, Chile.

Garcia, S. M. (29 de Julio de 2017). Electrocoagulation and advanced electrocoagulation processes: A general review about the fundamentals, emerging applications and its association with other technologies. Obtenido de https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.07.047

Milla, P. G., Peñalver, R., & Nieto, G. (2021). Health benefits of uses and applications of Moringa oleifera in bakery products. Plants, 10(2), 318.

Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., & Kakaï, R. G. (2018). Status and utilisation of Moringa oleifera Lam: A review. African Crop Science Journal, 26(1), 137-

156.
Oyeyinka, A. T., & Oyeyinka, S. A. (2018). Moringa oleifera as a food fortificant: Recent trends and prospects. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17(2), 127-136.
Patil, D., Vaknin, Y., Rytwo, G., Lakemond, C., & Benjamin, O. (2022). Characterization of Moringa oleifera leaf and seed protein extract functionality in emulsion model system. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 75, 102903.
Herrera-Rocha, K. M., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Larrosa-Pérez, M., & Moreno-Jiménez, M. R. (2022). Phenolic acids and flavonoids in acetonic extract from quince (Cydonia oblonga Mill.): Nutraceuticals with antioxidant and anti-inflammatory potential. Molecules, 27(8), 2462. https://doi.org/10.3390/molecules27082462

Arturi, T. S., Seijas, C. J., & Bianchi, G. L. (2019). A comparative study on the treatment of gelatin production plant wastewater using electrocoagulation and chemical coagulation. Heliyon, 5(5), e01738. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01738

EVALUACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE CEPAS DE *Cryptococcus Neoformans* CONSERVADAS EN EL CEPARIO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE QFB-UMSNH

Judith Ayala García [1], Patricia Yazmín Figueroa Chávez [1], Brenda Romero Ayala [2] y Daniela Romero Ayala [2]

[1]Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH, [2]Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
judith.ayala@umich.mx

Introducción: *Cryptococcus neoformans* es un patógeno fúngico encapsulado y agente etiológico de la criptococosis, una enfermedad fúngica invasiva potencialmente mortal en los pacientes inmunodeprimidos. Se caracteriza por formar una cápsula polisacarídica que protege al hongo de la fagocitosis y cuyo tamaño varía dependiendo de la cepa y del medio de cultivo que se utiliza para aislar la levadura. Metodología: Es un estudio de tipo cuantitativo, descriptivo y longitudinal. Las cepas de trabajo conservadas en agar BHI tenían un tiempo de almacenamiento de 2 años y 1 año a temperatura ambiente. Estas cepas se pasaron a caldo BHI; posteriormente de este cultivo se inocularon placas de agar Sabouraud dextrosa y medio alpiste negro que se incubaron durante 5 y 7 días. Posteriormente, se evaluó su morfología de crecimiento, el aspecto de la colonia mucoide y blanca, la tinción negativa (tinta china) para la observación de la cápsula y en la parte bioquímica la presencia de la enzima ureasa y desarrollo en medio alpiste negro. Resultados: La recuperación de las cepas de trabajo de *Cryptococcus neoformans* a 2 años de su almacenamiento fue del 65%, mientras para el tiempo de conservación de un año fue del 85%. Se observaron colonias grandes, mucoides blancas (leche condensada) en medio Sabouraud dextrosa, y desarrollo de colonias marrón en agar alpiste negro. Al realizar la tinción con tinta china se observaron levaduras capsuladas características típicas de este hongo, Las pruebas bioquímicas ureasa y producción de melanina en medio alpiste negro positivas se preservaron al 100% a temperatura de crecimiento de 35 a 37°C. Para valorar la conveniencia de la conservación de las cepas por hasta un tiempo de 2 años o de un año, se realizó la prueba *t* de Student donde se obtiene un *p* valor de 0.003 indicando un resultado estadísticamente significativo para la conservación de un año y no tan significativo para dos años, dado que se recuperan en menor cantidad. Conclusión: La conservación de cepas de *Cryptococcus neoformans* en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de QFB-UMSNH durante los períodos de 1 y 2 años en medio de cultivo BHI, resulta una opción accesible para mantener un porcentaje de viabilidad lo suficientemente alto para conservar sus características morfológicas coloniales y las bioquímicas como valoración de la urea y producción de melanina, por lo que resulta ser un método muy sencillo y económico en su conservación.

INTRODUCCIÓN

El género *Cryptococcus* está comprendido por diversas especies de levaduras encapsuladas de entre las cuales la especie *Cryptococcus neoformans* se reconoce como un agente responsable de enfermedades en seres humanos [(1)]. Este hongo ambiental descrito entre 1894 y 1895, fue identificado como patógeno oportunista, después de que se aisló de una infección ósea y de jugo de fruta fermentado. Este basidiomiceto es ubicuo en el medio ambiente y se logra aislar de excrementos de aves, suelo y árboles [(2,3)]. Se relaciona con una alta mortalidad tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunosuprimidos, afectando principalmente el sistema nervioso central, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS), lo tiene clasificado como un patógeno de alta prioridad por poseer una presencia significativa a nivel mundial al mantener tasas de mortalidad alarmantemente elevadas que varían del 40 al 60% [(1)].

Hasta hace poco tiempo *C. neoformans* se asociaba como patógeno oportunista en coinfecciones de pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH)[(4)]; no obstante, desde hace varios años se ha documentado que pacientes con inmunodeficiencia primaria y/o secundaria por

trasplante de órganos sólido y hematológico, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica, enfermedad hepática, autoinmunidad y aquellos que reciben terapias inmunosupresoras, se encuentran en riesgo de desarrollar la infección [1].

C. neoformans es un hongo se mantiene viable en suelos enriquecidos con heces de aves. La principal vía de contagio es a través de la inhalación de levaduras deshidratadas que transportadas por el aire [2]. Después de la colonización inicial de los pulmones, los hongos pueden diseminarse a través del torrente sanguíneo a diversos órganos, mostrando un tropismo particular por el sistema nervioso central SNC, lo que con frecuencia lleva al desarrollo de meningitis [2,3]. Muchos pacientes desarrollan lesiones pulmonares primarias asintomáticas autolimitadas. En los pacientes inmunocompetentes, las lesiones pulmonares aisladas suelen curar espontáneamente sin diseminarse, incluso sin tratamiento antimicótico [3].

Las especies del género *Cryptococcus* crecen bien en medios de cultivos tradicionales. El tiempo óptimo de crecimiento es entre las 72 a 96 horas de incubación y pueden crecer a temperaturas que oscilan entre los 28 y 37°C. Las colonias son lisas, blanquecinas y de aspecto mucoso. En cultivos que tienen más tiempo pueden observarse colonias color café claro debido a la producción de melanina. *C. neoformans* produce hidrólisis de la urea; no asimila nitrato de potasio o lactosa; tampoco fermentan carbohidratos y producen melanina en presencia de L-Dopa u otros substratos [2].

La cápsula polisacarídica es la característica más peculiar del género y puede observarse directamente a partir de una muestra de LCR mediante una tinción con tinta china. La presencia de ésta condicionada a diversos factores como el estado inmunológico del paciente y los traspasos consecutivos de cultivo [3].

TEORIA

Cryptococcus neoformans es un hongo letal cubierto por una capa de polisacárido que puede permanecer latente en el huésped durante décadas antes de reactivarse, causando criptococosis sistémica en humanos y otros mamíferos. Este hongo tiene múltiples características para adaptarse y sobrevivir en el huésped, incluyendo inmunosupresión, capacidad de replicarse intra y extracelularmente en fagocitos, cambios en la morfología y la ploidía, predilección por infectar el SNC y la capacidad de utilizar neurotransmisores y fuentes únicas de carbono disponibles en el cerebro [5].

Se relaciona con una alta mortalidad tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunosuprimidos, afectando principalmente el sistema nervioso central. Inicialmente, este género de microorganismos se relacionaba únicamente con la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (95%) [4,6]. No obstante, desde hace varios años se ha documentado que pacientes con inmunodeficiencia primaria y/o secundaria por trasplante de órganos sólido y hematológico, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica, enfermedad hepática, autoinmunidad y aquellos que reciben terapias inmunosupresoras, se encuentran en riesgo de desarrollar la infección [1]. Se relacionan con una alta mortalidad tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunosuprimidos, afectando principalmente el sistema nervioso central. Inicialmente, este género de microorganismos se relacionaba únicamente con la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) [4].

El diagnóstico de *C. neoformans* se fundamenta en los aspectos clínicos y epidemiológicos. Las imágenes cerebrales son muy útiles para caracterizar la extensión de las alteraciones. El diagnóstico se certifica mediante el aislamiento e identificación del hongo: microscopía, métodos de cultivo (sangre, LCR, otros fluidos, biopsias), pruebas serológicas (muy sensibles y específicas), histología o herramientas moleculares [7]. El diagnóstico de laboratorio debe ser integral, las pruebas más útiles son: examen en fresco con tinta china y tinción de resaltado capsular; los medios de cultivo rutinarios para su aislamiento son el Sabouraud y el agar alpiste negro (Niger o Staib), es necesaria la

identificación posterior de la cepa por medios bioquímicos [8,9]. La prueba inmunológica más efectiva para diagnóstico y monitoreo terapéutico es la determinación de antígeno criptococócico por aglutinación directa con partículas de látex (DACAD) [6]. El pronóstico del padecimiento es malo, y el mejor esquema de tratamiento es a base de anfotericina B más fluconazol [10].

Cryptococcus o "esfera oculta" a diferencia de otras levaduras, posee una gruesa cápsula de polisacárido que lo recubre y es precisamente esta estructura su característica más distintiva, además de ser un importante factor de virulencia [5]. La cápsula del hongo contiene los polisacáridos glucuronoxilomanano y glucuronoxilomanogalactano, que son los principales factores que contribuyen a la virulencia del patógeno [8]. En la actualidad se cuenta con las pruebas diagnósticas comerciales que identifican el antígeno capsular glucuronoxilomanano. La presencia de melanina a nivel de la pared celular concede protección contra los efectos del estrés oxidativo y los antimicóticos, pues parece desempeñar un papel determinante en la diseminación de *C. neoformans* hacia el sistema nervioso central, donde se encuentra en abundancia dopamina, un sustrato para la síntesis de melanina [4,5].

La diseminación hemática de estas levaduras capsuladas provoca múltiples localizaciones, de las cuales como ya se ha descrito sobresale el sistema nervioso central, donde suele provocar meningitis o meningoencefalitis de evolución aguda, subaguda o crónica, según la intensidad del defecto inmunológico. Sin embargo, el hígado, el bazo, la médula ósea, los riñones, la piel y el tejido celular subcutáneo, por mencionar algunos, no escapan a la agresión de esta levadura [9]. El aislamiento del agente causal, puede lograrse a partir de diversos de los materiales clínicos principalmente de líquido cefalorraquídeo, y en menor medida de orina, sangre, secreciones respiratorias, material de punción de médula ósea y de escarificación de lesiones cutáneas [11].

Las levaduras de criptococos son redondas u ovales de 3,5 a 8 µm, que se reproducen por gemación única, con un cuello estrecho entre la célula madre y la hija. Ocasionalmente se observa gemación múltiple, formas alargadas y pseudohifas. Su cápsula de naturaleza polisacarídica le brinda virulencia al proteger al hongo de la fagocitosis; su tamaño varía dependiendo de la cepa y del medio de cultivo que se utilice para aislar la levadura. Se puede observar por examen en fresco con tinta china, tinción negativa [10].

C. neoformans crece muy bien en la mayoría de los medios de cultivo formando características colonias mucosas, aunque con el tiempo pueden aparecer secas; el color es muy variable ya que pueden ser desde tonalidades crema, ocre, rosa, a amarillo y viran a tonos más oscuros con la edad. Las cepas que poseen un cápsula muy pequeña, desarrollan colonias parecidas a las del género *Candida*. Llevan a cabo un metabolismo aerobio, por lo que no son fermentadoras, producen ureasa y utilizan varios hidratos de carbono. Las especies de criptococos se diferencian entre sí por una serie de características: crecimiento a 37º C, asimilación de la sacarosa, lactosa, galactosa, melobiosa, celobiosa, rafinosa, trealosa y dulcitol, utilización de KNO_3 y producción de ureasa y feniloxidasa [10].

PARTE EXPERIMENTAL

Objetivo: Valorar la eficiencia de la conservación de cepas de trabajo de *Cryptococcus neoformans* a 1 y 2 años de almacenamiento en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de QFB-UMSNH a través de su caracterización fenotípica.
La metodología del estudio de tipo cuantitativo, descriptivo y longitudinal.

En el laboratorio de Microbiología General se utilizan diferentes cepas de trabajo incluyendo cepas

de *Cryptococcus neoformans,* éstas se deben de conservar durante un periodo de tiempo con el propósito de tener material de trabajo disponible para la realización anual de la práctica de "Tinciones Específicas o Especiales", en la que se efectúa la técnica de la Tinción Negativa con tinta china; esta práctica de laboratorio forma parte del contenido de la asignatura de Microbiología

General. Por ello, las cepas de trabajo son conservadas en agar BHI a temperatura ambiente y algunas de éstas tienen un tiempo de almacenamiento de 2 años y 1 año. para evaluar la viabilidad del hongo y su recuperación se realizaron los siguientes procedimientos:

1. Cepas de trabajo conservadas de 1 año y 2 años.
2. Resiembra en caldo BHI, en agar Sabouraud dextrosa y en medio alpiste negro (Niger).
3. Incubación entre 5 y 7 días a temperatura ambiente para su desarrollo.
4. Identificación morfológica colonial de la cepa.
5. Técnica de tinción de tinta china (nigrosina).
6. Identificación morfológica microscópica (búsqueda de levaduras)
7. Pruebas bioquímicas: urea y producción de melanina en medio alpiste negro.
8. Análisis de resultados.

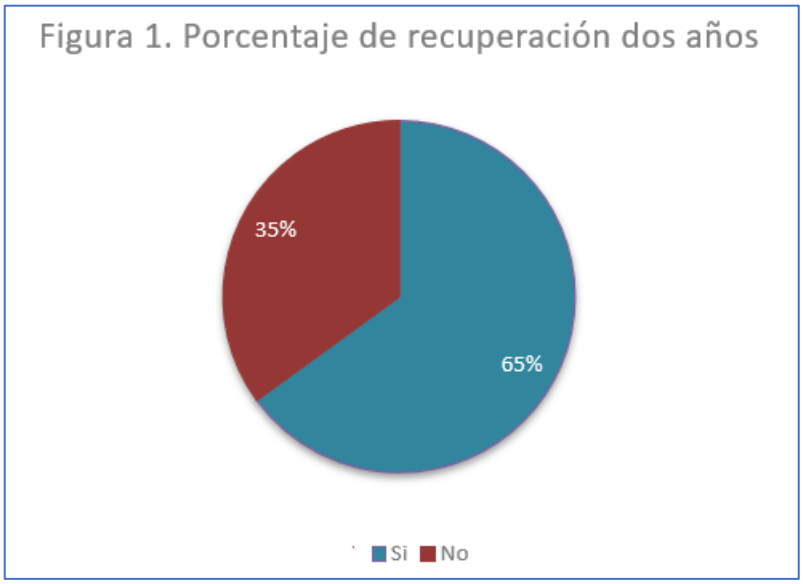
Para la presente investigación el procesamiento de las muestras siguió los lineamientos de bioseguridad que marcan las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), garantizando la seguridad y la calidad. El manejo y disposición de los Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos se realizó según las NOM aplicables.

RESULTADOS

Se tenían en conservación 4 tubos de caldo BHI con un tiempo de conservación de 2 años y 5 tubos de caldo BHI con un año de conservación. Se seleccionaron dos tubos de ambas fechas y se tomó una asada del inóculo y se resembraron en 4 tubos de caldo BHI, posteriormente de estos cultivos se inocularon cuatro placas de agar Dextrosa Sabouraud y cuatro de Agar Alpiste Negro.

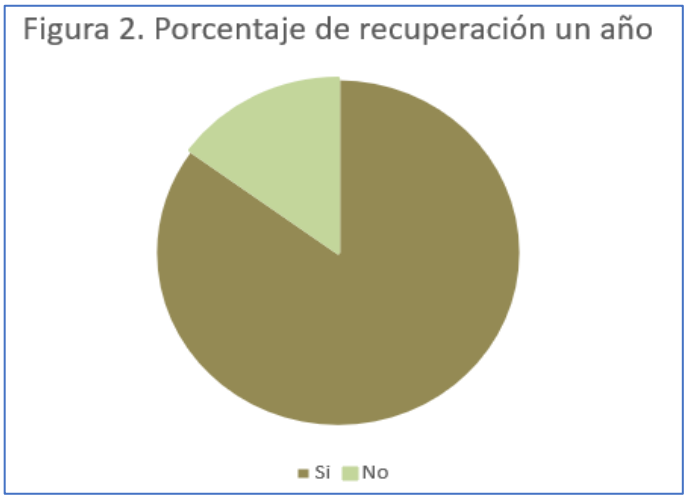
Las placas se incubaron durante 5 a 7 días a temperatura ambiente (25 a 27°C). Después de la incubación se evaluó el crecimiento colonial en cada uno de los medios de cultivo, valorando el desarrollo colonial como escaso, moderado, abundante o sin crecimiento, el procedimiento se realizó tanto para las cepas de trabajo conservadas un año como para la de dos años. En el medio de alpiste negro se detectó la presencia de colonias marrón indicativas de la producción de melanina propia de la especie.

En la figura 1, se observa el porcentaje de recuperación de *Cryptococcus neoformans* tras un tiempo de conservación de 2 años a temperatura ambiente, el porcentaje fue del 65% en los diferentes medios de cultivo en los que se hizo la resiembra.



Fuente: Elaboración propia de los datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de QFB-UMSNH.

El promedio de recuperación de las cepas conservadas un año, fue del 85% (figura 2), también se hizo la valoración de los diferentes medios de cultivo en cuanto a la forma de crecimiento.



Fuente: Elaboración propia de los datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de QFB-UMSNH.

La evaluación de la morfología colonial evidenció la formación de colonias grandes, mucoides blancas con aspecto de leche condensada en medio Sabouraud dextrosa y desarrollo de colonias marrón en agar alpiste negro.



Figura 3. Crecimiento de *Cryptococcus neoformans* en medio alpiste negro.
Fuente: Fotografía tomada en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de QFB-UMSNH

Al realizar la tinción negativa con tinta china, observaron levaduras capsuladas típicas de este hongo (figura 4).

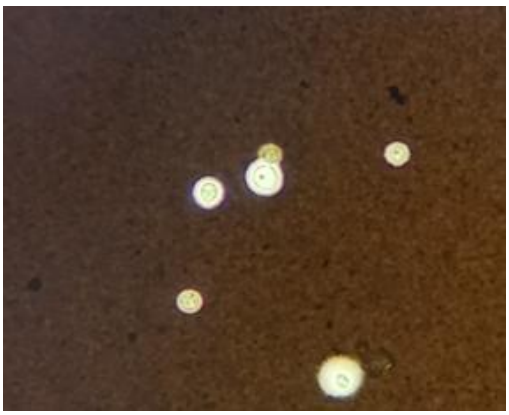


Figura 4. Levaduras de *Cryptococcus neoformans* con tinción tinta china y observadas a 40X.
Fuente: Fotografía tomada en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de QFB-UMSNH

Las pruebas bioquímicas se incubaron a 35-37°C, y la ureasa y la producción de melanina en medio alpiste negro arrojaron resultados positivos al 100%.

Para valorar la conveniencia de la conservación de las cepas por hasta un tiempo de 2 años o de un año, se realizó la prueba *t* de Student donde se obtiene un p valor de 0.003 indicando un resultado estadísticamente significativo para la conservación de un año y no tan significativo para dos años, dado que se recuperan en menor cantidad (Tabla 1).

	Muestras relacionadas					GI	Sig. (bilateral)
	Medía	Desviación típ.	Error típ.de la media	95% Intervalo de confianza			
				Inferior	Superior		
Un año de conservación-Dos años	0.408	0.33493	0.4737	0.5031	0.3128	44	**0.003**

Tabla1. Prueba *t* de Student
Fuente: Elaboración propia con los datos procesados y obtenidos en el Laboratorio de Microbiología General de la Facultad de QFB-UMSNH.

CONCLUSIONES

Con la realización de la presente investigación se puede determinar que el método de conservación empleado es altamente recomendado por su sencillez, accesibilidad y economía. La capacidad de mantener cepas de *Cryptococcus neoformans* con un alto grado de viabilidad y con sus características fenotípicas y bioquímicas intactas, utilizando condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente, ofrece una solución práctica y sostenible para laboratorios con recursos limitados. Se marca la pauta para futuras investigaciones en las que se podría averiguar la viabilidad de la conservación de cepas bajo estas condiciones por periodos aún más extensos.

La conservación de cepas de *C. neoformans* en agar BHI a temperatura ambiente demostró ser un método efectivo ya que, el porcentaje de recuperación a dos años es microbiológicamente aceptable para asegurar la disponibilidad de inóculos para fines de estudio y diagnóstico. Un aspecto toral de esta investigación es la completa preservación de los rasgos fenotípicos clave de la cepa lo que permite asegurar la disponibilidad de material biológico para fines de estudio y diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. WHO, editor. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/363682/9789240060241-eng.pdf?sequence=1; 2022

2. INSST. Cryptococcus neoformans var. gattii (Filobasidiella bacillispora) - Hongo - Agentes Biológicos - Portal INSST - INSST [Internet]. Portal INSST. 2021 [citado el 17 de abril de 2025]. Disponible en: https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/cryptococcus-neoformans-var-gattii-filobasidiella-bacillispora

3. Zhao Y, Lin X. Cryptococcus neoformans: Sex, morphogenesis, and virulence. Infect Genet Evol [Internet]. 2021;89(104731):104731. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104731

4. Vergidis P. Criptococosis [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. Manuales MSD; 2023 [citado el 19 de abril de 2025]. Disponible en: https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/criptococosis?ruleredirectid=757

5. Bahn Y-S, Sun S, Heitman J, Lin X. Microbe Profile: Cryptococcus neoformans species complex: This article is part of the Microbe Profiles collection. Microbiology [Internet]. 2020;166(9):797–9. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.000973

6. Bava AJ, Zuliani MV. Desarrollo de Cryptococcus neoformans en medios de cultivo empleados para diagnóstico bacteriológico. Acta Bioquimica Clinica Latinoamericana [Internet]. 2009 [citado el 19 de mayo de 2025];43(2):195–9. Disponible en: https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572009000200003

7. Moroti R, Hristea A, Neagu G, Penescu I, Florea D, Tiliscan C, et al. Cryptococcus neoformans: Brain Preference, Gender Bias, and Interactions with Mycobacterium tuberculosis and Toxoplasma gondii in HIV-Positive Patients. Microorganisms [Internet]. 2025;13(3). Disponible en: http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms13030481

8. Srikanta D, Santiago-Tirado FH, Doering TL. Cryptococcus neoformans: curiosidad histórica sobre un patógeno moderno. Levadura Febrero de. 2014;31(2):47–60.

9. Rippon JW. The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. WB Philadelphia WB Sounders; 1988.

10. Martín-Mazuelos E, Valverde-Conde A. CRIPTOCOCOSIS: DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO Y ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD IN VITRO [Internet]. Seimc.org. [citado el 11 de mayo de 2025]. Disponible en: https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/cripto.pdf

11. Alexandro B, de la Paz FRM, Javier AS. Criptococosis y su diagnóstico de laboratorio [Internet]. Com.mx. [citado el 8 de mayo de 2025]. Disponible en: https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=24083

MATERIAL COMPUESTO HIDROXIAPATITA/POLIETILENGLICOL. SINTESIS

Ma. Elena Calixto Olalde, Cesar Fabián Martínez Rodríguez, Saúl Daniel Hernández Yañez y Maricela Talavera Ortega

Tecnológico Nacional de México/ITES en Irapuato
elena.co@irapuato.tecnm.mx

RESUMEN

En el transcurso de los años se han desarrollado materiales enfocados en la regeneración, la Hidroxiapatita es un biocerámico el cual tiene una gran similitud con la parte inorgánica presente en el sistema óseo, este biocerámico favorece la regeneración o remodelación del hueso. La síntesis de la Hidroxiapatita se realiza a través de diversos métodos; hidrotermal, precipitación y sol-gel, que involucran variables tales como; pH, temperatura, concentración, naturaleza de los precursores, tiempos de reacción, orden y tiempo de adición de los reactivos (precursores). Estas variables tienen efecto sobre la cristalinidad, pureza, tamaño de partícula y que, a su vez, determinan la aplicación de la hidroxiapatita. Por lo cual, el objetivo del presente trabajo es optimizar el método SOL-GEL para la obtención de la hidroxiapatita que pueda ser utilizada en la osteoregeneración. La hidroxiapatita fue obtenida a través del método SOL-GEL. El método propuesto se basó en el análisis de diferentes autores y a partir de ello se realizó la presente propuesta de síntesis considerando las variables; pH, tiempo de reacción, concentración y naturaleza de los reactivos. La síntesis se llevado a cabo de la siguiente manera; se preparan 2 soluciones, una de nitrato de calcio y otro de fosfato de amonio. La solución de nitrato de calcio se adiciona por goteo al fosfato de amonio, se mantiene en agitación constante durante 2h, se modifica el pH a 8 con hidróxido de amonio, pasadas las 2 h se deja envejecer el precipitado de 3 a 5 días, pasado el tiempo se filtra y lava el precipitado, después del lavado se pasa al secado, esto durante 12h a 75 °C y se sinteriza a 800 °C, el tamaño de partícula fue determinado mediante dispersión de luz, y la composición por FTIR. Los resultados obtenidos muestran un incremento del 20% en el rendimiento con respecto a las condiciones ya establecidas, así mismo la reducción en el tiempo de reacción paso de 72 a 24 h, sin considerar el tiempo de envejecimiento. El tamaño de partícula obtenido es adecuado conforme a la aplicación que tendrá, 10-100 nm. Se realizó un IR para observar la existencia de los grupos característicos presentes en la Hidroxiapatita, los cuales son el grupo OH a 3500 cm -1, el grupo fosfato a 1030 cm-1 y el grupo O-P-O 600 cm-1, lo cual permite corroborar la obtención de hidroxiapatita, y se concluye que el método de síntesis propuesto es eficiente para la obtención de la hidroxiapatita.

INTRODUCCIÓN

La ingeniería en tejidos ha avanzado a pasos agigantados en el desarrollo de nuevas tecnologías y técnicas de síntesis, para la obtención de materiales utilizados en la regeneración de un sistema biológico. En particular, los compuestos de fosfato de calcio entre los que se encuentran; el fosfatos tricálcico (TCP) con una relación molar Ca/P de 1.5, y fórmula química ($Ca_3(PO_4)_2$), el fosfato tetracálcico (TTCP) con una relación molar Ca/P de 2 con fórmula química Ca4(PO4)2O [6], y la hidroxiapatita sintética $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, con relación molar Ca/P de 1.67, la cual presenta una composición similar a la hidroxiapatita presente en los huesos, lo que permite su aplicación en la reconstrucción o reparación de tejido óseo dañada o enfermo. Debido a su aplicación, ha generado una gran demanda y con ello a la búsqueda de diferentes fuentes para su obtención tales como; huesos humanos, especies de animales (bovino) o incluso materiales naturales como el coral, la mayoría de estos procesos son laboriosos y poco eficientes, por lo cual se ha recurrido a los métodos químicos; reacciones en estado sólido, métodos hidrotérmicos, la precipitación, proceso sol gel entre otros. La síntesis sol-gel ha demostrado ser una técnica altamente eficaz para la fabricación de biomateriales avanzados, permitiendo la obtención de hidroxiapatita (HA) combinada con polietilenglicol (PEG) con propiedades estructurales y biológicas ajustables. Este enfoque ofrece un

control preciso sobre la morfología, composición química, factores esenciales para la integración del material en aplicaciones biomédicas.

Por lo cual, el objetivo del presente trabajo es optimizar el proceso de síntesis de la hidroxiapatita, modificando condiciones de pH, temperatura, tiempo y concentración.

TEORÍA

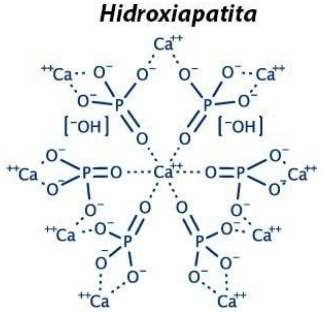
En los últimos años, México ha experimentado avances significativos en la ingeniería de tejidos, con un enfoque creciente en el desarrollo de biomateriales innovadores para la regeneración ósea. Dentro de esta evolución, la síntesis sol-gel ha emergido como una técnica prometedora para la fabricación de materiales híbridos, combinando biocerámicos y biopolímeros de manera controlada y homogénea.
El método sol-gel ofrece una síntesis precisa de hidroxiapatita (HA), permitiendo la formación con propiedades según los requisitos biológicos y mecánicos del tejido óseo. Obteniendo estructuras con alta pureza, tamaño de partícula controlado. El proceso consiste en la formación de una red sólida comienza la gelificación las partículas coloidales se agrupan formando una red tridimensional, así mismo atrapando el solvente, esto es importante para la morfología y la estructura de material.

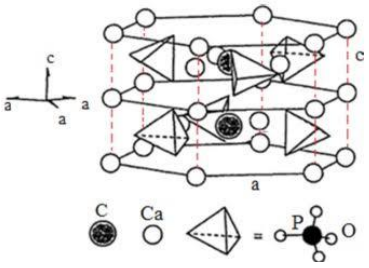
El envejecimiento y secado del gel genera reacciones adicionales de condensación, estas aumentan la estabilidad y rigidez del material. El secado elimina al solvente para dejar un sólido al que posteriormente se le puede realizar un tratamiento térmico.

Al sólido obtenido se le realiza una calcinación, para eliminar cualquier rastro de residuos orgánicos y promueve la formación de la fase cristalina deseada, es esencial el tratamiento térmico para favorecer las propiedades físicas y químicas del material [1].

Hidroxiapatita

La hidroxiapatita (HA) es un biocristal compuesto por átomos de calcio, fósforo e hidrógeno, con la fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. La HA se encuentra en dientes y huesos, otorgándoles su característica dureza. Pertenece a la familia de las apatitas y tiene una estructura hexagonal con el grupo espacial $P6_3/m$ [1,5].





Este compuesto ha suscitado interés debido a su similitud química y estructural con el componente mineral principal del hueso humano, convirtiéndola en uno de los materiales más biocompatibles en implantología ósea. Este biocristal ha sido objeto de atención por la búsqueda de métodos para reducir el tiempo operatorio en la reparación de traumas, como la cirugía de exéresis de tumoraciones benignas en las extremidades, la consolidación de huesos y su sustitución.

La HA promueve la neoformación ósea al interactuar con los fluidos fisiológicos, reaccionando químicamente para generar nuevo tejido óseo gracias a sus propiedades químicas y de superficie. [3]. Sus características principales incluyen biocompatibilidad, bioactividad, osteoconductividad y

capacidad de unirse directamente al hueso, para lo cual se debe de cumplir con una relación Ca/P de 1.67 [6]. La morfología y el tamaño de partículas son propiedades que van a influir para sus diversas aplicaciones están en función de las condiciones de síntesis.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de hidroxiapatita.
Se realizan 2 soluciones, una de Nitrato de Calcio y la otra de Fosfato de Amonio, a 0.5M y 0.4M respectivamente, en 100 ml de agua destilada, se adiciona el Nitrato de Calcio al Fosfato de Amonio por goteo mientras se mantiene en agitación y a una temperatura de 60°C para acelerar la reacción, después de terminar de adicionar las soluciones se modifica el pH con hidróxido de amonio a 8, se deja precipitar y envejecer durante 5 días, pasado el tiempo se filtra y limpia con agua destilada, se deshidrata a 100 °C y pasa al sinterizado a 800°C durante 2h.

Caracterización

- Tamaño de partícula

El tamaño de partícula fue realizado en un equipo Zetasizer, para lo cual, se prepara la muestra dispersando la hidroxiapatita en agua destilada, asegurándose de que la suspensión esté homogénea mediante agitación mecánica o ultrasonido**.**

- Morfología

La morfología fua analizada mediante microscopía de barrido de electrones, y mediante EDX se determinó la relación de Ca/P.

RESULTADOS

El método de síntesis modificado permitió reducir el tiempo de reacción y el rendimiento aumentó en un 30%, como resultado de modificar el pH de 11 a 8.

La caracterización realizada mediante espectroscopía infrarroja muestra la obtención de la hidroxiapatita identificando sus señales características, como se muestra en la figura 1, donde aparece la banda correspondiente al modo de vibración de estiramiento asimétrico para el grupo $(PO_4)^{3-}$ ubicado alrededor de 1000-1100 cm-1, así mismo, la banda de vibración de estiramiento asimétrico del enlace P-O. La banda de a 63º cm-1, se atribuye al modo vibracional de los grupos OH.

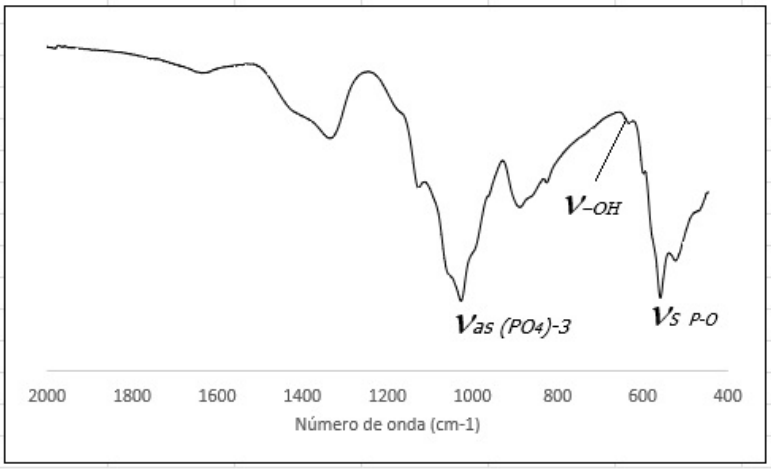


Figura 1. Espectro de la HA obtenida bajo condiciones modificadas

El espectro obtenido, muestra señales más anchas comparadas con lo reportado en otros trabajos, sin embargo, la mayoría de las señales característica de la hidroxiapatita aparecen.

Con respecto al tamaño de partícula, se obtuvo un tamaño de partícula más pequeño del esperado, el cual se encuentra en un rango de 2 a 8 nm, como se muestra en la Figura 2. Estos resultados presentan la distribución de dos especies, lo que sugiere que puede existir otro fosfato a parte de la hidroxiapatita. Para la estabilizar las partículas de hidroxiapatita, se utilizó polietilentiglicol.

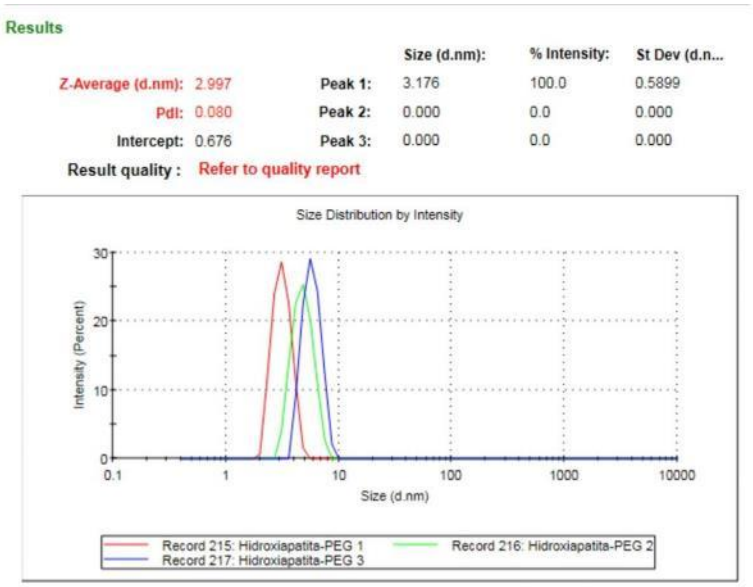


Figura 2. Resultados obtenidos del tamaño de partícula para la hidroxiapatita

Análisis por SEM

En cuanto a los resultados obtenidos por SEM, muestran la morfología de las NpHA, en las cuales se observa una aglomeración de estas mismas formando una agrupación de Np las cuales tienen un tamaño aproximado de 10 a 50 micrones.

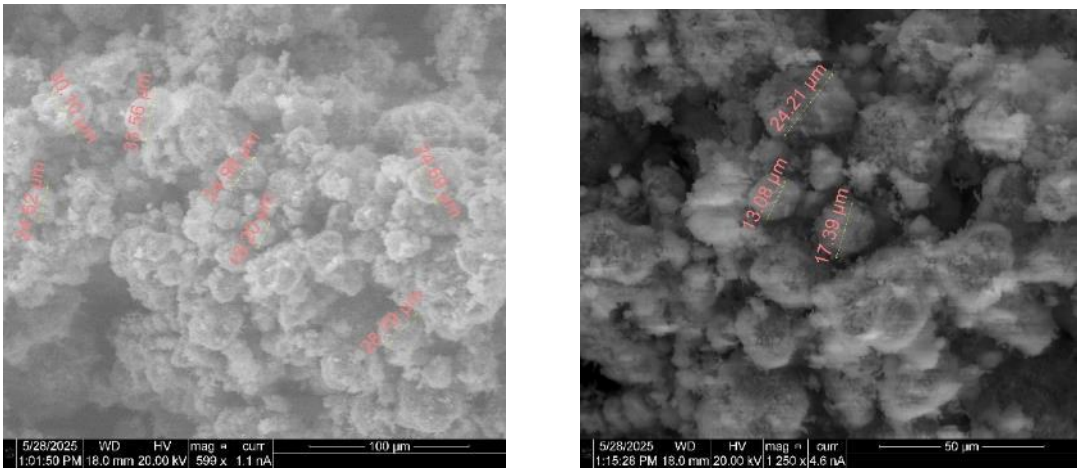


Figura 3.- Microscopia por SEM de la muestra de HA. Morfología y tamaño de aglomeraciones de las nanopartículas a 100 y 50 micrones

.

El análisis mediante espectroscopía por energía dispersiva de rayos X (EDX) se empleó para determinar la composición elemental de dos muestras, Se identificaron picos característicos asociados a la hidroxiapatita (con elementos principales, oxígeno, calcio y fósforo), así como elementos adicionales que permiten inferir aspectos relevantes del proceso de preparación o modificación de las muestras.

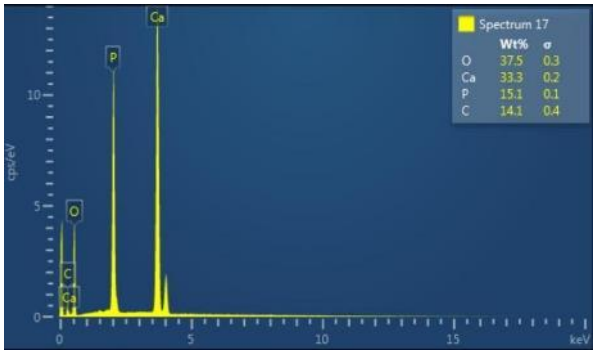


Figura 4.- Espectroscopia de Dispersión de Energía Rayos X, se determina la composición elemental.

Se determinó la relación molar de Ca/P en las muestras fueron valores de 1.64 y 2, lo que indica que se presentan posiblemente junto con la hidroxiapatita, fosfato tetracálcico.

CONCLUSIONES

La metodología empleada, centrada en el método sol-gel permitió reducir el tiempo de reacción, así como el tamaño de partícula y aumentar el rendimiento. El método modificado permitió mejorar parámetros relevantes, al aumentar el rendimiento y disminuir el tiempo de obtención sin embargo, aún se requiere mejorar la purificación para mejorar la pureza de la hidroxiapatita.

BIBLIOGRAFÍA

1. Robles, D. E., Sales, N. S., Chávez, M. L., & García, T. A. (2017). Síntesis de nano-hidroxiapatita por los métodos sol-gel y coprecipitación. Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química, 3(3).
2. García-Garduño, M. V., & Reyes-Gasga, J. (2006). la hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. Redalyc.org. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43211937005.
3. Carolina, M. G. D. (2007). Injerto óseo a base de espuma de hidroxiapatita. https://repository.eafit.edu.co/items/5c93d265-9f6e-4ee1-bc91-9189f6d3a5d6
4. Polyethylene Glycol (PEGs and PEOs). (s. f.). https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/products/materials-science/biomedical-materials/polyethylene-glycol.
5. Sánchez-Andújar, M., Santiago, G. P., & Da Coruña Facultade de Ciencias, U. (2016). Síntesis y caracterización de biomateriales con aplicación en la regeneración de tejidos biológicos. https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/17166
6. García Domínguez (2022). Publicación Semestral Pädi Vol. 10 No. Especial 7(183–188).
7. Informatics, N. o. o. D. A. (s. f.). Polyethylene glycol. https://webbook.nist.gov/cgi/formula?ID=B6009512&Mask=80#Refs
8. Payán Valero, A., Moreno Cepeda, (2018). Cultivo celular de una apatita bovina como sustituto óseo: pruebas preliminares. Informador Técnico (Colombia)

SÍNTESIS BIOGÉNICA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO A PARTIR DE EXTRACTOS DE HOJA DE *Moringa Oleifera*

Luisa Fernanda Medina Ganem[1], Neali Valencia Espinoza[2], Oscar Manuel Rodríguez Narváez[1], Alain Salvador Conejo Davila[3]

[1]Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), [2]Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato del IPN y [3]Otra.

orodriguez@ciatec.mx

RESUMEN

Se han creado varios métodos de síntesis química para la producción de nanopartículas, los cuales, aunque presentan altos rendimientos, han mostrado efectos adversos en el medio ambiente. En los últimos años, han surgido enfoques más sostenibles, destacándose los métodos biogénicos, que emplean extractos de materiales biológicos como agentes reductores y estabilizantes. Este trabajo tiene como objetivo utilizar extractos de hojas de *Moringa oleifera* para la fabricación de nanopartículas de óxido de hierro. En la elaboración de los extractos se probaron 3 métodos (infusión, salting-out y la combinación de ambos) con la finalidad de determinar variaciones de los fitoquímicos obtenidos y la eficiencia de síntesis. Posterior a la producción de extracto, a este se le adicionó una concentración de 0.1 M de $FeSO_4*7H_2O$ y sé dejó en agitación a temperatura ambiente por 24 h. Finalmente, se realizó la caracterización de las nanopartículas, así como también una cuantificación de biomoléculas del extracto por métodos colorimétricos. Como parte de los resultados obtenidos, se cuantificaron flavonoides, proteínas, azúcares, polifenoles totales de los extractos. Posteriormente, las muestras obtenidas del proceso de síntesis fueron caracterizadas por UV-VIS, FT-IR, SEM-EDS y TEM donde se denota que el extracto que produjo las nanoestructuras de hierro fue en la combinación de salting-out e infusión. Tomando en cuenta ello, se discuten los resultados obtenidos de dichas síntesis: i) FT-IR se identificó una aparición de una pequeña señal a 620 cm^{-1} atribuida al estiramiento de hierro con oxígeno, ii) del SEM-EDS se determinó el porcentaje de Fe (22.77%) y su distribución homogénea sobre la muestra orgánica y iii) del TEM el tamaño polidisperso y forma vesicular de las partículas obtenidas. Finalmente se concluye que el proceso de síntesis biogénica puede producir nanoestructuras de óxido de hierro utilizando extractos de plantas, que el tipo de extracción afecta a la producción, tamaño y rendimiento de las nanopartículas.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas son partículas de diversos materiales, como carbón, compuestos orgánicos, metales y óxidos de metales, cuyas dimensiones de encuentran entre 1 y 100 nm (Khan et al., 2022). Esto les provee características específicas (i.e. catalíticas, antioxidantes, adsorbentes, antimicrobianas) que son distintas a aquellos materiales de mayor escala debido a las varianzas de la relación volumen-área superficial (Leon et al., 2020). Por este motivo, estos materiales se han vuelto punto de interés en el área científica, y a su vez se han comenzado a implementar en una amplia gama de industrias.

Los métodos convencionales para la síntesis de nanopartículas son los métodos “bottom-up” que consisten en la combinación de estructuras atómicas de materiales para llevarlas a tamaños de escala nanométrica. Comúnmente estas metodologías se llevan a cabo por métodos químicos, los cuales se basan en el uso de agentes reductores y sales metálicas para la formación de núcleos. Sin embargo, en la actualidad se están explorando métodos biogénicos para la obtención de nanocompuestos por medio de procesos más amigables con el medio ambiente, entre las cuales destaca la síntesis biogénica (Khan et al., 2022; Adeeyo & Odiyo, 2018). La síntesis biogénica se basa en el uso de fuentes biológicas como bacterias, algas, hongos virus y plantas para producir biomoléculas (e.g., polifenoles, flavonoides, vitaminas y azúcares reductoras) para usarlos como

agentes reductores o estabilizantes y de esta manera producir partículas recubiertas por las mismas (Batool et al., 2019).

Tomando en cuenta lo anterior, el objetivo de este proyecto es sintetizar nanopartículas de óxido de hierro a partir de métodos biogénicos utilizando hoja de la planta Moringa oleifera como material biológico. Adicionalmente, se cuantificarán las biomoléculas de interés en los extractos utilizados para la síntesis para correlacionarlas con las eficiencias de producción.

TEORÍA

Síntesis de nanopartículas

Los métodos de síntesis de nanomateriales se pueden dividir en dos categorías, “Top-down” y “Bottom-up” (Khan et al., 2022). Las metodologías top-down, también conocidas como destructivas, usan técnicas físicas para romper porciones grandes del material a fracciones de escala nanométrica. A pesar de ser métodos económicamente accesibles, no permiten control sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas sintetizadas, lo cual limita su replicabilidad y, por ende, escalabilidad (Khan et al., 2022). Por otro lado, los métodos bottom up consisten en la combinación de estructuras atómicas de materiales para llevarlas a tamaños de escala nanométrica. Comúnmente estas metodologías se llevan a cabo por métodos químicos, los cuales se basan en el uso de sales metálicas para la formación de núcleos y agentes reductores. Sin embargo, en la actualidad se están explorando métodos biogénicos para la obtención de nanocompuestos por medio de procesos más amigables con el medio ambiente (Khan et al., 2022; Adeeyo & Odiyo, 2018).

Síntesis biogénica de nanopartículas

La síntesis biogénica es una rama de la síntesis verde que se basa en el uso de fuentes biológicas como bacterias, algas, hongos virus y plantas; ya que estos tienen la capacidad de producir nanomateriales de forma intracelular o extracelular (Batool et al., 2019; Khan et al., 2022). Estas metodologías usan las biomoléculas liberadas por los organismos (e.g. polifenoles, flavonoides, vitaminas y azúcares reductoras) para usarlos como agentes reductores o estabilizantes y de esta manera producir partículas recubiertas por las mismas (Batool et al., 2019).

La síntesis biogénica se clasifica principalmente en dos, la síntesis basada en plantas y en microorganismos. Para la síntesis basada en microorganismo, esta se puede dividir a su vez en dos, la intracelular y extracelular donde para la síntesis intracelular se utiliza la pared celular para transportar iones metálicos, donde los iones con carga positiva interactúan con la pared de carga negativa y estos a su vez interactúan con las enzimas de las células que reducen estos iones a NPs metálicas, mientras que la síntesis extracelular utiliza las biomoléculas secretadas por el mismo organismo, las cuales poseen grupos funcionales que actúan como reductores, estabilizadores y hasta recubrimiento de las NPs (Mathivanan et al., 2019;Ahmad et al., 2019).

Por otro lado, la síntesis biogénica a base de plantas utiliza extractos naturales de plantas (i.e., hojas, frutos, tallos, raíces, flores y semillas) como agentes reductores, estabilizadores y de cobertura, para la producción de nanopartículas. Estas se producen mediante la interacción de la sal metálica y los compuestos orgánicos presentes en el extracto (i.e., proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas y metabolitos secundarios), es decir, compuestos bioactivos (i.e., flavonoides, alcaloides, polifenoles, terpenoides, compuestos heterocíclicos y polisacáridos) (Jadoun et al., 2021). Además, estos compuestos orgánicos ayudan a controlar y homogeneizar las características estructurales de estás sin necesidad de añadir polímeros sintéticos ni tensioactivos.

Moringa Oleifera

La *Moringa oleifera* es un árbol con raíces gruesas, abundantes flores y frutos elongados. Este tiene una esperanza de vida de aproximadamente 20 años, puede crecer en suelos con un pH de entre 4.5 y 8 y llega a una altura de entre 5 y 10 metros en periodos de tiempo relativamente cortos (Gandji et al., 2018; Milla et al., 2021). La especie es originaria del sur de Asia, sin embargo, se ha logrado

naturalizar en distintas partes del mundo debido a su adaptabilidad tanto a climas húmedos como secos (Gandji et al., 2018). Y principalmente las hojas de *M. oleifera* cuentan con cantidades sustanciales de vitaminas A, C y E, así como proteínas, potasio, hierro, calcio, magnesio y fitonutrientes como carotenoides, ácido ascórbico y tocoferoles. También cabe destacar que esta planta es una excelente fuente de antioxidantes, mostrando contenidos significativamente mayores a otros frutos que son conocidos por tener una alta concentración de los mismos (i.e. fresas, bayas de goji y manzanas granny smith) (Oyeyinka & Oyeyinka, 2018 ;Patil et al., 2022).

PARTE EXPERIMENTAL

Elaboración de extractos

Se prepararon de 3 extractos usando hoja molida de *M. oleifera* a una concentración de 0.1 g mL^{-1} en 150 mL de agua destilada. Para el extracto de infusión se preparó la mezcla y se dejó en agitación 1 h a 80 °C, para el método de *salting out* se usa el agua para preparar una solución salina de 5%, a la cual se le agrega la hoja molida y se deja en agitación 1 h. La extracción *salting out*-infusión consiste el uso de una solución salina al 5% y dejar la mezcla en agitación a 80°C por 1h.

Síntesis Biogénica

Se preparó una solución 0.1M de $FeSO_4*7H_2O$ y se adicionó al extracto en una relación volumétrica de 2:8 en tubos falcon de 15 mL. Las muestras se dejaron en agitación por 24 h. Finalmente, las muestras se separaron en diversos tubos a volúmenes de 1 mL y se liofilizaron por 24h para poder llevar a cabo la caracterización del material obtenido.

Caracterización del extracto

Para obtener las concentraciones de flavonoides, polifenoles, proteínas y azúcares contenidas en el extracto, se llevaron a cabo los métodos de reacción con $AlCl_3$, el método de Folin-Ciocalteu y el método de Bradford y reacción con antrona, respectivamente. Para los ensayos se llevaron a cabo un total de 6 réplicas, 2 duplicados estadísticos con 3 triplicados biológicos y a todos se les midió su absorbancia en un equipo de Multiskan Sky High usando una microplaca de 96 pocillos. Finalmente, los valores de absorbancia obtenidos en las muestras se sustituyeron en la ecuación obtenida de la curva de calibración elaborada para cada prueba.

Determinación de concentración de flavonoides
Las muestras liofilizadas se mezclaron con metanol al 70% en una relación de 1 mL por cada 50 mg. Se mantuvieron las muestras en agitación por 24 h en oscuridad a temperatura ambiente. Se centrifugaron las muestras a 10 000 rpm por 15 min y se recuperó el sobrenadante; este proceso se repitió hasta obtener una solución clara y sin partículas en suspensión.
Para la cuantificación de flavonoides se colocaron 12.5 μL de la muestra con metanol en la placa, se le añadió 7.5 μL de NaNO2 al 5% y se incubaron 5 min a temperatura ambiente en ausencia de luz. Posteriormente se adicionaron 15 mL de $AlCl_3*6H_2O$ al 10% y nuevamente se incubaron 5 min a temperatura ambiente a oscuras. Finalmente, se adicionaron 50 μL de NaOH 1M y 165 mL de H_2O destilada estéril y se realizó la lectura de absorbancia a 510 nm.
Al mismo tiempo, se realizó la lectura de la curva de calibración elaborada a partir de una solución stock de quercetina a 0.5 mg/mL

Determinación de concentración de polifenoles
Se adicionaron 250 μL de metanol al 70% a las muestras liofilizadas en un tubo eppendorff y se dejaron en agitación sin luz durante 24 h. Se centrifugaron 15 min a 10 000 rpm y se separó el sobrenadante.
Para la medición de la absorbancia se agregaron 237 μL de agua destilada estéril, 45 μL de Na2CO3 al 15%, 3 μL de muestra con metanol y 15 μL de reactivo de Folin al 10%. Se incubó en ausencia de luz por 5 min a temperatura ambiente y se leyeron las absorbancias a 760 nm.

De igual manera, se llevó a cabo la lectura de la curva de calibración preparada a partir de una solución stock de ácido gálico a una concentración de 2 mg/mL.

Determinación de concentración de proteínas
Las muestras liofilizadas se resuspendieron por agitación en vortex en agua destilada estéril.
Posteriormente, se colocaron 10 μL de las muestras resuspendidas en sus respectivos pozos y se les adicionó 200 μL de una solución de reactivo de Bradford preparada en una relación volumétrica 1:4. Estas se incubaron en ausencia de luz por 5 min a temperatura ambiente y se realizó la lectura de absorbancias a 595 nm.
Adicionalmente se preparó una curva de calibración de una solución stock de BSA a 2 mg/mL y se llevó a cabo la lectura de absorbancia a la misma longitud de onda.

Determinación de concentración de azúcares totales
Las muestras liofilizadas se mezclaron con etanol al 96% en una relación de 1.5mL por cada 100 mg y se incubaron a 4°C por 15 min.
Para la lectura en placa se agregaron 40 μL de la muestra y 100 μL de una solución de antrona y H_2SO_4 de una concentración de 2 mg/mL. Se incubó la placa a 92°C por 3 min en baño de agua y se dejó a temperatura ambiente por 5 min. Finalmente se secó en un horno a 45°C por 15min y se llevó a cabo la lectura a 630 nm.
La curva de calibración de este ensayo se realizó utilizando una solución stock de glucosa de 0.4 g L^{-1} y su lectura fue llevada a cabo en la misma placa que el resto de las muestras.

Caracterización de nanopartículas

Se llevaron a cabo las caracterizaciones de las nanopartículas por espectrometría UV-Visible (UV-Vis), espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido y análisis por dispersión de energía de rayos X (SEM-EDS), espectroscopía Raman y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Para ello, las muestras analizadas fueron divididas en dos, el extracto de hoja de Moringa oleífera posterior al proceso de síntesis (muestra “a”) y el extracto puro (muestra “b”)

Para el análisis de espectrometría UV-visible de las muestras primero etas fueron suspendidas donde para ello se colocaron 10 mg de cada una de las muestras liofilizadas en 3 mL de agua destilada. Asimismo, se analizó la solución de sulfato ferroso (muestra “c”). Todas las muestras fueron medidas en un rango de longitud de onda de 200 a 900 nm.

Se llevó a cabo el análisis de FT-IR de las muestras sólidas de a y b, posterior a su proceso de liofilización, así como de la sal metálica que se utilizó como precursor. Para ello se usó el equipo Thermo Scientific Nicolet iS10 FT-IR ATR en un rango de 500 a 4000 cm^{-1}.

El análisis por espectroscopía Raman se llevó a cabo para la muestra a posterior su liofilización en un rango de 100 a 3000 cm^{-1}. Adicionalmente se realizó una deconvolución de señales para la identificación de las sub-bandas presentes utilizando el programa OriginPro 8.5.

Se estudió la morfología del material a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) empleando un equipo JEOL para Microanálisis (EPMA) JXA-8530F usando una potencia de 15 kV y variando las micrografías entre 1000 y 2000 aumentos, produciendo una escala entre 25 y 2.5 mm. La microscopía se complementó con análisis por dispersión de energía de rayos X (EDS) con la finalidad de hacer un análisis elemental del material empleando el mismo microscopio con un voltaje de 15 kV. Se llevó se fijó el haz de electrones en 3 sitios de la muestra de extracto liofilizado con nanopartículas para cabo una determinación elemental puntual de la misma. Adicionalmente se llevó a cabo un mapeo general de la zona.

La caracterización de espectroscopía Raman se realizó utilizando un espectrómetro Horiba modelo LabRAM HR Evolution. Los espectros se adquirieron en el rango de 500 a 2500 cm^{-1}, empleando un láser de helio-neón (He-Ne) como fuente de excitación.

Finalmente, una dispersión de la muestra en alcohol isopropílico fueron colocadas sobre rejillas de cobre con membrana continua de carbono (200 mesh) y posteriormente caracterizadas mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) en un equipo Hitachi 7700, operado a un voltaje de aceleración de 120 kV.

RESULTADOS

Caracterización del extracto.

La síntesis biogénica de nanopartículas requiere principalmente de 3 ingredientes, agentes reductores, estabilizadores y un medio para llevar a cabo la reacción. Haciendo referencia al uso del extracto de plantas, existe una amplia gama de biomoléculas disponibles que pueden servir para la síntesis de nanopartículas. Las proteínas, polifenoles, azúcares y flavonoides son moléculas de interés debido a su potencial como reductores, estabilizantes y recubrimientos (Bukhari et al., 2021). Tomando en consideración lo anterior, se llevó a cabo una determinación de la concentración de moléculas mencionadas anteriormente. En la Tabla 1 se muestran los valores promedio de las concentraciones de proteínas, polifenoles, flavonoides y azúcares.

Tabla 1. Concentraciones de biomoléculas en los extractos.

	mg L^{-1}			
Muestra	Flavonoides	Proteínas	Azúcar	Polifenoles
IH	64.14	0.19	49.50	115.85
SH	185.66	0.14	91.22	57.12
SIH	92.07	0.14	121.34	75.35

Caracterizaciones de nanomateriales

Debido a los resultados obtenidos de las caracterizaciones mencionadas en la metodología se determinó que los rendimientos más favorables de síntesis se obtienen utilizando el extracto SIH, por lo que se presentan los análisis de dichos materiales. En la Figura 1 se observa el análisis por espectrofotometría de UV-visible, para identificar modificaciones en absorbancia del extracto de Moringa oleífera después de llevar a cabo el proceso de síntesis. En la Figura 1 se muestra el espectro UV-Vis que compara el extracto con nanopartículas (a), el extracto puro (b) y la solución de $FeSO_4$ (c). Analizando en el rango entre 200 a 280 nm, el extracto con nanopartículas y el extracto puro presentan absorbancias similares. Sin embargo, a partir de los 280 nm se observa un aumento en la absorbancia de la muestra (a) con respecto a la muestra (b). Este se le atribuye a la formación de nanopartículas de óxido de hierro, las cuales presentan absorción entre 290 y 350 nm (Niraimathee et al., 2016).

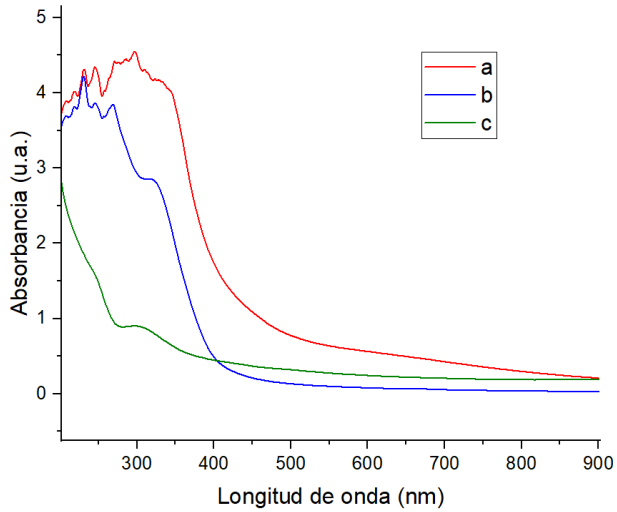


Figura 1. Absorbancias de extracto de Moringa oleífera después del proceso de síntesis (a), extracto puro previo al proceso de síntesis (b) y la solución de $FeSO_4$ diluida a una concentración 0.33M (c).

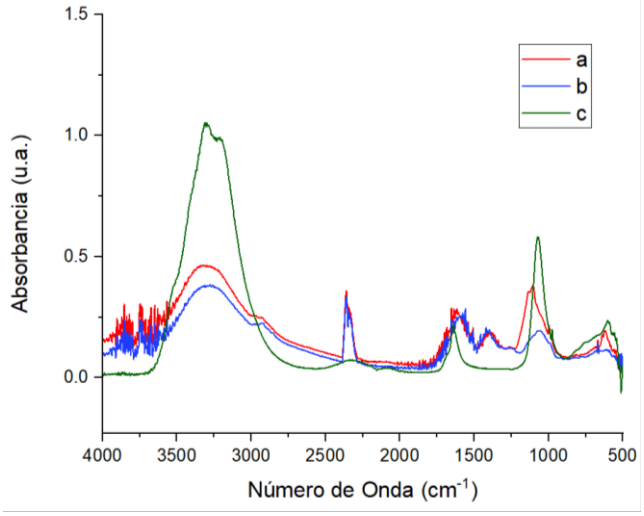


Figura 2. FT-IR de (a) Extracto con nanopartículas, (b) extracto puro y (c) $FeSO_4$.

Adicionalmente, se llevó a cabo un análisis de FT-IR para identificar modificaciones químicas entre las muestras antes y después del proceso de síntesis, así como interacciones de grupos encontrados en las biomoléculas responsables por la síntesis de nanopartículas (Figura 2). En la Figura 2 se pueden apreciar similitudes en los picos de absorbancias entra las muestras (a) y (b), que corresponden al extracto con nanopartículas y el extracto puro. Ambos muestran bandas anchas a 3289 cm^{-1} correspondientes al estiramiento de grupos O-H y una señal en 2922 cm^{-1} que se atribuye a estiramientos asimétricos de CH_2 encontrados en compuestos de carbonos alifáticos. Asimismo, ambas muestras presentan picos a 1626 cm^{-1} y 1394 cm^{-1} correspondientes a estiramientos C-C de anillos aromáticos. Las bandas identificadas en estas zonas indican la presencia de fitoquímicos que pueden estar involucrados en la síntesis y formación de recubrimiento de las nanopartículas. Posteriormente, se realizó un acercamiento en la zona entre 650 cm^{-1} y 500 cm^{-1} donde se identificó la aparición de una señal a a 620 cm^{-1}, la cual se atribuye a estiramientos de metal con oxígeno, específicamente Fe-O (Djordjević, 1961).

Para obtener mayor información sobre la estructura de las nanopartículas sintetizadas, se llevó a cabo un análisis de espectroscopía de Raman de la muestra a, así como una deconvolución de las señales de la misma (Figura 3). Posterior a este proceso, se obtuvo un total de 12 sub-bandas cuya suma presenta una R2= 0.99965; donde la mayoría de estas bandas se atribuyen principalmente

interacciones de C, H y O asociadas a azúcares, polifenoles y flavonoides contenidos en el extracto (Schulz & Baranska, 2007), y las bandas presentes a 202 cm^{-1} y 658 cm^{-1} se pueden asociar a estructuras cristalinas de Fe_3O_4 (Kumar, 2012).

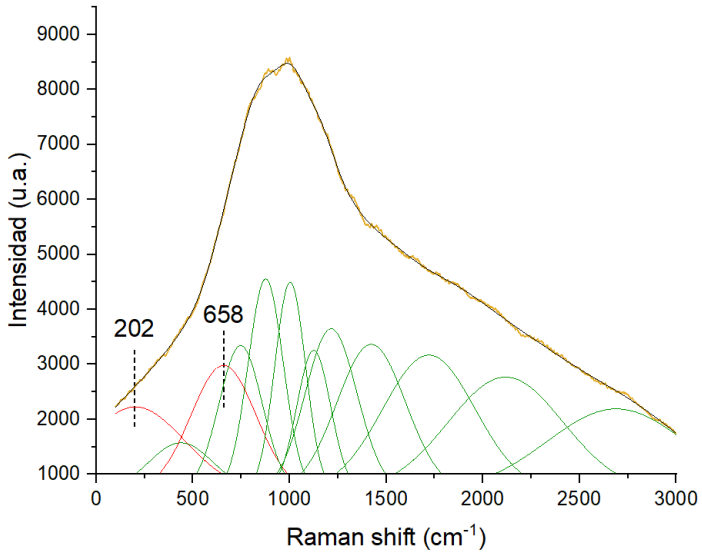


Figura 3. Deconvolución de raman de muestra de extracto con nanopartículas.

Los análisis EDS permitieron realizar un análisis elemental puntual en 3 zonas distintas, las cuales revelan un 24.94%, 24.41% y 18.97% de porcentaje de masa de Fe, promediando un porcentaje de masa total de 22.77% en toda la muestra analizada. Finalmente, la microscopía TEM mostró la formación de nanopartículas vesiculares con tamaño polidisperso.

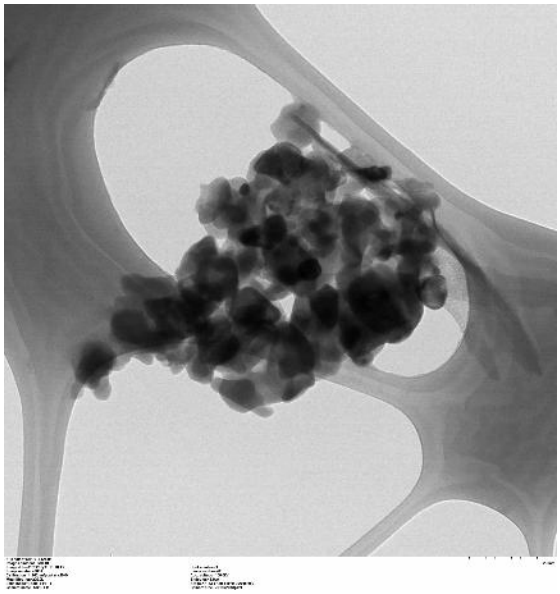


Figura 4. Microscopía TEM de nanopartículas.

CONCLUSIONES

A partir de la experimentación realizada se propuso un proceso de extracción de biomoléculas de la hoja de *M. oleífera*, el cual es sencillo, escalable y no requiere de reactivos tóxicos para llevarse a cabo. No obstante, los resultados de las caracterizaciones de los extractos muestran que este no es apto para la extracción de proteínas. Y a partir de ello se atribuye el mecanismo de síntesis a los polifenoles, flavonoides y azúcares, los cuales fungen como recubrimiento y estabilizadores. Por lo tanto, se puede suponer que, siguiendo los parámetros establecidos es posible llevar a cabo la repetibilidad del método.

BIBLIOGRAFÍA

1. Khan, Y., Sadia, H., Ali Shah, S. Z., Khan, M. N., Shah, A. A., Ullah, N., ... & Khan, M. I. (2022). Classification, synthetic, and characterization approaches to nanoparticles, and their applications in various fields of nanotechnology: A review. Catalysts, 12(11), 1386.
2. Leon, L., Chung, E. J., & Rinaldi, C. (2020). A brief history of nanotechnology and introduction to nanoparticles for biomedical applications. In Nanoparticles for Biomedical Applications (pp. 1-4). Elsevier.
3. Adeeyo, A. O., & Odiyo, J. O. (2018). Biogenic synthesis of silver nanoparticle from mushroom exopolysaccharides and its potentials in water purification. Open Chemistry Journal, 5(1).
4. Batool, S., Hussain, Z., Niazi, M. B. K., Liaqat, U., & Afzal, M. (2019). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and evaluation of physical and antimicrobial properties of Ag/PVA/starch nanocomposites hydrogel membranes for wound dressing application. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 52, 403-414.
5. Mathivanan, K.; Selva, R.; Chandirika, J.U.; Govindarajan, R.K.; Srinivasan, R.; Annadurai, G.; Duc, P.A. Biologically synthesized silver nanoparticles against pathogenic bacteria: Synthesis, calcination and characterization. Biocatal. Agric. Biotechnol. 2019, 22, 101373
6. Jadoun, S.; Arif, R.; Jangid, N.K.; Meena, R.K. Green Synthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts: A Review. Environ. Chem. Lett. 2021, 19, 355–374.
7. Antonio-Pérez, A.; Durán-Armenta, L.F.; Pérez-Loredo, M.G.; Torres-Huerta, A.L. Biosynthesis of Copper Nanoparticles with Medicinal Plants Extracts: From Extraction Methods to Applications. Micromachines 2023, 14,1882. https://doi.org/10.3390/mi14101882
8. Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., & Kakaï, R. G. (2018). Status and utilisation of Moringa oleifera Lam: A review. African Crop Science Journal, 26(1), 137-156.
9. Milla, P. G., Peñalver, R., & Nieto, G. (2021). Health benefits of uses and applications of Moringa oleifera in bakery products. Plants, 10(2), 318.
10. Gandji, K., Chadare, F. J., Idohou, R., Salako, V. K., Assogbadjo, A. E., & Kakaï, R. G. (2018). Status and utilisation of Moringa oleifera Lam: A review. African Crop Science Journal, 26(1), 137-156.
11. Oyeyinka, A. T., & Oyeyinka, S. A. (2018). Moringa oleifera as a food fortificant: Recent trends and prospects. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17(2), 127-136.
12. Patil, D., Vaknin, Y., Rytwo, G., Lakemond, C., & Benjamin, O. (2022). Characterization of Moringa oleifera leaf and seed protein extract functionality in emulsion model system. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 75, 102903.
13. Bukhari, A., Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., Zain, H., Saeed, R., ... & Naseer, Y. (2021). Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles using different plants' parts for antimicrobial activity and anticancer activity: a review article. Coatings, 11(11), 1374.
14. Djordjević, C. (1961). Metal-oxygen vibration modes in the infra-red spectra of aluminium, gallium and indium tris-acetylacetonates. Spectrochimica Acta, 17(4), 448-453.
15. Kumar, C. S. (Ed.). (2012). Raman spectroscopy for nanomaterials characterization. Springer Science & Business Media.

OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE BETALAÍNAS A PARTIR DE CÁSCARA DE PITAYA DE MAYO (*Stenocereus pruinosus*) MEDIANTE MACERACIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS

Paulina Aguirre Lara[1,3], Maria Anahí Lara Morales[2], Eliza Japzinny Luna Maldonado[2], María Mercedes Velazquez[3], Ceferino Carrera[3], Gerardo Fernández Barbero[3], José Arturo Olguín-Rojas[2]

1. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz/Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (UNIDA). M.A. de Quevedo 2779, Col. Formando Hogar, C.P. 91860, Veracruz, Ver., México. 2. Ingeniería en Procesos Bioalimentarios, Universidad Tecnológica de Tecamachalco. Avenida Universidad Tecnológica 1, Col. La Villita, CP. 75483 Tecamachalco, Puebla, México. 3. Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus de Excelencia Internacional en Agroalimentaria, Instituto de Vitivinicultura y Agroalimentaria, 11510 Puerto Real, España.

j.a.olguin.rojas@personal.uttecam.edu.mx

RESUMEN

La pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) es un fruto originario de México, el cual es cultivado en las zonas semiáridas del centro y norte del país. El fruto se distingue por el característico color de la pulpa debido a las betalaínas, pigmentos naturales con propiedades antioxidantes y potenciales beneficios para la salud. El fruto se consume principalmente en fresco, mientras que la cáscara suele considerarse un residuo agroindustrial, a pesar de su alto contenido de compuestos bioactivos. Su valorización mediante métodos de extracción eficientes podría fomentar el desarrollo de productos con valor agregado y contribuir a la reducción de desperdicios dentro de un enfoque de economía circular. El presente trabajo aborda la optimización en el manejo de agroresiduos como una estrategia indispensable para impulsar la sostenibilidad en el ámbito agrario, por el cual, a través de la valorización de los mismos es factible transformarlos en recursos con un valor agregado, lo que contribuye a reducir el impacto ambiental y a mejorar la eficiencia energética. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue optimizar las condiciones de extracción de betalaínas a partir de la cáscara deshidratada de pitaya mediante maceración asistida por microondas. La metodología empleada en este trabajo se basó en emplear un diseño experimental Box–Behnken para evaluar el efecto de la temperatura (50–80 °C), la composición del disolvente (0–40% de etanol en agua) y la relación muestra-disolvente (0.3–0.7 g en 25 mL) sobre la eficiencia de extracción. El proceso se llevó a cabo en un sistema de microondas (CEM MARS 6) durante 5 minutos, y el contenido de betalaínas totales se determinó por espectrofotometría. Los resultados obtenidos mostraron que las condiciones óptimas para la extracción fueron: 12.7% de etanol en agua, 80 °C y una relación muestra-disolvente de 0.3 g/mL, logrando una recuperación de 73.5 ± 0.90 mg de betalaínas totales por cada 100 g de cáscara. Los hallazgos de este trabajo permiten concluir que la temperatura y la proporción de disolvente influyeron significativamente en la eficiencia del proceso. Los compuestos recuperados presentan un alto potencial de aplicación en diversas industrias, como la alimentaria, cosmética y farmacéutica, lo que resalta la importancia de aprovechar los subproductos agroindustriales de manera sostenible.

INTRODUCCIÓN

La pitaya de mayo (*S. pruinosus*) es una cactácea columnar endémica de México, ampliamente cultivada en regiones semiáridas del centro y sur del país, especialmente en los estados de Puebla y Oaxaca. Sus frutos son valorados por su sabor y contenido nutricional. Estos frutos son consumidos principalmente en fresco; sin embargo, del peso total, solo cerca del 50 % corresponde a la pulpa comestible, mientras que aproximadamente el 20 % corresponde a semillas y el 30 % restante a la cáscara. A pesar de que esta última presenta un alto contenido de compuestos bioactivos, como pigmentos naturales y antioxidantes, comúnmente se desecha, clasificándose como un residuo agroindustrial. En el contexto de la bioeconomía circular, el aprovechamiento

integral de subproductos agroindustriales se ha consolidado como una estrategia clave para reducir pérdidas postcosecha y generar valor agregado a través del desarrollo de ingredientes funcionales para distintas industrias como la alimentaria, cosmética y farmacéutica.

La recuperación de compuestos bioactivos desde matrices vegetales requiere procesos de extracción que permitan liberar eficientemente estas moléculas mediante el uso de disolventes adecuados. Estas técnicas pueden clasificarse en métodos convencionales (maceración, reflujo, Soxhlet) y no convencionales o emergentes (ultrasonido, microondas, pulsos eléctricos, digestión enzimática, fluidos supercríticos, entre otros). Entre las técnicas no convencionales, la extracción asistida por microondas (EAM) ha demostrado ser eficiente para la obtención de compuestos sensibles al calor. Este método se basa en el uso de radiación electromagnética en el rango de 300 MHz a 300 GHz, que interactúa con las moléculas polares del disolvente y de la matriz vegetal, generando un calentamiento rápido y homogéneo. Esta acción facilita la ruptura de las paredes celulares, incrementa la presión interna y mejora la difusión de los compuestos hacia el medio líquido, lo que se traduce en mayores rendimientos de extracción en tiempos reducidos. Para maximizar la eficiencia del proceso y reducir el consumo de insumos, la metodología de superficie de respuesta se emplea como una herramienta estadística que permite modelar y optimizar procesos multivariables. Esta metodología es ampliamente utilizada en ingeniería y ciencia de los alimentos para identificar las condiciones óptimas que mejoran la recuperación de compuestos de interés. En este contexto, el objetivo del presente estudio fue optimizar las condiciones de extracción de betalaínas a partir de cáscara de pitaya de mayo (*S. pruinosus*) mediante maceración asistida por microondas.

TEORÍA

En México se han identificado 22 especies del género *Stenocereus*, de las cuales 20 son endémicas y adaptadas a zonas áridas y semiáridas del país (Arreola, 1999; Hunt, 1992). Entre ellas, *S. pruinosus, S. stellatus y S. griseus* destacan por su valor comercial, siendo cultivadas principalmente en los estados de Puebla y Oaxaca. En particular, en la región de Dolores Hidalgo, Puebla, predomina el cultivo de *S. pruinosus*, cuyas variedades de fruto rojo y amarillo representan cerca del 18.5 % del valor nacional de producción (SIAP, 2023). Aunque el fruto se consume principalmente en fresco, solo cerca del 50 % corresponde a pulpa comestible, mientras que el 30 % restante corresponde a la cáscara, la cual contiene compuestos funcionales de interés, como betalaínas y compuestos fenólicos, que generalmente se desperdician como residuo agroindustrial. En este contexto, la bioeconomía circular impulsa el aprovechamiento de residuos como la cáscara de pitaya, mediante procesos eficientes para producir ingredientes funcionales con valor agregado, favoreciendo la sostenibilidad de los procesos (Muscat et al., 2021, Khanna et al., 2024).

Las betalaínas son pigmentos nitrogenados hidrosolubles responsables de los colores rojo, púrpura y amarillo de la pulpa y la cáscara de muchas cactáceas (Beltrán-Orozco et al., 2009). Estas moléculas presentan reconocida actividad antioxidante, antiinflamatoria y potencial efecto protector frente al estrés oxidativo, lo que las hace valiosas en el desarrollo de ingredientes nutracéuticos y productos funcionales. Para recuperar este tipo de compuestos desde matrices vegetales, se emplean técnicas de extracción sólido-líquido que utilizan disolventes selectivos. Tradicionalmente, se han usado métodos como maceración, reflujo o extracción tipo Soxhlet; sin embargo, estas técnicas presentan limitaciones en eficiencia, consumo energético y tiempo de operación (González-González et al., 2023).

Por otra parte, la extracción asistida por microondas (EAM) se ha consolidado como una alternativa eficiente y sostenible. Esta tecnología se basa en el uso de radiación electromagnética (300 MHz – 300 GHz) que interactúa con moléculas polares del disolvente y de la matriz vegetal, generando un calentamiento interno rápido y uniforme. Este fenómeno facilita la ruptura de las paredes celulares, incrementa la presión intracelular y mejora la difusión de los compuestos al medio líquido, lo que se traduce en mayores rendimientos de extracción en tiempos significativamente menores (Cervantes-Arista et al., 2024; Oufighou et al., 2024; Melgar et al., 2019; Pérez-Loredo et al., 2017).Esta sinergia es especialmente útil para matrices vegetales complejas como la cáscara de pitaya, en donde la

liberación de compuestos como betalaínas y fenoles requiere superar barreras estructurales de la matriz celular.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de la cáscara de pitaya

Frutos maduros de pitaya de mayo (*S. pruinosus*.) fueron adquiridos a productores de la región de Dolores Hidalgo, Puebla (18°45'20.2"N 97°51'40.7"W). Se seleccionaron aquellos que presentaban un estado fisiológico adecuado para su madurez comercial. Las cáscaras se separaron manualmente y fueron deshidratadas en un horno al vacío a 40 °C hasta alcanzar peso constante. Posteriormente, se determinó el contenido de humedad final y se realizó una molienda hasta obtener un tamaño promedio de partícula de 354 µm. La cáscara pulverizada fue empacada al vacío en bolsas de polietileno y almacenada en refrigeración hasta su uso en el proceso de extracción.

Extracción asistida por microondas

La extracción se llevó a cabo utilizando un sistema de extracción por microondas MARS 6 (CEM Corporation, Matthews, NC, EE. UU.). Se colocaron distintas cantidades de cáscara molida en contacto con 25 mL de disolvente, empleando mezclas de etanol y agua en diferentes proporciones. Las condiciones de tratamiento se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Rendimientos obtenidos en los 15 tratamientos realizados con los factores y rango de valores utilizados en el diseño Box-Behnken de la extracción asistida por microondas.

Tratamiento	%ETOH	Temperatura [ºC]	Ratio [g]	Betalaínas totales [mg/100 g]
1	0	50	0.5	53.0
2	20	50	0.3	55.6
3	20	50	0.7	40.1
4	40	50	0.5	42.0
5	0	65	0.7	21.5
6	0	65	0.3	69.1
7	20	65	0.5	62.5
8	20	65	0.5	55.5
9	20	65	0.5	60.9
10	40	65	0.3	46.1
11	40	65	0.7	39.7
12	0	80	0.5	46.2
13	20	80	0.3	74.2
14	20	80	0.7	39.3
15	40	80	0.5	52.6

Análisis de betalaínas totales por espectrofotometría

El contenido total de betalaínas se determinó como la suma de betacianinas y betaxantinas, de acuerdo con el método propuesto por Castellanos-Santiago y Yahia (2008). La cuantificación se realizó mediante espectrofotometría UV-Vis utilizando un espectrofotómetro Agilent Technologies Cary 60. Las betacianinas se midieron a una longitud de onda de 538 nm y las betaxantinas a 483 nm. El extracto obtenido fue diluido previamente para que la absorbancia se encontrara dentro del intervalo lineal del equipo (0.2 a 0.8 unidades absorbancia), y dicho factor de dilución fue considerado en el cálculo final de concentración. La conversión de absorbancia a concentración (mg/L) se realizó mediante la siguiente ecuación (Ecuación 1):

$$\boldsymbol{B}\left(\frac{mg}{g}\right) = \frac{AxFDxPMxV}{\varepsilon xPxL} \qquad \text{Ecuación 1}$$

Donde, $\mathbf{B}$: Betacianinas o betaxantinas. $\mathbf{A}$: Absorbancia a 538 nm (para betacianinas) y 483 nm (para betaxantinas). $\mathbf{FD}$: Factor de dilución. $\mathbf{PM}$: Peso molecular (Betanina = 550 g/mol e Indicaxantina = 308 g/mol). $\mathbf{V}$: Volumen del extracto. $\boldsymbol{\varepsilon}$: Coeficiente de extinción molar (Betanina = 60,000 L/mol.cm, e Indicaxantina = 48,000 L/mol.cm). $\mathbf{L}$: Longitud de celda (10 mm).

Análisis estadístico

Para la optimización del proceso de extracción de betalaínas, se empleó la metodología de superficie de respuesta, utilizando un diseño experimental tipo Box-Behnken con tres variables independientes a tres niveles codificados. Las variables independientes seleccionadas fueron: proporción de etanol en el disolvente (%), tiempo (minutos) y relación sólido-líquido (g/25 mL). La variable respuesta fue el contenido total de betalaínas (mg/100 g). Los datos obtenidos se ajustaron a un modelo de regresión cuadrático múltiple (Ecuación 2),

$$y_j = \beta_{0j} + \beta_{1j}x_1 + \beta_{2j}x_2 + \beta_{3j}x_3 + \beta_{11j}x_1^2 + \beta_{22j}x_2^2 + \beta_{33j}x_3^2 + \beta_{12j}x_1x_2 + \beta_{13j}x_1x_3 + \beta_{23j}x_2x_3 \qquad \text{Ecuación 2}$$

donde y_j representa el contenido de betalaínas totales, x_1, x_2, x_3 son las variables independientes codificadas correspondientes a la proporción de etanol en el disolvente, temperatura de extracción y relación sólido: solvente, respectivamente. Los coeficientes $\boldsymbol{\beta}_{\mathbf{n}}$ corresponden a los efectos lineales, cuadráticos e interactivos estimados mediante regresión múltiple. El ajuste del modelo, la significancia estadística de los coeficientes y la validación del modelo se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó el coeficiente de determinación ajustado (R^2) y el valor de p (<0.05) para verificar la validez del modelo. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Minitab 16 (Minitab Inc., State College, PA, EE. UU.).

RESULTADOS

La optimización de los procesos de extracción constituye una etapa crítica para maximizar la recuperación de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales. Esta optimización permite reducir tanto el consumo de disolventes orgánicos como los requerimientos energéticos, contribuyendo a la sostenibilidad del proceso y a la disminución del impacto ambiental.

En la Tabla 1 se muestra la recuperación de betalaínas totales, expresada en miligramos por cada 100 gramos de cáscara seca de pitaya, con valores entre 21.5 y 74.2 mg/100 g. Si bien estos valores son inferiores a los reportados para la pulpa de pitaya roja (*S. stellatus*), donde se alcanzaron hasta 480.3 mg/100 g de materia seca (Pérez-Loredo et al., 2017), los resultados obtenidos son comparables a los de Cervantes-Arista et al. (2024), quienes reportaron 51 mg/g en pulpa seca de *S. stellatus*. En contraste, Melgar et al. (2019) reportaron concentraciones significativamente más altas, entre 132.9 y 201.6 mg/g en cáscara seca de *Opuntia engelmannii* cv. Valencia, es decir, aproximadamente cuatro veces mayores que las obtenidas en este estudio.

En la Tabla 2 se presentan los valores p asociados a los coeficientes del modelo de regresión (Ecuación 2). El análisis de varianza (ANOVA) muestra que varios términos del modelo cuadrático propuesto tienen un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la recuperación de betalaínas totales. De las variables evaluadas el ratio sólido:disolvente presentó significancia estadística, de igual manera la interacción de las variables y el cuadrático de la variable % de etanol y ratio.

La temperatura resultó ser el factor con mayor influencia positiva en el rendimiento de extracción, lo cual es consistente con estudios previos que señalan que un aumento en esta variable mejora la disrupción de las paredes celulares y facilita la transferencia de masa (Mao et al., 2021). En la extracción de compuestos fenólicos de *Vernonia amygdalina*, Alara et al. (2018) reportaron que el

incremento de temperatura de 70 a 100 °C favorece significativamente la liberación de metabolitos al reducir la viscosidad del disolvente y aumentar la movilidad molecular, acelerando así la difusión de los compuestos intracelulares hacia el medio extractante. No obstante, es fundamental considerar que temperaturas elevadas también pueden inducir la degradación térmica de compuestos termosensibles, como las betalaínas, lo que resalta la importancia de encontrar un balance adecuado entre eficiencia del proceso y preservación de la integridad química de los bioactivos (Yuan et al., 2020).

Asimismo, el tipo de disolvente y la proporción sólido-líquido son variables fundamentales para maximizar la recuperación de compuestos bioactivos. En el presente trabajo se encontró que una concentración intermedia de etanol (12.7 %) permitió alcanzar el mayor rendimiento, resultado consistente otros autores que demuestran cómo la composición del disolvente influye directamente en la solubilidad y selectividad de los compuestos extraídos (Alara et al., 2018; Yuan et al., 2020). Por otro lado, se determinó que el ratio sólido-disolvente de 0.3 g/25 mL es el óptimo.

Tabla 2. Significancia de los parámetros de la extracción de betalaínas a partir de cáscara de pitaya de mayo mediante maceración asistida por microondas.

Termino	Coeficiente	p-valor
β_0	59.632	<0.00
β_1	-1.174	0.353
β_2	2.699	0.065
β_3	-13.049	<0.000
β_{11}	-9.691	0.001
β_{22}	-1.491	0.418
β_{33}	-5.841	0.017
β_{12}	4.349	0.043
β_{13}	10.299	<0.000
β_{23}	-4.849	0.030

Utilizando los coeficientes de los parámetros, se elaboró el gráfico de superficie de respuesta que se muestra en la Figura 1.

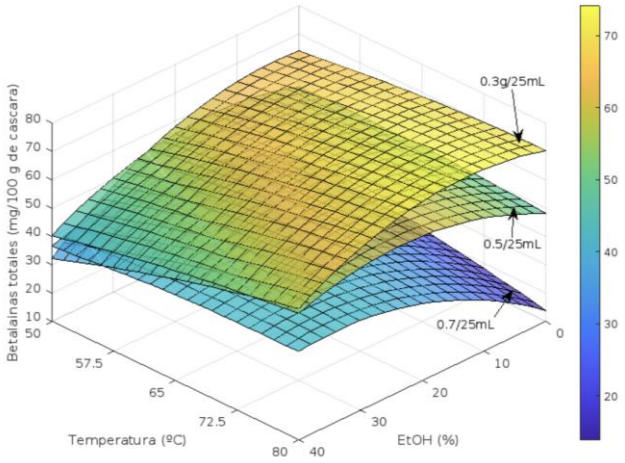


Figura 1. Efecto de las variables de maceración asistida por microondas de cáscaras de pitayas sobre el contenido de betalaínas totales.

En la Figura 2 se presenta la comparación de los valores simulados con los valores experimentales, donde se puede observar un ajuste del modelo matemático obtenido. El coeficiente R^2 es de 0.98

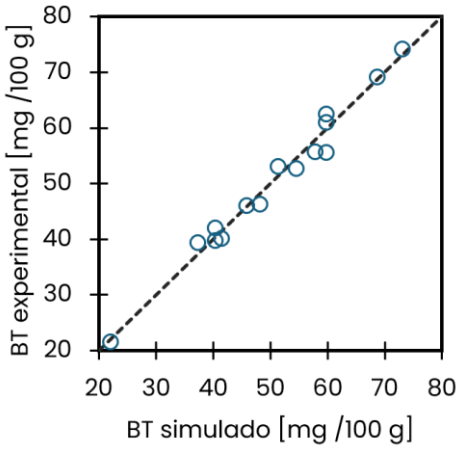


Figura 2. Comparación entre los valores simulados y experimentales de betalaínas totales en cáscara de pitaya. La línea punteada representa la línea de identidad.

CONCLUSIONES

Se optimizaron las variables del proceso de extracción de betalaínas totales a partir de cáscaras de pitaya de mayo. La temperatura y proporción etanol:agua influyeron significativamente sobre el contenido total de betalaínas, siendo la condición óptima 80 °C, 12.7 % de etanol y una relación sólido:disolvente de 0.3 g/ 25 mL. El modelo cuadrático mostró un buen ajuste a los datos experimentales ($R^2 = 0.98$). Este estudio respalda el uso de tecnologías limpias para el aprovechamiento de subproductos agrícolas y contribuye al impulso de modelos de bioeconomía circular, al transformar un residuo regional en un producto de alto valor agregado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Olalere, O. A. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from Vernonia amygdalina leaf using response surface methodology. Food and Bioproducts Processing, 107, 36–48. https://doi.org/10.1016/J.FBP.2017.10.007
2. Arreola, H., 1999, “Taxonomía del pitayo (*Stenocereus* Ricc.)”, en Pimienta-Barrios, E. (comp.), El pitayo en Jalisco y especies afines en México, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
3. Balderas, V., Palafox, L., Castro, A. S., & Saucedo, C. (2016). Evaluación de las propiedades físicas y calidad organoléptica y nutricional de frutos de pitaya (*Stenocereus pruinosus*). *Rev Iberoam Cienc*, *3*(7), 86-92.
4. Beltrán-Orozco, M. C., Oliva-Coba, T. G., Gallardo-Velázquez, T., & Osorio-Revilla, G. (2009). Ácido ascórbico, contenido fenólico, y capacidad antioxidante de las variedades roja, cereza, amarilla y blanca del fruto del cactus de la pitaya (*Stenocereus stellatus* Riccobono). Agrociencia, 43(2), 153-162.
5. Cervantes-Arista, C., García-Jiménez, A., Trujillo-Ramírez, D., Martínez-Vázquez, A., Arámbula-Villa, G., Ramírez-Moreno, M., & Gutiérrez-López, G. (2024). Optimization of the extraction process of bioactive compounds from red fruits of *Stenocereus stellatus*: Response surface methodology (RSM). *Food Analytical Methods*, 17, 1241–1253. https://doi.org/10.1007/s12161-024-02645-2
6. González-González, M., Yerena-Prieto, B. J., Carrera, C., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., García-Alvarado, M. Á., Palma, M., Rodríguez-Jimenes, G. d. C., & Barbero, G. F. (2023). Determination of Gingerols and Shogaols Content from Ginger

(Zingiber officinale Rosc.) through Microwave-Assisted Extraction. Agronomy, 13(9), 2288. https://doi.org/10.3390/agronomy13092288

7. Hunt, D. R. 1992. CITES: Cactaceae Checklist Royal Botanic Gradens Kew & International Organization for Suculent Plant Study. Whits table Litho Ltd Whitstable Kent, U. K.
8. Khanna, M., Zilberman, D., Hochman, G. et al. An economic perspective of the circular bioeconomy in the food and agricultural sector. Commun Earth Environ 5, 507 (2024). https://doi.org/10.1038/s43247-024-01663-6
9. Mao, Y., Robinson, J. P., & Binner, E. (2021). Understanding heat and mass transfer processes during microwave-assisted and conventional solvent extraction. Chemical Engineering Science, 229, 116418. https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.116418
10. Melgar, B., Dias, M. I., Barros, L., Ferreira, I. C. F. R., Rodriguez-Lopez, A. D., & Garcia-Castello, E. M. (2019). Ultrasound and Microwave Assisted Extraction of Opuntia Fruit Peels Biocompounds: Optimization and Comparison Using RSM-CCD. *Molecules*, 24(19), 3618. https://doi.org/10.3390/molecules24193618
11. Muscat, A., de Olde, E.M., Ripoll-Bosch, R. et al. Principles, drivers and opportunities of a circular bioeconomy. Nat Food 2, 561–566 (2021). https://doi.org/10.1038/s43016-021-00340-7
12. Oufighou, A., Brahmi, F., Achat, S., Boutakout, Y., Berrabah, M., & Madani, K. (2024). Microwave-assisted extraction of total phenolics from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) pulp and peel: Optimization process, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Measurement and Characterization, 18*, 3199–3214. https://doi.org/10.1007/s11694-024-02396-y
13. Pérez-Loredo, María G., Hernández-de Jesús, Lourdes, & Barragán-Huerta, Blanca E.. (2017). Extraction of Red Pitaya (*Stenocereus stellatus*) bioactive compounds applying microwave, ultrasound and enzymatic pretreatments. *Agrociencia*, 51(2), 135-151. Recuperado en 14 de mayo de 2025, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000200135&lng=es&tlng=en.
14. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (s.f.). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Recuperado el 13 de mayo de 2025, de https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/
15. Yuan, J., Wang, T., Wang, D., Zhou, G., Zou, G., Wang, Y., Gong, M., & Zhang, B. (2020). Effect of Microwave on Changes of Gallic Acid and Resveratrol in a Model Extraction Solution. Food and Bioprocess Technology, 13, 1246–1254. https://doi.org/10.1007/s11947-020-02452-7

FUNCIONALIZACIÓN DE BIOCHAR CON DIVERSOS GRUPOS QUÍMICOS PARA SER UTILIZADO COMO RETARDANTE A LA FLAMA EN POLÍMEROS

José Guadalupe García Hernández1, Mónica Berenice Hernández Báez2, Flora Itzel Beltrán Ramírez2, and Alain Salvador Conejo Dávila3

1Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato del IPN 2Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC) 3MicroPrime
josegpegarher@hotmail.com

RESUMEN

Por naturaleza, los polímeros son altamente flamables. Derivado de esto, se limita su uso en diversas aplicaciones, donde éstos materiales van a estar expuestos a una fuente de calor y deben ser resistentes al fuego para evitar incendios, pérdidas humanas y/o bienes materiales. Sin embargo, existen aditivos que son incorporados a los polímeros para incrementar la resistencia a la ignición y/o retardar la velocidad de combustión, llamados retardantes de flama. Entre los retardantes más comunes se encuentran los halogenados, hidróxidos metálicos, compuestos a base fósforo, boratos, intumescentes, etc. No obstante, los halogenados son los más eficientes y se requieren de bajas concentraciones, pero también se ha demostrado que desprenden gases tóxicos poniendo en riesgo la salud humana y contaminando el medio ambiente. Debido a lo anterior, se han llevado a cabo investigaciones para desarrollar retardantes de flama capaces de sustituir a los halogenados. Una alternativa, es el biochar, el cual es un material carbonoso derivado de la pirolisis de residuos lignocelulósicos y puede ser funcionalizado con grupos fosfatos y nitratos, con el objetivo de incrementar su estabilidad térmica y potenciar su capacidad como retardante a la flama. En este trabajo,el biochar se obtuvo a partir de la pirólisis de bagazo de agave a 600°C durante 6 horas en una atmósfera inerte. Posteriormente, la funcionalización del biochar se llevó a cabo mediante reacciones de hidratación, esterificación con ácido fosfórico, aminación y amidación, dichas reacciones pueden ser escalables a nivel industrial y los productos generados no representan un peligro al medio ambiente. Se exploraron distintas condiciones experimentales, variando temperatura (25-80°C), la concentración de reactivos (0.5-5 %) y tiempo de reacción (1-24h). Posteriormente, se neutraliza con bicarbonato de sodio al 5 %, después se realiza un filtrado, lavado y secado, para finalmente analizar el sólido mediante espectroscopiainfrarroja (FT-IR) e identificar los grupos funcionales incorporados. Los resultados indicaron que el tratamiento con ácido sulfúrico al 5 %, a 80°C por 24h, promovió la mayor funcionalización, evidencia por la aparición de bandas asociadas a grupos carboxílicos y sulfatos. La reacción con ácido fosfórico permitió la incorporación de enlaces (P=O), mientras que la aminación con urea y sulfato de amonio en solventes orgánicos facilitó la introducción de grupos amida y amina. Estas modificaciones mejoraron la estabilidad térmica del biochar, optimizando su eficacia como retardante a la flama. Los resultados confirman que la funcionalización del biochar mediante tratamientos químicos específicos es un proceso viable y escalable. Por lo que, se espera que la incorporación de grupos fosfato y nitrato fortalezcan su estabilidad térmica, así como su potencial para aplicaciones industriales y ambientales, particularmente en la formulación de polímeros con propiedades retardantes a la flama.

INTRODUCCIÓN

Los retardantes de flama son aditivos que se añaden a las matrices poliméricas para inhibir o retrasar la propagación de fuego en polímeros de recubrimiento eléctrico, médico, en muebles, etc. De forma que se reduzcan lesiones o muertes en caso de incendio, las cuales representan un gran riesgo a la salud y seguridad humana, a que se estima que 30 millones de toneladas de plástico en el mundo se queman inadecuadamente anualmente [1], liberando compuestos tóxicos al ambiente que podrían relacionarse con la muerte de 100,000 al año en Estados Unidos [2]. Los retardantes de flama más comercializados desde 1970 son los halogenados [3], sin embargo su combustión genera dioxinas y furanos, las cuales representan un riesgo a la salud humana, se han estado

utilizando alternativas con retardantes a base de fósforo, nitrógeno, su combinación e intumescentes; debido a que el biochar posee una gran estabilidad térmica y a que se le pueden añadir grupos con fósforo y nitrógeno, se cree que puede ser una alternativa para utilizarse como retardante de flama.

La pirólisis es un proceso de descomposición térmica de materia orgánica en ausencia de oxígeno, que produce gases, un sólido (biochar) y líquidos [4,5]. Existen tres tipos de pirólisis (rápida, intermedia y lenta), diferenciadas por temperatura y duración, siendo la lenta más tolerante a la humedad [6].

El biochar, producto sólido de la pirólisis de biomasa lignocelulósica, conserva gran parte del carbono original (hasta 90 %), pierde grupos funcionales y desarrolla una estructura rica en anillos aromáticos, con propiedades como estabilidad térmica, insolubilidad en agua e hidrofobicidad [6–10].

Entre sus aplicaciones principales son:

- Adsorbente de contaminantes orgánicos, metales pesados y fármacos [11,12].
- Captador de CO_2, capaz de secuestrar hasta el 66 % de las emisiones [13,14].
- Fuente de energía, aprovechando los gases generados durante la pirólisis [15].
- Enmienda de suelos agrícolas, mejorando porosidad, retención de agua y nutrientes [16–19].
- Retardante de flama, útil como aditivo en polímeros por su bajo costo, resistencia térmica y posibilidad de escalar su producción [20–23].

TEORÍA

A continuación, se presentan las reacciones que posiblemente añadan los grupos funcionales para obtener el biochar modificado [24].

Hidratación de alquenos

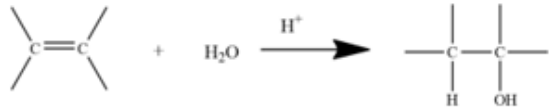
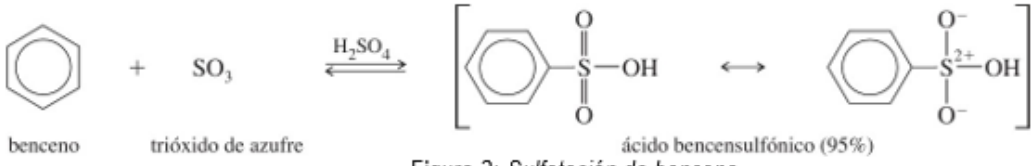


Figura 1: *Hidratación de alquenos*

Sulfatación de benceno



benceno trióxido de azufre ácido bencensulfónico (95%)

Figura 2: *Sulfatación de benceno*

Fusión alcalina de ácidos sulfónicos

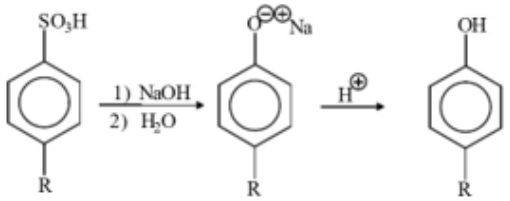


Figura 3: *Fusión alcalina de ácidos sulfónicos*

Aminación de cetonas y ácidos

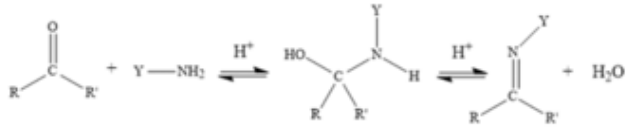


Figura 4: *Aminación de cetonas y ácidos*

Amidación de centonas y ácidos

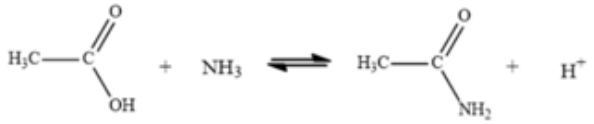


Figura 5: *Amidación de cetonas y ácidos*

Síntesis de ésteres de fosfato

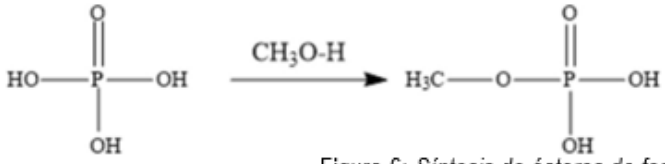


Figura 6: *Síntesis de ésteres de fosfato*

Caracterización de grupos funcionales

Infrarrojo por transformada de Fourier y Reflectancia Total Atenuada (FTIR-ATR)

Es una técnica perteneciente a la espectroscopia de absorción, la cuál mide la cantidad de energía del espectro electromagnético absorbida por un compuesto; esta técnica mide en la región infrarroja que la mayoría de los equipos comprende de las longitudes de onda (λ) entre 2.5×10^{-4} *cm* y 25×10^{-4} *cm* debajo de la región visible y arriba de las frecuencias más altas de microondas; sin embargo, la unidad más común en la región infrarroja es el número de onda ($\bar{\nu}$) el cual es el recíproco de λ [24].

En la espectroscopía infrarroja se detectan las vibraciones de los enlaces, proporcionando evidencia de los grupos funcionales presentes. Los enlaces con momento dipolar diferente a cero, absorben energía IR y se denominan vibraciones activas en IR y los enlaces que tienen momento dipolar cero, absorben muy poca o nula energía y se denominan vibraciones inactivas en IR.

La reflectancia total atenuada (ATR) es una técnica de muestreo que permite analizar directamente muestras líquidas y sólidas sin preparación; hace que la luz infrarroja incide sobre un cristal reflejándose sobre una superficie que se encuentra en contacto con la muestra, sumando una onda evanescente que pasa por toda la muestra [25–28]. Gracias a este instrumento se pueden obtener espectros infrarrojo del material, el cual es una curva de el porcentaje de transmitancia o absorbancia en función del número de onda; cada grupo funcional posee bandas y picos a números

de ondas específicos, así como una intensidad característica, en la figura 9 se puede observar una gráfica con la ubicación general de algunos grupos funcionales, La región de 600 a 1400 cm^{-1} es conocida como la huella digital y es más compleja de analizar, fuera de ese rango las bandas son más predecibles [29].

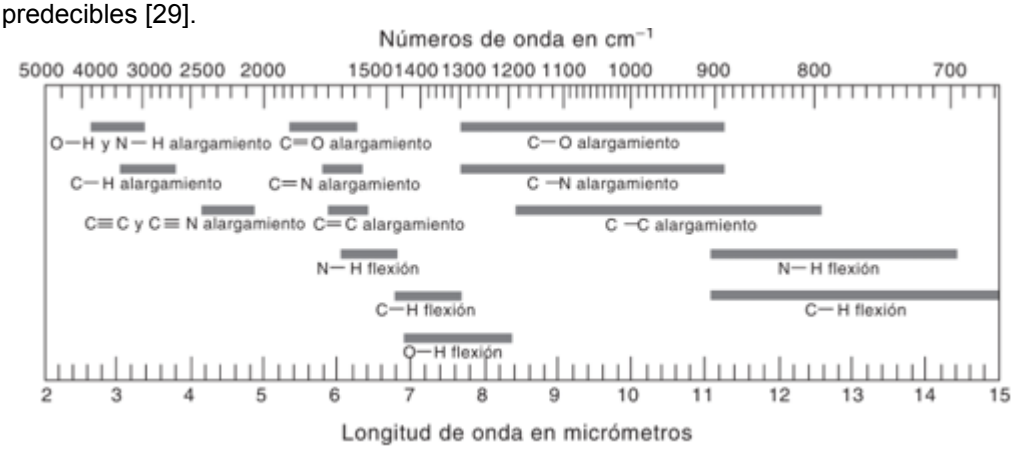


Figura 7: Correlaciones sencillas para la ubicación de las bandas de vibración de grupos funcionales, recuperado de [29].

PARTE EXPERIMENTAL

Primero, se pirolizaron 10 g de bagazo de agave a 600 °C durante 6 horas, con el pirolizador conectado a una bomba de vacío durante la primera hora después de alcanzar dicha temperatura. En la primera fase, se realizó la reacción de 1 g de biochar con 10 mL de una solución de ácido sulfúrico al 1 %, 2 % y 5 % (v/v), a temperatura ambiente (27 °C), 50 °C y 80 °C, durante 1, 5 y 24 horas. Posteriormente, se neutralizó la mezcla con una solución de bicarbonato de sodio al 5 % (m/v), se lavó con agua destilada, se filtró y se secó a 60 °C durante 18 horas. Finalmente, se analizó la muestra mediante espectroscopía FTIR (Nicolet iS20) en busca de grupos hidroxilo, carboxilo, sulfonatos o sulfonilos, y se determinaron las mejores condiciones de tiempo y concentración. En la segunda fase, se utilizó el biochar modificado bajo las mejores condiciones de la primera fase y se reaccionó con una solución de H_3PO_4 al 1 %, 2 % y 5 % (v/v) y H_2SO_4 al 0.5 % (v/v), en una proporción de 1 g de biochar por 10 mL de solución, durante 1, 5 y 24 horas a 80 °C en reflujo, debido a que las esterificaciones requieren temperaturas superiores a 60 °C. Luego, se neutralizó con una solución de $NaHCO_3$ al 5 % (m/v), se lavó con agua destilada, se filtró y se secó a 60 °C durante 18 horas. Se analizó la presencia de grupos fosfato o fosfonato mediante FTIR y se determinaron las condiciones óptimas de tiempo y concentración. Adicionalmente, se realizó una reacción del biochar sin tratar con H_3PO_4 al 5 % (v/v) y H_2SO_4 al 0.5 % (v/v) a 60 °C, variando únicamente el tiempo de reacción (1, 5 y 24 horas). Después, se neutralizó con $NaHCO_3$ al 5 % (m/v), se lavó con agua destilada, se filtró y se secó a 60 °C durante 18 horas. Las muestras se analizaron por FTIR y se compararon con los productos obtenidos en la primera parte de esta fase, para determinar las condiciones óptimas. En la tercera fase, se mezclaron 300 g de biochar sin tratar y biochar modificado bajo las mejores condiciones de la segunda fase con 285 mL de solución de NaOH al 25 % (m/v), y se secaron a 80 °C durante 18 horas en una estufa. Las mezclas se introdujeron en una mufla a 325 °C durante 2 horas. Posteriormente, se neutralizaron con 300 mL de CH_3COOH al 10 % (v/v), se lavaron con agua destilada, se filtraron y se secaron a 60 °C durante 18 horas. Se analizaron las muestras por FTIR para comparar la presencia de grupos hidroxilo en ambas mezclas y seleccionar la más adecuada según la intensidad y posición de las bandas correspondientes a grupos hidroxilo y carboxilo. En la cuarta fase, se reaccionó el biochar obtenido en la primera fase (bajo las mejores condiciones) con una solución de urea al 5 % (m/v) y $MgCl_2$ al 0.5 % (m/v) en hexano, en una proporción de 1 g de biochar por 10 mL de solución, a 70 °C durante 24 horas en reflujo. La mezcla se sonificó, se lavó con acetona, se filtró y se secó a 60 °C durante 18 horas. Alternativamente, se reaccionó el biochar obtenido en la primera fase (en sus mejores

condiciones) con una solución acuosa de urea al 5 % (m/v) o 2 M y $MgCl_2$ al 0.5 % (m/v), en una proporción de 1 g de biochar por 10 mL de solución, a 80 °C durante 24 horas en reflujo. Asimismo, se trató el biochar de la tercera fase (modificado en las mejores condiciones) con la solución de urea 2 M y $MgCl_2$ al 0.5 % (m/v), bajo las mismas condiciones de reacción. Todas las muestras fueron lavadas con agua destilada, filtradas y secadas a 60 °C durante 18 horas. Finalmente, se realizaron las lecturas de los espectros IR de las muestras de la cuarta fase, se compararon y se seleccionó la más adecuada en función de las bandas y la intensidad de los grupos que contienen nitrógeno.

RESULTADOS

Los espectros del biochar reaccionado con ácido sulfúrico, se dividieron en tres grupos; el primero de ellos para analizar el efecto de la temperatura en la funcionalización del biochar, se dejaban la concentración y el tiempo constante, en tres condiciones diferentes, en condiciones suaves (1 % y 1h), en condiciones medias (2 % y 5h) y en condiciones altas (5 % y 24h). Consecutivamente se hacía lo mismo para analizar el efecto del cambio de concentración y de tiempo. Analizando los espectros y visualizando el efecto del aumento de la magnitud de las variables, las condiciones que ofrecen una mayor funcionalización son a 5 % de H2SO4 a 80°C por 24h, en la figura 8 se visualiza un resumen de este proceso, solo mostrando condiciones más representativas, las más bajas (1%, 1h y 27°C), medias (2%, 5h y 60°C) y las más altas (5%, 24h y 80°C).

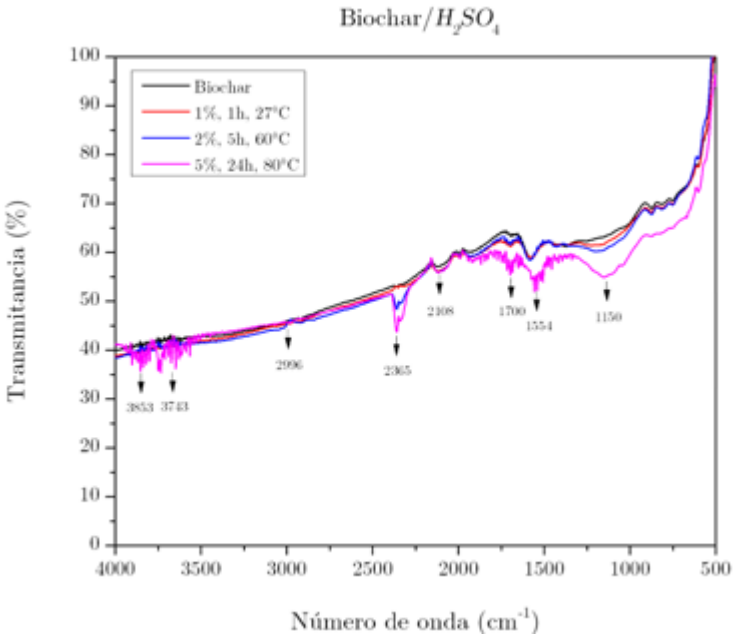


Figura 8. Comparación de las bandas presentes en el espectro del biochar que reaccionó con ácido sulfúrico 5 % a 80°C por 24h en comparación con el biochar sin este tratamiento, así como el número de onda donde se presentan los picos de estas bandas.

Las tres bandas observadas en 3853, 3743 y 2996 cm^{-1} pertenecen a la región de los enlaces $O-H$, $N-H$ y $C-H$, estas tres bandas se asocian a alcoholes, ya que los alcoholes presentan vibraciones de estiramiento 3500-3650 cm^{-1} con una intensidad de banda variable, específicamente podría tratarse de alcoholes primarios o pertenecientes a ácidos carboxílicos monoméricos ya que estos aproximadamente muestran bandas cerca de 3640 cm^{-1} y las demás señales, incluyendo una banda grande y ancha ente 3642 y 2365 cm^{-1} podrían deberse a alcoholes polivalentes, puentes pi, la presencia de agua y los puentes intramoleculares con grupos carbonilo, nitro, etc [24, 31]. Se descarta que las bandas pertenezcan a enlaces $N-H$, ya que el biochar proviene de residuos lignocelulósicos los cuales son pobres en nitrógeno y en el biochar sin tratamiento no se observan

bandas pertenecientes a este tipo de enlace. La banda con pico en 2365 cm^{-1}, de acuerdo con Rolle, F., et al, [32], Norooz, O. et al [33] y a la base de datos del NIST pertenece a un estiramiento asimétrico típico del dióxido de carbono. La banda de 2108 cm^{-1} se encuentra en la región de los triples enlaces carbono-nitrógeno y carbono-carbono, por lo que se infiere que es un enlace triple carbono-carbono terminal o intermedio. Las bandas de 1700 y 1554 cm^{-1} se encuentran dentro de la región de los dobles enlaces carbono oxígeno, carbono-carbono y carbono-nitrógeno. El enlace carbonilo ($C = O$) correspondiente a aldehídos, ce- tonas, ácidos carboxílicos y ésteres muestra bandas entre 1690-1760 cm^{-1} [31], el biochar puede contener una mezcla de estos grupos funcionales, sin embargo, es más probable que se trate de ácidos carboxílicos debido a las bandas de alcoholes entre la región de 4000-3500 cm^{-1}. La banda en 1554 cm^{-1} se trata de un enlace $C = C$ que podría tratarse más específicamente $C = CH_2$. La banda en la región de la huella dactilar en aproximadamente 1150 cm^{-1} se trata de un enlace SO, ya que de acuerdo con C. Samart, et al [34], Pena, L.et al [35] y Babu, K. et al [36] los enlaces tipo $S = O$ muestran picos de una sola banda entre 1400-800 cm^{-1}, así como Skoog, D. A., et al, [31] muestra que los enlaces sulfonatos $R - SO^{3-}$ aparecen en esta misma región además de pequeños picos cerca de 600 cm^{-1}. Por lo que se infiere que esta banda fue producida debido a una sulfonación del biochar.

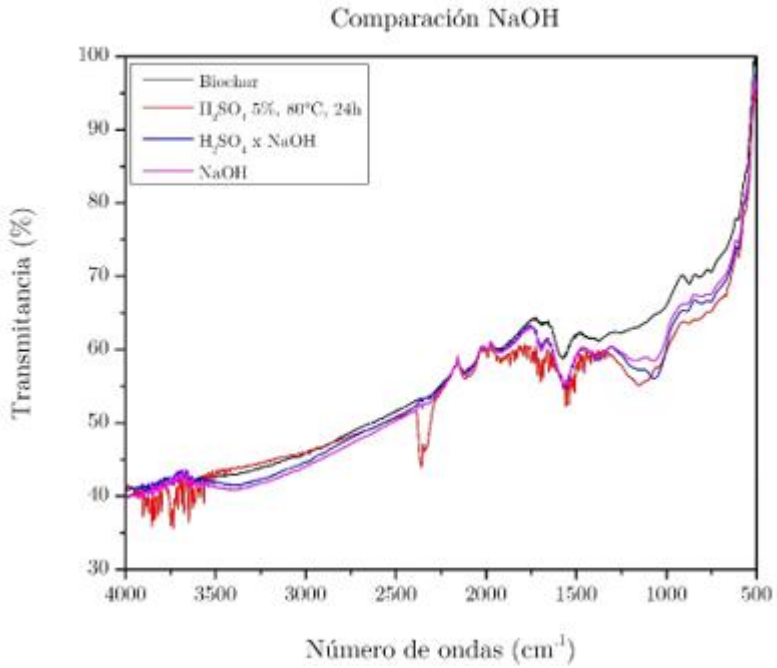


Figura 9: Espectro del biochar reaccionado con NaOH comparado con el biochar reaccionado con H_2SO_4

En la figura 9 se comparan los espectros del la reacción de H_2SO_4 5 % a 80°C por 24h contra el biochar reaccionado para forma fenoles con *NaOH*, se realizó la reacción utilizando como reactivo el biochar reaccionado con ácido sulfúrico y otro con biochar sin tratar, para visualizar el efecto de la reacción. Se puede observar que los espectros del biochar tratado y sin tratar reaccionado con *NaOH* son muy similare exceptuando la intensidad de la banda por 1150 cm^{-1} perteneciente a los enlaces *SO*; además muestran una banda más intensa y ancha entre 3500 y 2500 cm^{-1}, que como ya se mencionó anteriormente, corresponde al enlace $O - H$ de ácidos carboxílicos. Por lo que se puede deducir que la reacción con *NaOH* y biochar sin tratar ofrece mejor funcionalización de grupos $O - H$ sin necesidad de una reacción predecesora con H_2SO_4.

Efecto del cambio del tiempo con H_3PO_4

Para esta funcionalización se realizó una comparación. Por una parte, se utilizó el biochar previamente reaccionado con ácido sulfúrico para funcionalizarlo con ácido fosfórico, donde únicamente se modificaron el tiempo (1, 5 y 24 h) y la concentración (1 %, 2 % y 5 %), manteniendo

constante la temperatura a 80 °C para favorecer la esterificación de los fosfatos. La comparación se hizo con biochar sin tratar, reaccionado directamente con ácido fosfórico, en cuyo caso solo se varió el tiempo (1, 5 y 24 h), manteniendo constante tanto la concentración (5 %) como la temperatura (80 °C). De ambas reacciones se seleccionó el biochar mejor funcionalizado: el cual fue el biochar tratado con ácido fosfórico únicamente al 5%, a 60°C y por 24 h. La comparación se muestra en la Figura 10.

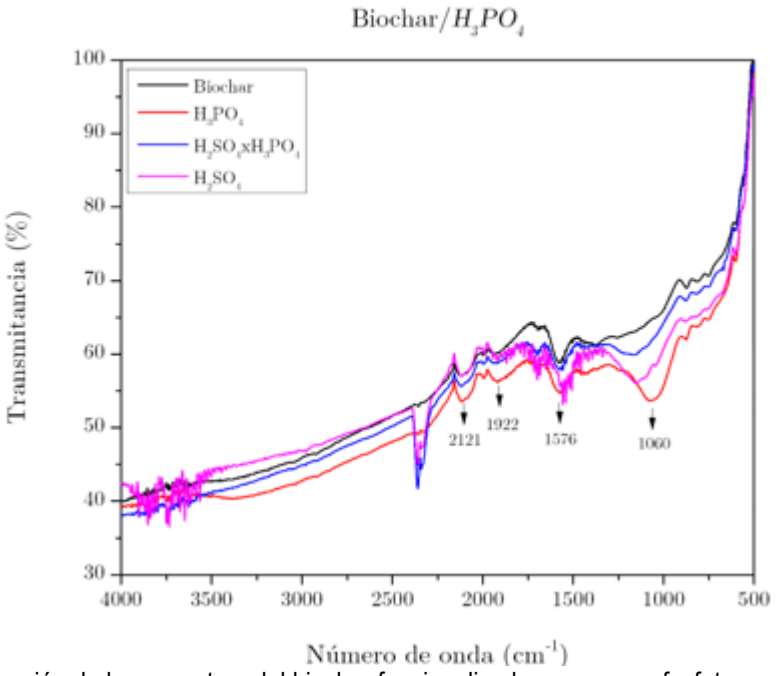


Figura 10: Comparación de los espectros del biochar funcionalizado con grupos fosfato

Como puede observarse los picos de las bandas que se muestran son muy similares a las del biochar funcionalizado con ácido sulfúrico, la banda de 2121 cm^{-1} puede deberse a un enlace triple carbono-carbono, la de 1922 cm^{-1} a un grupo carbonilo y la de 1576 cm^{-1} a un enlace doble carbono-carbono, como ya se discutió anteriormente. Sin embargo, la banda de 1060 cm^{-1} no puede tratarse de un enlace de sulfonato, ya que no reaccionó con ácido sulfúrico, sino solo con ácido fosfórico, por lo que, de acuerdo con Zheng, R. et al. [37] los picos que aparecen cerca de 1200 cm^{-1} pertenecen a vibraciones del enlace P=O, y de acuerdo con Skoog, D. A., et al. [31] si se trata de un enlace $P= O$, ya que un enlace $P -H$ mostraría bandas por 2400 cm^{-1}.

Efecto del medio de reacción con urea

En la Figura 11 se presentan los espectros infrarrojos de los experimentos realizados para incorporar grupos funcionales con nitrógeno al biochar. En estos ensayos, la principal variable fue el tipo de medio utilizado: uno orgánico (hexano) y otro acuoso (agua). Para favorecer la incorporación de grupos tipo amida, se siguió una metodología modificada basada en Chhatwal et al. [38], en la que el biochar se hizo reaccionar con una solución de urea al 5 % (m/v) respecto al biochar y $MgCl_2$(m/v) al 10 % respecto a la urea, utilizando agua como disolvente. El espectro correspondiente a esta reacción se muestra en la Figura 11 bajo el nombre *H_2SO_4 × Urea 5 % en agua*. Sin embargo, la comparación de este espectro con el del biochar sin funcionalizar no muestra diferencias significativas, por lo que se concluye que, en estas condiciones, no se logró una incorporación efectiva de grupos nitrogenados (tipo amida o amina).

Debido a la falta de resultados positivos en medio acuoso, se repitió la reacción siguiendo el protocolo original de la literatura, utilizando un disolvente orgánico, en este caso hexano, y

manteniendo las mismas proporciones de reactivos. El espectro obtenido se muestra bajo el nombre *H_2SO_4 × Urea 5 % en hexano*. En este caso, se identificaron cuatro bandas representativas. Las bandas en 3485 cm^{-1} y 3364 cm^{-1} corresponden a los estiramientos simétrico y asimétrico del enlace N–H. Según He et al. [39], estos picos son característicos de grupos amina en el biochar, los cuales aparecen entre 3200 y 3500 cm^{-1}. También se observa un pico alrededor de 3456 cm^{-1}, que podría corresponder a un grupo N–H tipo amida, ya que, de acuerdo con Zhan et al. [40, 41], estos se presentan entre 3100 y 3400 cm^{-1}.

La presencia de nitrógeno se confirma con la banda en 1463 cm^{-1}, atribuida a señales de flexión del enlace N–H. Además, según Przepiórski et al. [42, 43], los enlaces C–N del grupo –CO–NH muestran bandas tenues cerca de 1190 cm^{-1}, lo cual coincide con la banda observada a 1200 cm^{-1} en el espectro. Con base en estos resultados, se concluye que se logró una funcionalización del biochar con grupos amida y amina al utilizar hexano como medio de reacción.

Finalmente, también se evaluaron reacciones en medio acuoso con una mayor concentración de urea (2 M), utilizando tanto biochar tratado con NaOH como con H_2SO_4. Los espectros obtenidos, identificados como *NaOH × Urea 2 M en agua* y *H_2SO_4 × Urea 2 M en agua*, mostraron bandas con intensidades similares a las observadas en el experimento con hexano. Esto sugiere que el uso de una mayor concentración de urea en medio acuoso puede representar una alternativa viable al uso de disolventes orgánicos para la incorporación de grupos funcionales nitrogenados.

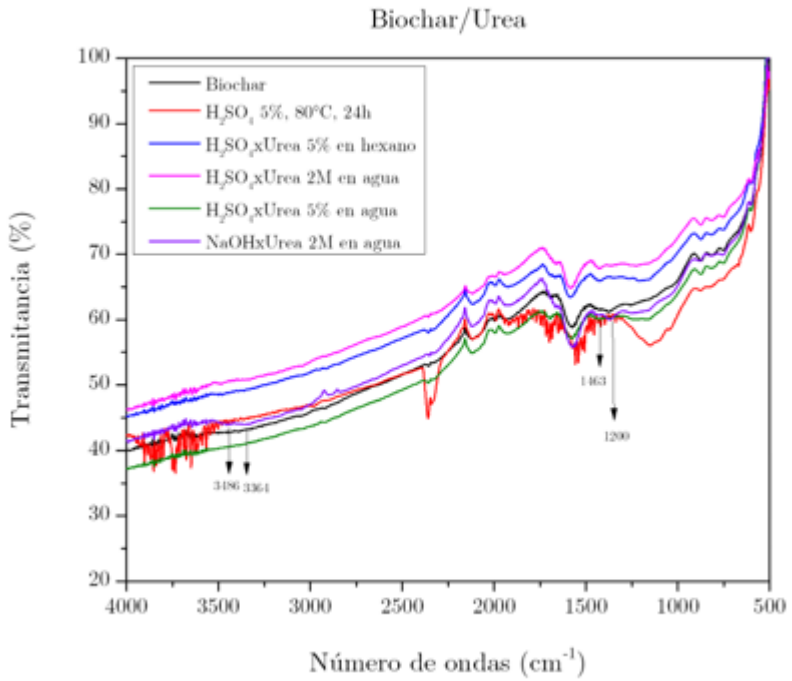


Figura 11: Espectros del biochar funcionalizado con urea en medio de hexano y orgánico

CONCLUSIÓNES

Con base en los resultados obtenidos a partir de los espectros infrarrojos de las reacciones con biochar, se determinó que la reacción con NaOH ofrece una ventaja frente a la reacción con H_2SO_4 para la incorporación de grupos O–H, tanto en términos de tiempo como de simplicidad en el proceso experimental. Para incorporar grupos fosfato, se encontró que basta con una reacción directa con ácido fosfórico al 5 %, a 60 °C durante 24 horas, sin necesidad de una etapa de pretratamiento. Por otro lado, la funcionalización con grupos amida y/o amina fue más efectiva cuando se utilizó biochar

previamente tratado con NaOH, seguido de una reacción con urea a alta concentración (2 M) en agua, a 80 °C por 24 horas, evitando así el uso de disolventes tóxicos como el hexano.

De acuerdo con los grupos funcionales incorporados al biochar (hidroxilos, fosfatos, amidas y aminas), este material puede ser utilizado como retardante de flama en matrices poliméricas. Estos grupos funcionales son los mismos que se emplean comúnmente en aditivos retardantes de flama, ya que facilitan mecanismos como la formación de capas carbonosas protectoras, la liberación de gases inertes y la interferencia en las reacciones de combustión, mejorando así la resistencia térmica del polímero. En este sentido, el biochar funcionalizado representa una alternativa más segura y sostenible frente a los retardantes de flama tradicionales basados en compuestos halogenados o solventes orgánicos peligrosos.

BIBLIOGRAFIA

1. Health Policy Watch, “Nearly 30 Metric Tonnes Of Plastic Are Improperly Burned Every Year – With Broad, Unexplored Health Impacts,” Health Policy Watch, 2024. [En línea]. Disponible en: https://healthpolicy-watch.news/30-metric-tonnes-of-plastic-improperly-burned-each-year/
2. M. Simon, “The Ohio Derailment Lays Bare the Hellish Plastic Crisis,” *WIRED*, Feb. 18, 2023. [En línea]. Disponible en: https://www.wired.com/story/the-ohio-derailment-lays-bare-the-hellish-plastic-crisis
3. W. Gwenzi, N. Chaukura, N. Muisa-Zikali, K. Musiyiwa, and C. Teta, Chapter 5- Occurrence and behaviour of emerging organic contaminants in aquatic systems, pp. 67–86. Elsevier, 2022.
4. B. Vreugdenhil and R. Zwart, “Tar formation in pyrolysis and gasification,” p. 23, 06 2009.
5. P. Basu, “Chapter 5 - pyrolysis,” in *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction (Second Edition)*
(P. Basu, ed.), pp. 147–176, Boston: Academic Press, second edition ed., 2013.
6. V. Dhyani and T. Bhaskar, “A comprehensive review on the pyrolysis of lignocellulosic biomass,” *Rene- wable Energy*, vol. 129, pp. 695–716, 2018. 1st International Conference on Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts Environmental Sustainability.
7. V. Krevelen, “Graphical-statistical method for the study of structure and reaction processes of coal,” *Fuel*, vol. 29, pp. 269–284, 1950.
8. R. Conti, A. G. Rombolà, A. Modelli, C. Torri, and D. Fabbri, “Evaluation of the thermal and environmental stability of switchgrass biochars by py–gc–ms,” *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 110,
pp. 239–247, 2014.
9. D. Rutherford, R. Wershaw, and L. Cox, “Changes in composition and porosity occurring during the ther- mal degradation of wood and wood components,” *U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2004-5292*, 01 2004.
10. M. Askeland, B. Clarke, and J. Paz-Ferreiro, “Comparative characterization of biochars produced at three selected pyrolysis temperatures from common woody and herbaceous waste streams,” *PeerJ*, vol. 7,
p. e6784, 04 2019.
11. J. Lag, A. Hadas, R. W. Fairbridge, J. C. N. Muñoz, X. P. Pombal, A. M. Cortizas, G. Almendros, W. Ches- worth, M. Camps Arbestain, F. Macías, A. M. Cortizas, W. Chesworth, and W. F. Jaynes, *Hydrophilicity, Hydrophobicity*, pp. 329–330. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008.
12. N. Gao, Z. Li, C. Quan, N. Miskolczi, and A. Egedy, “A new method combining hydrothermal carbonization and mechanical compression in-situ for sewage sludge dewatering: Bench-scale verification,” *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 139, 02 2019.
13. J. González Arias, M. Sánchez, J. Cara-Jiménez, F. Baena-Moreno, and Z. Zhang,

"Hydrothermal carbo- nization of biomass and waste: A review," *Environmental Chemistry Letters*, vol. 20, 09 2021.

14. D. Mohan, A. Sarswat, Y. S. Ok, and C. U. Pittman, "Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent – a critical review," *Bioresource Technology*, vol. 160, pp. 191–202, 2014. Special Issue on Biosorption.
15. K. Kang, Y. Hu, I. Khan, S. He, and P. Fatehi, "Recent advances in the synthesis and application of magnetic biochar for wastewater treatment," *Bioresource Technology*, vol. 390, p. 129786, 12 2023.
16. J. Lehmann, "Bio-energy in the black," *Frontiers in Ecology and the Environment*, vol. 5, pp. 381–387, 09 2007.
17. K. G. Roberts, B. A. Gloy, S. Joseph, N. R. Scott, and J. Lehmann, "Life cycle assessment of biochar sys- tems: Estimating the energetic, economic, and climate change potential," *Environmental Science Tech- nology*, vol. 44, pp. 827–833, 1 2010.
18. P. Srinivasan, A. Sarmah, R. Smernik, O. Das, M. Farid, and W. Gao, "A feasibility study of agricultural and sewage biomass as biochar, bioenergy and biocomposite feedstock: Production, characterization and potential applications," *The Science of the total environment*, vol. 512-513C, pp. 495–505, 01 2015.
19. J. W. Doran and M. R. Zeiss, "Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality," *Applied Soil Ecology*, vol. 15, no. 1, pp. 3–11, 2000. Special issue: Managing the Biotic component of Soil Quality.
20. D. A. Laird, P. Fleming, D. D. Davis, R. Horton, B. Wang, and D. L. Karlen, "Impact of biochar amendments on the quality of a typical midwestern agricultural soil," *Geoderma*, vol. 158, no. 3, pp. 443–449, 2010.
21. C.-H. Cheng, J. Lehmann, J. E. Thies, S. D. Burton, and M. H. Engelhard, "Oxidation of black carbon by biotic and abiotic processes," *Organic Geochemistry*, vol. 37, no. 11, pp. 1477–1488, 2006.
22. B. Glaser, J. Lehmann, and W. Zech, "Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal - a review," *Biology and Fertility of Soils*, vol. 35, pp. 219–230, 6 2002.
23. O. Das, D. Bhattacharyya, and A. K. Sarmah, "Sustainable eco–composites obtained from waste derived biochar: a consideration in performance properties, production costs, and environmental impact," *Journal of Cleaner Production*, vol. 129, pp. 159–168, 2016.
24. A. Noori, M. Bartoli, A. Frache, E. Piatti, M. Giorcelli, and A. Tagliaferro, "Development of pressure- responsive polypropylene and biochar-based materials," *Micromachines*, vol. 11, no. 4, 2020.
25. W. Tang, M. H. Santare, and S. G. Advani, "Melt processing and mechanical property characterization of multi-walled carbon nanotube/high density polyethylene (mwnt/hdpe) composite films," *Carbon*, vol. 41, no. 14, pp. 2779–2785, 2003.
26. O. Das, R. A. Mensah, K. B. N. Balasubramanian, V. Shanmugam, M. Försth, M. S. Hedenqvist, P. Ran- tuch, J. Martinka, L. Jiang, Q. Xu, R. E. Neisiany, C.-F. Lin, A. Mohanty, and M. Misra, "Functionalised biochar in biocomposites: The effect of fire retardants, bioplastics and processing methods," *Composites Part C: Open Access*, vol. 11, p. 100368, 2023.
27. L. G. Wade, *Química Orgánica*, vol. 1, pp. 510–518. Pearson Educación., 9 ed., 2016.
28. T. J. Wenzel, "Douglas a. skoog, donald m. west, f. james holler, and stanley r. crouch: Fundamentals of analytical chemistry, 9th ed., international ed.," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 405, pp. 7903– 7904, 2013.
29. V. K. Undavalli, C. Ling, and B. Khandelwal, *Chapter 6 - Impact of alternative fuels and properties on elastomer compatibility*, pp. 113–132. Academic Press, 2021.
30. N. B. Colthup, *Infrared Spectroscopy*, pp. 793–816. Academic Press, third edition ed., 2003.
31. F. M. Mirabella, *Internal Reflection Spectroscopy: Theory and Applications*. CRC Press, 2020.
32. G. D. Christian, *Química analítica*. McGraw-Hill Interamericana de España S.L., 2009.
33. J. Ojeda and M. Dittrich, "Fourier transform infrared spectroscopy for molecular analysis of microbial cells,"
Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), vol. 881, pp. 187–211, 12 2012.

34. D. Skoog, F. Holler, and S. Crouch, *Principal of Instrumental Analysis*, vol. 1. Sunder College Publisher, 7 ed., 2017.
35. F. Rolle and M. Sega, “Use of ftir spectroscopy for the measurement of co 2 carbon stable isotope ratios,”
p. 05002, 01 2019.

36. J. Oliaee, M. Dehghany, A. McKellar, and N. Moazzen-Ahmadi, “High resolution infrared spectroscopy of carbon dioxide clusters up to (co2)(13),” *The Journal of chemical physics*, vol. 135, p. 044315, 07 2011.
37. C. Samart, S. Karnjanakom, C. Chaiya, P. Reubroycharoen, R. Sawangkeaw, and M. Charoenpanich, “Statistical optimization of biodiesel production from para rubber seed oil by so3h-mcm-41 catalyst,” *Ara- bian Journal of Chemistry*, vol. 12, no. 8, pp. 2028–2036, 2019.
38. L. Pena, F. Xu, K. Hohn, J. Li, and D. Wang, “Propyl-sulfonic acid functionalized nanoparticles as catalyst for pretreatment of corn stover,” *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, vol. 05, pp. 8–16, 01 2014.
39. K. Babu, N. Maurya, A. Mandal, and V. Saxena, “Synthesis and characterization of sodium methyl es- ter sulfonate for chemically-enhanced oil recovery,” *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 32,
pp. 795–803, 09 2015.

40. R. Zheng, S. Bao, Y. Zhang, and B. Chen, “Synthesis of di-(2-ethylhexyl) phosphoric acid (d2ehpa)-tributyl phosphate (tbp) impregnated resin and application in adsorption of vanadium(iv),” *Minerals*, vol. 8, no. 5, 2018.
41. A. R. Chhatwal, H. V. Lomax, A. J. Blacker, J. M. J. Williams, and P. Marcé, “Direct synthesis of amides from nonactivated carboxylic acids using urea as nitrogen source and mg(no3)2 or imidazole as catalysts,” *Chem. Sci.*, vol. 11, pp. 5808–5818, 2020.
42. J. He, Y. Long, Y. Wang, C. Wei, and J. Zhan, “Aerosol-assisted self-assembly of reticulated n-doped carbonaceous submicron spheres for effective removal of hexavalent chromium,” *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 8, no. 26, pp. 16699–16707, 2016. PMID: 27299376.
43. H. Zhan, X. Zhuang, Y. Song, X. Yin, and C. Wu, “Insights into the evolution of fuel-n to nox precursors during pyrolysis of n-rich nonlignocellulosic biomass,” *Applied Energy*, vol. 219, pp. 20–33, 2018.
44. J. Singh, S. Overbury, N. Dudney, M. Li, and G. Veith, “Gold nanoparticles supported on carbon nitride: Influence of surface hydroxyls on low temperature carbon monoxide oxidation,” *ACS Catalysis*, vol. 2,
pp. 1138–1146, 06 2012.

45. J. Przepiórski, M. Skrodzewicz, and A. Morawski, “High temperature ammonia treatment of activated carbon for enhancement of co2 adsorption,” *Applied Surface Science*, vol. 225, no. 1, pp. 235–242, 2004.
46. A. Yaumi, M. A. Bakar, and B. Hameed, “Reusable nitrogen-doped mesoporous carbon adsorbent for carbon dioxide adsorption in fixed-bed,” *Energy*, vol. 138, no. C, pp. 776–784, 2017

ALGUNOS ASPECTOS REPRODUCTIVOS DEL PEZ "COCINERO", *Caranx Caballus,* GÜNTHER (1868), EN LA PESCA ARTESANAL DE PUERTO ÁNGEL, OAXACA

David Emmanuel Zúñiga Solares [1], Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte [1], Verónica Mitsui Saito Quezada[1]

[1]Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
davidmordecai25@gmail.com, isalgado@unam.mx, mitsuisaito@gmail.com

RESUMEN

En México, la pesca artesanal, como en Puerto Ángel, Oaxaca, es fundamental para la economía local y el sustento de muchas familias, pero enfrenta desafíos como la falta de equipo moderno y regulaciones adecuadas. Este estudio se centra en el análisis de los índices gonadosomático y hepatosomático del pez "cocinero" *Caranx caballus* (Günther, 1868) para proponer estrategias sustentables para su explotación. Se recolectaron 135 peces *Caranx caballus* en Puerto Ángel, Oaxaca, en varios meses de 2023 los cuales se trasladaron al Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera para tomar medidas biométricas. Se calcularon los índices gonadosomático (*IGS*) y hepatosomático (*IHS*) para cada organismo para determinar el ciclo reproductivo y se compararon con las medias mensuales de temperatura y precipitación para investigar su relación. Se estimaron la talla mediana de madurez sexual utilizando un modelo logístico de dos parámetros y la proporción sexual por muestra y por clases de tallas utilizando la prueba de bondad de ajuste de χ^2. Se obtuvo una talla mediana de madurez sexual de 27.7 cm, mayor a la reportada en la literatura. Se observaron valores altos de IGS de septiembre a diciembre con picos en noviembre y diciembre, que coinciden con lo reportado en otros estudios. En las correlaciones se observa que, para hembras, el valor más alto de *IGS* ocurre 3 meses después que el valor más alto de la temperatura superficial del mar y 4 meses para los machos. Tanto para hembras, como para machos, el valor más alto de *IGS* ocurre 3 meses después de los valores más altos de la velocidad del viento (m/s) y de precipitación. En el caso del *IHS*, para hembras se obtuvo un máximo de IHS 3 meses antes del valor más alto de *IGS,* mientras que, en machos, se obtuvo una relación inversamente proporcional entre el *IGS* y el *IHS.* Para la proporción sexual se obtuvo un valor de 1:1 que no varía durante el periodo de estudio ni conforme a los intervalos de tallas para la especie. Se concluye que, el "pez cocinero", *Caranx caballus* se reproduce en el intervalo de septiembre a diciembre con sus puntos máximos en octubre y noviembre, el cual coincide con temporadas de lluvias y surgencias y tres meses después de la temperatura más alta. Por lo que se propone una temporada de veda en octubre y noviembre. Utilizando la talla mediana de madurez sexual (27.7 cm) y la constante *K* de 3.5 en la fórmula de Fridman, se obtiene una abertura de luz de malla óptima de 80mm, valor que se propone para una pesca sustentable de esta especie.

INTRODUCCIÓN

Como señala la cumbre mundial de la alimentación (1996; como se cita en FAO, 2011) "La seguridad alimentaria existe cuando todas las personas tienen, en todo momento, acceso físico, social y económico a alimentos suficientes, inocuos y nutritivos que satisfacen sus necesidades energéticas diarias y preferencias alimentarias para llevar una vida activa y sana".

Según la FAO (2023) la evaluación mundial de seguridad alimentaria y la nutrición, para ese año, reflejó que, a pesar de la pandemia, la guerra en Ucrania y el aumento de los precios de los alimentos, los insumos agrícolas y la energía, el hambre ya no está aumentando a nivel mundial, pero sigue estando muy por encima de los niveles anteriores a la pandemia de la enfermedad por el coronavirus (COVID-19) y muy lejos de alcanzar el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS).

Durante los dos últimos decenios, el reconocimiento de los sectores de la pesca y la acuicultura ha ido en aumento debido a su contribución esencial a la seguridad alimentaria y la nutrición mundiales. El incremento de esta función requiere ampliar los cambios transformadores en la política, la

ordenación, la innovación y la inversión a fin de lograr una pesca y una acuicultura mundiales sostenibles FAO (2022). También, según la FAO (2022), estas actividades contribuyen a la mayoría de los ODS, en particular al ODS 14 (Vida submarina), que está dedicado al océano y a sus recursos marinos.

Bajo este contexto, es importante mencionar que, de acuerdo con la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (2019), México cuenta con más de 11 mil kilómetros litorales aptos para llevar a cabo actividades pesqueras, lo cual lo lleva al lugar 17 en producción pesquera a nivel mundial. Dicha actividad es sostenida por los más de 162 mil hombres y mujeres dedicados ella, los cuales contribuyen con la seguridad alimentaria en tres formas: incrementan directamente el suministro de alimentos, proporcionan proteínas animales muy nutritivas, y genera empleos, así como ingresos económicos (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. 2019).

Por su parte, el estado de Oaxaca contribuyó con 6,513 toneladas (.035% de la producción nacional) representando la pesca ribereña o pesca artesanal un gran aporte, contando el estado con 1977 embarcaciones ribereñas activas según datos del INEGI (2021).

Este tipo de embarcaciones ribereñas, a nivel mundial, según Morzaria, Castillo, Denman y Turk, (2013) como se citó en Pérez-Ríos, Munray-Lagarda, Flores-Anaya y Velázquez-Contreras (2021), representan el medio de vida e ingresos para aproximadamente doce millones de personas en el mundo. Alrededor del 90% son pescadores ribereños, que realizan la práctica a pequeña escala con carencia de infraestructura productiva y servicios públicos. Por ello se considera que la pesca ribereña es una actividad económica con potencial para contribuir a la reducción de la pobreza en hogares de comunidades marginales, impulsar el desarrollo rural comunitario y propiciar crecimiento económico local (FAO, 2009, como se citó en Pérez-Ríos, Munray-Lagarda, Flores-Anaya y Velázquez-Contreras, 2021).

Dentro del área de influencia pesquera de Salina Cruz hasta Puerto Escondido, Oaxaca, se encuentra Puerto Ángel, en el municipio de San Pedro Pochutla, ciudad-puerto donde se lleva a cabo, entre otras actividades primarias, la pesca artesanal, contando con aproximadamente 304 embarcaciones menores registradas dedicadas a esta actividad.

Las actividades económicas en el municipio se estructuran proporcionalmente en el 15.07% para el sector primario (Gobierno Municipal San Pedro Pochutla. 2019) De esto cabe resaltar que las actividades primarias como la pesca y la agricultura tienen particular arraigo debido a la tradición pesquera de localidades como Puerto Ángel (Gobierno Municipal San Pedro Pochutla. 2019).

Algunos de los retos que enfrenta la pesca en esta localidad, como se menciona en el plan municipal de desarrollo sostenible 2019-2021 (Gobierno Municipal San Pedro Pochutla. 2019) son la falta de embarcaciones y equipo moderno de seguridad; la regulación de artes de pesca para la eficiencia y respeto a máximos permitidos y la falta de investigación e innovación, entre otros.

El conocimiento científico desempeña un papel fundamental en la gestión de recursos pesqueros (Smith y Link, 2005; Aksnes y Browman, 2016; Smith y Basurto, 2019; Aranda-Fragoso; Castillo y Coronado, 2023), por lo que, respondiendo a este último reto mencionado, el presente trabajo tiene como objetivo determinar la variación de índices morfofisiológicos relacionados con la reproducción del “pez cocinero” *Caranx caballus* y su relación con variables ambientales a lo largo del periodo de estudio. De esta manera se pueden proponer estrategias como las temporadas de veda y la regulación de apertura de luz de red para esta especie en favor de su conservación y manejo sustentable como recurso pesquero.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido posible gracias a al apoyo otorgado por el Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME) con claves; PE204822 y PE206724.

TEORÍA

Estructura poblacional por sexos (proporción sexual) mediante la prueba de bondad de ajuste de chi-cuadrada con corrección de Yates

La proporción sexual, se define como la razón entre el número de machos y hembras en una población. Es aceptado que en la mayoría de las especies de invertebrados se presente igual número de individuos en ambos sexos (Omoloye, 2006; Tabadkani et al., 2012, citado en Bedoya, 2017).

Los postulados de Fisher (1930) explican que la proporción sexual de la mayoría de las especies tiende a ser uno a uno, sin embargo, se ha observado que algunas especies se desvían de esta proporción (Hjernquist et al., 2009; Tabadkani et al., 2012; Wedekind, 2012, citado en Bedoya, 2017).

Para calcular esta proporción empleamos la prueba de χ cuadrada (χ^2) con corrección de Yates. Ya que, según Maruez Dos Santos (2001) si k=2, siendo k el número de categorías, se debe usar la fórmula corregida de Yates.

$$\chi_Y^2 = \sum_{i=1}^{K} \frac{[|O_i - E_i| - 0.5]^2}{E_i}$$

Donde O_i = valores observados (número de machos o número de hembras) y E_i = valores esperados (machos + hembras / 2), siendo el número de categorías k = 2 (machos y hembras.

Correlación cruzada

Para evaluar el grado de variación conjunta de dos series de tiempo se utiliza la “correlación cruzada” procedimiento que consiste en la comparación cuantitativa de dos series de tiempo a retrasos (desfasamientos) sucesivos (Davis, 2002).
En este trabajo se compararon las series (duplicadas) de los índices (IGS e IHS) entre ellos y con las variables ambientales (temperatura, precipitación y velocidad del viento).

Escalas de madurez gonadal

El registro de los estadios de maduración de los peces examinados frecuentemente es necesario para muchos propósitos, ya que se utiliza para determinar la proporción del stock que está maduro o para conocer la talla o edad de primera madurez.

La mayoría de los teleósteos (incluido Caranx caballus) presentan desoves cíclicos, donde se reconocen 3 tipos de desarrollos de los ovarios en peces: sincrónicos (organismos que cuando comienzan a madurar, todos los óvulos o espermatozoides que van expulsados por cada pez en un solo periodo reproductivo sedesarrollan simultáneamente), sincrónico por grupos (dos o más grupos de ovocitos se encuentran en el mismo grado de desarrollo y cada grupo en diferente etapa, esto permite tener múltiples y distintos patrones ovulatorios en los ciclos estacionales) y los asincrónicos (contienen ovocitos en todas las etapas de maduración y por consiguiente desoves continuos). Debido a que la vida en la Tierra se ha adaptado y evolucionado a la periodicidad estacional, climática, solar, lunar, etc. se puede decir que la reproducción de los organismos es uno de varios procesos que se ha vuelto cíclica en periodos más o menos regulares (King, 1995, como se citó en Salgado-Ugarte et al., 2005).

La siguiente tabla de Holden y Raitt (1975), y modificada con base en las observaciones de las gónadas de los peces recolectados durante los años 2023 y 2024, describe seis estadios de madurez para el pez “cocinero” *Caranx caballus (*Günther, 1868).

Tabla 1.- Escala de madurez gonadal macroscópica para el pez "cocinero" *Caranx caballus (*G Günther, 1868). Modificada de Holden y Raitt (1975).

FASE	ESTADO	DESCRIPCIÓN
I	Inmaduro	Ovarios rosáceos, trans- lúcidos; testículos blancuzcos. Huevos invisibles a simple vista. También se incluyen a las gónadas de las cuales no se puede determinar el sexo.
II	Virgen madurando	Ovarios y testículos aún en crecimiento. Ovarios rosáceos, translúcidos; testículos blancuzcos, más o menos simétricos. Huevos no visibles al sumergir en agua la gónada y realizar un corte transversal en la parte anterior.
III	Madurando	Ovarios y testículos cerca de ¼ a 1/3; de la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios de color rosáceo amarillo con aspecto granular; se pueden observar venaciones por debajo del tejido más externo. Testículos blancuzcos a crema. Las estructuras son completamente simétricas. No hay huevos transparentes o translúcidos visibles al sumergir en agua la gónada y realizar un corte transversal en la parte anterior.
IV	Maduro en reposo	Ovarios y testículos ocupan cerca de ¼ a 1/3 de la cavidad abdominal y están situados en la parte posterior de la misma. Ovarios presentan un color de rosáceo a amarillo completamente opaco, con un aspecto turgente. Los testículos son lisos opacos con una consistencia turgente. Se pueden observar ovocitos traslucidos al sumergir en agua la gónada y realizar un corte transversal en la parte anterior.
V	Maduro antes del desove	Ovarios y testículos ocupan de ⅔ a toda la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios de color naranja rosáceo con vasos sanguíneos superficiales visibles. Grandes huevos maduros, translucidos. Testículos blancuzcos crema, blandos. Se pueden observar ovocitos traslucidos de gran tamaño al sumergir en agua la gónada y realizar un corte transversal en la parte anterior.
VI	Después de la puesta	Ovarios y testículos contraídos a cerca de ½ de la longitud de la cavidad abdominal. Paredes flojas. Los ovarios pueden contener restos de huevos opacos, maduros, en desintegración, obscurecidos o translúcidos. Testículos sanguinolentos y flácidos.

Talla media de madurez sexual

Aunque el desarrollo gonádico y el subsiguiente desove pueden depender de estímulos ambientales, los individuos deben alcanzar un cierto tamaño o edad antes de que ellos sean capaces de reproducirse. La longitud mediana a la primera reproducción o longitud mediana a la madurez sexual (Lm), puede ser definida como la longitud a la que el 50% de todos los individuos son sexualmente maduros (Gómez-Márquez, *et al.* 2016).

Una curva logística se puede utilizar para ajustar la proporción (*P*) de individuos sexualmente maduros en relación a la longitud (*L*), en una gráfica similar a la presentada para la selectividad al arte de pesca de redes de arrastre, la cual sería:

$$\boldsymbol{P = \frac{1}{1 + \exp[-r(L - L_m)]}}$$

donde *r* es la pendiente de la curva y *Lm* es la longitud mediana a la madurez sexual o la longitud la cual corresponde a una proporción de 0.5 (o 50%) en condición reproductiva (King, 1995; Salgado-Ugarte, *et al.* 2005).

Abertura de luz de red

Según Prado & Dremière (1988), "*Existe una relación entre el mallaje y el perímetro del cuerpo o la longitud del pescado que se desea capturar".* Esta relación se expresa con la fórmula de Fridman, tomada de Prado & Dremière (1988), *Guía de bolsillo del pescador. Omega-FAO, Barcelona: 183p.*

$$\boldsymbol{OM = \frac{L(pescado)}{K}}$$

Donde OM se refiere a la apertura de malla (mm), L(pescado) a la longitud media de los peces a pescar y K al coeficiente en función de la especie. Para este trabajo se utilizó el valor de K de 3.5.

Tabla 2.- Valor de K para tipos de peces según Prado & Dremière (1988).	
Peces	Valor de K
Largos y estrechos	5
Peces medios	3.5
Peces gruesos, altos o anchos	2.5

Índices morfosisiológicos

Una forma para determinar la época o estación de reproducción de los peces o de otros organismos, es por medio del índice gonadosomático o gonádico (*IGS*) el cual es frecuentemente utilizado para seguir el ciclo reproductivo de una especie en un año a intervalos mensuales o de menor tiempo. Este índice considera que las gónadas incrementan en tamaño conforme a la temporada del año y compara la masa de la gónada (*G*) con la masa total del animal (*W*) (Salgado-Ugarte, *et al.* 2005):

$$\boldsymbol{IGS = 100GW^{-1}}$$

Donde G es el paso de la gónada y W el del animal

El índice utilizado para describir la relación entre la masa del animal y la de su hígado es el hepatosomático (IHS):

$$\boldsymbol{IHS = 100HW^{-1}}$$

Donde H es el peso del hígado.

Ciclo reproductivo

"Las complejas adaptaciones de comportamiento que los peces han desarrollado aseguran que las condiciones reproductivas sean desfavorables para la supervivencia de las crías. Así, los ciclos reproductivos de los peces están estrechamente ligados a los cambios ambientales, particularmente los cambios estacionales en la luz y la temperatura. Estos dos factores son a menudo los más importantes porque actúan, directa o indirectamente a través de los órganos sensoriales, sobre las glándulas que producen hormonas, las cuales a su vez generan las respuestas fisiológicas o de comportamiento apropiadas" (Moyle & Cech, 1982).

En el presente estudio se presenta el ciclo reproductivo del "pez cocinero" *Caranx caballus,* con base en la variación de los valores del *IGS,* y por lo tanto al estado de sus gónadas a lo largo de un año.

***Caranx caballus (*Günther, 1868)**

Cuerpo alargado, fusiforme y moderadamente comprimido. Hocico levemente aguzado; parte posterior del ojo cubierta por un párpado adiposo moderadamente desarrollado; extremo posterior de la mandíbula superior situado en una línea vertical a través del centro del ojo; mandíbula superior con una serie irregular externa de caninos de tamaño moderado y una serie interna de dientes pequeños; dientes de la mandíbula inferior en una sola franja; número de branquiespinas en el primer arco (incluidos los rudimentos): 10 a 15 en la rama superior, 27 a 30 en la inferior, y 40 a 45 en total. Aleta dorsal con VIII espinas, seguidas por I espina y 22 a 25 radios blandos; aleta anal con espinas aisladas, seguidas por I espina y 18 a 21 radios blandos; lóbulos de la segunda aleta dorsal y de la anal levemente elevados, el dorsal más corto que la cabeza, y comprendido de 6,4 a 7,6 veces en la longitud horquilla; ambos lóbulos cubiertos casi enteramente de pequeñas escamas; pecho enteramente escamoso. Línea lateral con un arco anterior pronunciado y corto, número de escamas en la porción recta 0 a 7, seguidas por 42 a 56 fuertes escudetes. Número de vértebras 10+15. Color: dorso aceitunado claro a verde azulado oscuro, vientre gris a dorado; una mancha negra en el borde del opérculo.

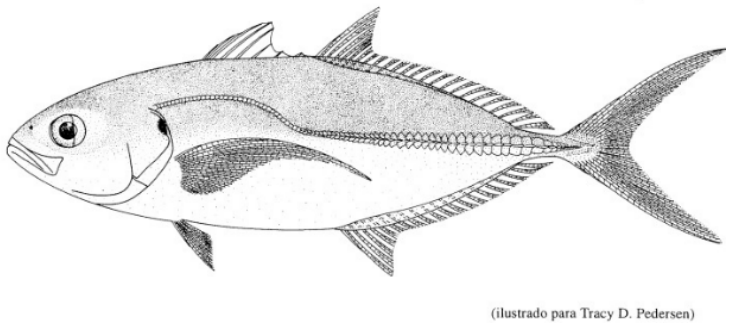


Figura 1.- Ilustración de *Caranx caballus* tomada de Fischer et al. (1995).

PARTE EXPERIMENTAL

Fueron adquiridos de la captura artesanal por los pescadores locales de la zona de estudio, 135 organismos durante los meses de febrero, abril, mayo, septiembre y noviembre de 2023. Los especímenes se conservaron en mezcla frigorífica y se trasportaron al Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza en donde fueron fueron identificados de acuerdo con la descripción morfológica brindada por Fischer, et al (1995) en la Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico Centro-oriental. Volumen II. Se obtuvieron medidas morfométricas de los organismos, la talla, peso eviscerado y pesos de la gónada e hígado de cada uno, los cuales fueron ingresados a una base de datos para su posterior análisis.

Se obtuvieron las variables de temperatura superficial del mar, precipitación y velocidad del viento del sitio web del programa NASA Prediction Of Worldwide Energy Resources (https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/) y se obtuvieron las medias mensuales de las mismas en EXCEL.

Se realizó una prueba de chi cuadrada con corrección de Yates para verificar si la proporción sexual de los organismos era de 1:1, separándolos por meses de muestreo y por intervalos de talla.

Se realizó una regresión no lineal logística de dos parámetros para determinar la talla mediana de madurez sexual.

La abertura de luz de red se calculó con base en la fórmula presentada en el capítulo Artes de pesca y operaciones de la Guía de bolsillo del pescador (Prado & Dremière, 1988, pp. 116)

Se determinaron los índices morfofisiológicos: gonadosomático y hepatosomático y su contraste entre ellos y las variables de temperatura superficial del mar, precipitación y velocidad del viento por medio del análisis de correlación cruzada.

RESULTADOS

Proporción sexual

Se realizó una prueba de χ^2 con corrección de Yates para verificar la hipótesis nula de que la proporción hembra-macho es 1:1. La prueba se realizó para la muestra en general, dividida en muestreos y por clases de talla. En todos los casos la hipótesis nula de proporción 1:1 no se rechazó.

Tabla 3.- Resultados prueba de χ^2 con corrección de Yates para la muestra en general. Como el valor de *P* (0.77) es mayor que α (0.1), no se rechaza H_o; O alternativamente, como la χ^2 calculada (0.081) es menor que la χ^2 de tablas (2.71) no se rechaza H_o con una confianza de 90%.

Parámetro	Valor
Machos	53
Hembras	57
H/M	1.07
χ^2	0.081
P	0.77
Tablas	3.84
Conclusión	No se rechaza H_o

Tabla 4.- Resultados prueba de χ^2 con corrección de Yates para la muestra separada por meses, la proporción en todos los meses fue de 1:1.

Muestra	Machos	Hembras	χ^2	Tablas	p	Conclusión
Febrero	15	18	0.12	2.71	0.72	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
Abril	8	10	0.05	2.71	0.83	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
Mayo	9	6	0.26	2.71	0.61	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
Septiembre	12	11	0	2.71	1	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
Noviembre	9	12	0.19	2.71	0.66	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
TOTAL	53	57	0.08	2.71	0.77	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1

Tabla 5.- Resultados prueba de χ^2 con corrección de Yates para la muestra separada por cinco intervalos de talla, la proporción en todos los meses fue de 1:1.

Intervalo de tallas	Hembras	Machos	Razón h/m	χ^2	Tablas	Conclusión
13.5 - 19.5	6	8	0.75	0.0714	2.71	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
19.5 - 25.5	24	22	1.09	o.0217	2.71	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
25.5 - 31.5	24	20	1.20	0.205	2.71	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1
31.5 - 37.4	3	3	1	2.71	2.71	No se rechaza Ho, la proporción es 1:1

Talla mediana de madurez sexual

La regresión no lineal logística de dos parámetros refleja un buen ajuste debido a su R^2 (0.97). La talla mediana de madurez sexual estimada (talla a la que el 50% de los organismos son sexualmente maduros) es de 27.75 cm

Tabla 6.- Resultados de la regresión no lineal

Parámetro	Estimación	Error estándar	IC 95%	Valor t	p
r	0.3591	0.0495	0.261-0.530	7.258	<0.001
Lm	27.7488	0.4329	26.73-28.78	64.101	<0.001

Tabla 7.- Métricas de ajuste.

Estadístico	Valor
Suma de cuadrados residual	0.02615
R^2	0.9797 (97.97%)
Error estándar residual	0.06112

Ecuación del modelo ajustado:

$$\boldsymbol{Lm = \frac{1}{1 + \exp[-0.3591(L - 27.7488)]}}$$

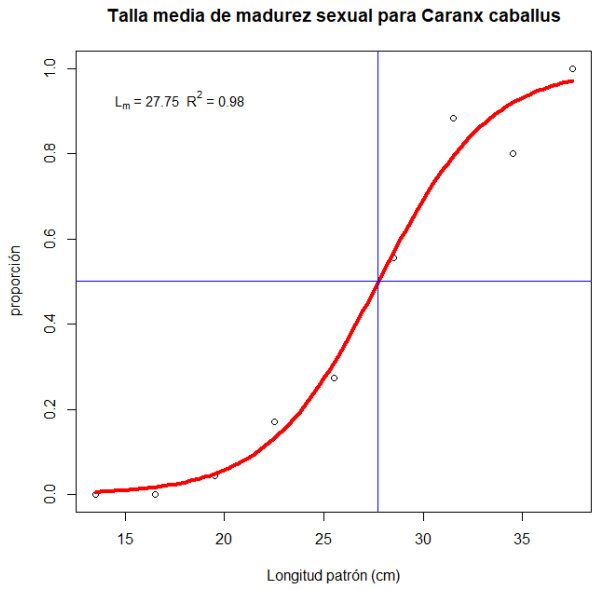


Figura 2.- Gráfico para la talla media de madurez sexual para el total de la muestra

Determinación de abertura de luz de malla

Se utilizó la fórmula de Fridman considerando un valor de 3.5 para K, para peces medios y un valor de L correspondiente a la talla media de madurez sexual de *Caranx caballus.*

$$OM = \frac{277.5mm}{3.5} = 79.28mm$$

Obteniendo una apertura de luz de malla de 79.28mm óptima para la captura de peces con una talla promedio de 27.75 cm.

Índices morfofisiológicos

La variación de los índices morfofisiológicos (*IHS* e *IGS*) a lo largo del periodo de estudio, se pueden observar en las siguientes gráficas, las cuales muestran las medias mensuales para cada índice. Los valores correspondientes a los meses en donde no se obtuvo muestra se obtuvieron mediante un cálculo de interpolación simple. Con fines exploratorios la serie de tiempo se repite debido a que, al ser un ciclo anual, se espera que los valores se repitan.

Para el IGS, en hembras, se observan altos valores en los meses de septiembre a diciembre, siendo los puntos más altos en octubre y diciembre.

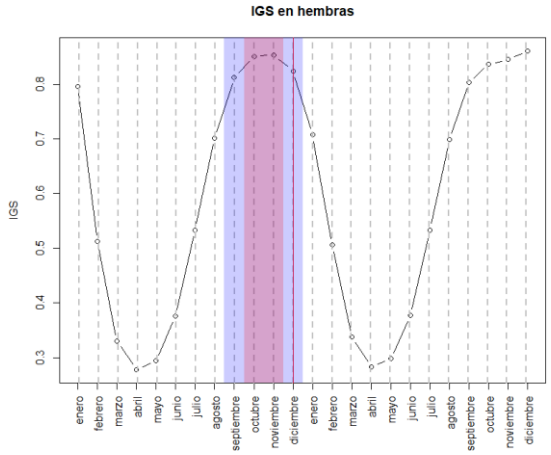


Figura 3.- Gráfica de valores suavizados de las medias mensuales del *IGS* en hembras a lo largo del año

Para los machos, se observa el mismo comportamiento en el IGS

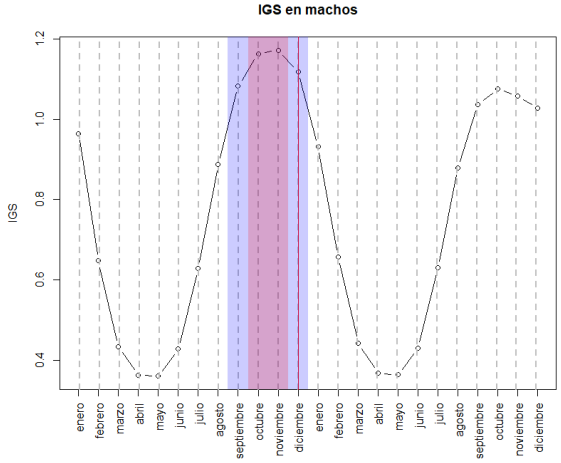


Figura 4.- Gráfica de valores suavizados de las medias mensuales del *IGS* en machos a lo largo del año

En cuanto al *IHS*, en hembras, se observan altos valores en los meses de diciembre a marzo, siendo los puntos más altos en enero y febrero.

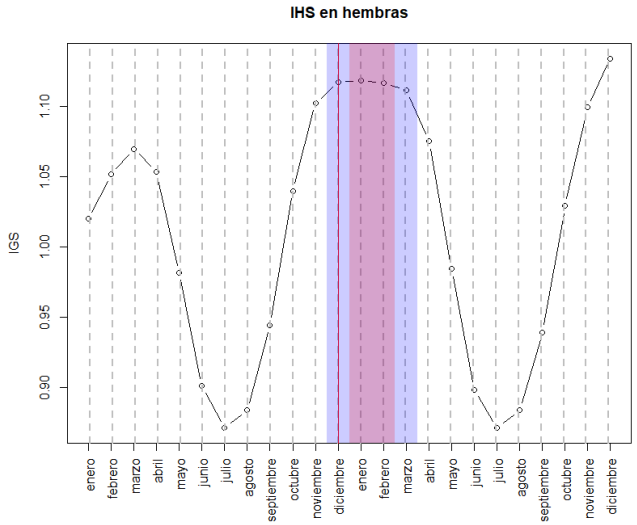


Figura 5.- Gráfica de valores suavizados de las medias mensuales del *IHS* en hembras a lo largo del año.

Mientras que, para los machos, se observan altos valores de *IHS* en los meses de marzo a mayo, siendo el punto más alto en abril.

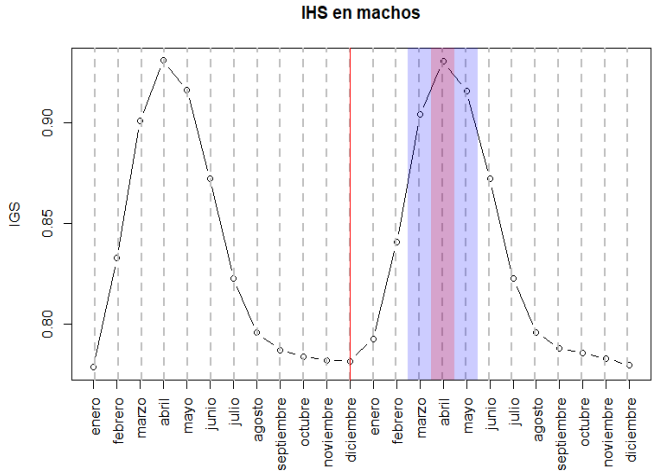


Figura 6.- Gráfica de valores suavizados de las medias mensuales del *IHS* en machos a lo largo del año.

Relación con parámetros ambientales

Los índices morfofisiológicos se relacionaron con parámetros ambientales por medio de correlación cruzada, dando los siguientes resultados.

Tabla 8.- Correlación cruzada entre valores suavizados de índices mofofisiológicos y parámetros ambientales en hembras.

Relación	Retraso	Correlación (r)
IGS-Temperatura °C	-3	0.87
IGS-Velocidad del viento (m/s)	-3	0.74
IGS-Precipitación (mm)	-3	0.64
IGS-IHS	3	0.63

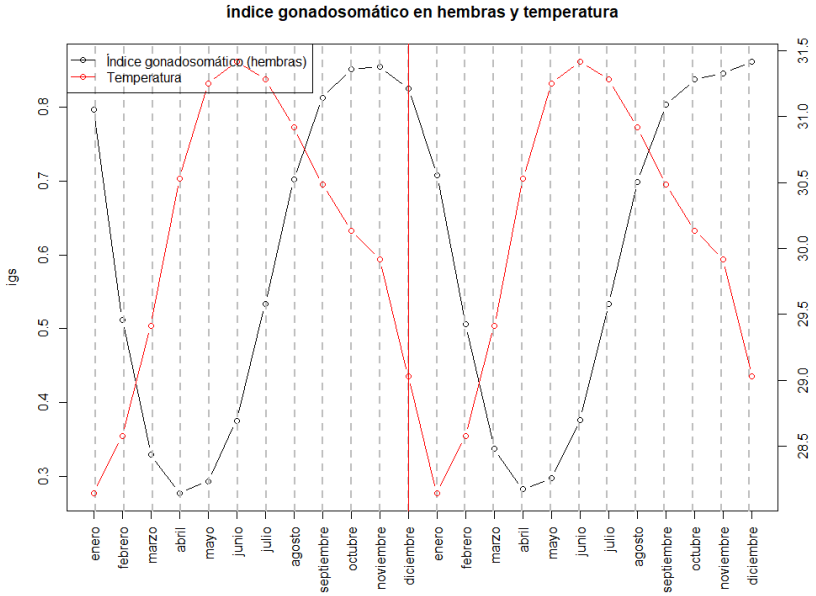


Figura 7.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con la temperatura a lo largo del año.

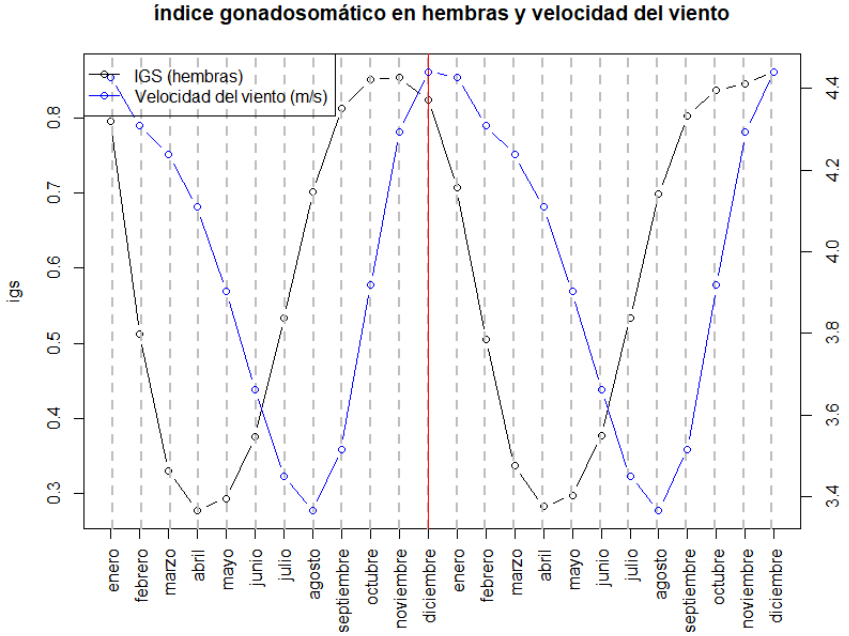


Figura 8.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con la velocidad del viento a lo largo del año.

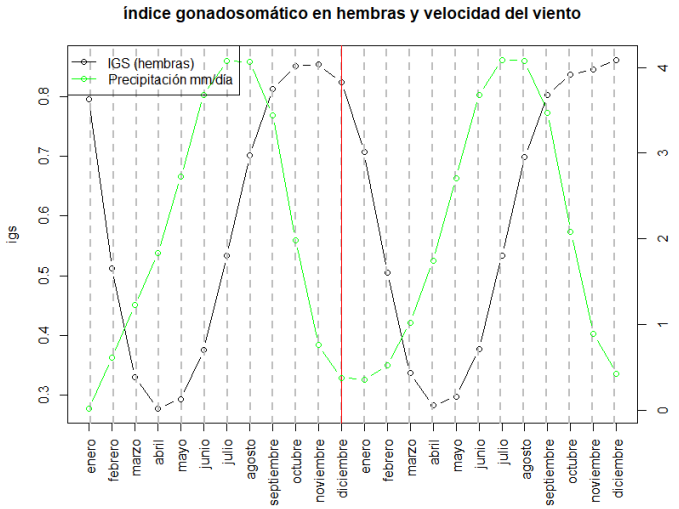


Figura 9.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con la precipitación a lo largo del año.

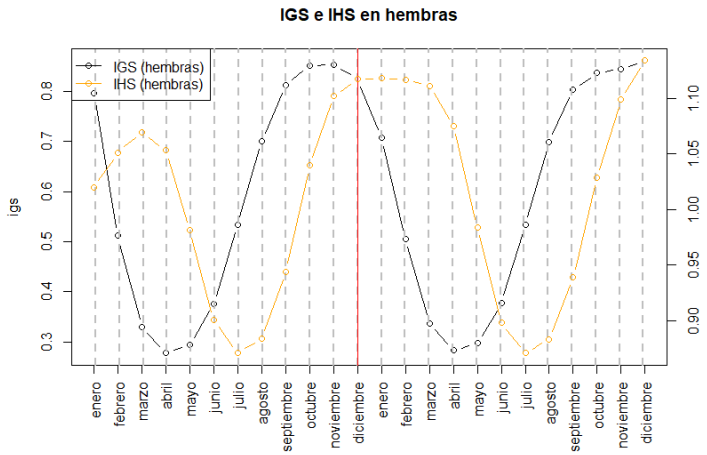


Figura 10.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con el índice hepatosomático a lo largo del año.

Tabla 9.- Correlación cruzada entre valores suavizados de índices mofofisiológicos y parámetros ambientales en machos.

Relación	Retraso	Correlación (r)
IGS-Temperatura °C	-4	0.85
IGS-Velocidad del viento (m/s)	-3	0.74
IGS-Precipitación (mm)	-3	0.68
IGS-IHS	0	-0.76

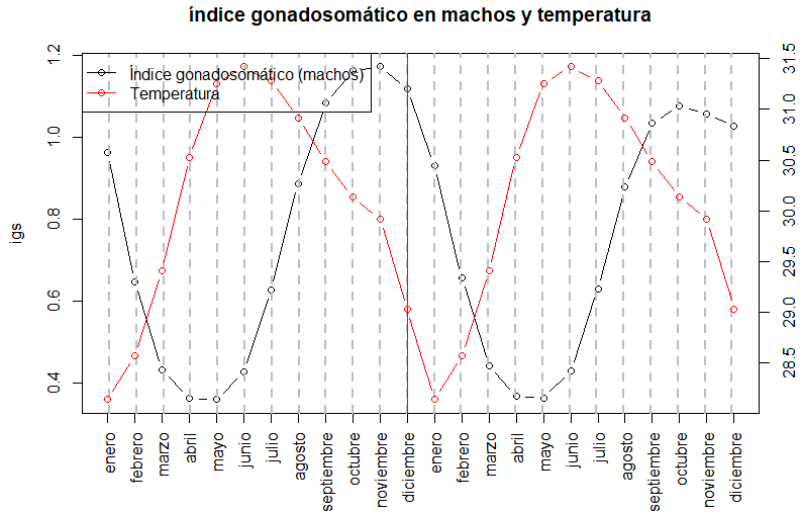


Figura 11.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con la temperatura a lo largo del año.

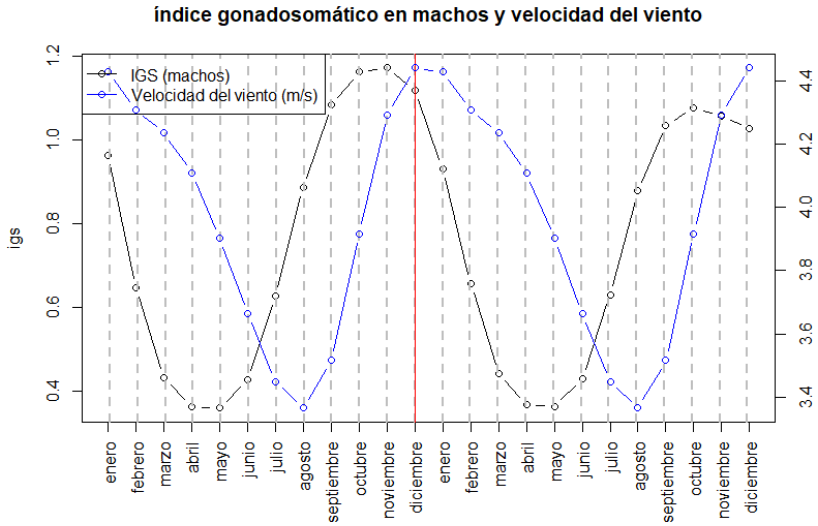


Figura 12.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con la velocidad del viento a lo largo del año.

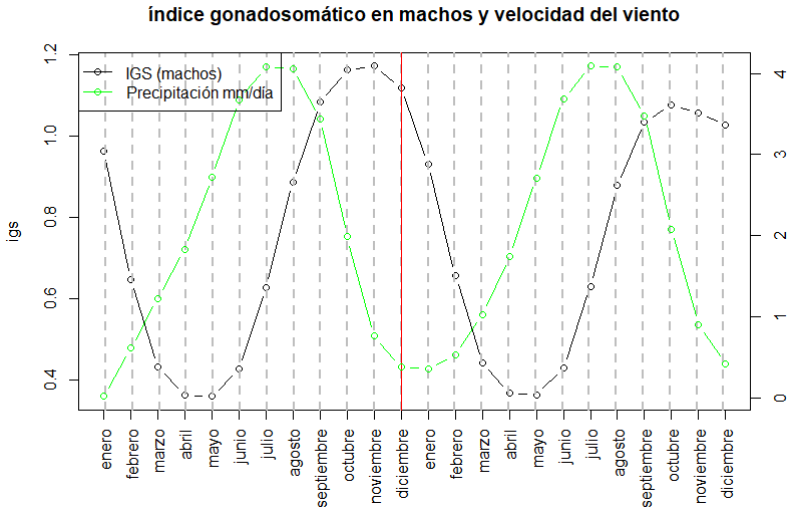


Figura 13.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con la precipitación a lo largo del año.

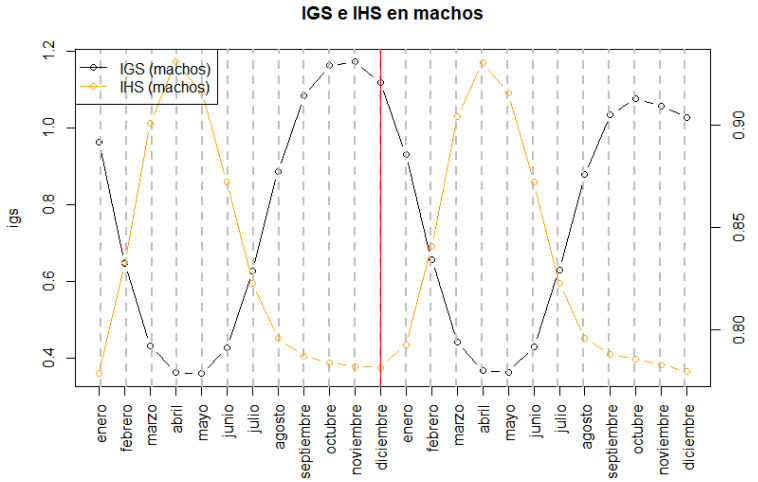


Figura 14.- Gráfica de valores suavizados del índice gonadosomático comparado con el índice hepatosomático a lo largo del año.

CONCLUSIONES

La proporción sexual, tanto para intervalos de talla, como para cada mes de muestreo y en general, no representan una diferencia, por lo que en todos los casos esta es de 1:1.

Se obtuvo una talla mediana de madurez sexual de 27.7 cm, 2.6 cm mayor a la reportada por Anislado-Tolentino et al. (2016) y 0.4 cm más que 28.1 cm reportada por Fernández (2021). Se determinó una temporada de altos valores para el *IGS* de septiembre a diciembre con los picos más altos en noviembre y diciembre, Anislado-Tolentino et al. (2016) y Fernández (2021) coinciden en que la alta actividad reproductiva de *Caranx caballus* ocurre en septiembre y octubre, y añaden noviembre como punto máximo, similar a Espinoza (2022) quien indica valores altos de *IGS* de septiembre a noviembre, siendo el punto más alto en octubre. En las correlaciones se observa que, para hembras, el valor más alto de *IGS* ocurre 3 meses después que el valor más alto de la temperatura superficial del mar y 4 meses para los machos. Tanto para hembras, como para machos, el valor más alto de *IGS* ocurre 3 meses después de los valores más altos de la velocidad del viento (m/s) y de precipitación. En el caso del *IHS*, para hembras se obtuvo un máximo de IHS

3 meses antes del valor más alto de *IGS,* mientras que, en machos, se obtuvo una relación inversamente proporcional entre el *IGS* y el *IHS.*

Se concluye que, el "pez cocinero", *Caranx caballus* se reproduce de septiembre a diciembre con sus puntos máximos en octubre y noviembre, lo cual coincide con temporadas de lluvias y velocidad del viento más altas y tres meses después del mes de más alta temperatura. Por lo que se propone una temporada de veda en los meses de octubre y noviembre. Utilizando la talla mediana de madurez sexual (27.7 cm) y la constante *K* de 3.5 en la fórmula de Fridman (en Prado y Dremière, 1988), se obtiene una abertura de luz de malla óptima de 80mm, por lo que se propone utilizar este valor para una pesca sustentable de esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anislado, T., et al. (2014). *Reporte ejecutivo Final del proyecto 2IR1008: "Dinámica pesquera de las poblaciones de peces demersales en la costa chica de Oaxaca, México".* México: Universidad del Mar.
2. Aranda-Fragoso, A., A. Castillo & E. Coronado (2023). Pesca artesanal en la costa sur de Jalisco: reflexiones sobre su investigación y manejo. Sociedad y Ambiente, 26, 1-31. https://doi.org/10.31840/sya.vi26.2754
3. Bedoya-Roqueme, E., & J. Quiros-R (2017). Proporción sexual de la comunidad de pseudoescorpiones (Arachnida: Pseudoscorpiones) en bosque de manglar, San Antero-Córdoba, Caribe colombiano. Revista Colombiana de Ciencia Animal RECIA, 9(1), 14-24. https://doi.org/10.24188/recia.v9.n1.2017.493
4. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2019). La pesca mexicana, una actividad inmensa como el mar. https://www.gob.mx/conapesca/articulos/la-pesca-mexicana-una-actividad-inmensa-como-el-mar-227722?idiom=es
5. FAO. (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul. Roma, FAO. https://doi.org/10.4060/cc0461es
6. Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter, & V.H. Niem (1995). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico Centro-oriental. Volumen II: Vertebrados - Parte 1 (Vol. II, pp. 647-1200). Roma: FAO.
7. Gómez-Márquez, José Luis & Cervantes-Sandoval, Armando & Salgado-Ugarte, Isaías Hazarmabeth & Peña, Bertha & Alejo-Plata, Carmen & Guzman, Jose & Mendoza Vallejo, Ernesto & Machuca-Rodríguez, Catalina. (2016) Temas selectos de biología pesquera. UNAM, FES Zaragoza, México. ISBN 978-607-02-8024-5.
8. Guevara Díaz, J. M. (2014). Uso correcto de la correlación cruzada en Climatología: el caso de la presión atmosférica entre Taití y Darwin. Terra, 30*(47), 79-102. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-70892014000100005&lng=es&tlng=es
9. Holden, M. J., & D.F.S. Raitt (1975). Manual de Ciencia Pesquera Parte 2 - Métodos para Investigar los Recursos y su Aplicación. http://www.fao.org/3/F0752S/F0752S05.htm
10. Prado, J. & P.Y. Dremière (1988). Guía de bolsillo del pescador. Omega-FAO, Barcelona: 183p. https://www.fao.org/4/ah827s/AH827S00.htm
11. Salgado-Ugarte, I.H., J.L. Gómez-Márquez, & B. Peña-Mendoza (2005). Métodos Actualizados Para Análisis de Datos Biológico-pesqueros. DGAPA, FES Zaragoza, UNAM, México: 268 p.
12. Salgado-Ugarte, I.H., & V.M. Saito Quezada (2020). Métodos computarizados para biología pesquera. DGAPA y FES Zaragoza, UNAM, México: 487 p.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS CAMBIOS FENOTÍPICOS EN LARVA L2 De *Toxocara Canis* CON LA ADMINISTRACIÓN DE ALBENDAZOL Y DE UN EXTRACTO DE *Rosmarinus Officinalis*

María Fernanda Galindo Ramírez[1], Francisca Chávez Ruvalcaba[2], Marisol Galván Valencia[1], Verónica Bañuelos Melero[2], María Isabel Chávez Ruvalcaba [3].

[1]Maestría en Ciencias Biomédicas, [2]Unidad Académica de Enfermería, [3]Unidad Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas.
mfgalindo01@gmail.com.

T. canis es un nemátodo que habita en el intestino delgado de los caninos, siendo endémico en todo el mundo. Produce infección en el ser humano a partir de la ingestión de los huevos larvados presentes en la tierra, verduras crudas y alimentos contaminados con las heces de los perros infectados. Esta zoonosis representa un problema de salud pública de atención prioritaria en México[1]. El objetivo de este trabajo fue comparar los efectos de la administración de Albendazol (ABZ) y una infusión de *Rosmarinus officinalis* sobre la viabilidad y la morfología de larvas L2 de *T. canis*. Para el extracto, 25 g de planta seca y molida se extrajo en 200 mL de agua hirviendo, el extracto se filtró y utilizó para los ensayos, además de caracterizarlo mediante cromatografía de gases y espectroscopía infrarroja (FTIR). El modelo experimental consistió en la obtención de hembras adultas de *T. canis* del intestino delgado de cadáveres de perros sacrificados por razones humanitarias en el Centro de atención canina y felina del estado de Zacatecas (CACF). Mediante la disección del útero de las hembras de *T. canis* se obtuvieron los huevos, los cuales fueron incubados en una solución de hipoclorito de sodio al 2% y ácido sulfúrico 0.1N por 45 días a 32°C para inducir la eclosión de las larvas en estadio L2[2]. Alícuotas de 150 µL de una suspensión de huevos larvados se colocaron en placa multipozos y se trataron con el fármaco ABZ a concentraciones de 206.45, 246.15, 290.91, y 336.84mg/ml, o con 150 µL del extracto de *R. officinalis* diluido 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:1,000,000. Las placas se incubaron a temperatura ambiente y se observaron al microscopio óptico a los 30min, 2h, 4h y 24h para cuantificar la viabilidad de las larvas e identificar alteraciones morfológicas. Los resultados del análisis fitoquímico del extracto indicaron la presencia de cumarinas, flavonoides, quinonas, taninos y terpenoides. En cuanto al efecto del ABZ, se observó un efecto dosis y tiempo dependiente sobre la viabilidad y degradación de la cutícula de las larvas. Mientras que con el extracto de *R. officinalis* la viabilidad se redujo en un 50% a partir de la dilución 1:100, además de provocar lisis de la membrana a todas las diluciones probadas. El estudio demostró que tanto el ABZ como el extracto de *Rosmarinus officinalis* redujeron la viabilidad de larvas de *Toxocara canis* y degradaron la cutícula de las larvas. Por lo que ambos tratamientos demostraron ser efectivos, siendo el extracto de *R. officinalis* un potencial tratamiento natural con actividad antiparasitaria.

INTRODUCCIÓN

Toxocara canis (*T. canis*) es un nemátodo que habita en el intestino delgado de los caninos, y es endémico en todo el mundo; puede producir infección en el ser humano a partir de la ingestión de los huevos presentes en la tierra, verduras crudas y alimentos contaminados con las heces de los perros infectados. Este parásito pertenece al grupo de los enteroparásitos acáridos capaces de infectar al hombre accidentalmente, por lo cual la infección que produce es considerada una zoonosis (Rojas-Salamanca *et al*., 2016).

La toxocariasis se define como una parasitosis larval multisistémica que se presenta de forma asintomática o con diversas manifestaciones tales como compromiso respiratorio, eosinofilia, fiebre, afectación del sistema nervioso central, miocardio y piel llegando a ser incluso mortal (Archelli y Kozubsky, 2008).

Desde que Paul Beaver (1952) identificara por primera vez las larvas de *T. canis* como el agente etiológico de la toxocariasis humana e introdujera el concepto de Larva Migratoria Visceral (L.M.V.),

el nivel de conocimientos sobre la biología del parásito, espectro clínico de la enfermedad, técnicas de inmunodiagnóstico y prevalencia humana, ha experimentado un avance espectacular en tan sólo cuatro décadas. Hoy día se acepta que la toxocariasis humana es una de las infestaciones por helmintos más frecuentes en los países desarrollados (Breña *et al.,* 2011).

TEORÍA

Los miembros del género *Toxocara* son gusanos que presentan dimorfismo sexual, color blanquecino con forma cilíndrica y extremos puntiagudos, presentan tres labios y dos aletas cervicales en la parte posterior. Las especies pertenecientes a este género pueden ser distinguidas entre sí teniendo como base la morfología de los labios, las aletas cervicales, la longitud de las espículas y las características del aparato reproductor femenino (Macotela *et al.,* 2019*).*

Estos nematodos son gusanos cilíndricos, nacarados, no segmentado, presentan cutícula, hipodermis y células musculares, son pseudocelomados (presentan cavidad corporal interior), tienen un aparato digestivo completo (boca trilabida, intestino y ano), cuentan con un sistema excretor, nervioso y reproductor. Son dioicos y presentan dimorfismo sexual, la hembra es más grande que el macho, mide 6.5 a 15cm de longitud y 2.5 a 3, de diámetro, su extremo posterior es rombo y la vulva se sitúa en el cuarto anterior del cuerpo. El macho mide de 4-6cm de longitud y 2.5 mm de diámetro, se caracteriza porque su extremo caudal termina en curva, en donde se localiza la cloaca en dos series de 20 a 30 papilas preanales y cinco papilas postanales de cada lado (Macotela *et al.,* 2019*).*

Los miembros del género *Toxocara* son gusanos que presentan dimorfismo sexual, son de color blanquecino con forma cilíndrica y extremos puntiagudos, presentan tres labios y dos aletas cervicales en la parte posterior. Las especies pertenecientes a este género pueden ser distinguidas entre sí teniendo como base la morfología de los labios, las aletas cervicales, la longitud de las espículas y las características del aparato reproductor femenino (Macotela *et al.,* 2019).

Epidemiología

El ser humano como ente de la naturaleza y su relación con la misma, se habituó a convivir de manera armoniosa con la presencia de animales domesticados, en especial perros y gatos, situación que comienza con la costumbre del hombre de acoger a determinados animales en su hogar, sin requerirles a cambio función alguna, exceptuando la de su propia compañía, apareciendo así las mascotas (acompañantes de los seres humanos en su vida cotidiana) (Gutiérrez *et al.,* 2007).

Las enfermedades parasitarias han producido a través del tiempo más muertes y daño económico a la humanidad que todas las guerras juntas, los países con poco desarrollo socioeconómico son en los que las parasitosis se presentan con mayor frecuencia (Orlando-Indacochea *et al.,* 2018).

En el hombre la forma de adquirir la toxocariasis, es siempre oral, por diferentes vías. Esta parasitosis no se transmite de una persona a otra. La vía oral directa o geofagia (hábito de ingerir tierra, aparentemente por carencia de hierro) es frecuente en los niños, pacientes psiquiátricos o embarazadas. La vía oral indirecta puede presentarse al consumir frutas y verduras mal higienizadas, por manos contaminadas con tierra, por ingestión de tejidos de hospedadores paraténicos o huésped de transporte (ej. ratones, lombriz de tierra, cucarachas, pollos, ovinos y otros) que contienen estados juveniles o ingesta accidental de huevos infectivos que ensucian el pelaje de animales, concomitantemente con hábitos promiscuos y falta de higiene (Archelli *et al.,*2008).

En el mundo aproximadamente 1500 millones de personas, es decir, casi el 24% de la población mundial, está infectada con parásitos intestinales transmitidos por el suelo (OMS 2017). Las heces de los perros son una de las principales fuentes de contaminación del suelo, ya que al ser depositadas pueden llegar a portar parásitos zoonóticos. Este problema ha ido en constante aumento conforme ha crecido la población canina en situación de calle y la tenencia irresponsable de mascotas (Ramírez-Rubio *et al.,* 2019).

En América Latina las seroprevalencias van del 1.8 al 66.6%, su amplia presencia se relaciona con la constante necesidad del hombre de vivir rodeado de mascotas (perros y gatos). La población más afectada por la toxocariasis es aquella con un bajo nivel socioeconómico. Sin embargo, aun en países desarrollados, incluso cuando la prevalencia de enfermedades parasitarias suele ser baja de toxocariasis es una de las helmintiasis más frecuentes. Su seroprevalencia puede variar entre el 2 y el 14% en áreas urbanas, hasta el 37% en zonas rurales (Bolívar-Mejia *et al.,* 2013*).*

En países en desarrollo, fuera de América Latina, se han reportado datos que van desde menos del 2% hasta cifras del 93% de prevalencia; aun así, debido a que en muchos países esta enfermedad es infrecuente y no se notifica adecuadamente y a que muchos de los casos cursan de manera asintomática, los valores reales de prevalencia, incidencia, morbilidad y mortalidad se desconocen para la mayoría de los territorios afectados (Bolívar-Mejía *et al.,* 2013).

Ciclo vital.
En el perro:
Hospedador definitivo de *T. canis,* la infección por el parásito puede producirse por diferentes mecanismos. Una vez que los huevos embrionados son ingeridos, estos pasan al intestino en donde liberan las larvas, las cuales a su vez penetran la mucosa intestinal y por vía circulatoria llegan a los pulmones en donde después de alcanzar el árbol bronquial son deglutidas y llegan de nuevo al intestino en donde alcanzan su estadio adulto entre los 60-90 días después de su liberación. Posteriormente se lleva a cabo el proceso de fecundación a partir del cual una hembra de *T. canis* puede producir hasta 200.000 huevos no embrionados por día para que sean eliminados en las heces del animal (Bolívar-Mejía *et al.,* 2013).

En el humano:
Hospedador paraténico del parásito, puede adquirir la infección al entrar en contacto con los suelos contaminados con huevos embrionados de *T. canis* o con menos frecuencia al usar como fuente de alimento otro hospedador en cuyos tejidos se encuentran las larvas del parásito. En el hospedador (el hombre y otros animales diferentes al perro) las larvas son liberadas en el estómago e intestino delgado a partir de la ingesta de huevos embrionados, para luego penetrar la mucosa duodenal y tras acceder a la circulación enterohepática y así poder alcanzar la circulación general desde donde tienen la capacidad de acceder a casi cualquier órgano (Bolívar-Mejía *et al.,* 2013).

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de parásitos adultos de T. canis en cachorros de 2-4 meses.
El aislamiento de parásitos se realizó mediante la técnica de laparotomía exploratoria realizada en 4 perros del CACF que fueron sacrificados humanitariamente (figura 10). Los parásitos de *T. canis* recolectados se lavaron por triplicado en agua común para retirar los residuos de materia fecal que pudieran contener (figura 11), se introdujeron en solución antibiótica que contenía Bencil penicilina de 12000 UI, Estreptomicina (vial 1g), Fluconazol (150 mg) para conservar y evitar contaminación por bacterias y hongos, posteriormente. se colocaron en medio de incubación RPMI. Posteriormente se realizó la medición de los parásitos para diferenciar ambos sexos. Finalmente se etiquetaron y conservaron en refrigeración.

Obtención de huevos larvados de *T. canis.*
Se obtuvo el útero maduro de las hembras de *T. canis* mediante una disección, el contenido fue vaciado en el frasco de con la solución de incubación mixto de hipoclorito de Sodio (NaClO) al 2% y Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1N. Se observó a microscopio una alícuota de 20 microlitros después de 45 días de incubación, visualizando la presencia de larvas.
Obtención de extracto natural etanólico y acuoso de la especie *Rosmarinus officinalis* (romero).
La preparación de los extractos fue a partir de una mezcla de hojas y tallos de la planta, a partir de hojas frescas, deshidrata y trituradas.

Extracto Acuoso
Para un medio acuoso se usó una relación de 25g de muestra molida de romero por cada 200mL de agua destilada. En la preparación de infusión, se hirvió el agua durante 5 min., posteriormente se añadió la muestra de romero y se dejó reposar durante 10 min., se filtró a través de papel de filtro (Whatman no. 4) y se almacenó en frascos ámbar.

Estructura química del extracto por Espectroscopia Infrarroja con Transformación de Fourier (FTIR).
Los análisis de espectroscopía infrarroja con transformación de Fourier se efectuaron en un equipo Thermo scientific marca Nicolet™ iS™50 (fabricado en U.S.A) con celda dispersiva; los gráficos se realizaron en el software estadístico OriginPro 8. Los espectros se midieron en el rango de 600 a 4000 nm con 32 repeticiones cada espectro (Skoog et al., 2001), se promediaron y se graficaron. Cada una de las muestras se concentró en un rotavaporador marca Eppendorf Vacufuge™ (fabricado en U.S.A) a temperatura de 30°C por 2 horas.

Evaluación de los distintos tratamientos.
Para evaluar los efectos causados por los diferentes tratamientos (Tx) en las larvas L2 se preparó un control sano que contenía 20µL de medio de cultivo RPMI y 20 µL de larvas de *T. canis* en estadio L2. Posteriormente se procedió con la preparación de las muestras problema, para las cuales se tomaron 200µL de medio RPMI, 1000 µL de larvas de *T. canis* L2 y se adicionaron 100µL de los distintos Tx (farmacológico y herbolario). Posteriormente se tomaron alícuotas de 20 µL de cada una de las muestras problemas a diferentes tiempos (T1=30 min, T2=2 h, T3=4 h, y T4=24 h), se observaron por medio de un microscopio óptico a 40x y finalmente se describieron los cambios provocados por los Tx en las larvas de *T. canis.*

RESULTADOS

Obtención de parásitos adultos de *T. canis* en cachorros de 2-4 meses.
Sé logró la obtención de larvas maduras de *T. canis* por laparotomía exploratoria en C.A.C.F (Centro de Atención Canina y Felina) del estado de Zacatecas, obteniendo un total de 23 gusanos adultos los cuales fueron clasificados por género (15 hembras y 8 machos).

Obtención de huevos larvados de *T. canis.*
A las hembras maduras luego de su paso por solución antibiótica se les realizaron cortes con la finalidad de exponer la zona uterina para la obtención de huevos mediante la incubación en medio mixto ácido sulfúrico al 1N por 45 días a temperatura ambiente, encontrando huevos larvados que posteriormente eclosionan a larvas de estadio L2.

Pruebas cualitativas del perfil químico.
El análisis fitoquímico tiene como objetivo determinar algunos grupos funcionales y/o metabolitos secundarios presentes en las especies vegetales. Mediante las pruebas de tamizaje fitoquímico, por lo que se determinó la presencia de estos compuestos en el extracto natural: cumarinas, saponinas, taninos, flavonoides y oxidrilos fenólicos.

Efecto antiparasitario de los diferentes tratamientos.
Los tratamientos tanto farmacológicos como herbolario (romero), que fueron administrados en larvas que se encontraban en estadio L2 de *T. canis* mostraron cambios cualitativos en cada una de las muestras analizadas al momento de entrar en contacto con cada una de las concentraciones o diluciones que fueron aplicadas como tratamientos.

Efecto antiparasitario del ABZ.
En cada uno de los fármacos se evaluó el efecto antiparasitario frente a 150 microlitros de larvas L2 de *T. canis*. En el caso del ABZ fueron administradas 4 dosis en diferentes concentraciones 206.45, 246.15, 290.91, y 336.84mg/ml, que a su vez fueron analizadas cada una de estas en 4 tiempos diferentes (T1: 30min, T2: 2 horas, T3: 4 horas y T4: 24horas).

El ABZ mostró cambios relevantes en cuanto a la movilidad de las larvas, y a los cambios en sus estructuras, como lisis de la membrana de los huevos o bien de las mismas larvas, mostrando un alto nivel de eficacia de las distintas concentraciones que fueron agregadas en los diferentes tiempos.



Figura 1. Lisis en la membrana de huevo y larva con tx de ABZ.



Figura 2. Larvas y huevos en estado de descomposición, con aplicación de tx ABZ.

Efecto antiparasitario del extracto de *R. officinalis* (infusión).

Para comprobar el efecto antiparasitario de *R. officinalis* (en forma de infusión) fueron administradas distintas concentraciones resultantes de diferentes diluciones 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:1,000,000 de este extracto, de igual manera que los fármacos se aplicaron en 4 tiempos distintos. Como resultado de la aplicación de este tx, se observó un gran porcentaje hasta del 50% de larvas inmóviles, así como también cambios en su morfología como: larvas en forma corrugada, burbujas internas en larvas, e incluso lisis en membrana externa.



Figura 3. Larva saliendo de huevo comienzo de lisis en huevo.



Figura 4. Larva inmóvil al salir de huevo descomposición interna en larva.

Análisis estadístico.

Se llevó a cabo un análisis estadístico multi variable en base a los resultados obtenidos en el programa Statgraphics centurión. Las pruebas-F en ANOVA podemos identificar que tomando en cuenta la variable dependiente; porcentaje de movimiento con la administración del fármaco y el extracto natural en las diferentes dosis de cada tratamiento, presentó una significancia de <0.05 de p. value, demostrando que el resultado es estadísticamente significativo con más de 95% de confianza.

CONCLUSIONES

Los resultados del análisis fitoquímico indicaron la presencia de cumarinas, flavonoides, quinonas, taninos y terpenoides. En cuanto al efecto del ABZ, se observó un efecto dosis y tiempo dependiente sobre la viabilidad y degradación de la cutícula de las larvas. Mientras que con el extracto de *R. officinalis* la viabilidad se redujo en un 50% a partir de la dilución 1:100, además de provocar lisis de la membrana a todas las diluciones probadas. El estudio demostró que tanto el ABZ como el extracto de *R. officinalis* redujeron la viabilidad de larvas de *Toxocara canis* y degradaron la cutícula de las larvas. Por lo que ambos tratamientos demostraron ser efectivos, siendo el extracto de *R. officinalis* un potencial tratamiento natural con actividad antiparasitaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Archelli, S., Kozubsky, L., 2008. *Toxocara* y Toxocariosis. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 42,(3): 379-384.
2. Breña, J.P., Hernández, R., Hernández, A., Isaías, R., Blanco, Y., Gonzáles, W., Bustamante, C., Vargas, C., 2011. Toxocariosis humana en el Perú: aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio. Acta Med Per 28(4): 228-236.
3. Bolívar-Mejía, A., Rodríguez-Morales, A.J., Paniz-Mondolfih, A.E., Delgado, O., 2013. Manifestaciones cardiovasculares de la toxocariasis humana. Arch Cardiol Mex. 83(2): 120-129.
4. Gutiérrez, G., Granados, D., Piar, N., 2007. Interacciones humano-animal: características e implicaciones para el bienestar de los humanos, Revista Colombiana de Psicología. 16: 163-183.
5. Macotela M, & Martínez Gordillo M, & Salazar S, & Caballero A, & Rosa Arana J.2019. Toxocariasis. Flores M(Ed.), *Parasitología médica, 5e*. McGraw Hill.
6. Orlando-Indacochea, N.F., Osejos-Merino, M.A., Jaramillo-Véliz, J.J., Saltos-Bury, M., A., Alcívar-Cobeña, J.L., 2018. Prevalencia de *Toxocara canis* y su incidencia zoonótica ambiental en niños de la ciudad de Jipijapa. Polo del conocimiento. 3(8): 29-57.
7. Ramírez-Rubio, L., García- Cuteo, O. R., Tinoco- García, L., Quintero-Nuñez, M., Cueto-Gonzáles, S.A., Trasviña-Muñoz, E., 2019. FRECUENCIA DE HUEVOS DE *Toxocara canis* EN PARQUES PÚBLICOS DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. Rev. Int. Contaminación Ambiental. 35 (3) 589-595.
8. Rojas-Salamanca, A.C., León-Bustamante, M.C., Bustamante-Saavedra, O.R., 2016.*Toxocara canis*: una zoonosis frecuente a nivel mundial. Revista Ciencia y Agricultura Vol. 13 (1):19-27.

APLICACIÓN DE SOFTWARE LIBRE EN LA BIOLOGÍA PESQUERA: UN ENFOQUE PARA EL ANÁLISIS DE MARCAS DE CRECIMIENTO

Jesús Roberto García Córdova, Isaías Hazarmabeth Salgado Ugarte y Verónica Mitsui Saito Quezada

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
robertojes56@gmail.com , isalgado@unam.mx, mitsuisaito@gmail.com

RESUMEN

La pesca ha desempeñado un papel crucial en el desarrollo de las sociedades. En el contexto global actual, la seguridad alimentaria y el desarrollo sostenible son objetivos fundamentales en esta actividad. El estudio de los organismos acuáticos como recurso implica la descripción de especies, sus ciclos vitales, así como el análisis de sus dinámicas poblacionales, como crecimiento, mortalidad y reclutamiento, con el propósito de comprender los efectos de la pesca y desarrollar estrategias para su regulación y manejo. La biología pesquera ha incorporado enfoques innovadores para optimizar sus metodologías, incluyendo herramientas computacionales para el análisis y manejo de recursos pesqueros.

La gestión de grandes volúmenes de información en el análisis poblacional de especies requiere procesos ágiles y eficientes, lo que ha llevado al desarrollo de nuevas técnicas automatizadas. Un aspecto esencial en estos estudios es la determinación de la edad de los organismos acuáticos, ya que esta información es clave para evaluar la dinámica poblacional y la estructura de las especies explotables. Este proceso se basa en el análisis de marcas de crecimiento en estructuras óseas, como escamas, otolitos, opérculos y vértebras. Dichas marcas contienen información sobre las condiciones ambientales y fisiológicas del organismo, permitiendo inferir su edad y eventos clave en su desarrollo. Sin embargo, la medición manual de estas estructuras es un proceso laborioso y propenso a inconsistencias.

Con el objetivo de mejorar la identificación y cuantificación de estas marcas, este estudio desarrolló una rutina computacional para agilizar la estimación de la edad de los organismos mediante el reconocimiento de marcas de crecimiento en estructuras duras. Se modificó y automatizó la metodología descrita por Lancelotti et al. (2003) para el análisis de imágenes, utilizando valores en blanco y negro como sistema de identificación de marcas periódicas. Para ello, se empleó el programa ImageJ en la toma de datos a partir de imágenes digitales de escamas y otras estructuras óseas.

Además, se realizaron pruebas utilizando fotografías reales de escamas de *Haemulon scudderii* bajo las condiciones de ajuste de imagen propuestas por Campa (2017). Los resultados obtenidos mediante el programa permiten medir el radio total de la escama, la distancia entre cada una de las marcas observadas y la distancia entre el foco y cada marca de crecimiento, proporcionando un registro detallado de la estructura de la escama. El desarrollo de herramientas computacionales basadas en software libre representa un recurso valioso para facilitar la aplicación de modelos matemáticos complejos en diversas áreas de la biología. Estas herramientas no solo optimizan el procesamiento de datos, sino que también fomentan la innovación y el acceso a metodologías avanzadas en el análisis biológico.

Agradecimientos
Este proyecto pudo ser realizado gracias el apoyo otorgado por el Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME) con clave: PE207417 (de 2017 a 2020), PE209120 (de 2020 a 2022), PE204822 (de 2022 a 2024) y PE206724 (de 2024 a 2025).

INTRODUCCIÓN

La pesca ha sido una actividad fundamental en la relación del ser humano con su entorno, desempeñando un papel clave en el desarrollo social y el sustento de las comunidades. Los sistemas alimentarios acuáticos ofrecen múltiples beneficios ambientales, económicos y sociales, siendo una solución viable para mejorar la seguridad alimentaria y la nutrición a nivel mundial, además de contribuir a la conservación del medio ambiente (FAO, 2024). Dentro del estudio de estos recursos, la Biología Pesquera es una disciplina que no solo describe especies y sus ciclos vitales, sino que también analiza dinámicas poblacionales, crecimiento, mortalidad y reclutamiento. Su propósito es comprender los efectos de la pesca en las poblaciones y desarrollar estrategias para su regulación y manejo sostenible (Espino *et al*., 2008, citado en Gómez-Márquez *et al*, 2020). El análisis de las poblaciones pesqueras genera grandes volúmenes de datos cualitativos y cuantitativos, cuya gestión se ha facilitado con el avance tecnológico. Actualmente, el uso de herramientas digitales permite optimizar la integración y análisis de bases de datos, agilizando procesos clave dentro de los estudios biológico-pesqueros (Salgado-Ugarte, 2013; Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020).

Un aspecto esencial en estos estudios es la determinación de la edad de los organismos acuáticos, ya que esta información es clave para evaluar la dinámica poblacional y la estructura de las poblaciones de las especies explotadas (Ruiz Campos et al., 2019). La edad y el crecimiento de los organismos se analizan mediante diversos métodos, que pueden agruparse en dos grandes categorías: métodos indirectos y métodos directos. Los métodos indirectos se basan en el análisis de grupos de individuos con tamaños similares, los cuales suelen representar cohortes anuales dentro de poblaciones con reproducción estacional y entradas regulares de nuevos individuos. Al aplicar un muestreo adecuado, es posible identificar patrones de edad a partir de la distribución de tallas, formando polígonos de frecuencia de longitudes, o mejor aún, estimadores de densidad por kernel multimodales que reflejan la estructura etaria de la población (Gómez-Márquez, 2020; Salgado Ugarte y Saito-Quezada, 2020).

Por otro lado, los métodos directos se centran en la observación de marcas de crecimiento en estructuras óseas, como escamas, otolitos, opérculos y vértebras. Estas marcas contienen información sobre las condiciones ambientales y fisiológicas del organismo, permitiendo inferir su edad y eventos clave en su desarrollo (Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020). Aunque los métodos directos ofrecen mayor precisión, algunos requieren el sacrificio del organismo, lo que puede ser una limitante en ciertos casos (Ruiz-Campos *et al*., 2019).

La microscopia y el análisis de imágenes desempeñan un papel crucial en la interpretación de estas estructuras, ya que las marcas de crecimiento pueden ser difíciles de observar a simple vista. Anteriormente, la captura de imágenes para estos estudios se realizaba con películas fotográficas y laboratorios especializados, pero el desarrollo de la fotografía digital ha permitido su digitalización y análisis mediante software accesible como Adobe Photoshop, Paint de Windows o ImageJ (Campa, 2017). Sin embargo, persisten desafíos en la medición manual de estructuras óseas, ya que este proceso demanda muchas horas de trabajo y puede generar inconsistencias (Lancelotti *et al*., 2003). Aunque existen herramientas avanzadas que combinan óptica, video y software de análisis automatizado, su alto costo sigue siendo una barrera para muchos grupos de investigación y entidades educativas. Ante esta problemática, el presente trabajo reporta los resultados dentro del programa “Estudio de estructuras óseas y aspectos poblacionales y ecológicos de especies acuáticas para su evaluación y manejo de recursos” (clave de registro 2024-12/48-151), el cual busco el generar de una rutina computacional para optimizar la identificación y cuantificación de marcas de crecimiento en estructuras óseas mediante el uso de los programas R e ImageJ.

TEORÍA

Determinación de la edad

Uno de los elementos mas importantes para el estudio de la dinámica poblacional en peces, es la determinación de la edad de los individuos, como una base que permite tener conocimiento del

crecimiento, mortalidad, reclutamiento y otros parámetros poblacionales. Para lograr dicha tarea, se recurre usualmente al análisis de estructuras esqueléticas. Se han utilizado diversas estructuras, pero es común el uso de escamas (por su fácil extracción, limpieza y almacenaje) que caracterizan la piel de algunos peces; en los teleósteos consisten en una capa ósea exterior y una placa fibrilar interna constituida de fuertes láminas fibrosas apiladas. Las células formadoras de hueso se encuentran en la periferia de la escama que se desarrolla. Al irse formando la matriz ósea, las células se mueven centrífugamente, lejos del centro de la escama (Gómez-Márquez *et al*, 2020; FAO, 9175). El crecimiento de estas escamas sucede tanto en la cara interna como externa y en la mayoría de las escamas se reconoce una zona central denominada foco, que posterior a su formación en la etapa de vida temprana, se generan zonas de depósito en relación con el crecimiento y es la medida de las longitudes presentes en cada zona quienes establecen la relación edad-crecimiento.

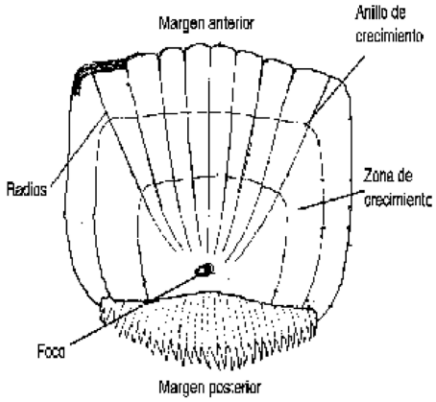


Figura 1.- esquema general de la escama ctenoidea y sus elementos estructurales

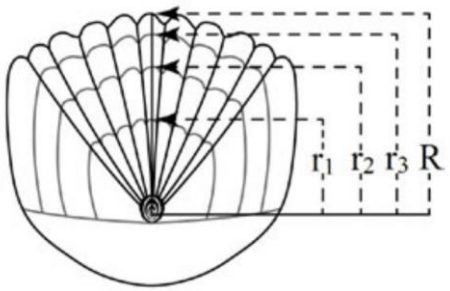


Figura 2.-Esquema con las medidas tomadas a partir del Foco de las escamas: *R*, radio de la escama; r_i radio del anillo *i* (dibujo por E.R. Zambrano modificado de Salgado-Ugarte, 1995 como se citó en Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020).

Suavización no lineal resistente

Dentro de gran parte de las técnicas de análisis de datos y de prácticamente todo procedimiento de análisis exploratorio de datos, se encuentra la búsqueda de patrones. A menudo estos patrones se encuentran obscurecidos por “ruido” en los valores considerados. Cualquier suavizador de datos descompone una secuencia de datos original en dos partes: una secuencia "estructurada" o suave, con una variación gradual y a su vez en una secuencia secundaria "ruidosa/rugosa" con mucha más variabilidad. Para representar el funcionamiento general de un suavizador se puede utilizar la siguiente expresión general (Salgado-Ugarte, 2013).

$$\boldsymbol{Datos = suaves + rugosos}$$

Es posible que la secuencia suavizada refleje patrones a gran escala que pueden entenderse en términos sencillos, sin embargo, dentro de los métodos tradicionales de suavización (con promedios móviles) que son de fácil análisis sistemático, presentan el inconveniente de que algunos patrones están constituidos tanto por altas como bajas frecuencias a la vez y no pueden seguir cambios

abruptos característicos o parte de la estructura de una secuencia. Es por esto mismo que cuando hay un caso extraordinario este contamina a todos los valores suavizados.

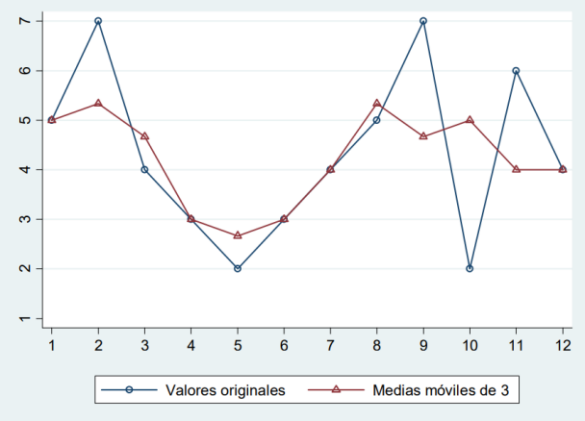


Figura 3.- Suavización por medias móviles de 3 mostrando desfasamiento de picos y valles en los datos observados tomado de Salgado-Ugarte (2013).

Es por lo anterior que la suavización por medias móviles se pueda mejorar utilizando "medianas corredizas" (resistentes a los valores extraordinarios), y combinando varios suavizadores simples con distintas amplitudes, el ajuste de valores terminales y la suavización de los valores rugosos para recuperar patrones adicionales en la secuencia de datos (Tukey, 1977; citado en Salgado-Ugarte, 2013).

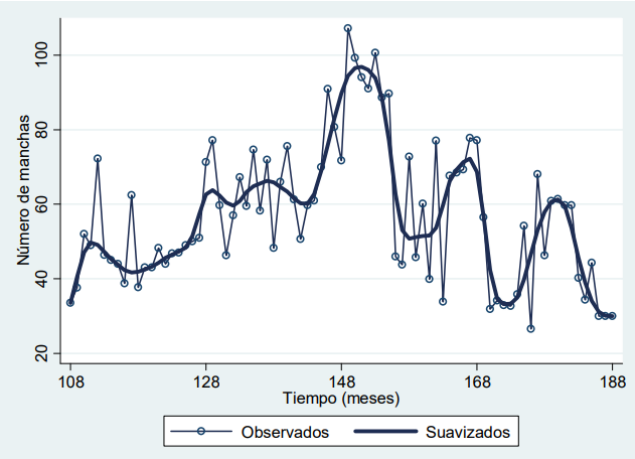


Figura 4.- Aplicación de un suavizador compuesto en datos rugosos, tomado de Salgado-Ugarte (2013).

Los suavizadores no lineales compuestos como lo es el suavizador 4253EH,doble (rutina "s4253eht.R" propuesta en Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020 en el lenguaje R; rutina "s4253eht.ado" para Stata Salgado-Ugarte, et al. 2005, basada en el trabajo de Velleman, 1980 y los algoritmos en BASIC de Velleman y Hoaglin, 1981) constituyen procedimientos importantes para el reconocimiento de patrones en datos secuenciales como los obtenidos en transectos longitudinales obtenidos en el análisis y procesamiento de imágenes. De manera general el proceso se puede describir mediante la secuencia algorítmica:

$$\boldsymbol{y^{(1)} = H(E(M3(M5(M2(M4(x))))))}$$
$$\boldsymbol{y^{(2)} = H(E(M3(M5(M2(M4(y(1)))))))}$$

Donde: M_n= Media móvil de la ventana *n*, *E*= suavizado de extremos, *H*= suavizado de Hanning, *x*= serie original, $y^{(1)}$,$y^{(2)}$= Primera y segunda suavización (respectivamente).

Mínimos locales en la secuencia de datos

De manera sintética, un mínimo local de una función es el menor valor que puede tomar una función en cierta región (así como su contraparte el valor máximo), se puede decir que se tiene un mínimo local si existe un intervalo abierto de tal forma que es derivable en un punto "c" del intervalo, dado por la expresión:

$$\boldsymbol{f'(x) = 0 \text{ y } f''(c) > 0}$$

Validación

Dentro del concepto aplicado a la metrología, según Lazos-Martínez y Hernández-Gutiérrez (2004), se considera validación al proceso de establecer las características de desempeño, así como limitaciones de un método, verificando que este método es apropiado para un propósito de solución a un problema analítico particular, a su vez se requiere de seguir una metodología consistente en el proceso que se puede resumir en un esquema sencillo:

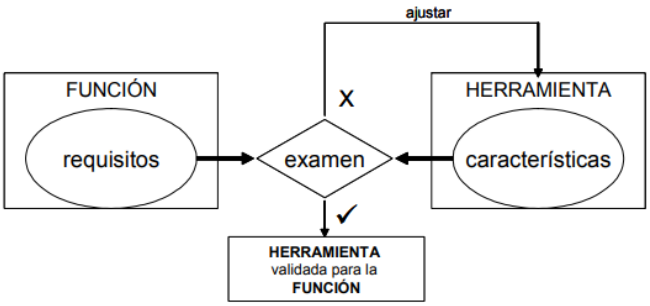


Figura 5.- Esquema del ciclo de Deming para la validación

A su vez Lazos-Martínez y Hernández-Gutiérrez (2004), proponen una metodología consistente para dicha validación; esta requiere de la toma de lecturas repetidas (al menos 4) con referencia al estado del arte en contraste al nuevo método con la finalidad de obtener valores de la diferencia entre las observaciones que serán sujetas a una prueba de *t* de Student y el MEP (máximo error permitido), el cual se usa de acuerdo con las especificaciones de un fabricante. Sin embargo, debido a la naturaleza de que se desea validar, este valor debe estar dado por criterios como los encontrados en bibliografía. Según Vítale *et al*.(2019) valores como el máximo error permitido al comparar mediciones deben encontrarse en un valor igual o mayor al 5% debido a la naturaleza manual de la labor. Sin embargo Muñoz-Muñoz y Perpiñán (2010) explican que debido a la comparativa entre un método manual y otro automatizado, los errores porcentuales deben reducirse al mínimo debido a que la variabilidad en una medición manual ya está implícita y el dejar este intervalo a un número amplio como seria el 5% o el 3% estarían interviniendo aún más factores como el error en medición manual por varios colaboradores o la diferencia en toma de medidas por la perspectiva individual. Por lo tanto, el MEP se establece en un valor igual o menor al 2%. El método de Lazos-Martínez y Hernández-Gutiérrez se ve resumido en las expresiones:

$$\boldsymbol{|X_k - X_c| \leq t_{\alpha,M-1}(S_k)}$$

$$\boldsymbol{|X_k - X_c| < MEP}$$

Donde: X_k= primer criterio de evaluación o referencia, X_c= segundo criterio a evaluar, $t_{\alpha,M-1}$ = valor de Tablas de la *t* de Student, α= nivel de significancia, M-1= grados de libertad, S_k=desviación estándar del valor de referencia y MEP= máximo error permitido

Prueba *t* pareada

Mientras un conjunto de datos cumpla un supuesto de normalidad en su distribución es posible el aplicar correctamente procedimientos como la prueba de *t* de Student, sin embargo, dado que esta mide más la diferencia entre dos grupos distintos, la prueba *t* pareada es un contraste estadístico utilizado para comparar las medias de dos grupos relacionados y no independientes, donde las observaciones están emparejadas o tienen una conexión natural, sea por propósito de diseño. Con este tipo de diseño pareado lo que se busca es dar una mayor validez a las inferencias obtenidas, controlando o eliminando la influencia de variables extrañas cuyo efecto ya es conocido o sospechado (Molinero, 2003).

$$t_c = \frac{d - u_d}{S_d / \sqrt{n}}$$

Donde: d= media de las diferencias pareadas, μ_d= media poblacional de todas las diferencias pareadas, S_d= desviación estándar, n= tamaño de las muestras pareadas

Análisis de Bland-Altman

Cuando se evalúa la medición de variables siempre se tiene un cierto grado de error implícito. Cuando se están comparando dos métodos distintos, se puede asumir que ninguno de ellos proporciona datos de manera inequívoca, por lo que una forma de evaluar dos métodos es mediante el grado de concordancia. Sin embargo, de manera común, la utilización de correlación no es una buena medida para evaluar la comparabilidad entre métodos, por lo que el método de Bland-Altman basado en la cuantificación de la concordancia entre dos mediciones cuantitativas mediante el estudio de la diferencia de medias y la construcción de límites de concordancia mediante el uso de la media y la desviación estándar de las diferencias entre dos mediciones (Giavarina, 2015).

PARTE EXPERIMENTAL

Se modificó y automatizó el enfoque propuesto por Lancelotti *et al*. (2003), para el análisis de imágenes mediante el uso de valores de blanco y negro, como sistema de identificación de las marcas periódicas, mediante el uso del programa ImageJ (Schneider, et al. 2012) para la toma de datos en imágenes digitales de escamas y otras estructuras duras.

En concordancia a esto, se programó un script en el software R que identificara la distancia entre los valores mínimos locales usados como referencia para obtener asimismo la distancia entre el foco y cada anillo como el radio de la escama.

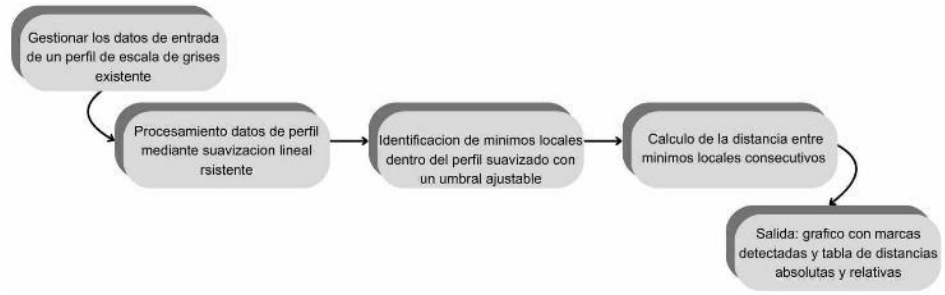


Figura 6.- Diagrama de flujo de la secuencia de programación para la rutina computarizada

Como parte de ello, las pruebas realizadas para comprobar el funcionamiento de la rutina se llevaron a cabo utilizando un diagrama de una escama “perfecta” (Figura 2) con medidas hipotéticas conocidas, así como también pruebas haciendo uso de fotografías reales de escamas del pez *Haemulon scudderii* (Figura1) bajo las condiciones de ajuste de imagen propuestas por Campa (2017) (descritas en el inciso B de la figura). El procedimiento consistió en marcar de manera manual en la imagen las zonas de referencia para las medidas del foco, margen y cada anillo que fuera posible identificar por inspección visual como se hace comúnmente (A), luego se ajustó el tipo de imagen a una de 8 bits en escala de grises, con valor máximo de blanco de 225 y de 0 en negro, a

su vez siendo necesario el no aplicar ningún tipo de filtro en la imagen debido a la necesidad de medidas precisas, así como también se ajustó la escala de referencia en la imagen (B), se traza un transecto que atraviese cada una de las zonas marcadas (C) y por ultimo usando la función “plot profile” se generó un gráfico del cual se extrae el valor de grises y la longitud en milímetros (D).

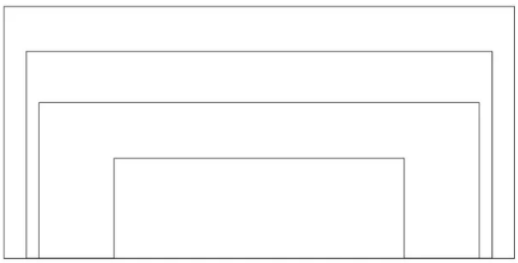


Figura 7.- Diagrama de la de la escama hipotética con medidas conocidas

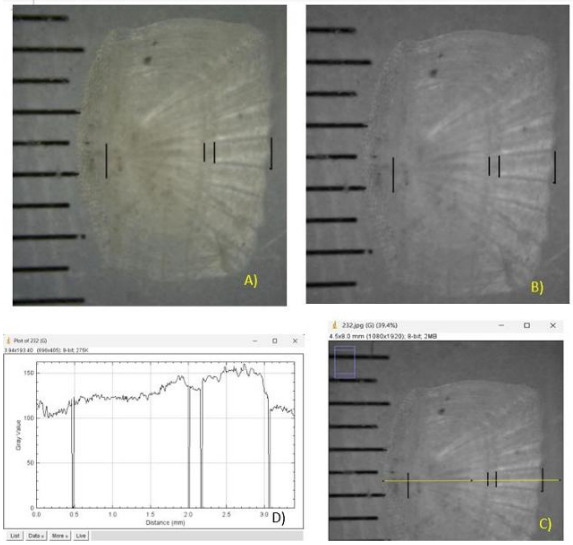


Figura 8.- Pasos de la metodología para captura de datos en secuencia ordenada

Una vez obtenidos los perfiles de valor de escala de grises tanto para los datos simulados como para las fotografías de escamas de *Haemulon scudderii* que fueron seleccionadas de manera aleatoria, se les dividió en dos grupos, uno conteniendo todas las escamas con un anillo de crecimiento y otro con aquellas que poseían 2, donde a1= anillo 1, a2=anillo 2 y mar=margen o radio, habiendo comprobado la normalidad de las muestras, se realizó el procedimiento referido por Lazos-Martínez y Hernández-Gutiérrez (2004) para validación de métodos, el cual consiste en establecer un Máximo Error Permitido (MEP), en este caso 2% considerando la bibliografía, así como una prueba *t* pareada para medir la exactitud de los resultados y el método Bland-Altman para concordancia, el error relativo y error relativo promedio como una medida secundaria para analizar posibles sobreestimaciones.

RESULTADOS

Rutina computarizada

Como primer resultado inmediato, se obtuvo la rutina computarizada designada con el nombre “sotac” producto de la secuencia de programación necesaria para cumplir con la labor de la medición por medio de datos de imagen, generando así mediante el uso del programa R, un grafico que detalla medidas relativas y absolutas de la estructura en la consola.

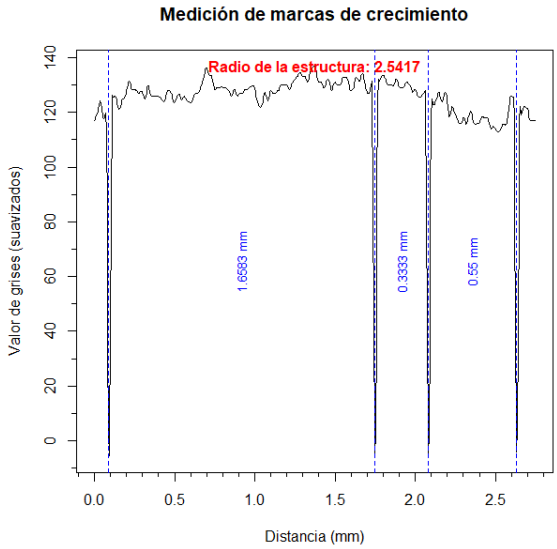


Figura 9.- Grafico de salida para la rutina computarizada para una escama de *Haemulon scudderii* con el número de identificador: 4.

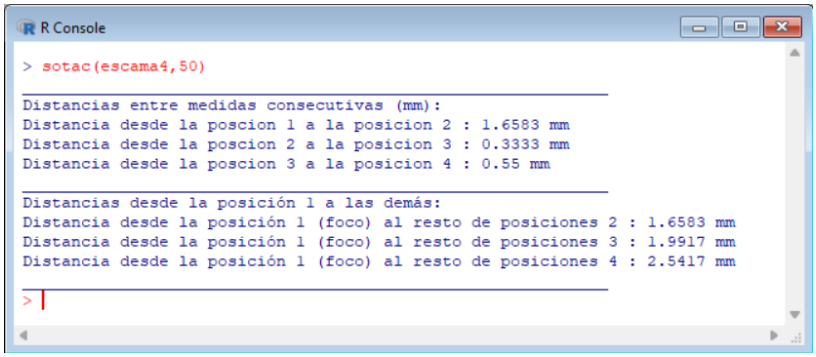


Figura 10.- resultados de la medición vistos desde la consola en R.

Un aspecto a resaltar dentro de la rutina computarizada es que, durante la codificación inicial, no se tomó en consideración el uso de suavización no lineal resistente para los datos del perfil de imagen. Sin embargo, los primeros resultados de la ejecución de la rutina computarizada “sotac” arrojaban, a priori, una visible diferencia numérica con los resultados homólogos obtenidos mediante medición manual, así como un alto nivel de “ruido” en los valores, a pesar del umbral ajustable en la función.

Fue por ello que, mediante consulta bibliográfica, se encontró que la suavización no lineal resistente —en específico, el uso de un suavizador no lineal compuesto como lo es “s4253eht.R” (Salgado-Ugarte y Saito-Quezada, 2020)— ofrece una solución completa a este problema, gracias a su capacidad de eliminar el “ruido” dentro de la secuencia sin modificarla drásticamente, al no ser sensible a los valores extremos presentes en los datos, necesarios para el correcto funcionamiento de la rutina computarizada. Siendo fundamental la adición de dicho proceso en la parte inicial de la ejecución de la rutina, para el correcto procesamiento del perfil de imagen extraído de ImageJ.

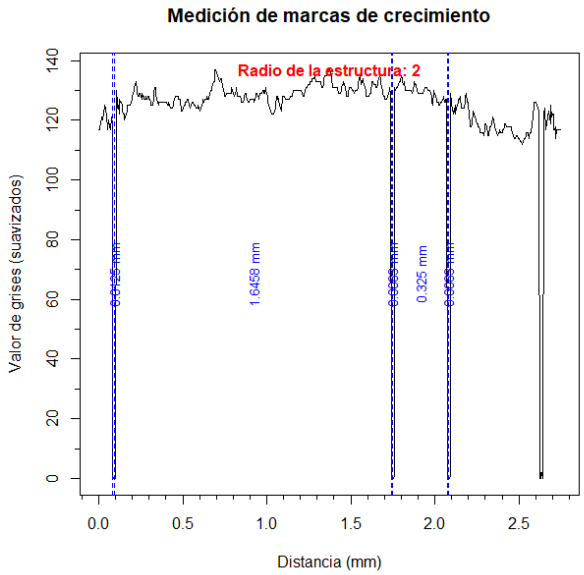


Figura 11.- Resultados gráficos de la ejecución de la rutina computarizada en una escama de *Haemulon scudderii* con el número de identificador: 4, sin la implementación del suavizador s4253eht.R (ver Figura 10 para su comparación).

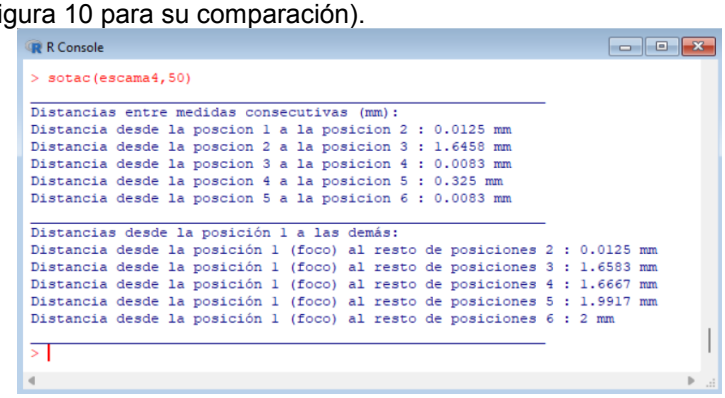


Figura 12.- Resultados de la consola para la ejecución de la rutina computarizada con el mismo valor en el umbral ajustable, sin la implementación del suavizador s4253eht.R (ver Figura 11 para su comparación).

A continuación, se incluye una versión comentada de la rutina computarizada designada con el nombre “sotac”

```
sotac <- function(a, k) {
# Extrae columnas: distancia (mm) y valores de grises (gv)
  mm <- a[, 1]
  gv <- a[, 2]
  result <- data.frame(mm = mm, gv = gv)
# Carga librería para marcas menores en la gráfica
  library(Hmisc)
# Importa función de suavización 4253EH (previamente guardada en el almacenamiento principal)
  source("c:/Rprogs/s4253eht.R")
# Aplica suavización al perfil de grises
  svg <- s4253eht(result$gv)
# Grafica el perfil suavizado
  plot(svg ~ mm, data = result, type = "l",
       xlab = "Distancia (mm)", ylab = "Valor de grises (suavizados)",
```

```
      main = "Medición de marcas de crecimiento")
  minor.tick(nx = 5, ny = 2, tick.ratio = 0.5
# Calcula la derivada discreta (cambio entre puntos consecutivos)
  n <- c(1:(length(svg) - 1))
  difvar <- svg[n + 1] - svg[n]
# Detecta mínimos locales: punto más bajo entre dos aumentos
  inmo <- rep(0, length(svg))
  inmo[n][(difvar <= 0 & difvar[n + 1] > 0)] <- 1
  min_indices <- which(inmo == 1)
  if (length(min_indices) > 0) {
# Extrae posiciones y valores de los mínimos
    min_values <- svg[min_indices]
    min_positions <- mm[min_indices]
# Filtra mínimos según umbral 'k' (este valor no debe de omitirse al momento de usar la función y
siempre debe ser 0 de manera inicial)
    if (is.na(k)) {
      valid_indices <- which(min_values <= 0)
    } else if (k > 0) {
      valid_indices <- which(min_values <= k)
    } else {
      valid_indices <- seq_along(min_values)
    }
     min_values <- min_values[valid_indices]
    min_positions <- min_positions[valid_indices]
    if (length(min_values) > 0) {
# Toma los 10 mínimos más profundos
      top_indices <- order(min_values)[1:min(10, length(min_values))]
      lowest_positions <- sort(min_positions[top_indices])
      lowest_values <- min_values[top_indices]
# Calcula distancias consecutivas entre marcas
      distances <- diff(lowest_positions)
      total_distance <- sum(distances)
# Dibuja líneas azules en los mínimos detectados
      abline(v = lowest_positions, col = "blue", lty = 2)
# Añade texto con el radio total
      mid_y <- mean(range(svg))
      text(x = mean(range(mm)), y = max(svg),
           labels = paste("Radio de la estructura:", round(total_distance, 4)),
           col = "red", cex = 1, font = 2)
# Muestra las distancias entre marcas en el gráfico
      if (length(distances) > 0) {
        for (i in 1:length(distances)) {
          mid_x <- (lowest_positions[i] + lowest_positions[i + 1]) / 2
          text(x = mid_x, y = mid_y,
               labels = paste(round(distances[i], 4), "mm"),
               col = "blue", cex = 0.8, srt = 90)
        }
      }
# Muestra en consola todas las distancias relevantes y mensajes de error según el caso
      cat("_____________________________________________________________\n")
      cat("Distancias entre medidas consecutivas (mm):\n")
      for (i in 1:length(distances)) {
        cat("Distancia desde la posición", i, "a la posición", i + 1, ":",
            round(distances[i], 4), "mm\n")
      }
```

```
    cat("_____\n")
    cat("Distancias desde la posición 1 a las demás:\n")
    for (i in 2:length(lowest_positions)) {
      cat("Distancia desde la posición 1 (foco) a la posición", i, ":",
          round(lowest_positions[i] - lowest_positions[1], 4), "mm\n")
    }
    cat("_____\n")
  } else {
    cat("No se han detectado valores mínimos inferiores o iguales al intervalo.\n")
  }
 } else {
  cat("No se detectan valores mínimos.\n")
 }
}
```

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk y pruebas de *t* pareada

Tabla 1.- resultados de la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, donde por el valor de *p* mayor a 0.05 se confirma el supuesto de normalidad en un tamaño de muestra total de 30 escamas, divididas en 16 escamas con un único anillo y 14 con dos anillos de crecimiento.

Variable	Escamas 1 Anillo (valor de *p*)	Escamas 2 Anillos (valor de *p*)	Normalidad
Anillo 1	0.167	0.959	✔
Anillo 2	-	0.794	✔
Margen/Radio	0.442	0.917	✔

Tabla 2.-Pruebas *t* pareadas, se refleja que para los datos de escamas con dos anillos de crecimiento no existen diferencias significativas, sin embargo, el valor para las escamas con un solo anillo refleja una diferencia significativa entre los grupos.

Variable	*t*-calculada	Valor de *p*
a1 (2 anillos)	-0.7652	0.4603
a2 (2 anillos)	0.3660	0.7213
mar (2 anillos)	0.1483	0.8848
a1 (1 anillo)	-2.0699	0.0561
mar (1 anillo)	-3.6758	0.0022

Método de Bland-Altman

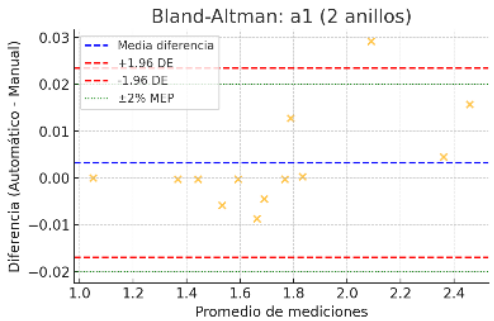


Figura 13.- Diferencias mínimas, dentro del MEP con un único valor extremo.

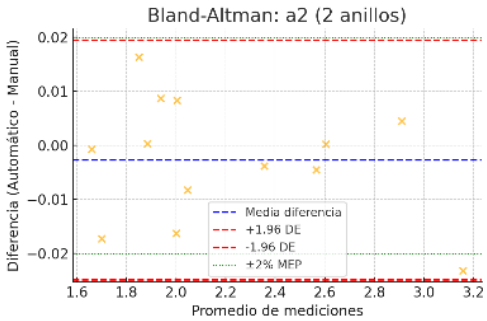


Figura 14.- Ligera dispersión de los valores, pero sin sesgo evidente.

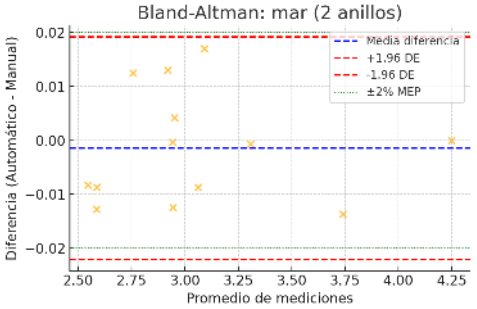


Figura 15.- Buena concordancia dentro del intervalo de DE y MEP.

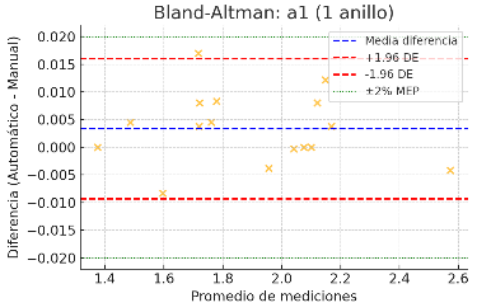


Figura 16.- Concordancia moderada, diferencias próximas al ±2%.

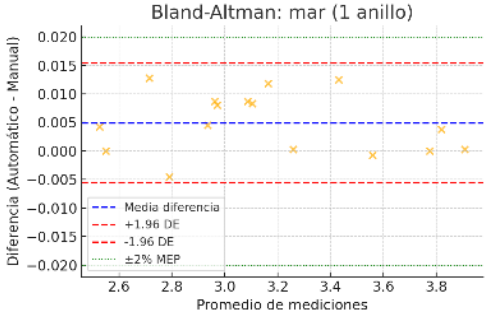


Figura 17.- Diferencias notables, pero mayor parte dentro del MEP.

Error Porcentual Absoluto Medio (MAPE) y Error Relativo Promedio (ERP)

La obtención de estas medidas de error expresa dos cosas particulares, el MAPE como un criterio de precisión numérica para las aproximaciones y el ERP como una medida que refiere a si las medidas aproximadas están siendo sub o sobre estimadas.

Tabla 3.- los datos del ERP y MAPE, explican una posible tendencia a la sub estimación de los valores por parte del método computarizado y una alta precisión pues el valor MAPE<MEP (2%).

Variable	ERP (%)	MAPE (%)
a1	0.0907	0.2981
a2	-0.0566	0.378
mar	-0.0249	0.2907

Tabla 4.- los datos del ERP y MAPE, explican una posible tendencia a la sobre estimación de los valores por parte del método computarizado y una alta precisión pues el valor MAPE<MEP (2%).

Variable	ERP (%)	MAPE (%)
a1	0.1839	0.2952
mar	0.1613	0.1839

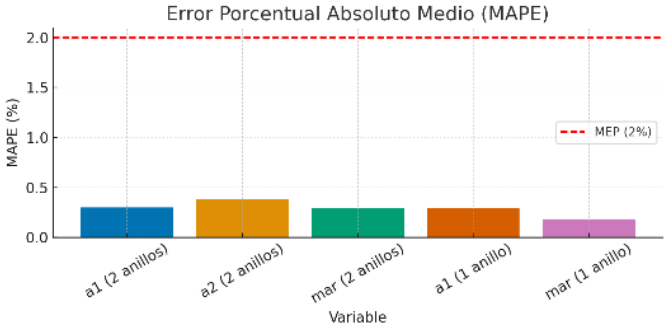


Figura 18.- Grafico del Error Porcentual Absoluto Medio (MAPE), de cada conjunto, explicando una alta precisión pues el valor es sumamente bajo y no se llega a aproximar al valor del MEP.

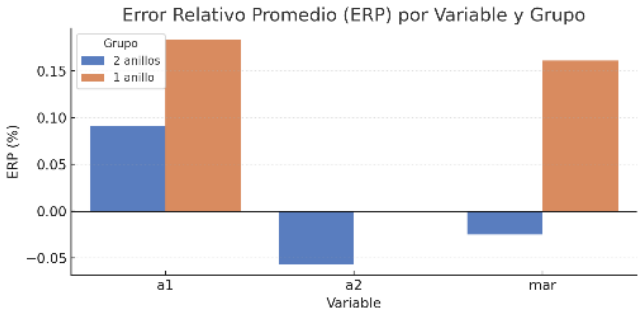


Figura 20.- Grafico del Error Relativo Promedio (ERP) marcando la tendencia de sobre y sub estimar medidas, sin embargo, hay una clara tendencia al 0 por parte de valores de escamas con dos anillos que implica subestimación, pero también buena precisión y sin sesgo relevante.

CONCLUSIONES

Tomando en consideración las observaciones numéricas, se considera que la rutina computarizada cumple efectivamente con su objetivo propuesto, sin embargo, al observarse discrepancias numéricas (el caso del valor de *p* para el margen de escamas con 1 solo anillo) a priori se pensaría que establece un punto de inflexión para decir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los datos muy marcada.

Sin embargo tal como establece en Campana (2001), el proceso de estimación de la edad de los peces incorpora dos fuentes principales de error, la primera como un proceso de error asociado con la propia estructura ya que no todas las estructuras óseas de los peces forman una secuencia de crecimiento completa a lo largo de la vida del animal, ni todos los ejes dentro de una estructura dada

muestran un registro completo de crecimiento y un error debido al elemento de subjetividad por cada lector que realiza el procedimiento.

A su vez también Muñoz-Muñoz y Perpiñán (2010), explican que una contribución significativa a la variabilidad individual de los datos esta determinada por el propio observador que realiza el método de medición, pues le da un factor de error inherente al método manual.

Es necesario recalcar también que el error medido en este proceso fue significativamente bajo y en términos generales es propio decir que la rutina computarizada tiene una alta precisión pues los valores de error nunca estuvieron siquiera cerca del MEP y la explicación del resultado de la prueba de *t* pareada, esta también influenciado por elementos que aumentan su sensibilidad por la cantidad de datos muestrales, así como también características como la dispersión de los datos y el sesgo existente en la medición por el método computarizado hace que cualquier discrepancia en la medición tenga un mayor impacto proporcional, haciendo que la diferencia entre métodos sea estadísticamente más evidente.

Por lo anterior se puede decir que en concreto la significancia estadística observada en las escamas con un solo anillo puede explicarse por la mayor susceptibilidad del método manual a la interpretación subjetiva y que esto no indica un fallo por sí mismo del método computarizado si no que explica una relación con el método convencional y su variabilidad inherente.

El uso y mejora continua de herramientas computacionales es hoy en día un recurso indispensable para fortalecer la metodología y la solidez de las investigaciones biológicas. En el ámbito biológico-pesquero, los métodos tradicionales siguen siendo relevantes, pero su aplicación suele implicar un alto consumo de tiempo y recursos. Es fundamental integrar el análisis matemático de la información morfológica de los organismos dentro de un marco tecnológico que permita manejar grandes volúmenes de datos de manera eficiente.

Esta rutina computarizada puede ser considerada como una herramienta que facilita una labor compleja de manera exitosa, sin embargo, siempre es necesario el reconocer el intrínseco mejoramiento y validación constante a las que están sujetas estas herramientas pues son elementos de mejora continua, por muy simples o complejas que se les considere.

BIBLIOGRAFÍA

1. Campa, V. M. (2017). Analisis de imagenes de microscopia con ImageJ. Createspace Independent Publishing Platform.
2. Campana, Steven. (2001). Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. Journal of Fish Biology. 59. 197 - 242. 10.1111/j.1095-8649.2001.tb00127.x.
3. FAO (2024).El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. (2024). En FAO eBooks. https://doi.org/10.4060/cd0683es
4. FAO.(1975). Manual de ciencia pesquera parte 2 - Métodos para Investigar los Recursos y su Aplicación. Roma, Italia: FAO.
5. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. Biochem Med (Zagreb). 2015;25:141-151
6. Gómez Márquez, J. L., Peña Mendoza, B., Guzmán Santiago, J. L., Salgado Ugarte, I. H., Cervantes Sandoval, A., Bautista Reyes, C., & Alejo Plata, M. del C. (2020). Determinación de la edad y crecimiento de organismos acuáticos con énfasis en peces. UNAM, FES Zaragoza. https://www.zaragoza.unam.mx/wpcontent/2023/Publicaciones/libros/cbiologia/Determinacion-dela-edad_peces.pdf
7. Lancelotti, . J., Riva Rossi, . C., Arguimbau, . M. (2003). Un método de bajo costo para el análisis automatizado de escamas. Biología Acuática, (20), 84–87. Recuperado a partir de https://revistas.unlp.edu.ar/bacuatica/article/view/6788

8. Lazos-Martínez,R.J., Hernández-Gutiérrez.I.(2004). La Validación De Métodos: Un Enfoque Práctico. Simposio de Metrología. Querétaro, Méxicco.https://www.cenam.mx/simposio2004/memorias/ta-090.pdf
9. Gilli.M., Maringer.D., Schumann.E. (2019). Numerical Methods and Optimization in Finance (Second Edition). Academic Press. ISBN 9780128150658. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815065-8.00004-2.
10. Molinero,Luis.M.(2003). Pruebas pareadas.[Documento digital]. Asociación de la sociedad Española de hipertensión, liga Española para la lucha contra la hipertensión arterial. Recuperado de:https://www.alceingenieria.net /bioestadistica/pareadas.pdf
11. Muñoz, Francesc & Perpiñán, David. (2010). Measurement Error in Morphometric Studies: Comparison between Manual and Computerized Methods. Annales Zoologici Fennici. 47. 46-56. 10.5735/086.047.0105.
12. Ruiz-Campos, Gorgonio, Arista Palacios, Violeta Belinda, & Andreu Soler, Asunción. (2019). Edad y crecimiento del pez Fundulus lima (Cyprinodontiformes: Fundulidae) en el río La Purísima, Baja California Sur, México. Revista de Biología Tropical, 67(6), 1461-1472. https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i6.36920
13. Salgado-Ugarte, I.H. (2013). Métodos Estadísticos Exploratorios y Confirmatorios para Análisis de Datos. Un Enfoque Biométrico. DGAPA y FES Zaragoza, UNAM, México: 299 p.
14. Salgado-Ugarte, I.H. y Saito-Quezada, V.M. (2020). Métodos Cuantitativos Computarizados Para Biología Pesquera. DGAPA y FES Zaragoza, UNAM, México: 487 p.
15. Salgado-Ugarte, I.H. (1992). El Análisis Exploratorio de Datos Biólogicos. Fundamentos y Aplicaciones. Libro de texto, E.N.E.P. Zaragoza U.N.A.M.y Ediciones Marc, 250 p. (14 capítulos, 2 apéndices). I.S.B.N. 968-36-2439-1.
16. Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, *9*(7), 671–675. doi:10.1038/nmeth.2089
17. Velleman P.F. y D.C. Hoaglin (1981). Application, basics and computing of exploratory data analysis. Duxbury Press, Boston: 41-63.
18. Velleman, P.F. (1980). Definition and comparison of robust nonlinear data smoothing algorithms. Journal of the American Statistical Association, 75: 609-615.
19. Vitale, F., Worsøe Clausen, L., and Ní Chonchúir, G. (Eds.) 2019. Handbook of fish age estimation protocols and validation methods. ICES Cooperative Research Report No. 346. 180 pp. http://doi.org/10.17895/ices.pub.5221

RECUPERACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE CAROTENOIDES DE MANDARINA MEDIANTE NANOMATERIALES TIPO HIDRÓXIDOS DOBLES LAMINARES

Zenaida López Téllez*, Beatriz Adriana Andrade Espinoza, Rosa María Esparza Merino, Jenny Arratia-Quijada*.

Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Tonalá, Departamento de Ciencias Biomédicas, Nuevo Perif. Ote. 555, Ejido San José, Tateposco, Tonalá, Jalisco. C.P. 45425.
*zenaida.lopez7958@alumnos.udg.mx; jenny.arratia@academicos.udg.mx

RESUMEN

Los carotenoides son pigmentos naturales con estructura C40 presentes en frutas, verduras, algas y algunos productos de origen animal. Son responsables de los colores amarillo, naranja y rojo en los alimentos, y se destacan por sus propiedades antioxidantes, así como por sus posibles efectos anticancerígenos, antiinflamatorios y antibacterianos. En la industria alimentaria, se utilizan como colorantes naturales, antioxidantes, conservadores e ingredientes funcionales. La extracción convencional de carotenoides, implica el uso de solventes orgánicos y control riguroso de condiciones para evitar la degradación de los compuestos. Aunque es eficiente, presenta riesgos ambientales y para la salud debido al uso de solventes tóxicos. Como alternativa innovadora, se propone la recuperación y estabilización de carotenoides mediante nanomateriales como los hidróxidos dobles laminares (HDL), que ofrecen mayor estabilidad, biocompatibilidad y un enfoque más sostenible. Los HDL permiten la intercalación de moléculas, aumentando la protección de los carotenoides frente a oxidación, luz y temperatura. En el presente estudio se realizó la extracción de carotenoides de mandarina mediante el método de extracción Soxhlet y la síntesis del nanocompuesto HDL-carotenoide por el método de coprecipitación. Ambos productos fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja (IR), confirmando la presencia de los grupos funcionales de los carotenoides. Los resultados demostraron que la coprecipitación es una técnica efectiva para incorporar carotenoides en nanomateriales, mejorando su estabilidad y abriendo nuevas posibilidades para su uso en alimentos funcionales, con potencial aplicación en tecnologías limpias y sustentables.

INTRODUCCIÓN

Los carotenoides, pigmentos naturales isoprenoides con una estructura C40 derivada de la unión de dos unidades de difosfato de geranilgeranil (C20), comprenden alrededor de 750 tipos, de los cuales unos 50 están presentes en la dieta humana. Estos compuestos orgánicos son responsables de los colores amarillo, naranja o rojo que se observan en diversos alimentos como frutas, verduras, algas y aceites, siendo las frutas y hortalizas sus fuentes principales, aunque también se encuentran en productos de origen animal como lácteos, huevo y ciertos pescados y mariscos (Kot, A. M. et al., 2018).

Los carotenoides son valiosos para la salud por sus propiedades antioxidantes, que contribuyen a la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y oculares, entre otras. Además, se les atribuyen efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, antialérgicos y antibacterianos (Ahmad, M. et al., 2021).

En la industria alimentaria, los carotenoides se emplean principalmente como colorantes naturales, conservadores, antioxidantes e ingredientes funcionales que aportan beneficios para la salud. Estas propiedades han impulsado su uso en una amplia gama de productos, incluyendo margarinas, quesos, bebidas, productos cárnicos, cereales, panificados, snacks y suplementos alimenticios. Su función como colorantes naturales es especialmente apreciada como una alternativa saludable a los colorantes sintéticos, cuya aceptación ha disminuido debido a preocupaciones sobre sus posibles efectos adversos en la salud (Rodríguez-Amaya, D. B., Esquivel, P., y Meléndez-Martínez, A. J., 2023).

La extracción de carotenoides en la industria alimentaria se realiza, comúnmente mediante disolventes y extracción en fase sólida, técnica que utiliza una capa absorbente para retener el analito y separar otros componentes (Kultys, E., y Kurek, M. A. 2022). La eficacia del método depende de las características de la muestra, siendo la extracción con disolventes la más habitual para carotenoides presentes en verduras. Tras la extracción, es fundamental un manejo cuidadoso del extracto para preservar la calidad y eficiencia de los compuestos. La degradación de los carotenoides se debe principalmente a reacciones de oxidación, ya sean no enzimáticas o mediadas por enzimas como las lipoxigenasas, y se acelera por factores como la temperatura, la presencia de metales, la luz y las enzimas, especialmente durante el proceso de secado de frutas y verduras (Viñas-Ospino, A. et al., 2023).

Para optimizar la extracción de carotenoides y evitar su degradación, se han investigado alternativas innovadoras para mejorar su estabilidad e incluso potenciar sus propiedades, destacando las herramientas nanotecnológicas como los hidróxidos dobles laminares (HDL).

Los HDL son materiales inorgánicos con una estructura en capas formadas por hidróxidos metálicos de cationes divalentes y trivalentes unidos por fuerzas de Van der Waals, lo que permite la intercalación de diversas moléculas. Estos materiales presentan estabilidad en medios acuosos, capacidad de intercambio aniónico y biocompatibilidad. La versatilidad estructural y química de las láminas que componen los HDL permite su uso en diversas formas: polvo, granular, disperso en un sólido o en un medio líquido (Reguig, M. et al., 2023).

La siguiente tabla compara la extracción convencional de carotenoides con el uso de HDL:

Método de extracción	Ventajas	Desventajas	Referencias
Convencional	-Alta eficiencia de extracción: el uso de solventes permite obtener altos rendimientos de carotenoides. -Flexibilidad: aplicable a una amplia variedad de materias primas y carotenoides (frutas, verduras, algas, hongos).	-Uso de solventes tóxicos en grandes cantidades, con riesgos para la salud y el medio ambiente, y exigencias de alta seguridad en su manejo. -Requerimientos de eliminación del solvente del extracto final, con costos y complicaciones adicionales. -Control estricto de las condiciones del proceso (secado de muestras, control de temperatura y ebullición del solvente). -Necesidad de minimizar la exposición a luz y oxígeno durante la extracción, eliminación del solvente y almacenamiento para preservar la calidad.	Otála-Orrego, D., Y G, D. a. M 2020

HDL	-Estables en condiciones variadas. -Alta capacidad de intercambio iónico para la adsorción efectiva de compuestos orgánicos. -Biocompatibles: perfil de seguridad favorable en comparación con solventes orgánicos, lo que los hace compatibles con enfoques sostenibles y ecológicos. -Menores costos de material en comparación con el empleo de solventes.	-Posibles interacciones con otros componentes de la mezcla que podrían interferir con la capacidad de adsorción.	Kumari, S. et al., 2023

Este trabajo propone investigar la inmovilización de betacarotenos de fuentes naturales en nanomateriales como HDL, con el fin de mejorar su estabilidad y efectividad, contribuyendo a la sostenibilidad en ciencias de los alimentos y la salud.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción Soxhlet

La mandarina adquirida en el mercado local se lavó y desinfectó para después quitar la cáscara, se separaron cada uno de los gajos de los cuales se obtuvieron las vesículas para someterse a secado en un horno de convección forzada (BINDER, MODELO ED53-UL) a 45 ºC durante 72 h. La muestra seca se trituró en un mortero y se pesaron 10 g, que se colocaron en un papel filtro de porosidad media dentro de la cámara Soxhlet.

Se utilizó una mezcla de 80 ml de cloroformo-metanol (Golden Bell) en proporción 2:1 de solvente, vertiéndose en un matraz florencia para realizar el proceso de extracción durante 6-8 h.

Posteriormente, el solvente se eliminó utilizando un rotavapor (IKA, MODELO C-MAG). El matraz que contenía la muestra se cubrió con papel aluminio para protegerlo de la luz directa, y el baño de agua del rotavapor se ajustó a 40°C a 90 rpm. La destilación finalizó cuando no se observó más condensación de vapores en el colector. Los carotenoides obtenidos se protegieron de la luz y la humedad y se almacenaron en frasco ámbar dentro de un desecador (figura 1).

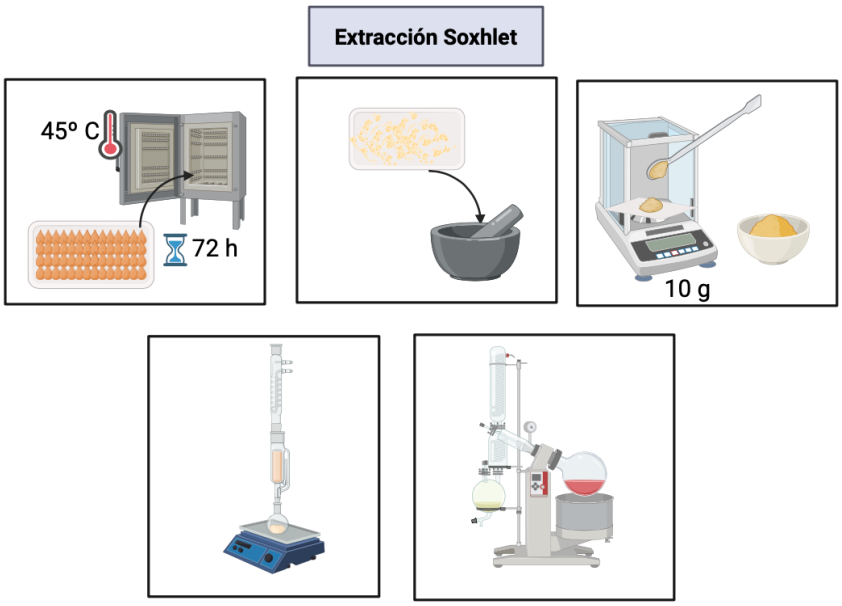


Figura 1. Procedimiento gráfico de la Extracción Soxhlet. Creado con Biorender.com

Extracción HDL-carotenoide

La extracción del carotenoide con el nanomaterial HDL se realizó mediante la técnica de coprecipitación. Para ello se disolvieron 0.5 g de Mg $(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (Sigma-Aldrich) y 0.3 g de $AlN_3O_9 \cdot 9H_2O$ (Golden Bell) en 50 mL de jugo de mandarina. Se ajustó el pH de la solución a 8 goteando NaOH al 1 M, manteniendo en agitación por 24 h a temperatura ambiente. Luego se centrifugó para obtener el precipitado, éste se lavó cuatro veces, se congeló a -70°C durante 24 h y finalmente se liofilizó durante 24 h.

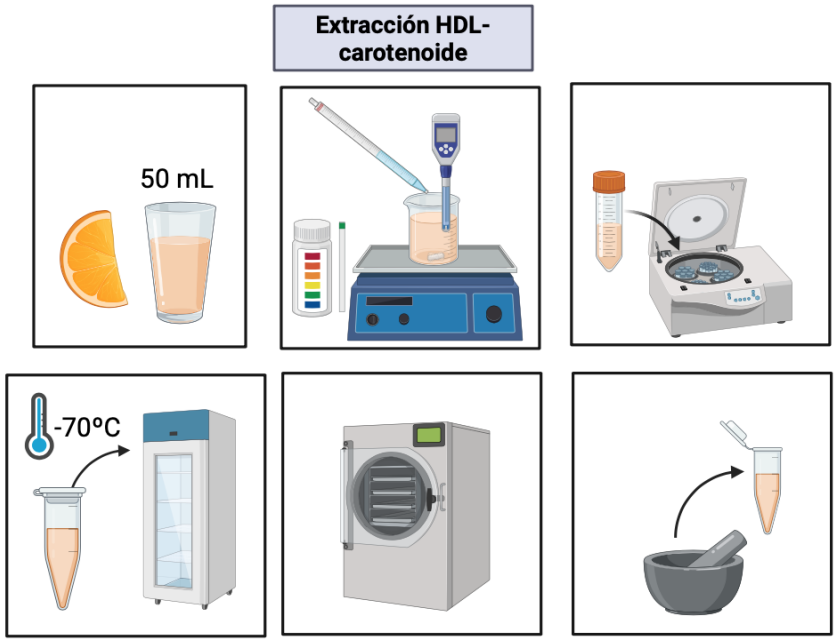


Figura 2. Procedimiento gráfico de la Extracción HDL-carotenoide. Creado con Biorender.com

Caracterización

La caracterización del carotenoide extraído mediante el método Soxhlet, así como del obtenido mediante el sistema HDL, se realizó mediante espectroscopía infrarroja (IR) utilizando un equipo Bruker, modelo ALPHA, en un rango espectral de 450 a 4000 cm^{-1}.

RESULTADOS

La obtención de carotenoides mediante el método Soxhlet resultó ser un proceso más prolongado en comparación con el procedimiento de síntesis del HDL-carotenoide. En términos de rendimiento, se obtuvieron 0.4838 g de carotenoides a partir de 10 g de muestra en la extracción Soxhlet, mientras que para el nanocompuesto HDL-carotenoide se obtuvo un rendimiento de 0.0315 g. El extracto Soxhlet presenta una tonalidad amarilla-anaranjada característica de los carotenoides en solución, mientras que el producto sólido obtenido por coprecipitación con HDL muestra una coloración intensa y homogénea, lo que sugiere una mayor estabilidad del pigmento frente a procesos de oxidación y degradación, observados como cambios de color (Figura 3).



Figura 3. Comparación visual entre el extracto carotenoide obtenido mediante el método Soxhlet (izquierda) y el nanocompuesto HDL-carotenoide (derecha).

El análisis por IR del nanocompuesto HDL-carotenoide y los carotenoides extraídos por Soxhlet, reveló la presencia de señales significativas en el espectro, confirmando la presencia del carotenoide en ambas muestras.

El espectro IR indica la presencia del carotenoide en las partículas de HDL (figura 4). Se observan las señales típicas de los HDL, una banda ancha alrededor de 3200 a 3700 cm^{-1} que corresponde al estiramiento de los enlaces O-H en las capas hidroxiladas, la banda a 1361 cm^{-1} se asigna a la vibración asimétrica del nitrato en los HDL, el estiramiento metal-oxígeno (M-O) (v(MO6)) por debajo de 600 cm^{-1}, que se asigna a las vibraciones al Mg-O y Al-O, y la rotación de las moléculas de agua entre capas en 1639 cm^{-1}. Además, las señales del carotenoide (identificadas en las áreas discontinuas) aparecen en 2998 y 2850 cm^{-1}, correspondiente a C-H sp^2 y C-H sp^3 respectivamente. Las bandas de C=C aparecen en 1730 cm^{-1} y 1516 cm^{-1}; asimismo, aparece una banda intensa cercana a 1010 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones del estiramiento de los enlace C-C, C-O y O-C-H de carotenoides, que se observó en el carotenoide libre y en el HDL-carotenoide. Este análisis coincide con lo reportado por Gutiérrez Galán et al. (2021), donde se identificaron señales características del HDL, como las bandas correspondientes al estiramiento O–H, a las vibraciones asimétricas de nitrato y los enlaces M–O, así como las bandas atribuibles a los carotenoides, incluyendo los estiramientos C–H sp^2 y C-H sp^3, las vibraciones del doble enlace C=C, y las señales asociadas a enlaces C–C, C–O y al grupo O–C–H, todas ellas en rangos de vibración similares a los observados.

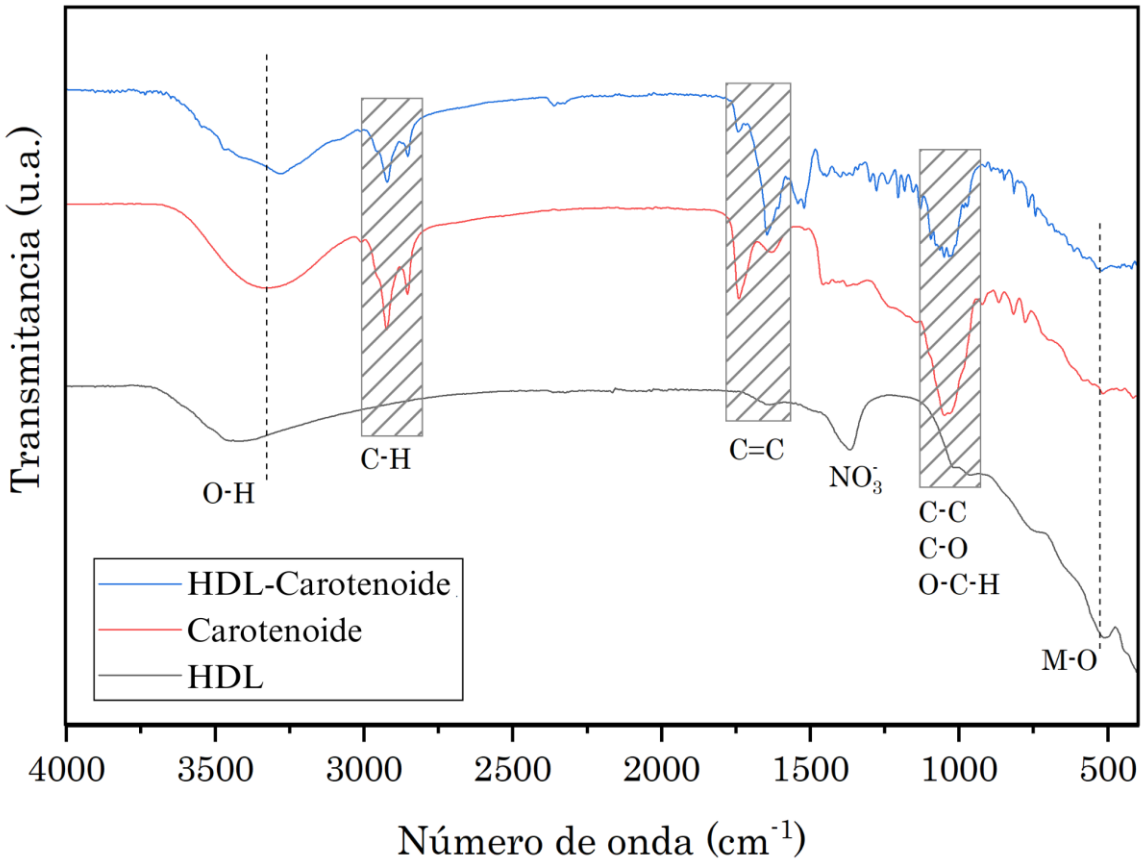


Figura 4. Espectros infrarrojo de los carotenoides extraídos por el método Soxhlet y sistema HDL. Los análisis se realizaron con un espectrofotómetro Bruker, modelo ALPHA, en un rango espectral de 450 a 4000 cm^{-1}. Se señalan bandas características correspondientes a los grupos funcionales presentes en cada muestra.

CONCLUSIONES

El método de coprecipitación permitió la extracción eficiente del nanocompuesto a partir de los precursores seleccionados. La incorporación de los carotenoides en el nanomaterial se confirmó mediante la identificación de grupos funcionales en la estructura molecular por la técnica de infrarrojo. La comparación con el espectro de HDL vacío, utilizado como referencia, confirma que las señales observadas corresponden a la incorporación exitosa de los carotenoides en el sistema HDL. Estos resultados destacan la eficiencia del método de coprecipitación, con lo cual se presume la mejora de la estabilidad y conservación de las propiedades de los carotenoides. El sistema HDL representa una alternativa ambientalmente amigable, ya que permite prescindir del uso de solventes orgánicos, resaltando su potencial aplicación en la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kot, A. M., Błażejak, S., Gientka, I., Kieliszek, M., y Bryś, J. (2018). Torulene and torularhodin: "new" fungal carotenoids for industry?. Microbial Cell Factories, 17(1), 49. https://doi.org/10.1186/s12934-018-0893-z
2. Ahmad, M., Aslam, S. Rohi, M. y Yaqoob, S. (2021). Effect of Processing on Foods Containing Carotenoids. Zia-Ul-Haq, M., Dewanjee, S., y Riaz, M. (Eds.) Carotenoids: structure and function in the human body. 16 (209-216). In Springer eBooks. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46459-2

3. Rodríguez-Amaya, D. B., Esquivel, P., y Meléndez-Martínez, A. J. (2023). Actualización completa sobre los colorantes carotenoides de las plantas y microalgas: desafíos y avances de los laboratorios de investigación a la industria. Alimentos (Basilea, Suiza), 12(22), 4080. https://doi.org/10.3390/foods12224080
4. Kultys, E., y Kurek, M. A. (2022). Green Extraction of Carotenoids from Fruit and Vegetable Byproducts: A review. Molecules, 27(2), 518. https://www.mdpi.com/1420-3049/27/2/518
5. Viñas-Ospino, A., López-Malo, D., Esteve, M. J., Frígola, A., y Blesa, J. (2023). Green solvents: Emerging alternatives for carotenoid extraction from fruit and vegetable by-products. *Foods*, *12*(4), 863. https://doi.org/10.3390/foods12040863
6. Reguig, M., Bettahar, N., Belkhadem, F., y de Ménorval, L. C. (2023). Synthesis and characterization by co-precipitation under an inert atmosphere of lamellar Fe/Al double hydroxides and comparison with samples co-precipitated under an ambient atmosphere. Journal of Solid State Chemistry, 317, 123665. https://doi.org/10.1016/j.jssc.2022.123665
7. Otála-Orrego, D., Y G, D. a. M (2020). Técnicas emergentes de extracción de β-caroteno para la valorización de subproductos agroindustriales de la zanahoria (Daucus carota L.): una revisión. Informador Técnico, 85(1), 83-106. http://doi.org/10.23850/22565035.2857
8. Kumari, S., Sharma, V., Soni, S., Sharma, A., Thakur, A., Kumar, S., ... & Bhatia, S. K. (2023). Layered double hydroxides and their tailored hybrids/composites: Progressive trends for delivery of natural/synthetic-drug/cosmetic biomolecules. Environmental Research, 238, 117171. https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117171
9. Gutiérrez Galán, D.K., Pacheco-Moisés, F.P., Silva Bezerra, F. et al. Nanopartículas de hidróxido doble en capas recubiertas de licopeno hidrofílico para mejorar la actividad antioxidante y la evaluación del estrés oxidativo. Appl Nanosci 11, 2747–2758 (2021). https://doi.org/10.1007/s13204-021-02205-8

OPTIMIZACIÓN DEL CONTEO Y DETERMINACIÓN DE VIABILIDAD CELULAR EN ENSAYOS *IN VITRO* DESPUÉS DE EXPOSICIÓN A RADIACIÓN IONIZANTE

Fatima Castañeda Ortiz[1], Consuelo Letechipía De León[1], Ethel Velásquez Opazo[2]

[1]Universidad Autónoma de Zacatecas, [2]Comisión Chilena de Energía Nuclear.
34152256@uaz.edu.mx

RESUMEN

Las radiaciones ionizantes son una herramienta importante para el diagnóstico y tratamiento de muchas enfermedades. Tanto como un resultado deseado, como en una respuesta indeseada, a nivel tisular y celular el daño por radiación en general se manifiesta por indicadores biológicos como daño al ADN y muerte celular. La cuantificación precisa de la viabilidad celular es fundamental en la investigación biomédica, no sólo para la preparación de materiales y modelos de estudio sino que también para la evaluación de respuestas celulares *in vitro* frente a distintos tratamientos o condiciones. Particularmente, en la investigación orientada a la aplicación de las radiaciones ionizantes como herramienta terapéutica para el cáncer, la muerte celular es una respuesta de gran interés y con frecuencia se define como primer parámetro a estudiar. La tinción con azul de tripán es ampliamente utilizada para el conteo celular, como una técnica económica que permite discriminar células viables de las no viables; Sin embargo, el conteo manual con uso de cámaras de Neubauer, presenta limitaciones asociadas a la subjetividad del observador, dificultad para trabajar con muestras con alta densidad celular y al tiempo requerido para su ejecución. La automatización de la evaluación de viabilidad celular mejora la precisión y reproducibilidad, sin embargo es necesario adaptar protocolos específicos según el modelo biológico de interés. En este estudio, se analizaron los parámetros de la metodología para la determinación de conteo y viabilidad celular mediante un equipo LUNA-II Automated Cell Counter, que utiliza un sistema basado en imágenes y un algoritmo avanzado de conteo, con el fin de establecer un protocolo optimizado para ensayos *in vitro* con una línea celular humana de cáncer de ovario. A partir de cultivos adherentes de la línea celular HEY se realizaron mediciones en células irradiadas con una fuente de Cobalto-60 utilizando un irradiador Gamma Cell 220R en dosis de 0 a 2 Gy. Transcurridas 24 horas post-irradiación, se prepararon suspensiones celulares con azul de tripán al 0.4 %, que fueron analizadas con el equipo LUNA-II utilizando dos protocolos de análisis (A y B) que consideraron variables como: forma, tamaño celular, reducción de ruido y sensibilidad, entre otras. Con ambos protocolos se supervisa que células expuestas a dosis de 0.25 a 2 Gy de radiación gamma no presentan una reducción significativa de la viabilidad respecto de la condición control, lo que evidencia la radioresistencia de las células HEY en este rango de exposición. El protocolo A registró mayor respuesta a las variables analizadas, considerándolas para el proceso de optimización del método. Por otra parte, la automatización permitió reducir significativamente el tiempo de análisis y variabilidad, aumentando la precisión y eficiencia, entre otras variables. Con este protocolo optimizado será posible estimar el daño celular (muerte) como una respuesta biológica a la exposición de radiación ionizante en ensayos *in vitro* con una línea celular humana de cáncer de ovario, permitiendo una mejor selección de las condiciones experimentales a evaluar y contribuyendo a la generación del conocimiento en las aplicaciones de la medicina nuclear.

INTRODUCCIÓN

La radiación ionizante ha revolucionado el abordaje médico de diversas patologías, desempeñando un papel fundamental tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de enfermedades. En el ámbito diagnóstico, técnicas avanzadas como la tomografía computarizada y la medicina nuclear permiten obtener imágenes de alta resolución que facilitan la detección precoz de anomalías. En el ámbito terapéutico, la radioterapia se ha consolidado como un recurso esencial en el manejo de neoplasias, al emplear radiación de manera precisa y controlada para eliminar células tumorales. El mecanismo de acción de la radiación ionizante se fundamenta en su capacidad para inducir alteraciones estructurales y funcionales en el ADN, desencadenando una serie de respuestas celulares. Tras la exposición, se activan mecanismos que incluyen la detención del ciclo celular, la reparación del daño

genético y, en casos de daño irreparable, la activación de mecanismos que conducen a la muerte celular. Estos procesos son especialmente relevantes en la radioterapia, donde el objetivo principal es erradicar células tumorales minimizando el daño a tejidos sanos circundantes. La eficacia del tratamiento depende, entre otros factores, de la sensibilidad de las células objetivo, de la dosis administrada, del tipo de radiación utilizada y de su distribución [1].

En el ámbito de la investigación biomédica, resulta indispensable contar con metodologías que permitan medir de forma precisa y reproducible el efecto de diferentes tipos de radiación a nivel celular. En este sentido, la viabilidad celular se ha consolidado como uno de los parámetros más representativos para evaluar la respuesta biológica ante la exposición a agentes externos, como la radiación ionizante. Su análisis no solo permite cuantificar la magnitud del daño inducido, sino también aportar indicios sobre los mecanismos que regulan la recuperación, adaptación o muerte celular. Este tipo de evaluación resulta fundamental tanto para validar protocolos terapéuticos como para el diseño de modelos *in vitro* que simulan condiciones clínicas o experimentales, contribuyendo al avance de terapias más dirigidas y eficaces. Por otra parte, la elección de métodos adecuados para determinar la viabilidad celular adquiere especial relevancia cuando se trabaja con líneas celulares específicas, ya que distintos tipos celulares pueden responder de manera variable a los mismos estímulos. Por ello, establecer protocolos robustos y adaptados al modelo biológico en estudio se vuelve un paso crucial para asegurar resultados reproducibles y extrapolables a contextos más amplios [2].

Históricamente, la tinción con azul de tripán ha sido una técnica ampliamente utilizada para determinar la viabilidad celular, tanto en investigación básica como en aplicaciones clínicas. Su principio se basa en la exclusión del colorante por parte de células con membranas plasmáticas íntegras: mientras las células viables excluyen el azul de tripán y permanecen incoloras, las células dañadas o muertas lo absorben y se tiñen intensamente de azul. Esta distinción visual ha permitido a investigadores y clínicos evaluar de forma directa la proporción de células vivas frente a las no viables en una muestra determinada [3]. A pesar de su utilidad, esta técnica tradicional presenta limitaciones importantes cuando se aplica en contextos que requieren alta precisión, rapidez o estandarización. El uso de cámaras de Neubauer y microscopía óptica para realizar el conteo celular manual implica una carga operativa elevada, además de introducir variabilidad significativa por la subjetividad del observador, especialmente cuando se trabaja con muestras de alta densidad o con células de morfología irregular. Esta variabilidad puede comprometer la reproducibilidad de los datos y dificultar la comparación entre réplicas o experimentos independientes. Por ello, en años recientes se ha extendido la incorporación de tecnologías automatizadas que permitan reducir estos márgenes de error y mejorar la eficiencia analítica en laboratorios de investigación y diagnóstico [4]. En este contexto, el desarrollo e incorporación de herramientas automatizadas ha representado un avance significativo en los métodos de análisis celular, al superar muchas de las limitaciones inherentes al conteo manual. Equipos como el contador celular LUNA-II han demostrado ser una alternativa eficaz, al combinar sistemas de adquisición de imágenes con algoritmos de procesamiento avanzados para la evaluación de parámetros como el tamaño, la forma y la integridad celular. A través de la tinción con azul de tripán, este sistema permite distinguir de forma automática células viables y no viables, proporcionando resultados en tiempo real con alta reproducibilidad y reduciendo considerablemente la intervención del operador y el sesgo subjetivo asociado a técnicas tradicionales [5].

No obstante, a pesar de sus múltiples ventajas, la implementación de un sistema automatizado requiere una calibración cuidadosa y la adaptación de los parámetros de análisis a las características específicas de cada tipo celular. Factores como el tamaño, la morfología o la formación de agregados celulares pueden influir en la precisión del conteo, por lo que es fundamental establecer protocolos optimizados para cada modelo biológico utilizado. La literatura ha documentado que incluso entre distintos equipos automatizados pueden existir discrepancias en los resultados, lo que resalta la importancia de validar y ajustar los métodos en función de las necesidades experimentales y del tipo de célula en estudio [5].

El presente estudio se orienta a la optimización de un protocolo automatizado para la evaluación de la viabilidad celular con azul de tripán, aplicado a una línea celular humana de cáncer de ovario (HEY), expuesta a radiación ionizante. Se empleó como principal modalidad de exposición una fuente convencional de rayos gamma proveniente de Cobalto-60 (irradiador GammaCell 220R), ampliamente utilizada en radiobiología experimental por su estabilidad y capacidad de entregar dosis controladas y homogéneas. De manera complementaria, y con el objetivo de explorar la aplicabilidad del protocolo automatizado de análisis, se utilizó una fuente de rayos X que genera pulsos ultracortos de energía [6]. Esta exposición adicional se consideró únicamente como verificación puntual del desempeño del análisis automatizado bajo un esquema de irradiación de características físicas distintas. De este modo, el trabajo no solo busca estandarizar un método confiable de análisis automatizado, sino también fortalecer el entendimiento sobre cómo diferentes tipos de radiación pueden afectar la viabilidad celular. Estos hallazgos tienen implicaciones relevantes para el diseño de protocolos experimentales más precisos en investigación preclínica y contribuyen a la consolidación de nuevas estrategias en el campo de la radiobiología y la medicina nuclear, donde la adaptación metodológica y la caracterización del tipo celular son fundamentales para la mejora de los resultados [7].

PARTE EXPERIMENTAL

A continuación, se describen los procedimientos experimentales utilizados en este estudio, los cuales se resumen de forma esquemática al final de esta sección (Figura 1). Este diagrama permite visualizar de manera global las distintas etapas que conforman el protocolo, desde el mantenimiento celular hasta el análisis de viabilidad.

Cultivo celular

Se empleó la línea celular humana HEY derivada de cáncer de ovario, en modelo bidimensional utilizando placas de cultivo en condiciones estándar con medio DMEM/F12 suplementado con suero fetal bovino al 10% y antibióticos (penicilina 100 unidades/mL, estreptomicina 100 µg/mL). Los cultivos se mantuvieron en incubadora humidificada a 37°C con atmósfera controlada de 5% de CO_2. Previo a cada experimento, las células fueron sembradas a una densidad aproximada de 250,000 células/placa (tipo petri, 35 mm), asegurando una adherencia mínima de 24 horas antes de la irradiación. Dos horas antes de la exposición, se realizó un cambio completo de medio, el cual se mantuvo sin alteraciones durante todo el experimento. Posteriormente se capturaron imágenes con microscopio invertido ZEISS AxioObserver 7 para documentar la morfología basal y el estado general de los cultivos.

Irradiación

Las células fueron transportadas al servicio de irradiación, siempre acompañadas de su correspondiente control negativo (no irradiado). La exposición se realizó mediante un irradiador GammaCell 220R con fuente de Cobalto-60, aplicando dosis de 0 a 2 Gy. Después de la irradiación, las placas se devolvieron a la incubadora para continuar el cultivo bajo condiciones estándar. Se realizó un seguimiento mediante registro fotográfico a los 30 minutos, 24 y 48 horas post-irradiación.

Evaluación de viabilidad celular

Finalizado el tiempo de incubación, las células fueron recolectadas mediante disociación con una enzima recombinante comercial apta para células de mamífero adherentes y se prepararon suspensiones celulares teñidas con azul de tripán al 0.4 %. El análisis de viabilidad se realizó utilizando el contador automático LUNA-II, el cual combina captura de imágenes y procesamiento algorítmico para distinguir entre células viables que excluyen el colorante (tinción negativa) y células no viables (tinción positiva). Se evaluaron dos protocolos de análisis (A y B), modificando parámetros como tamaño celular, forma, sensibilidad y reducción de ruido, con el fin de establecer un método optimizado acorde a las características morfológicas de la línea HEY. Para cada condición experimental se realizaron análisis por triplicado, y se seleccionaron las condiciones con mayor capacidad de discriminación y menor variabilidad.

Análisis complementario de morfología

Como control cruzado del análisis automatizado, se obtuvieron imágenes mediante microscopía de fluorescencia en cultivos HEY, a fin de estimar el grado de confluencia y verificar morfología general posterior a la irradiación. La adquisición de imágenes en célula fresca se realizó con el software ZEN Blue 3.0. Estas imágenes sirvieron como apoyo visual para validar los resultados obtenidos mediante el LUNA-II, particularmente en condiciones experimentales donde se observaron cambios evidentes en la viabilidad celular.

Validación del protocolo con distinta fuente de irradiación

Con el fin de comprobar la aplicabilidad del protocolo seleccionado a otro tipo de exposición, de manera complementaria se expusieron cultivos de células a una fuente experimental de rayos X que genera pulsos ultracortos de energía, con una tasa equivalente de dosis de 10^5 Gy/s. Esta condición fue utilizada de forma puntual para verificar la consistencia del método automatizado previamente optimizado. Las condiciones de análisis y evaluación de viabilidad fueron las mismas que las aplicadas en la exposición a radiación gamma.



Figura 1. Resumen gráfico del flujo metodológico seguido con el estudio.

RESULTADOS

La evaluación de viabilidad celular mediante el sistema LUNA-II proporciona imágenes que permiten observar de forma clara la segmentación entre células viables y no viables en cultivos adherentes de la línea HEY expuestos a radiación gamma. Esto facilita la validación visual de los parámetros seleccionados para el protocolo automatizado (Figura 2).

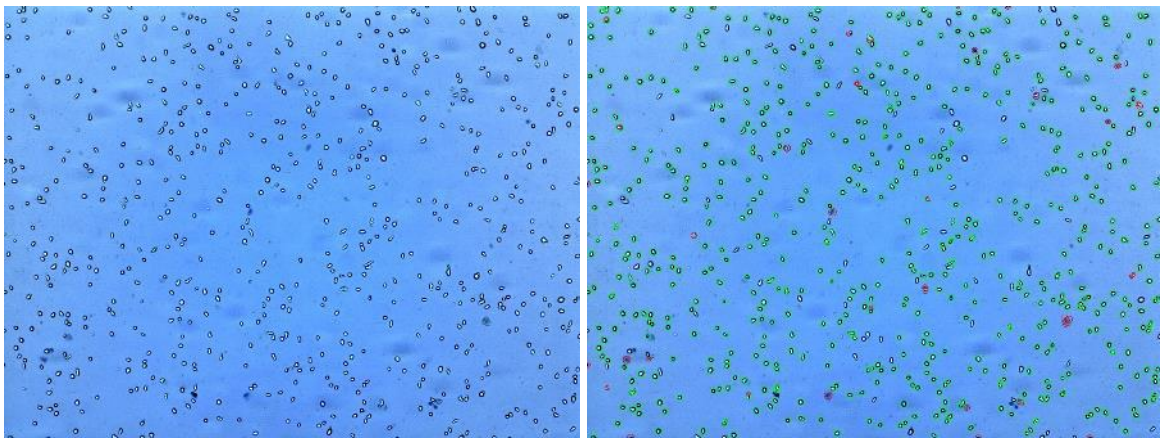


Figura 2. Segmentación automática de células HEY con el sistema LUNA-II después de irradiación con 2 Gy de radiación gamma (48 horas post-exposición). Se observan imágenes de referencia generadas en reporte del software, presentando el campo analizado (panel izquierdo) sobre el cual se determinan células viables y no viables identificadas mediante marcaje diferencial por color (panel derecho). Células viables en verde, células no viables en rojo.

Se probaron distintos protocolos del software LUNA-II para optimizar la cuantificación. El protocolo final A fue seleccionado como método definitivo para los experimentos por su capacidad para discriminar de forma eficiente entre células vivas y muertas, reduciendo la variabilidad y mejorando la certeza en la cuantificación de viabilidad celular tras la irradiación aún en condiciones de alta densidad celular (Figura 3).

• Cell count results	• Protocol
Total cell concentration: 3.09 x 10^6 cells/mL	Protocol name: HEY rev
Live cell concentration: 2.90 x 10^6 cells/mL	Dilution factor: 2
Dead cell concentration: 1.91 x 10^5 cells/mL	Min. cell size: 4 µm
Viability: 93.8 %	Max. cell size: 24 µm
Average cell size: 16.7 µm	Size gating: 4 – 24 µm
Total cell number: 646	Noise reduction: 5
Live cell number: 606	Live cell sensitivity: 2
Dead cell number: 40	Roundness: 62 %
	Declustering level: High
	Focusing method: Autofocus
	Staining option: With TB
	Counting option: Auto exposure(0x02C7)

Figura 3. Conteo automatizado de viabilidad celular en células HEY irradiadas con 2 Gy de radiación gamma (Co-60), analizadas a las 48 horas post-irradiación. Se utilizó el protocolo A previamente optimizado, mostrando una adecuada discriminación entre células viables y no viables mediante tinción con azul de tripán y análisis por el sistema LUNA-II.

Como parte del reporte automatizado, se analizó la distribución del tamaño celular en función de la concentración, diferenciando entre células viables y no viables. En las muestras irradiadas con 2 Gy de radiación gamma, se observó que las células viables presentaron un rango de tamaño más homogéneo (entre 12 y 25 µm), mientras que las células no viables se concentraron en el rango inferior del histograma, no detectándose eventos con tamaño superior a 20 µm (Figura 4). Esta segmentación contribuye a confirmar la precisión del protocolo en la discriminación de poblaciones celulares según su integridad y morfología.

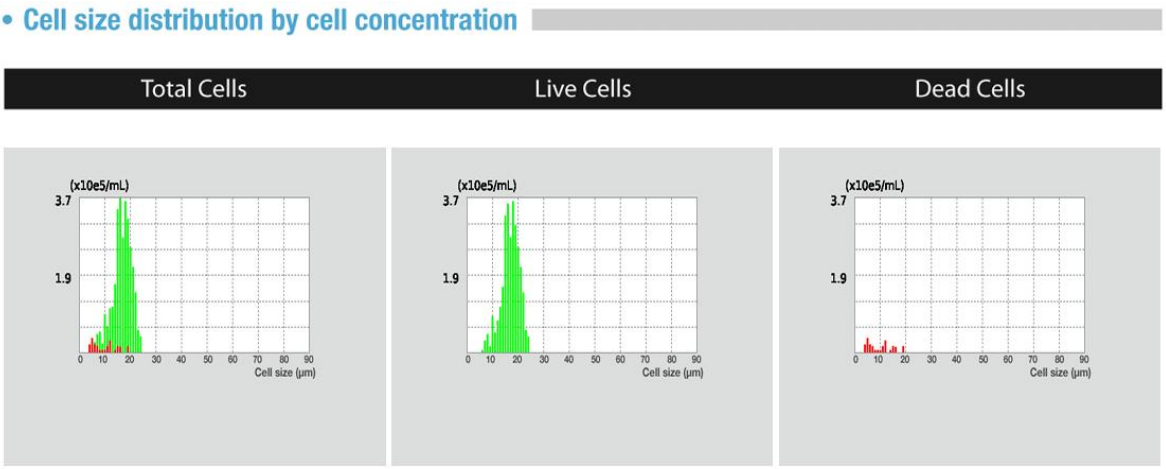


Figura 4. Distribución del tamaño celular por concentración obtenida con el sistema LUNA-II tras irradiación con 2 Gy de Co-60. Se muestran los histogramas correspondientes al total de células (izquierda), células viables (centro) y células no viables (derecha) en reporte generado por el software.

Se realizó adicionalmente una inspección por microscopía de fluorescencia, utilizando canales de contraste de fases y GFP, con el fin de estimar la confluencia celular. Esta observación permitió confirmar la presencia de una monocapa densa y morfología conservada, con escasa presencia de células no adheridas, lo cual respalda la coherencia entre los resultados obtenidos por el conteo automatizado y la observación directa de los cultivos celulares (Figura 5).

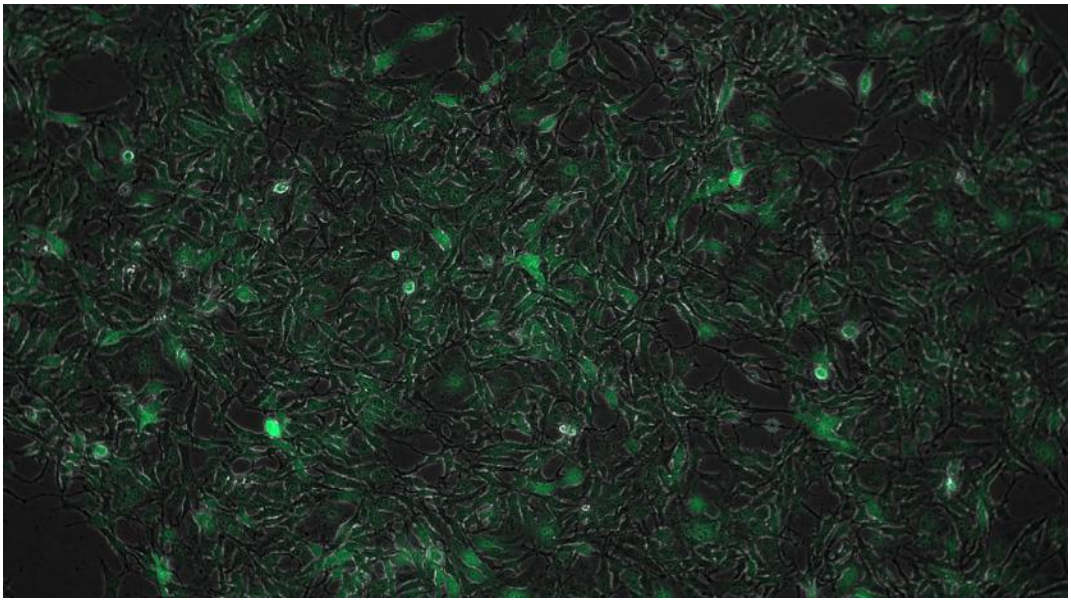


Figura 5. Células HEY irradiadas con 2 Gy de radiación gamma (Co-60), observadas a 48 horas post-irradiación. Imagen compuesta obtenida por microscopía de fluorescencia (canales: contraste de fases y GFP), utilizada para verificar la confluencia y morfología celular asociadas a viabilidad de las células en condiciones adherentes. Magnificación 100X.

Al utilizar el protocolo de análisis seleccionado para evaluar la viabilidad en células HEY expuestas a radiación con fuente pulsada, el análisis automatizado permitió identificar adecuadamente una población relevante de células no viables (Figura 6). Estos resultados demuestran que los

parámetros seleccionados para el conteo y discriminación celular son aplicables incluso bajo condiciones de exposición distintas a las utilizadas en la etapa de optimización (Figura 7).

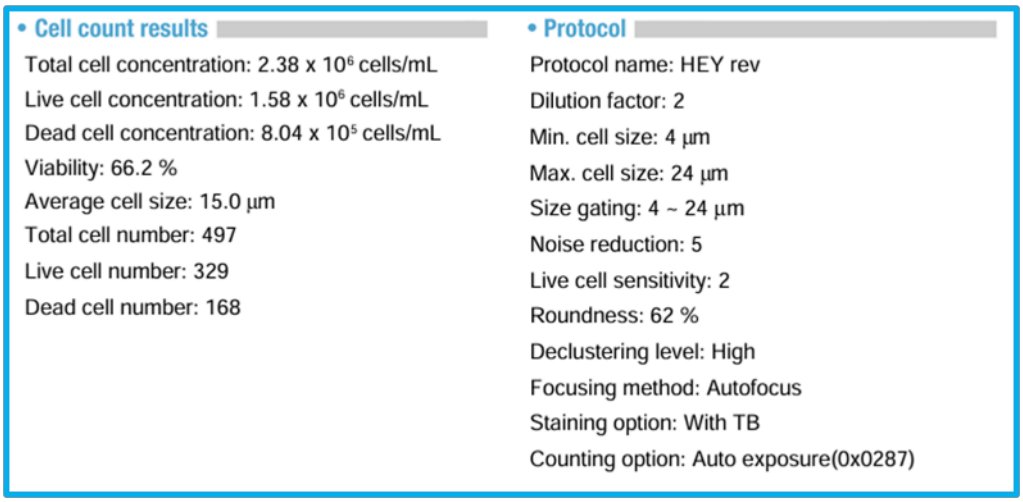


Figura 6. Conteo automatizado de viabilidad celular en células HEY irradiadas con 0.8 Gy a partir de una fuente pulsada, analizadas a las 48 horas post-irradiación.

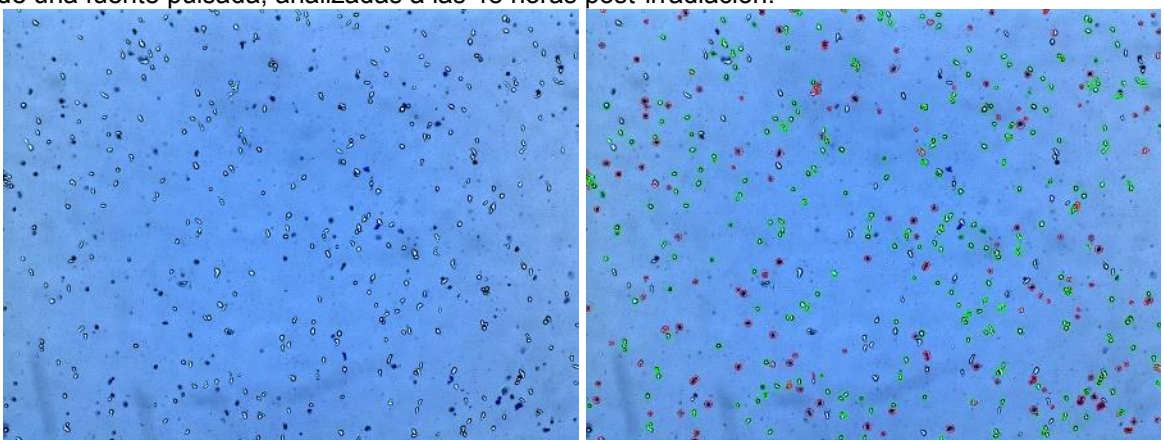


Figura 7. Segmentación automática de células HEY con el sistema LUNA-II después de exposición con fuente pulsada (0.8 Gy), 48 horas post-exposición. Se muestran imágenes de referencia generadas en reporte del software, donde se presenta el campo analizado (panel izquierdo) sobre el cual se determinan células viables y no viables identificadas mediante marcaje diferencial por color (panel derecho). Células viables en verde, células no viables en rojo.

En concordancia, la observación de las células expuestas a fuente pulsada permitió confirmar cambios morfológicos relevantes y una disminución de la densidad celular, proporcionando un respaldo cualitativo a la lectura del análisis automatizado (Figura 8).

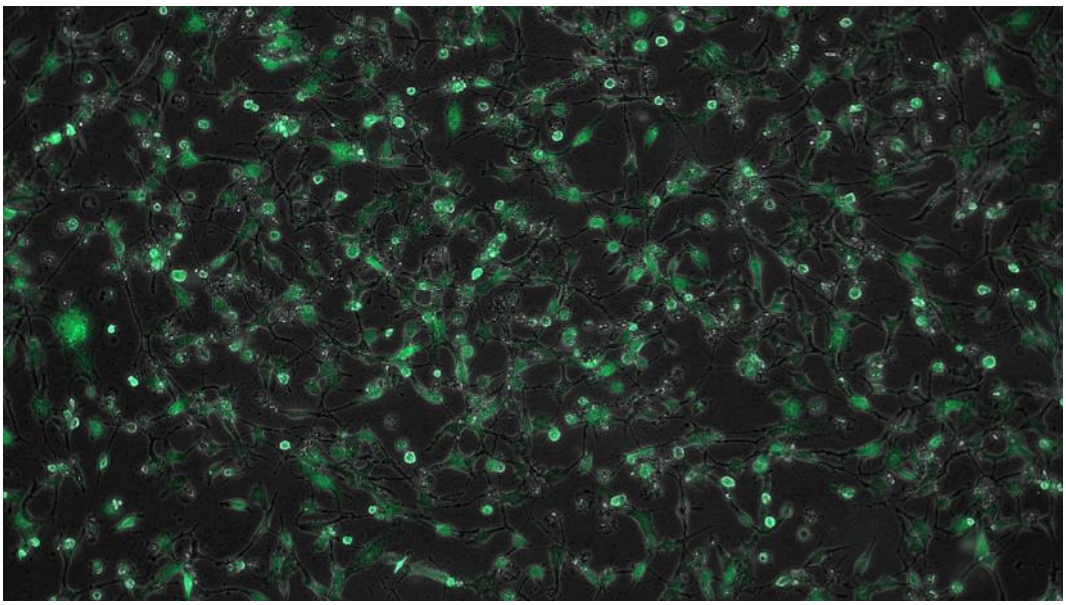


Figura 8. Células HEY irradiadas con fuente experimental (0.8 Gy), observadas a 48 horas post-irradiación. La imagen revela inferior confluencia, cambios morfológicos y heterogeneidad en la adherencia celular. Imagen compuesta obtenida por microscopía de fluorescencia (canales: contraste de fases y GFP). Magnificación 100X.

CONCLUSIONES

El presente estudio permitió establecer un protocolo optimizado para la evaluación automatizada de viabilidad celular en la línea celular HEY, utilizando como marcador azul de tripán (una tinción de bajo costo y uso común en laboratorios de investigación) y el equipo LUNA-II Automated Cell Counter como herramienta de análisis. La metodología desarrollada mostró ser reproducible, disminuyendo significativamente los sesgos asociados al conteo manual, mejorando la precisión en condiciones de alta densidad celular, también reduciendo el tiempo de análisis.

El protocolo A registró mejor respuesta a las variables analizadas, mostrando la correcta detección de células viables y no viables por lo que fue seleccionado para su optimización. Además, su aplicación permitió evaluar la viabilidad celular de cultivos tratados con radiación gamma (Co-60). Con este protocolo optimizado será posible estimar el daño celular (muerte) como una respuesta biológica a la exposición de radiación ionizante en ensayos *in vitro* con una línea celular humana de cáncer de ovario, permitiendo una mejor selección de las condiciones experimentales a evaluar y contribuyendo a la generación del conocimiento en radiobiología y ciencias biomédicas.

Financiamiento
CONAHCYT Número de Apoyo 4036525.
Beca de movilidad COZCyT.
Beca de movilidad UAZ.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hall EJ, Giaccia AJ. Radiobiology for the Radiologist. 8th ed. Wolters Kluwer; 2019.
2. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, et al. Cell Viability Assays. In: Assay Guidance Manual [Internet]. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2016.
3. Strober W. Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. Curr Protoc Immunol. 2015;111:A3.B.1–A3.B.3. https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111

4. Louis KS, Siegel AC. Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods. In: Methods in Molecular Biology, vol. 740. Humana Press; 2011. p. 7–12.
5. Boltz T, Reineke A, Kwok K, et al. Automated Cell Counting: Comparison of Trypan Blue Exclusion and Fluorescent Dyes Using the LUNA-II and Cellometer Auto 2000. BioTechniques. 2019;67(3):114–120. https://doi.org/10.2144/btn-2019-0054
6. Joiner M, van der Kogel A. Basic Clinical Radiobiology. 5th ed. CRC Press; 2018.
7. Soto L, Silva P, Moreno J, et al. Plasma focus devices as pulsed radiation sources for biomedical applications. Applied Radiation and Isotopes. 2010;68(1):84–87. https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2009.05.014

AUTOMATIZACIÓN DE UN HUMEDAL CONSTRUIDO A ESCALA DE LABORATORIO

Irasema Leticia Islas García, Linda Lucía Fragoso Contreras, Gustavo Montiel Canales

[1]Instituto Politécnico Nacional, CECyT No.16 “Hidalgo”
lislasg@ipn.mx

RESUMEN

La creciente problemática de la escasez de agua en México afecta a todas las regiones del país. En el estado de Hidalgo, específicamente en Pachuca de Soto, se sufren las consecuencias de una mala distribución, captación, aprovechamiento y tratamiento del agua. Por lo cual este trabajo ofrece una propuesta de solución a los problemas mencionados, optando por evaluar la eficiencia de los humedales artificiales, proponiendo su automatización, debido a que una limitante de estos sistemas es el espacio requerido para su implementación, además del flujo constante de agua dentro del humedal.

Para tal efecto se construyeron dos humedales horizontales de flujo subsuperficial, distribuidos en dos celdas conectadas en paralelo a un contenedor principal, desembocando en un segundo contenedor. Como sustrato se empleó piedra volcánica fina, y la vegetación fue *Phragmites australis*. Se adaptó una válvula con actuador por solenoide para alimentar a los humedales con agua de la red la cual suministra a un contenedor de llenado para evitar daños en sustratos y vegetación, el llenado es independiente a las demás funciones del humedal. El sistema de automatización contempla el TRH, por lo que se implementó una serie de tuberías con dos válvulas solenoides, que conducen al contenedor de salida. Todo el sistema está provisto de sensores de nivel para el llenado adecuado.

La programación y ejecución del sistema se realizó con openPLC, programa con el que se puede editar, compilar y simular la lógica de escalera, comúnmente usada para la programación de Control Lógico Programable (PLC), posteriormente conectó un Arduino nano, sobre una tarjeta PLC control shield con seis entradas optoacopladas y ocho salidas a relevador. Para el análisis del proceso de tratamiento se empleó agua sintética con la composición estándar del agua residual doméstica, la cual se caracterizó teniendo en cuenta la dureza total, cianuros totales, cloruros, alcalinidad, carbono inorgánico total, en cumplimiento de la NOM-003-SEMARNAT-1997, resultando que la prueba de cloruros exceden el límite máximo permisible de la NOM-127-SSA1-2021, que establece la calidad de agua para uso y consumo humano, por lo que durante el proceso de tratamiento se deberá prestar especial atención a este parámetro, así como orientar el uso del agua tratada. Además se realizaron pruebas bacteriológicas como huevos de helminto y coliformes fecales. La vegetación se aclimató durante 2 meses evaluando crecimiento, brotes, color de tallo y hojas, así como administración de nutrientes. A la fecha del desarrollo de este trabajo no se han encontrado reportes de automatización de humedales construidos por lo que se puede comparar con sistemas para riego automático los cuales emplean PLC y la lógica en escalera, reduciendo la necesidad de monitoreo humano y evitando el gasto excesivo de agua, ya que una gran ventaja es que impide la inundación o desecación de los humedales, por lo que se mantiene un flujo de agua constante, vital para el desarrollo de la vegetación. Un indicativo de la respuesta del humedal fueron los bacilos Gram positivos, los cuales pertenecen al género *Clostridium*, correspondientes a la rizosfera de plantas hidrófitas pertenecientes a humedales naturales. Por lo anterior la materia orgánica agregada al agua residual beneficia el desarrollo de la vegetación dentro del humedal.

INTRODUCCIÓN

La escasez de agua es uno de los principales desafíos ambientales en México. De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2021), diversas regiones del país enfrentan un estrés hídrico considerable, atribuible tanto a factores climáticos como a una deficiente gestión del recurso. El municipio de Pachuca de Soto, en el estado de Hidalgo, ejemplifica esta problemática: en esta

localidad convergen una mala distribución del agua, limitada captación pluvial, escaso aprovechamiento de recursos disponibles y un tratamiento insuficiente de aguas residuales.
En este contexto, se desarrolla una propuesta basada en la implementación de humedales artificiales automatizados como alternativa sostenible para el tratamiento de aguas residuales. El objetivo es mejorar la eficiencia operativa de estos sistemas mediante el uso de tecnologías accesibles y adaptables a entornos urbanos.

TEORÍA

Los humedales naturales son ecosistemas clave para el equilibrio ecológico del planeta. Actúan como filtros biológicos que purifican el agua, controlan inundaciones, recargan acuíferos y albergan una enorme biodiversidad. Según la Convención de Ramsar (2024), aunque cubren solo alrededor del 6% de la superficie terrestre, los humedales sustentan aproximadamente al 40% de todas las especies animales y vegetales del mundo. Su capacidad para absorber nutrientes, metales pesados y contaminantes orgánicos convierte a estos ecosistemas en barreras naturales contra la contaminación.

Además de su función ecológica, los humedales cumplen un papel vital en la adaptación al cambio climático. Funcionan como sumideros de carbono, almacenando hasta 30% del carbono terrestre global en sus suelos, particularmente en humedales como turberas y manglares (Mitsch y Gosselink, 2015). Sin embargo, el desarrollo urbano descontrolado, la expansión agrícola y la contaminación han provocado la pérdida de más del 35% de estos ecosistemas a nivel mundial desde 1970 (WWF, 2020).

Frente a esta pérdida acelerada, la creación de humedales artificiales se presenta como una estrategia sustentable y replicable para restaurar funciones ecológicas perdidas y atender problemáticas urgentes como el tratamiento de aguas residuales. Los humedales artificiales imitan los procesos físicos, químicos y biológicos de los sistemas naturales, ofreciendo soluciones de bajo costo, baja energía y alto impacto para la depuración de aguas contaminadas (Vymazal, 2011). Su diseño puede adaptarse a contextos urbanos y rurales, contribuyendo a mejorar la calidad del agua, promover la biodiversidad local y fomentar la educación ambiental.

Replicar humedales naturales no solo es una respuesta técnica eficaz, sino también una medida ética para restaurar el equilibrio ambiental y garantizar el acceso al agua limpia, especialmente en zonas afectadas por la escasez hídrica. Es en este sentido que los humedales construidos han demostrado ser efectivos en la depuración de aguas contaminadas, ya que reproducen procesos naturales de filtración, sedimentación, adsorción y actividad biológica (Kadlec y Wallace, 2009; Vymazal, 2011). Sin embargo, su aplicación se ve limitada por requerimientos de espacio, la necesidad de un flujo constante y el monitoreo continuo de sus condiciones operativas. La automatización se presenta como una solución viable que permite controlar variables clave como el caudal, nivel de agua, tiempo de retención hidráulica (TRH) y frecuencia de riego, mejorando así la eficiencia sin aumentar significativamente la carga operativa.

Por otra parte, un sistema de riego automatizado es una tecnología diseñada para distribuir agua de manera eficiente a plantas o cultivos sin necesidad de intervención humana constante. Estos sistemas utilizan controladores electrónicos, sensores de humedad, válvulas solenoides y temporizadores que permiten activar o detener el flujo de agua según condiciones preestablecidas. En su forma más avanzada, incluyen controladores programables (PLC), conexión a redes inalámbricas y aplicaciones móviles que permiten supervisión y ajustes remotos (Allen y col., 2020). El principio fundamental de estos sistemas es optimizar el uso del agua mediante un suministro preciso y en el momento adecuado, reduciendo pérdidas por evaporación, escurrimiento o sobre-riego. Esto no solo mejora la eficiencia hídrica, sino que también favorece el crecimiento saludable de las plantas y reduce el esfuerzo operativo en entornos agrícolas, urbanos y domésticos.

La lógica de funcionamiento de un sistema de riego automatizado resulta altamente compatible con la operación de humedales artificiales. En particular, la necesidad de mantener un flujo constante

de agua, controlar el nivel del líquido, evitar periodos de desecación o sobrecarga hídrica, y asegurar el tiempo de retención hidráulica (TRH), son parámetros que pueden ser gestionados eficientemente mediante los mismos principios de automatización.

Al adaptar componentes como sensores de nivel, válvulas de control y sistemas programables como PLCs o microcontroladores, por ejemplo: Arduino o Raspberry Pi, es posible diseñar humedales artificiales más eficientes, autónomos y con menor demanda de supervisión humana. Esto resulta especialmente valioso en contextos de tratamiento de aguas residuales, donde un manejo adecuado del flujo mejora significativamente los procesos de sedimentación, filtración y degradación biológica (Tilley y col., 2014).

Así, la automatización inspirada en los sistemas de riego no solo mejora la funcionalidad de los humedales artificiales, sino que amplía sus posibilidades de implementación en zonas urbanas, rurales o de difícil acceso, donde la disponibilidad de personal técnico es limitada.

PARTE EXPERIMENTAL

Basándose en la NOM-003-SEMARNAT-1997 y la NOM-127-SSA1-2021, se elaboró una lista de los contaminantes domésticos más comunes, y siguiendo con el nivel máximo permisible se generó una composición de agua residual sintética. Lo anterior con la intención de garantizar una variedad amplia de contaminantes, la posibilidad de replicar la composición del agua residual y de generar una idea clara de los resultados a esperar. Los contaminantes físicos, químicos y microbiológicos se identificaron mediante distintos métodos.

Durante el desarrollo del prototipo se trabajó con dos especies de plantas, la *Typha latifolia*, comúnmente conocida como tule y la *Bambusa vulgaris*, también llamada bambú dorado. La *Typha* fue seleccionada por ser una planta nativa de la región, presente en el humedal natural sitio RAMSAR de Tecocomulco, Hidalgo. Posterior a la aclimatación de la vegetación la planta que mostró una mejor adaptación a las condiciones de trabajo fue *Bambusa vulgaris* al ser una planta común y sencilla de adquirir que ya ha sido empleada para el tratamiento del agua (Singh y col., 2020).

Materiales y métodos

Acetato de cadmio hidratado, ≥99.99% metales traza, Merck
Grava
Piedra volcánica
Arcilla
Caldo nutritivo BD Bioxon
Tuberías de PVC ½ pulg
Válvulas 1 pulg
Arduino NANO
Arduino UNO
Potenciómetro
Espectrofotómetro UV-Vis, VELAB, VE-5100UV 190-1000 nm

Sistema automático de caudal

Para el desarrollo del sistema automático, se construyeron dos humedales horizontales de flujo subsuperficial, los cuales fueron distribuidos en dos celdas conectados en paralelo a un contenedor principal (C1), desembocando en un segundo contenedor (C4). Dentro de los humedales se colocó como sustrato tezontle fino rojo y negro, y la especie elegida para tratamiento fue *Bambusa vulgaris.* Debido a las condiciones del área de trabajo se adaptó una válvula con actuador por solenoide para alimentar a los humedales con agua de la red, la cual es primeramente trasladada al contenedor C1 debido a que la presión del agua es demasiado alta. Por lo cual, si los humedales se conectan directamente se ocasionan daños en el sustrato y en las plantas. El llenado de C1 es independiente a las demás funciones del humedal.

Para comenzar a establecer las condiciones bajo las que las válvulas abren y cierran, se debe determinar los distintos estados que tienen nuestros componentes físicos y digitales, de modo que se obtenga un correcto funcionamiento (Tabla 1).

Tabla 1. Características del medio para humedales artificiales de flujo superficial

Sensor	1	Cuando está lleno
	0	Cuando está vacío

Siguiendo estas condiciones la válvula 1 enciende si el sensor de Llenado 1 (SLL1) detecta un nivel bajo y se mantiene durante 4 segundos adicionales, con este tiempo se reducen las fluctuaciones en el nivel del agua (Tabla 2).

Tabla 2. Funcionamiento válvula 1

Válvula 1 V1	SLL1 = 0 (Nivel bajo)	Enciende V1, para llenar contenedor 1
	SLL1 = 1 (Nivel alto)	Apaga V1, porque el contenedor 1 se encuentra lleno

Posteriormente, al llenarse C1, se encuentran colocadas dos válvulas V2 y V3, que conducen al contenedor 2 (C2) y contenedor 3 (C3) respectivamente, C2 es él humedal de referencia, mientras que C3 es el humedal de tratamiento, tanto en C2 como en C3 se colocaron sensores de llenado (SLL2 y SLL3) y vaciado (SV2 y SV3). Además se agregó una bomba sumergible de agua que se activa junto con los sensores SLL2 y SLL3.
La válvula 2 enciende si el sensor de llenado 2 (SLL2) detecta un nivel bajo de agua, el sensor de llenado 1 (SLL1) detecta un nivel alto de agua en C1 y si el tiempo de retención hidráulica (T24H) ya ha transcurrido (Tabla 3).

Tabla 3. Funcionamiento válvula 2.

SLL1	SLL2	T24H	V2
0(Nivel bajo)	0(Nivel bajo)	0(Tiempo agotado)	0 (Apagado)
0(Nivel bajo)	0(Nivel bajo)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)
0(Nivel bajo)	1(Nivel alto)	0(Tiempo agotado)	0 (Apagado)
0(Nivel bajo)	1(Nivel alto)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)
1(Nivel alto)	0(Nivel bajo)	0(Tiempo agotado)	1(Encendido)
1(Nivel alto)	0(Nivel bajo)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)
1(Nivel alto)	1(Nivel alto)	0(Tiempo agotado)	0 (Apagado)
1(Nivel alto)	1(Nivel alto)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)

La válvula 3 enciende si el sensor de llenado 3 (SLL3) detecta un nivel bajo de agua, el sensor de llenado 1 (SLL1) detecta un nivel alto de agua en C1 y si el tiempo de retención hidráulica (T24H) ya ha transcurrido por lo que su funcionamiento es completamente análogo a la válvula 1.

Pasado el tiempo de retención hidráulica calculado para el humedal, el agua debe retirarse de los contenedores 2 y 3, por lo que se implementó una serie de tuberías en las que se encuentran dos válvulas solenoides, que conducen al contenedor 4.
La válvula 4 enciende si el sensor de vaciado 2 (SV2) detecta un nivel alto de agua, el sensor de llenado 4 (SLL4) detecta un nivel bajo de agua en C4 y si el tiempo de retención hidráulica (T24H) ya ha transcurrido (Tabla 4).

Tabla 4. Funcionamiento válvula 4.

SV2	SLL4	T24H	V4
0(Nivel bajo)	0(Nivel bajo)	0(Tiempo agotado)	0 (Apagado)
0(Nivel bajo)	0(Nivel bajo)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)
0(Nivel bajo)	1(Nivel alto)	0(Tiempo agotado)	0 (Apagado)
0(Nivel bajo)	1(Nivel alto)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)
1(Nivel alto)	0(Nivel bajo)	0(Tiempo agotado)	1(Encendido)
1(Nivel alto)	0(Nivel bajo)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)
1(Nivel alto)	1(Nivel alto)	0(Tiempo agotado)	0 (Apagado)
1(Nivel alto)	1(Nivel alto)	1(Tiempo en curso)	0 (Apagado)

La válvula 5 enciende si el sensor de vaciado 3 (SV3) detecta un nivel alto de agua, el sensor de llenado 4 (SLL4) detecta un nivel bajo de agua en C4 y si el tiempo de retención hidráulica (T24H) ya ha transcurrido, debido a lo cual el funcionamiento de la válvula 5 es equivalente al de la válvula 4, como se muestra en la Figura 1 correspondiente al diagrama general del sistema.

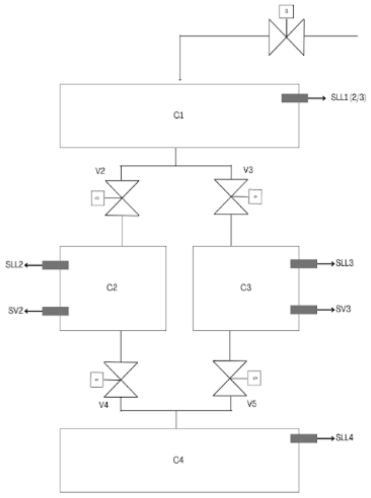


Figura 1. Diagrama General del Sistema

Se analizaron distintas propuestas para la programación y ejecución del sistema antes descrito, pero se decidió que la programación se realizaría mediante openPLC, el cual es un programa con el que se puede editar, compilar y simular la lógica de escalera (Ladder), comúnmente usada para la programación de Control Lógico Programable (PLC), para después pasar a un Arduino nano, que se conectó sobre una tarjeta PLC control shield con seis entradas optoacopladas y ocho salidas a

relevador (Open PLC Project, 2024). Las variables declaradas del programa se muestran en la Figura 2.

#	Nombre	Clase	Tipo	Ubicación
1	START	Local	BOOL	%IX0.0
2	STOP	Local	BOOL	%IX0.1
3	SLL1	Local	BOOL	%IX0.2
4	SLL2	Local	BOOL	%IX0.3
5	SLL3	Local	BOOL	%IX0.4
6	SLL4	Local	BOOL	%IX0.5
7	SLL5	Local	BOOL	%IX0.6
8	SLL6	Local	BOOL	%IX0.7
9	Y1	Local	BOOL	%QX0.0
10	Y2	Local	BOOL	%QX0.1
11	Y3	Local	BOOL	%QX0.2
12	Y4	Local	BOOL	%QX0.3
13	Y5	Local	BOOL	%QX0.4
14	BOMBA	Local	BOOL	%QX0.5
15	ENCL2	Local	BOOL	
16	ENCLAVE	Local	BOOL	
17	TOF0	Local	TOF	
18	TON2	Local	TON	

Figura 2. Variables declaradas dentro del programa.

Las variables que poseen la nomenclatura %IX0.# en la sección de “Ubicación”, son aquellas que han sido declaradas como “variables de entrada”. Estas reciben la señal de los pulsadores de arranque y paro del sistema, incluyendo también la señal de los sensores de nivel de los humedales. Las variables que poseen la nomenclatura %QX0.# en la sección de “Ubicación”, son aquellas que han sido declaradas como “variables de salida”. Estas detectarán las señales lógicas del sistema, con base a la secuencia de las variables de entrada, para enviar señales en forma de voltaje, que recibe el módulo de relevadores de 8 canales, los cuales están conectados a las válvulas sinusoidales y la bomba, dentro del sistema del humedal. Las variables “ENCLAVE” y “ENCL2” son señales de salida, pero sin señal de salida “física” de voltaje, ya que son señales internas del programa.

En cambio, en el caso de las variables “TOF0” y “TON2” son variables que representan los temporizadores dentro del programa: TOF0 representa el temporizador con retardo a la desconexión que desconectará la válvula Y1 después de 4 segundos transcurridos desde que el sensor SLL1 se encuentra activado. TON2 representa el temporizador con retardo a la conexión que prenderá a las válvulas Y4 y Y5, después de haber transcurrido el tiempo de retención hidráulica. En la Figura 3 se muestra la estructura del programa Ladder (de escalera) de la automatización del humedal.

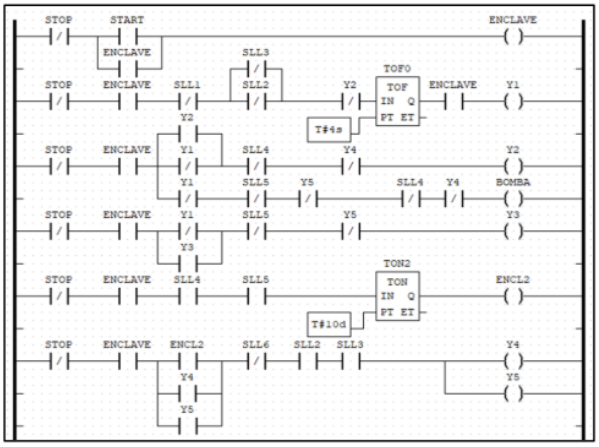


Figura 3. Estructura del programa Ladder de la automatización del humedal

En cuanto al tratamiento del agua residual sintética se emplearon los valores manejados en la NOM-003-SEMARNAT-1997, que hacen referencia a los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúnen en servicios al público.

Tabla 4. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (1997). Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997.

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES					
TIPO DE REUSO	**Coliformes fecales NMP / 100mL**	**Huevos de helminto (h/L)**	**Grasas y aceites mg/L**	**DBO mg/L**	**SST mg/L**
SERVICIOS AL PÚBLICO CON CONTACTO DIRECTO	240	≥1	15	20	20
SERVICIOS AL PÚBLICO CON CONTACTO INDIRECTO U OCASIONAL	1000	≤5	15	30	30

Las cantidades utilizadas para el agua residual producida en el laboratorio son las mostradas en la Tabla 5.

Tabla 5. Contaminantes a tratar dentro del humedal.

CONTAMINANTES A TRATAR					
TIPO DE REUSO	**Coliformes fecales NMP / 100mL**	**Huevos de helminto (h/L)**	**Cloro libre residual (mg/L)**	**Dureza del agua (mg/L)**	**SST (mg/L)**
CANTIDADES	240	≥1	15	500	20

Otra variable que se considero es la dureza total de agua (NOM-127-SSA1-2021), donde se agregaron 2.5g de $CaCO_3$, por cada 5 L de agua, la Tabla 6 muestra la composición del agua residual sintética.

Tabla 6. Descripción del agua residual preparada

COMPOSICIÓN DEL 5 L DE AGUA RESIDUAL					
TIPO DE REUSO	**Coliformes fecales (g)**	**Dureza Total $CaCO_3$ (g)**	**Grasas y aceites (mg)**	**Cl- (mL)**	**SST (mg/L)**
CANTIDADES	3.75	2.5	75	0.6	100
DESCRIPCIÓN	Heces fecales de perro	$CaCO_3$	Aceite de cocina	Solución Cl 10%	• 30 mg de gelatina • 40 mg de harina • 30 mg de leche en polvo

Se realizó un análisis inicial en el que se incluyen pruebas de cianuros totales, cloruros, alcalinidad, concentraciones de los aniones del ácido carbónico y el carbono inorgánico total (CIT o TIC), con los test de análisis de la marca Merck. Además, se realizaron pruebas de: dureza total del agua, huevos de helminto, y pruebas microbiológicas; en las que se incluyeron medios de cultivo nutritivo, m-ENDO LES y medio para la detección de coliformes fecales.

Las pruebas de dureza total del agua, agar nutritivo, agar de coliformes fecales y de huevos de helminto se realizaron por un método específico, el cual puede consultarse en el "Manual de pruebas de calidad del agua". Por su parte todos los test de cianuros, alcalinidad, CIT y agar m-ENDO LES se realizaron según las indicaciones del fabricante.

Aclimatación de la vegetación

El último muestreo exitoso de *Typha latifolia* fue realizado en la temporada de verano en el mes de junio de 2023 en la Laguna de Tecocomulco, Hidalgo. Los individuos recolectados fueron seleccionados para aplicar los contaminantes descritos en la Tabla 8 y se monitoreo el crecimiento de los individuos sin ningún tipo de contaminante, todo esto durante su estancia dentro del laboratorio. Por otro lado, la *Bambusa vulgaris* que fue seleccionada en sustitución de *T. Latifolia* posterior a la aclimatación, fue llevada al laboratorio durante la época de invierno, monitoreando su crecimiento estando completamente sumergida en agua, a diferencia de la *T. latifolia* que fue colectada en el humedal natural de Tecocomulco, la *B. vulgaris* se obtuvo de un vivero cercano a la unidad académica. En este sentido la especie empleada es una especie de bambú ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales, conocida por su rápido crecimiento, alta biomasa y adaptabilidad a diversas condiciones ambientales. Estas características la hacen especialmente adecuada para su incorporación en sistemas de humedales construidos destinados al tratamiento de aguas residuales. Su sistema radicular extenso y robusto contribuye a la estabilización del sustrato y al desarrollo de comunidades microbianas en la rizosfera, las cuales desempeñan un papel clave en los procesos de biodegradación y transformación de contaminantes presentes en el agua (Singh y col., 2020). Además, su tolerancia a altos niveles de nutrientes y su capacidad de absorber metales pesados y compuestos orgánicos favorecen su uso como planta macrófita en tratamientos secundarios y terciarios.

Otra ventaja de *Bambusa vulgaris* es su alta tasa de transpiración, que puede contribuir al aumento de la evapotranspiración en sistemas de flujo subsuperficial, lo cual es útil para el manejo de volúmenes de agua residuales. También presenta una gran capacidad de crecimiento en suelos húmedos o anegados, lo que permite su establecimiento en ambientes artificiales como los humedales construidos. En comparación con otras especies vegetales comúnmente utilizadas, el bambú no solo aporta beneficios ecológicos, sino también un valor agregado por su aprovechamiento posterior como recurso maderable o materia prima para productos sostenibles, lo que promueve una economía circular en proyectos de saneamiento (Sharma y Goyal, 2017).

RESULTADOS

Proceso de automatización

Aunque como tal no existe ningún tipo de tecnología de automatización para humedales construidos, se puede hacer una comparativa entre los resultados obtenidos de sistemas de riego automáticos. Al igual que el proyecto "Diseño de un prototipo de sistemas de cascada para el monitoreo, captación, almacenamiento y distribución de agua potable para la EP-EMAPAR" (Quishpe-Estrada, 2017) que también fue realizado utilizando un PLC y la lógica en escalera, en el cual se observó que con la aplicación de un sistema automático se reduce la necesidad de monitoreo humano del sistema, además de evitar el gasto excesivo de agua, ya que una de las principales ventajas es que impide la inundación o desecación de los humedales, por lo que siempre se mantiene un flujo de agua constante, que es vital para el desarrollo de la vegetación del humedal.

El desarrollo de humedales construidos a escala de laboratorio representa una estrategia valiosa para el tratamiento de aguas residuales y la investigación ambiental. La implementación de sistemas automatizados en este contexto aporta ventajas significativas tanto en la operación como en la generación de datos confiables. Entre los beneficios más destacados se encuentran la mejora en el control de variables críticas (como el flujo hidráulico, nivel de agua, pH y conductividad eléctrica), la posibilidad de programar ciclos de operación precisos, y la reducción de errores humanos. Estos elementos son fundamentales para replicar condiciones reales y garantizar la reproducibilidad de los experimentos (Kadlec y Wallace, 2009).

Además, la automatización del sistema permitió el monitoreo en tiempo real y la recolección continua de datos, lo cual facilitó la toma de decisiones para ajustes en tiempo casi inmediato. Esto es especialmente útil en investigaciones que buscan optimizar parámetros de eficiencia de tratamiento, como la remoción de nutrientes o contaminantes emergentes (Wu y col., 2014).

Cuando se comparan con los sistemas de riego automatizados, utilizados comúnmente en agricultura y jardinería, se observan similitudes técnicas, ya que ambos emplean sensores, actuadores y controladores para regular el suministro de agua. Sin embargo, mientras los sistemas de riego priorizan la eficiencia hídrica y la programación de riegos según humedad del suelo o condiciones climáticas (Jones, 2004), los sistemas automatizados en humedales construidos se orientan más hacia la estabilidad de las condiciones fisicoquímicas del medio, el control de carga hidráulica y la simulación de escenarios específicos de contaminación.

Ambos sistemas contribuyen a la sostenibilidad y optimización de recursos, pero los humedales automatizados presentan una mayor complejidad técnica y potencial investigativo. Su aplicación a escala de laboratorio resulta clave para el diseño de soluciones de saneamiento adaptadas a contextos locales, especialmente en zonas con acceso limitado a tecnologías convencionales.

Caracterización del agua residual

Como parte de los análisis iniciales se aplicaron pruebas colorimétricas de cianuros, cloruros y alcalinidad y CIT, descritos en la Tablas 7 a 12.

Prueba Cloruros

Tabla 7. Resultados de la prueba de cloruros

Blanco		**Agua Residual Sintética**	
Número de muestra	**Concentración (mg/L)**	**Número de muestra**	**Concentración (mg/L)**
1	40±0.01	1	75±0.001
2	40±0.01	2	75±0.002
3	40±0.01	3	75±0.003
Promedio:	40±0.01	**Promedio:**	75±0.002

Los resultados de ambas pruebas exceden el límite máximo permisible de la NOM-127-SSA1-2021, que establece la calidad de agua para uso y consumo humano, por lo que durante el proceso de tratamiento se deberá prestar especial atención a este parámetro y sobre todo tener en cuenta estos resultados para el uso que se le dará al agua tratada, ya que para lograr la calidad descrita en la norma sería necesario aplicar un tratamiento posterior a la salida del humedal.

Prueba Cianuros

Tabla 8. Resultados de la prueba de cianuros

Blanco		Agua Residual Sintética	
Número de muestra	**Concentración (mg/L)**	**Número de muestra**	**Concentración (mg/L)**
1	0	1	0
2	0	2	0
3	0	3	0
Promedio:	0	**Promedio:**	0

En ninguna de las muestras se obtuvo un resultado positivo, por lo que la concentración de cianuros no representa un parámetro significativo en el tratamiento del agua. Cabe señalar que este parámetro se analizó debido a que el Estado de Hidalgo, específicamente la capital, Pachuca, se caracteriza por su actividad minera y debido a ello el agua está expuesta en ciertos lugares a los residuos propios de dicha actividad.

Prueba alcalinidad

Se valoraron las muestras frente a un indicador mixto hasta viraje a rojo (a pH 4.3).

Tabla 9. Título alcalímetro completo ($K_S4.3$)

Blanco		Agua Residual Sintética	
Número de muestra	**$K_S4.3$ (mmol/L)**	**Número de muestra**	**$K_S4.3$ (mmol/L)**
1	7.1±0.02	1	10±0.01
2	7.4±0.01	2	9.7±0.03
3	7.7±0.01	3	9.7±0.02
Promedio:	7.4±0.01	**Promedio:**	9.8±0.05

Ecuación para cálculos de alcalinidad.

$$K_S4.3 = \text{mmol/L } HCO_3$$

$$\text{mmol/L } HCO_3 * 61.02 = \text{mg/L} HCO_3$$

$$\text{mg/L } HCO_3 \text{ Blanco} = 451.5 \text{ (Blanco)}$$

$$\text{mg/L } HCO_3 \text{ AS} = 598 \text{ (Agua Sintética)}$$

Prueba CIT

Se valoraron las muestras con ácido clorhídrico frente a fenolftaleína hasta decoloración (a pH 8.2), se muestran los resultados en la Tabla 10.

Tabla 10. Titulación, alcalímetro simple ($K_S8.2$).

Blanco		Agua Residual sintética	
Número de muestra	**$K_S8.2$ (mmol/L)**	**Número de muestra**	**$K_S8.2$ (mmol/L)**
1	0.9±0.01	1	0.8±0.02
2	0.9±0.01	2	0.8±0.02
3	0.9±0.01	3	0.8±0.01
Promedio:	0.9±0.01	**Promedio:**	0.8±0.01

Ecuación para obtención de las concentraciones de los aniones del ácido carbónico y el carbono inorgánico total (CIT o TIC).

$$(K_S4.3\text{-}K_S8.2)*12.01= \mathrm{TIC(CIT)(mg/L\ C)}$$

$$(7.04\text{-}0.9)*12.01= 78.07\mathrm{(mg/L\ C)}\quad \text{Muestra blanco}$$

$$(9.8\text{-}0.8)*12.01= 108.09\mathrm{(mg/L\ C)}\ \text{Muestra Agua Sintética}$$

Prueba dureza total

La prueba fue realizada siguiendo con la práctica propuesta por Harris, D.C. (2003), que es compatible con la NMX-AA-072-2001. Las muestras fueron valoradas con EDTA 0.01 M frente a negro de eriocromo T hasta obtener una coloración azul verdosa. La relación estequiométrica entre el EDTA y la concentración de $CaCO_3$ es uno a uno, por lo que para obtener la dureza basta con conocer el volumen gastado de EDTA y el volumen de la muestra. Los resultados se expresan a continuación.

Tabla 11. Volumen gasto en titulación con EDTA 0.01 M.

Blanco			
Número de muestra	**Volumen de EDTA (mL)**	**Volumen de la muestra (mL)**	**Dureza total (mg$CaCO_3$/L)**
1	8.3±0.001	100±0.001	84.07±0.02
2	8.5±0.001	100±0.001	85.07±0.03
3	8.2±0.001	100±0.001	82.07 ±0.03
Promedio:			83.74±0.03

Tabla 12. Volumen gasto en titulación con EDTA 0.01 M.

Agua Residual Sintética			
Número de muestra	**Volumen de EDTA (mL)**	**Volumen de la muestra (mL)**	**Dureza total (mg $CaCO_3$/L)**
1	10.2±0.01	100±0.01	102.09±0.002
2	9.7±0.01	100±0.01	97.08±0.003
3	10.3±0.01	100±0.01	103.09±0.002
Promedio:			100.75±0.03

La Organización Mundial de la Salud (OMS), clasificó como agua blanda aquella cuya concentración es inferior a 60 mg/L de carbonato de calcio ($CaCO_3$), medianamente dura entre 61 y 120 mg/L, dura entre 121 y 180 mg/L y muy dura para aguas con valores superiores a 180 mg/L, por lo que ambas muestras se clasifican como agua medianamente dura, sin embargo la concentración obtenida en la composición sintética es casi 25% mayor, por lo que su reducción posterior al tratamiento sigue siendo relevante, en este parámetro cabe aclarar que el agua potable de la Ciudad de Pachuca y en general del Estado de Hidalgo se caracteriza por su dureza debido a la existencia de rocas calcáreas ricas en calcio y magnesio.

Medios de cultivo

Una vez preparados los medios de cultivo, se siguieron las instrucciones de Quistián García (2003), para el sembrado de las muestras, por lo que los medios nutritivo y m-ENDO LES fueron cultivados con el método del estirado en encuadre, mientras que para el agar de coliformes fecales se utilizó el estiramiento T. Seguidamente fueron colocados en una incubadora a 35 °C durante 3 días. Por cada batería sembrada se tomó una muestra como blanco (Figura 4). Posteriormente se realizaron tinciones de Gram a cada agar acatando el procedimiento establecido por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (s.f)

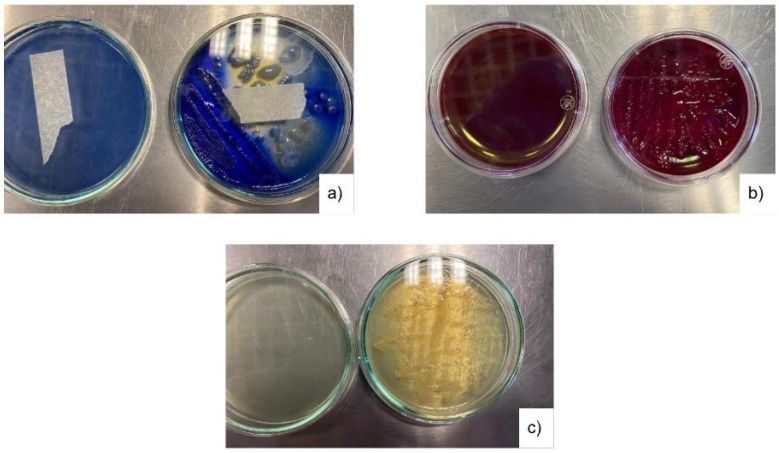


Figura 4. Medios de cultivo: a) Coliformes; b) m-ENDO LES, c) Nutritivo. Comparativa entre el blanco (izquierda) y el medio de cultivo sembrado (derecha).

Al analizar las muestras en el microscopio se pudieron observar bacilos Gram positivos, los cuales pueden pertenecer al género *Clostridium*, debido a que cumple con la morfología, además de que

dichas bacterias fijan el nitrógeno y pueden ser obtenidas de la rizosfera de plantas hidrófitas pertenecientes a humedales naturales. Por lo anterior la materia orgánica agregada al agua residual puede beneficiar el desarrollo de la vegetación dentro del humedal.

Con respecto a los resultados de las pruebas de huevos de helminto, se realizó la prueba por flotación Sheather Sugar siguiendo con el procedimiento de la Serie de Normas Técnicas de Lima (Beltran-Fabian de Estrada y col., 2003). En los resultados no se observaron formas lo suficientemente claras como para definirlas como huevos o quistes de parásitos por lo que en la muestra de agua residual no se pudo determinar su presencia.

Aclimatación de la vegetación

Al comparar el crecimiento entre los individuos del contenedor identificado como blanco y el contenedor con agua sintética se encontraron diferencias significativas, donde los individuos del contenedor blanco se desarrollaron menos que los sometidos al agua sintética, esto se debe a la carga orgánica que representó una mayor cantidad de nutrientes a comparación de los individuos que sólo contenían agua de la red. Por otra parte, la aclimatación inicial de *T. latifolia* resultó poco exitosa, esto es debido a que en el humedal natural se encontraba en simbiosis con el lirio acuático que representa un problema en dicho humedal ya que está causando la autrofización de algunas zonas dentro del humedal de Tecocomulco, Hidalgo. Debido a lo anterior es que se optó por incorporar *B. vulgaris* al tratamiento ya que al provenir de un vivero se encontraba apta para aclimatarse a las condiciones propias del laboratorio, y previo al análisis comenzó su crecimiento de manera adecuada y de acuerdo a lo descrito anteriormente a cerca de esta especie se observó que favoreció el tratamiento en el humedal ya que al observar su reproducción en el humedal alimentado con agua sintética, en el transcurso de los análisis, se comprobó su tolerancia a altos niveles de nutrientes.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, se concluye que la automatización es plenamente aplicable a las ecotecnologías, particularmente en sistemas basados en procesos naturales como los humedales construidos. Lejos de representar enfoques opuestos, la integración de mecanismos automáticos en sistemas ecológicos permite aprovechar las ventajas de ambos paradigmas, generando soluciones innovadoras, más eficientes y adaptables a las necesidades actuales de tratamiento de aguas residuales. Esta investigación adquiere relevancia al evidenciar la ausencia de tecnologías previas enfocadas específicamente en la automatización de humedales construidos, lo cual limita su escalabilidad y funcionalidad en contextos domésticos o comunitarios.

La adecuación tecnológica desarrollada demuestra que es posible adaptar este tipo de sistemas a diferentes escalas, incluyendo unidades de tratamiento para vivienda unifamiliar, sin comprometer la eficiencia del proceso. El objetivo del proyecto, centrado en la optimización de los ciclos de llenado y vaciado mediante automatización, se cumplió satisfactoriamente, al reducir la necesidad de supervisión constante y mejorar el aprovechamiento del recurso hídrico en el tratamiento de aguas residuales sintéticas. Finalmente, este trabajo busca promover el desarrollo de investigaciones multidisciplinarias orientadas a la resolución de problemáticas ambientales globales, destacando el potencial de las ecotecnologías automatizadas como herramientas sostenibles, escalables y replicables. La integración de diversas disciplinas permite un abordaje más holístico de los desafíos actuales, contribuyendo a generar soluciones técnicas con un alto impacto social y ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allen, R. G., Pereira, L. S., Howell, T. A., Jensen, M. E. (2020). *Evapotranspiration and Irrigation Scheduling*. FAO Irrigation and Drainage Paper.
2. Beltran Fabian de Estrada, M., Tello Casanova, R., Náquira Velarde, C. (2003). *Norma Técnica N°37*. Recuperado de https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/165_NT37.pdf
3. CONAGUA. (2021). Estadísticas del Agua en México. Comisión Nacional del Agua, Gobierno de México.

4. Convención Ramsar. (2024). *La importancia de los humedales en el siglo XXI.* https://www.ramsar.org
5. Harris Daniel C. (2003). Análisis Químico Cuantitativo 2ª edición, Ed. Reverte. Capítulo 13
6. Jones, H. G. (2004). *Irrigation scheduling: advantages and pitfalls of plant-based methods*. Journal of Experimental Botany, 55(407), 2427–2436. https://doi.org/10.1093/jxb/erh213
7. Kadlec, R. H., Wallace, S. D. (2009). Treatment Wetlands (2nd ed.). CRC Press.
8. Mitsch, W. J., Gosselink, J. G. (2015). Wetlands (5th ed.). Wiley.
9. NMX-AA-072SCFI-2001. *Análisis de agua-Determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba*. Cancela a la NMX-AA-072-1981
10. NOM-003-SEMARNAT-1997. *Límites máximos permisibles de contaminantes para aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público*. Diario Oficial de la Federación.
11. NOM-127-SSA1-2021. *Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad.* Diario Oficial de la Federación.
12. OpenPLC Project. (2024). The First Fully Functional Open Source PLC. Recuperado de: https://www.openplcproject.com/
13. Quishpe Estrada, F. d. l. A. (2017, agosto). *Diseño de un prototipo de sistemas SCADA para el monitoreo de captación, almacenamiento y distribución de agua potable para la EP-EMAPAR.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/7337
14. Quistan Garcia, H. (2014). *Técnicas y Métodos de estriado en caja y tubo (medios de cultivo)*. https://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/tecnicas-y-metodos-de-estriado-en-caja.html
15. Sharma, B., Goyal, R. (2017). *Potential of bamboo species for phytoremediation of heavy metals from wastewater*. Ecological Engineering, 105, 319–330. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.05.025
16. Singh, R. P., Ibrahim, M. H., Esa, N. (2020). *A review on bamboo based phytoremediation: Its efficacy and mechanisms*. Environmental Technology & Innovation, 20, 101095. https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101095
17. Tilley, E., Ulrich, L., Lüthi, C., Reymond, P., Zurbrügg, C. (2014). *Compendium of Sanitation Systems and Technologies* (2nd ed.). Eawag – Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology.
18. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. (n.d.). *Tinción de Gram*. https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/35/35696/tincion_de_gram.pdf
19. Vymazal, J. (2011). *Constructed wetlands for wastewater treatment: Five decades of experience.* Environmental Science & Technology, 45(1), 61–69.
20. Wu, S., Wallace, S., Brix, H., Kuschk, P., Kirui, W. K., Masi, F., Dong, R. (2014). *Treatment of industrial effluents in constructed wetlands: Challenges, operational strategies and overall performance*. Environmental Pollution, 192, 245–262. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.05.003
21. WWF. (2020). Living Planet Report 2020. World Wide Fund for Nature. https://www.wwf.org

EVALUACIÓN TRICOMONICIDA DE PLANTAS DE LA HERBOLARIA DEL NORESTE DE MÉXICO

Osiris Armando Padilla Aguirre[1,2], Magda Elizabeth Hernández García[1], Aldo Fabio Bazaldúa Rodríguez[2]; Eduardo Sánchez García[3], Abelardo Chávez Montes[3], José Antonio Heredia Rojas[4], Joel Horacio Elizondo Luevano[5].

[1]Laboratorio de Parasitología y Farmacognosia de Centro de Investigación Biomédicas del Noreste, IMSS. [2]Laboratorio de Fitoquímica; [3]Laboratorio de Química Analítica; [4]Laboratorio Ciencias Exactas, Facultad de Ciencias Biológicas; Universidad Autónoma de Nuevo León. [5]Laboratorio de Ciencias Naturales, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León.
magda.hernandezg@imss.gob.mx

RESUMEN

La fitoquímica está centrada en el estudio de los compuestos producidos por las plantas como parte de su proceso metabólico, los cuales tienen diversas actividades biologicas. Los productos naturales poseen diversas cualidades, entre las que se destacan sus efectos antiparasitarios, lo que los convierte en posibles coadyuvantes en terapias contra distintos agentes etiológicos. Debido a esto, los productos naturales se han postulado como una alternativa para el tratamiento de diversas infecciones parasitarias. El género *Trichomonas* es uno de los más relevantes en el campo de la salud, ya que incluye especies patógenas como *Trichomonas vaginalis*, causante de la tricomoniasis en humanos, y *Trichomonas foetus*, que afecta al ganado vacuno y a felinos. El uso indiscriminado de agentes antiparasitarios ha resultado en el desarrollo de resistencia a estos fármacos, por lo que se necesitan nuevas alternativas de tratamiento o como posibles coadyuvantes en terapias antiparasitarias[3]. Debido a esto, se ha optado por la evaluación de plantas medicinales de la herbolaria del noreste del país, para determinar su actividad inhibitoria sobre estos organismos de interés en el campo de la medicina humana y veterinaria. El material vegetal (*Agave lechuguilla, Buddleja scordioides, Larrea tridentata* y *Persea americana,* var. drymifolia), se colectó en los municipios de García y Rayones, Nuevo León, en tanto *Jatropha dioica* se obtuvo de manera comercial. La extracción se realizó por el método de maceración con agitación constante empleando metanol como solvente de extracción. Los extractos crudos resultantes se evaluaron a una concentración de 150 µg/mL. Los ensayos biológicos se realizaron por triplicado en micro viales de 1mL con un inóculo de $1x10^5$ trofozoítos/mL de *T. vaginalis* y *T. foetus* en medio TYI-S-33. Después de 24 h de incubación a 37 °C el porcentaje de inhibición se determinó por conteo directo en cámara de Neubauer. Posteriormente, a los extractos con un porcentaje de inhibición mayor al 50% se les determinó la concentración inhibitoria media (CI_{50}). La cual se calculó mediante análisis Probit con un intervalo de confianza de 95%. Para *T. vaginalis* la actividad antiparasitaria mostrada por las plantas en estudio fue de un 28 % de inhibición para *A. lechuguilla,* por otra parte, la actividad tricomonicida mostrada por *B. scordioides y P. americana* 74.74 % y 97.20% de inhibición respectivamente. Mientras que para *T. foetus, L. tridentata* fue la planta con mayor porcentaje de inhibición (97.14%), en comparación con *J. dioica y A. lechuguilla* las cuales obtuvieron un 49.05 % y 39.63 % de inhibición respectivamente. La evaluación de la CI_{50} en *T. vaginalis* de las plantas *B. scordioides* y *P. americana*, var. *drymifolia* mostraron un valor de 87.7 µg/mL y 32.5 µg/mL; en tanto para *T. foetus* la planta *L. tridentata* mostró una CI_{50} de 18.934 µg/mL. Por lo que los extractos metanólicos de las plantas en estudio presentan actividad antiparasitaria contra el género *Trichomonas*, por lo cual posen compuestos bioactivos contra este parásito.

INTRODUCCIÓN

El género *Trichomonas* representa un grupo de protozoarios parásitos tanto de importancia médica como de importancia veterinaria, esto debido a que causan notorias afectaciones en el huésped y por ende un impacto económico para su tratamiento. A este género pertenece una numerosa cantidad de especies dentro de las cuales podemos mencionar a *T. vaginalis* el cual tienen como

huésped principal al ser humano causando la trichomoniasis. Por otro lado *T. foetus*, genera afectación en la capacidad reproductiva del ganado vacuno y daños intestinales en los gatos domésticos causándoles diarrea crónica con presencia de moco y/o sangre[1].

Aunque las patologías qué puede desarrollar este género tienen un tratamiento de primera línea basado en el uso de los nitroimidazoles como el tinidazol o el metronidazol, el uso constante de estos fármacos ha generado al paso del tiempo el desarrollo de resistencia por parte de *Trichomonas*. El tipo de resistencia desarrollada se ha descrito de forma adecuada desde año 1962, en donde se han identificado una resistencia aeróbica y anaeróbica lo cual dificulta el tratamiento que se asigna al hospedero[2].

Si al desarrollo de la resistencia le agregamos los efectos secundarios que trae consigo el consumo de estos fármacos, los cuales van desde algo simple como el sabor metálico y náuseas hasta neurotoxicidad y por ende neuropatías[3]; es evidente la necesidad de nuevos tratamientos con fármacos que no compartan relación estructural con los tratamientos convencionales para así obtener un mecanismo de acción diferente logrando así una mayor eficacia en el control de estas parasitosis.

La búsqueda de compuestos bio-activos que tengan como finalidad una propuesta de posible tratamiento alterno, se centra en la herbolaria del Noreste de México específicamente en el estado de Nuevo León, la cual tiene un acervo muy bastó de reportes etnobotánicos del uso de plantas medicinales con actividad antiparasitaria, representando así una fuente importante de productos naturales con una potencial actividad tricomonicida.

Es así como las plantas medicinales *Agave lechuguilla, Buddleja scordioides, Jatropha dioica, Larrea tridentata* y *Persea americana var drymifolia* son propuestas para el desarrollo de este trabajo de investigación, en el cual se buscará principalmente determinar su actividad antiparasitaria sobre los trofozoítos de *T. vaginalis* y *T. foetus.*

TEORÍA

Género *Trichomonas*
El género *Trichomonas* pertenece a los protozoos flagelados y es conocido por contener especies patógenas que afectan tanto a humanos como a animales. Estos organismos se caracterizan por su forma ovalada o piriforme y por poseer flagelos, lo que les permite la movilidad en su ambiente. Dentro de este género destacan dos especies importantes por su relevancia médica y veterinaria*: Trichomonas vaginalis y Trichomonas foetus.*

Trichomonas vaginalis
Trichomonas vaginalis es la especie que causa la infección conocida como tricomoniasis, una enfermedad de transmisión sexual común en humanos, especialmente en mujeres. Esta infección se caracteriza por la inflamación de los genitales y la secreción vaginal anormal, y puede aumentar el riesgo de contraer otras infecciones de transmisión sexual, como el VIH. La infección es más frecuente en mujeres, aunque también puede afectar a los hombres, quienes, en muchos casos, son portadores asintomáticos[4]. La capacidad de *T. vaginalis* para adherirse a las células epiteliales de la mucosa urogenital le otorga una ventaja en la colonización de este ambiente[5]**.**

Trichomonas foetus
Esta tricomoniasis es asintomática en los toros, sin embargo, en las vacas se caracteriza por infertilidad, aborto, muerte fetal embrionaria y temprana, maceración fetal, piometra y secreción vaginal. La enfermedad tiene una distribución mundial, y en algún momento fue de gran importancia económica como causa de aborto e infertilidad, especialmente en el ganado lechero[6]. Mientras que en ganado bovino *T. foetus* es un agente etiológico común, en gatos, se ha determinado que *T. foetus* ocasiona infecciones en el tracto gastrointestinal, específicamente en el lumen y en la cripta del epitelio de la mucosa del colon, provocando diarreas crónicas. Los principales reportes de

incidencia de este parásito son en los Estados Unidos de América, aunque también ha sido reportado en diferentes partes del mundo, en el Reino Unido hasta un 30% de muestras de heces provenientes de gatos con diarrea son positivas a *T. foetus* donde los siameses y bengalíes son las razas de mayor incidencia[7].

Tratamiento
El tratamiento convencional se basa en el uso de nitroimidazoles, específicamente el metronidazol, el cuál ha sido el fármaco de primera línea para tratar esta parasitosis tanto en humanos como en felinos y bovinos, causada por *T. vaginalis y T. foetus* respectivamente. Generalmente se prescribe en una sola dosis oral o en dosis múltiples[8].

Resistencia al metronidazol
El metronidazol ha sido considerado como el tratamiento estándar contra la tricomoniasis desde su introducción en 1959; sin embargo, la resistencia a este fármaco fue reportada pocos años después, en 1962[5]. Los principales mecanismos de resistencia reportados en la literatura incluyen alteraciones a nivel genético, así como la presencia de endosimbiontes intracelulares como *Mycoplasma homminis* y *Trichomonasvirus*, que favorecen la patogenicidad de *T. vaginalis*[9]. De esta forma se han descritos dos tipos de resistencia: la resistencia aeróbica, asociada a fracasos en el tratamiento de la tricomoniasis y la resistencia anaeróbica, inducida en laboratorio *in vitro*[5].

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta del material vegetal
El material vegetal (*Agave lechuguilla, Buddleja scordioides, Larrea tridentata* y *Persea americana,* var. drymifolia), se colectó en los municipios de García y Rayones, Nuevo León, en tanto *Jatropha dioica* se obtuvo en la casa comercial Pacalli®.

Preparación del material vegetal y obtención del extracto crudo.
El material vegetal se deshidrató empleando una cámara de secado a 40ºC, posteriormente se la planta seca fue triturada empleando un molino manual. La extracción, fue realizada por el método de maceración con agitación constante empleando metanol como solvente de extracción por espació de 72 horas. Posteriormente se filtró el material vegetal, separando a este del solvente. Este proceso se realizó por triplicado. Finalmente, el solvente filtrado se recuperó y se evaporó empleando un rotavapor para realizar una destilación al vació. El extracto obtenido se almacenó a 4ºC hasta su uso.

Evaluación tricomonicida *in vitro*
La actividad tricomonicida de los extractos metanólicos se evaluó empleando microviales cónicos de 1 mL con un inóculo de 1×10^5 trofozoítos/mL, a una concentración de 150 µg/mL, este procedimiento se realizó por triplicado. A continuación, el ensayo se incubó a 36.5 °C durante 24 horas, posteriormente se determinó el porcentaje de inhibición por el método de conteo directo en cámara de Neubauer. Se utilizó metronidazol como control positivo y el cultivo de *T. vaginalis* o *T. foetus* sin tratamiento como blanco. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición del crecimiento de los cultivos tratados en contraste con los de los controles no tratados[10].

Determinación de la Concentración Inhibitoria media (CI_{50})
Considerando los resultados de la evaluación tricomonicida *in vitro,* para la evaluación de la $CI_{50,}$ se consideró únicamente aquellos extractos con un porcentaje de inhibición mayor al 50%. Para la determinación de la CI_{50} se empleó la metodología de la evaluación tricomonicida *in vitro,* evaluando los tratamientos a concentraciones de 150, 75, 37.5, 18.75 y 9.37 µg/mL. Para el análisis estadístico de este ensayo se utilizó un análisis Probit con un intervalo de confianza de 95%[10].

RESULTADOS

La actividad tricomonicida evaluada en las plantas medicinales del estudio mostró resultados relevantes para avalar los reportes etnobotánicos sobre su uso en enfermedades causadas por parásitos.

Como primera parte, la actividad antiparasitaria evaluada sobre trofozoítos de *T. vaginalis* nos produjo resultados variables empezando con un 10 % de inhibición por parte de *J. diodica,* seguido de un 28% de inhibición por *A. lechuguilla* y un 74.74% y 97.20% de *B. scordioides y P. americana var drymifolia* respectivamente (Figura 1).

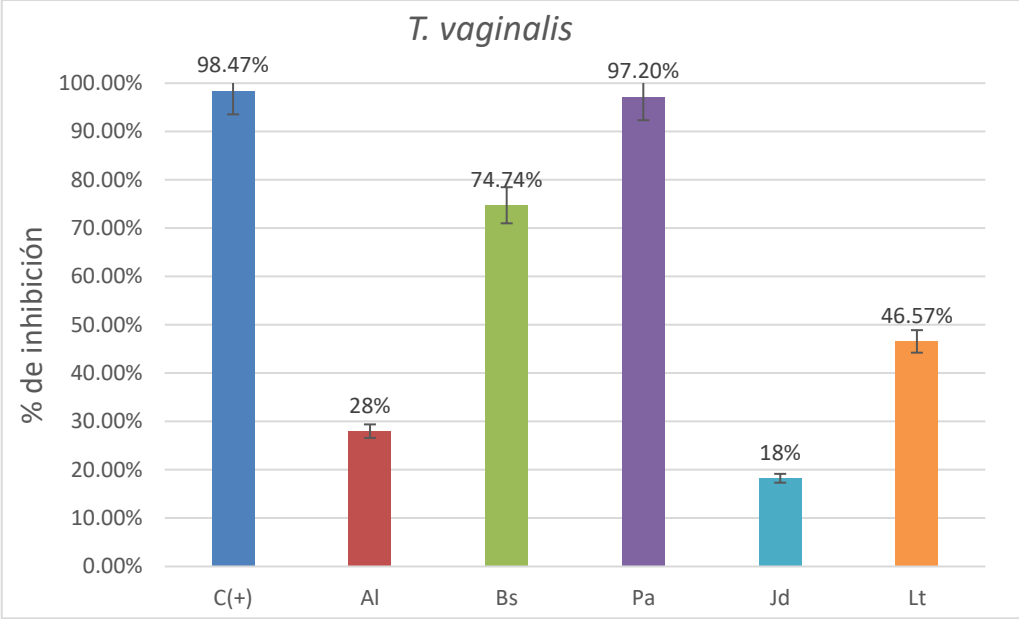


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *T. vaginalis.* C(+) metronidazol; (Al) *A. lechuguilla*; (Bs) *B. scordioides;* (Pa) *P. americana*; (Jd) *J. dioica; (Lt) Larrea tridentata*.

Por otro lado, los resultados obtenidos a partir de *T. foetus* tuvieron un comportamiento diferente,en este caso se observó un porcentaje de inhibición del 18% para *B. scordioides* por su parte *J. dioica y A. lechuguilla* presentaron porcentajes de inhibición del 49.05 % y 39.63 % respectivamente. La mayor actividad se obtuvo con el extracto de *L. tridentata* con un porcentaje de inhibición 97.14% (Figura 2).

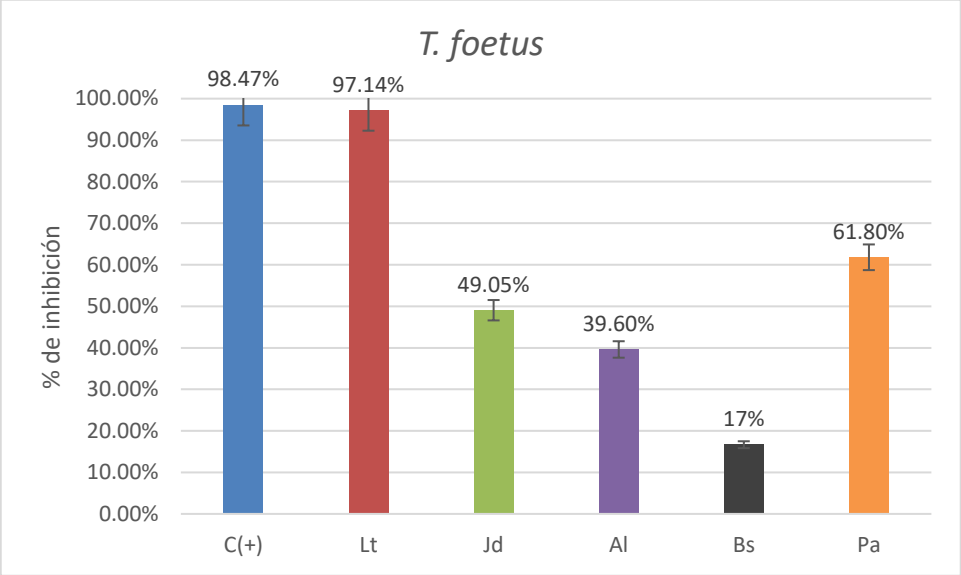


Figura 2. Porcentaje de inhibición sobre *T. foetus.* C(+), metronidazol; (Lt) *L. tridentata*; (Jd) *J. dioica;* (Al) *A. lechuguilla*; (Bs) *B. scordioide;.(Pa) Persea americana.*

Los resultados anteriormente descritos donde fue considerado como eje de selección un resultado superior al del 50% de inhibición permiten el tamizaje de las plantas medicinales, la evaluación de la CI_{50} se realizó únicamente a los extractos de *B. scordioides, L. tridentata* y *P. americana var. drymifolia.*

En la determinación de la CI_{50} de los extractos seleccionados se obtuvieron concentraciones de 87.7 µg/mL y 32.5 µg/mL respectivamente sobre trofozoítos de *T. vaginalis*, estos resultados concuerdan con estudios anteriores en donde se reporta una actividad antiparasitaria semejante sobre *Entamoeba histolytica, Giardia lamblia y Leishmania sp*[11,12]. Por otro lado, en los trofozoítos de *T. foetus* se obtuvo un resultado importante para *L. tridentata* con una CI_{50} de 18.394 µg/mL, resultado que es avalado por los reportes previos de productos naturales que se han identificado en esta planta y que han mostrado actividad biológica similar[13, 14], por lo que estos datos permiten considerar estas plantas para análisis posteriores (Tabla 1).

Tabla 1. CI_{50} de los extractos con porcentaje de inhibición mayor al 50%. Al, *A. lechuguilla*; Bs, *B. scordioides*; Pa, *P. americana*; Lt, *L. tridentata*; Jd, *J. dioica*; ND, no determinada.

Planta	*T. vaginalis*	*T. foetus*
Al	ND	ND
Bs	87.7 µg/mL	ND
Pa	32.5 µg/mL	Pendiente
Lt	ND	18.394 µg/mL
Jd	ND	ND

CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de *B. scordioides* y *P. americana* han mostrado actividad antiparasitaria frente a trofozoítos de *T. vaginalis*. Asimismo, el extracto de *L. tridentata* ha demostrado eficacia contra *T. foetus*. Estos resultados sugieren que estas plantas contienen compuestos bioactivos con propiedades antiparasitarias, lo que podría ser útil en el desarrollo de tratamientos o coadyuvantes contra infecciones causadas por diferentes especies del género *Trichomonas*.

BILIOGRAFÍA

1. Dąbrowska, J., Karamon, J., Kochanowski, M., Sroka, J., Zdybel, J., Cencek, T. (2019). Tritrichomonas foetus as a causative agent of tritrichomonosis in different animal hosts. J Vet Res 63, 533-541. DOI:10.2478/jvetres-2019-0072
2. Graves KJ, Novak J, Secor WE, Kissinger PJ, Schwebke JR, Muzny CA. 2020. A systematic review of the literature on mechanisms of 5-nitroimidazole resistance in Trichomonas vaginalis. Parasitology, 147(13), 1383-1391.
3. A. Hernández Ceruelos, A., Romero-Quezada, L.C., Ruvalcaba Ledezma, J.C., López Contreras, L. (2019). Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 23: 397-401.
4. Pereira-Neves, A., Ribeiro, K. C., Benchimol, M. (2018). Pseudocysts in trichomonads – New insights. *Protist*, *167*(4), 333-352. https://doi.org/10.1016/j.protis.2016.07.001
5. Doyle, R. L., Singh, B. N., & Shukla, S. K. (2020). Trichomonas vaginalis: An update on the molecular basis of pathogenesis. *Parasites & Vectors*, *13*, 1-15. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04511-5
6. OIE, (2004). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Quinta Edición, 2004 (Primera edición en español). http://www.oie.int/doc/ged/d6508.pdf
7. Gunn-Moore D. 2017. Infección por Trichomonas foetus en el gato. Director de la Clínica Felina, Universidad de Edimburgo. https://icatcare.org/articles/tritrichomonas-foetus-infection-in-cats
8. Kissinger, P. 2015. Epidemiology and Treatment of Trichomoniasis. *Curr Infect Dis Rep* 17, 31. https://doi.org/10.1007/s11908-015-0484-7
9. Mabaso N, Tinarwo P, Abbai N. 2020 Oct 17. Lack of association between Mycoplasma hominis and Trichomonas vaginalis symbiosis in relation to metronidazole resistance. Parasitology Research.
10. Elizondo-Luévano, Joel-H., Hernández-García, Magda-E., Pérez-Narváez, Oscar-A., Castro-Ríos, Rocío, & Chávez-Montes, Abelardo. (2020). Berberina, curcumina y quercetina como potenciales agentes con capacidad antiparasitaria. Revista de Biología Tropical, 68(4), 1241-1249. https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v68i4.42094
11. Jiménez-Arellanes, A., Luna-Herrera, J., Ruiz-Nicolás, R., Cornejo-Garrido, J., Tapia, A., & Yépez-Mulia, L. (2013). Antiprotozoal and antimycobacterial activities *of Persea americana* sedes. BMC Complementary and Alternative Medicine, 13(109). doi: 10.1186/1472-6882-13-109
12. Van G., Olivia T., Skye A. O., Keonte J. G., & Christina A. M. (2023). Trichomoniasis. Infectious Disease Clinics of North America, 37(2), 245–65
13. Bashyal, B., Li, L., Bains, T., Debnath, A., & LaBarbera, D. V. (2017). Larrea tridentata: A novel source for anti-parasitic agents active against Entamoeba histolytica, Giardia lamblia and Naegleria fowleri. PLoS neglected tropical diseases, 11(8), e0005832. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005832
14. Sáyago-Ayerdi, S. G., Vaquero, M. P., Schultz-Moreira, A., Bastida, S., & Sánchez-Muniz, F. J. (2008). Utilidad y controversias del consumo de ácidos grasos de cadena media sobre el metabolismo lipoproteico y obesidad. Nutrición Hospitalaria, 23(3), 191-202.

COMPLEJOS METÁLICOS DE BASES DE SCHIFF CON FE(III): SÍNTESIS VERDE, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS CONTRA BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVA

Fabian Mendoza Hernández[1], Erasto Vergara Hernández[2], Ricardo Antonio Barrón Gómez[1], Regina Pérez Salinas[1], Juan Pablo Sandoval García[1], Evelin Luqueño Aldana[3] y Ana Karen Cruz Zavaleta[3]

[1]Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos No. 16 “Hidalgo”, CECyT No. 16 “Hidalgo” - IPN, [2]Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Hidalgo, UPIIH - IPN, [3]Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, ESIQIE - IPN
fabianmendozah@gmail.com

RESUMEN

Las bases de Schiff siguen siendo un grupo de ligandos orgánicos muy útiles en Química de Coordinación por su capacidad de coordinar a una gran cantidad de metales en diversos estados de oxidación. La obtención de los complejos metálicos de bases de Schiff se lleva a cabo de manera tradicional empleando dos etapas: en la primera se obtiene el ligando orgánico y posteriormente se le agrega el catión metálico, ambos métodos por calentamiento convencional, siendo necesarias hasta 6 horas totales de reacción. En el presente trabajo se describe la síntesis en una sola etapa de dos complejos metálicos de bases de Schiff tipo salen con Fe(III). La síntesis se lleva a cabo por radiación con microondas, logrando obtener los complejos en tan solo 10 segundos de síntesis. Los productos obtenidos se caracterizaron por espectroscopía de infrarrojo y ultravioleta visible para determinar la estructura química de los mismos. Los materiales fueron probados contra cepas de bacterias grampositivas (*Staphylococcus aureus*) y contra cepas gramnegativas (*Escherichia coli*) para determinar sus propiedades antimicrobianas, empleando para ello pruebas de discos y de turbidimetría. Las pruebas realizadas sugieren que *Staphylococcus aureus* es capaz de metabolizar a los complejos metálicos de Fe evaluados. Por su parte, *E. coli* tuvo crecimiento casi nulo en presencia de estos compuestos de Fe. Lo anterior demuestra que es viable profundizar en el uso de complejos metálicos de Fe tipo salen contra bacterias gramnegativas.

INTRODUCCIÓN

En Química, un grupo orgánico muy empleado es el grupo imino (bases de Schiff). En 1864, Hugo Schiff describió la condensación entre un aldehído y una amina para obtener como producto una base de Schiff. Los ligandos de bases de Schiff coordinan a una gran variedad de metales a través del nitrógeno de la imina y otro grupo, por lo general ligado con el aldehído de partida. Actualmente, los químicos modernos todavía preparan bases de Schiff, dichos ligandos, activos y bien diseñados, son considerados "ligandos privilegiados" [1]. Este tipo de compuestos son usados para coordinar con iones metálicos vía grupo imino o nitrógeno del grupo azometino (C=N) y tienen una amplia variedad de aplicaciones en muchos campos como el analítico, biológico, médico, orgánico, Química Inorgánica y como catalizadores en numerosas reacciones como son reacciones de polimerización, reducción de cloruros de tionilo de cetonas, oxidación de compuestos orgánicos, reacciones de reducción de cetonas, reacciones aldólicas, reacción de Henry, epoxidación de alquenos, hidrosilación de cetonas, síntesis de bis(indol) metanos y en la reacción de Diels-Alder [2,3].

Por su parte, hace apenas unos pocos años se dio la pandemia por COVID-19, incluso hoy en día se han detectado brotes de algunas de las variantes del virus, por lo que el interés de la comunidad científica por disponer de mejores medidas tanto preventivas como de corrección es creciente y se encuentran bajo constante estudio. Los métodos para prevenir y contener situaciones médicas a nivel mundial no solo tienen que ver con el desarrollo de nuevos fármacos, sino también con el diseño y desarrollo de dispositivos que permitan detectar de manera temprana o también atacar a los virus y bacterias.

A la par de esta problemática, se desarrollan técnicas que se centran en el desarrollo de nuevos materiales cuya eficiencia para erradicar estos microorganismos no se vería afectada por su resistencia antimicrobiana. Tal es el caso de los complejos metálicos formados a partir de bases de Schiff, cuya estructura versátil permite trabajar con una amplia variedad de metales que ceden comportamientos únicos a la estructura al estar en contacto con los microorganismos resistentes.

PARTE EXPERIMENTAL

Se sintetizaron dos complejos metálicos de bases de Schiff con Fe(III), derivados del ligando salen: salen-Fe y saloph-Fe. La síntesis se llevó a cabo en un solo paso de reacción y bajo radiación por microondas. Los reactivos empleados se adquirieron de la empresa Sigma Aldrich (pureza >95%). Se utilizó etanol (EtOH) puro como disolvente para la síntesis, por lo que no fue necesaria su purificación previa para su uso.

En un matraz balón de 250 ml se colocaron 2 mmol de salicilaldehído disueltos en 20 ml de EtOH. El aldehído fue agregado mediante goteo lento a un matraz con 1 mmol de diamina (etilendiamina para salen; *o*-fenilendiamina para saloph) disuelta en 20 ml de EtOH. Al matraz se agregó por goteo lento 1 mmol de $Fe(NO_3)_3{\cdot}9H_2O$ junto con 3 gotas de ácido acético. La mezcla homogénea se irradió con microondas (600 W a 2.45 GHz) durante 10 segundos. La reacción se mantuvo en agitación hasta llegar a la temperatura ambiente para posteriormente ser filtrada a vacío y recuperar el producto final. El rendimiento de la reacción se obtuvo sobre la relación de la cantidad pesada de producto seco y la cantidad teórica esperada [4]. El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por cromatografía en capa fina (CCF) empleando una mezcla de hexano-metanol como disolventes en diferentes proporciones para determinar la mejor separación y pureza de los componentes de la reacción. La Figura 1 muestra el esquema de la reacción llevada a cabo.

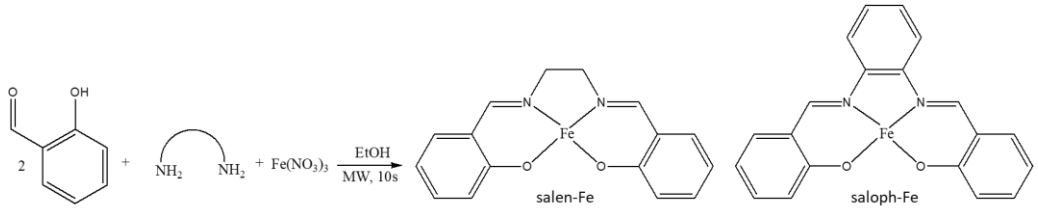


Figura 1. Esquema de la reacción de obtención de los complejos metálicos de bases de Schiff con Fe(III).

Los productos obtenidos se analizaron por espectroscopía de infrarrojo con transformad de Fourier (FTIR), empleando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer.

Los espectros de ultravioleta-visible (UV-Vis) se realizaron en disolución alcohólica en un espectrofotómetro marca Velab, modelo VE-5100UV.

La eficacia antimicrobiana de los complejos metálicos sintetizados se evaluó sobre cepas de bacterias grampositivas (*Staphylococcus aureus*) y gramnegativas (*Escherichia coli).* En primera instancia, se llevó a cabo una prueba de discos. Se emplearon cajas Petri esterilizadas a 15 psi y 121°C durante 20 min. Las cepas de *Escherichia coli (E. coli)* fueron reactivadas con agar nutritivo (AN), se colocaron en la incubadora durante 24 h a 37°C. Posteriormente, se preparó agar eosina azul de metileno (EMB) y se esterilizó en autoclave a 15 psi y 121°C, se sirvió el agar en cajas Petri estériles y se dejó solidificar, una vez solidificado se inoculó por arrastre la bacteria antes mencionada, para ello se tomó una muestra de la cepa reactivada, se diluyó con agua estéril y se utilizó un asa acodada para el tipo de inoculación mencionada. A su vez, se prepararon discos de papel filtro de 1 cm de diámetro donde se colocaron con ayuda de un mortero 1.5 mg de cada complejo metálico sintetizado anteriormente. Al finalizar de colocar los discos, las cajas se introdujeron en la incubadora durante 24 h a 37°C, pasado este tiempo las cajas Petri fueron analizadas mediante inspección visual del halo formado o la actividad antimicrobiana que se tuvo con cada complejo metálico que se utilizó. Las pruebas de discos con las bacterias grampositivas

(*Staphylococcus aureus*) se llevaron a cabo de la misma manera que con las *E. coli*, con la diferencia de haber utilizado agar nutritivo en lugar de EMB.

Para las pruebas de turbidimetría se preparó caldo lauril sulfato de sodio (CLS) y se colocaron 10 ml de éste en tubos de ensayo con tapa, se esterilizaron en autoclave a 15 psi y 121°C. Cuando los tubos se encontraron fríos se inocularon con *Escherichia coli* con asa recta por medio de agitación, a estos tubos se les colocaron 4, 8 y 12 mg de cada complejo metálico que presentó una mayor actividad antimicrobiana observada en la primera prueba, se colocaron en la incubadora durante 24 h a 37°C. Al mismo tiempo, se preparó agua peptonada y se agregaron 9 ml de ella en tubos de ensayo, los cuales fueron esterilizados en autoclave y también se preparó agar cuenta estándar (ACE) y se esterilizó en autoclave en las mismas condiciones utilizadas anteriormente, el agar se colocó en cajas Petri estériles y se dejó solidificar.

Pasado el tiempo para el crecimiento de la bacteria en los tubos de ensayo se analizaron visualmente y se seleccionó un tubo de cada complejo en el cual se observaba la menor turbidez, se les realizaron diluciones seriadas (1:10, 1:100,1:1000 y 1:10000) utilizando el agua peptonada, así mismo, se les realizaron análisis de ultravioleta visible. Posteriormente se inoculó cada dilución seriada en 2 cajas Petri con ACE, se introdujeron a la incubadora por 24 h y 37°C. Se realizó un conteo de las colonias presentes en cada caja y se hizo un promedio de las colonias presentes en las cajas inoculadas por la misma dilución seriada [5].

RESULTADOS

La Figura 2 presenta los resultados del análisis por espectroscopia de infrarrojo (IR). La síntesis se llevó a cabo en una sola etapa, sin embargo, los espectros muestran bandas características para los tipos de compuestos sintetizados, es decir, se confirma la obtención de las estructuras esperadas. A 1640 cm^{-1} aproximadamente se aprecian para ambos tipos de compuestos una banda característica, asociada a la vibración de tensión del enlace del grupo imino (-C=N). Esta banda se ve desplazada en comparación con los ligandos solos (1660 cm^{-1}), ya que la presencia del catión Fe(III) hace más rígido este enlace debido a la coordinación del catión. Por lo tanto, el desplazamiento observado de la banda indica que se formó la base de Schiff (ligando salen y saloph), además de confirmar la coordinación del catión Fe(III) a los átomos de N y O del centro de coordinación del ligando salen y el ligando saloph. Además, la ausencia de la banda amplia ensanchada en aproximadamente 3000 cm-1 debida a la vibración de tensión del enlace O-H indica que, si bien los ligandos están formados, ocurrió la coordinación del metal con los átomos de H. También es posible observar en el espectro bandas características por encima de los 1300 cm^{-1}, debidas a la vibración de tensión del enlace C-O proveniente del enlace del anillo aromático y el grupo OH en el aldehído de partida.

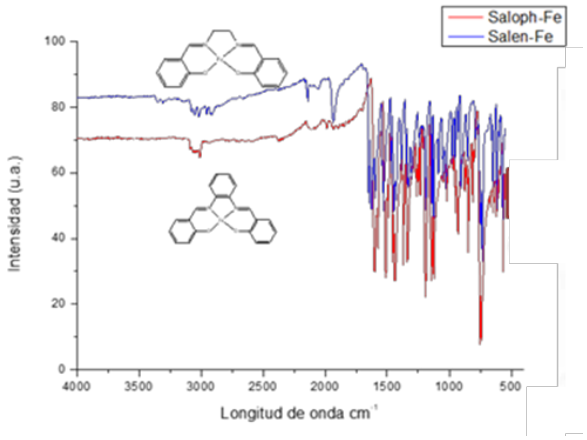


Figura 2. Espectro de infrarrojo para los complejos metálicos de bases de Schiff salen-Fe y saloph-Fe.

Por su parte, los espectros de ultravioleta-visible (Figura 3) muestran la transición electrónica debida a la unión del átomo de Fe con los átomos del sitio de coordinación de los ligandos (átomos de N y O), dicha transición aparece en aproximadamente 400 nm. Esto corrobora también que, aun cuando la reacción se llevó a cabo en una sola etapa, se logró la coordinación esperada del catión de Fe con los ligandos orgánicos.

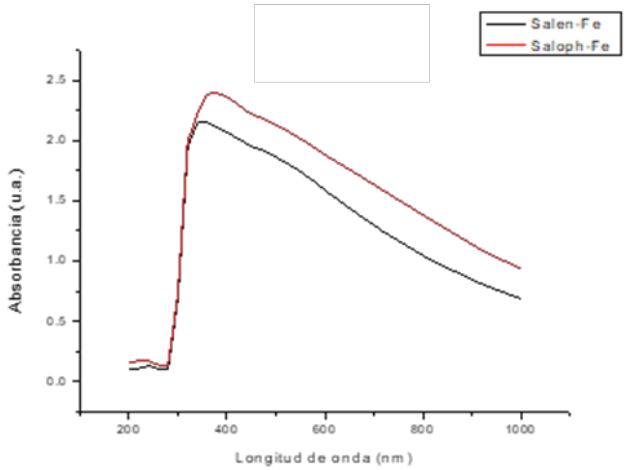


Figura 3. Espectro de ultravioleta-visible para los complejos metálicos de bases de Schiff salen-Fe y saloph-Fe.

Para la evaluación del potencial antimicrobiano, en la prueba de discos con la bacteria grampositiva se midieron los halos que presentaban los discos con el material sintetizado, obteniendo las medidas presentadas en la Tabla 1, lo cual se comprobó visualmente en las imágenes de la Figura 4.

Tabla 1. Medidas de los halos de inhibición formados con los complejos de Fe y la bacteria grampositiva.

Compuesto	Medida de halo (mm)	Observaciones
Saloph-Fe	5	Se observo una coloración alrededor del disco, lo que indica que la bacteria metabolizó dicho compuesto.
Salen-Fe	-	El compuesto no presentó ningún efecto en el crecimiento de la bacteria.

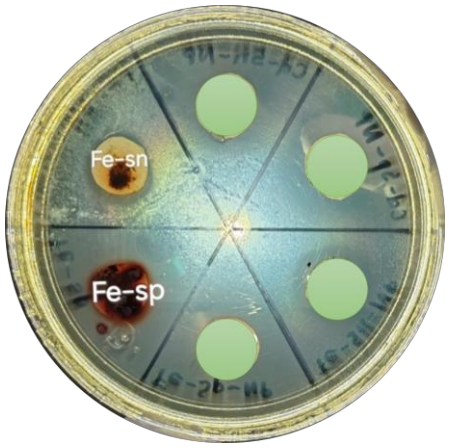


Figura 4. Prueba de discos con los complejos de Fe y la bacteria grampositiva.

Por su parte, para la evaluación del potencial antimicrobiano en la prueba de discos con la bacteria gramnegativa se midieron los halos que presentaban los discos con el material sintetizado, obteniendo las siguientes medidas presentadas en la Tabla 2, comprobándose visualmente en la Figura 5.

Tabla 2. Medidas de los halos de inhibición formados con los complejos de Fe y la bacteria gramnegativa.

Compuesto	Medida de halo (mm)	Observaciones
Saloph-Fe	4.5	-------
Salen-Fe	5	-------



Figura 5. Prueba de discos con los complejos de Fe y la bacteria gramnegativa.

Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de espectroscopía ultravioleta-visible a una longitud de onda de 600 nm, con el propósito de medir la absorbancia a diferentes concentraciones de los compuestos. Se obtuvieron los resultados de la Tabla 3.

Tabla 3. Absorbancia de las pruebas de turbidimetría.

	Concentraciones		
Compuesto	4 mg	8 mg	12 mg
Saloph-Fe	1.8	1.586	1.881
Salen-Fe	1.876	2.043	2.266

Una vez realizado la prueba de turbidimetría y realizado el conteo de colonias se obtuvieron los siguientes resultados presentados en la Tabla 4:

Tabla 4. Conteo de colonias de las bacterias evaluadas. Se muestra la cantidad de UFC/mL.

Compuesto	*No. De colonias en disolución 1:10,000*	*No. De colonias en disolución 1:1000*	*No. De colonias en disolución 1:100*	*No. De colonias en disolución 1:10*	*Total de colonias (UFC/mL)*
Saloph-Fe	56	68	91	87	45,500
Salen-Fe	6	34	86	306	43,000

Los resultados parecen ser interesantes, dejando abierta la posibilidad de hacer cambios en la estructura de los complejos metálicos (grupos funcionales orgánicos) para poder lograr la eficiencia deseada. Cabe recordar el mecanismo de acción de los agentes antimicrobianos. Los agentes antimicrobianos, actúan de diferentes maneras para inhibir el crecimiento de las bacterias, algunos

de los mecanismos que inhiben el crecimiento de las bacterias, según Calvo y Martínez, son los siguientes:

• Daños a la pared celular: algunos materiales antimicrobianos y antibióticos, atacan la pared celular, esta protege a la bacteria de la presión osmótica, los antimicrobianos de este tipo inhiben la síntesis de precursores de peptidoglucano (compuestos de la pared celular), llevando a un estallido celular. Estos materiales suelen ser más efectivos en bacterias Gram positivas por su mayor riqueza en peptidoglucano.

• Inhibición en síntesis de proteínas: en este caso los antimicrobianos atacan los ribosomas bacterianos encargados de la síntesis de proteínas, los antibióticos se unen a los ribosomas, evitando la síntesis proteica.

• Alteración de la membrana citoplasmática: esta membrana es importante ya que interviene en los procesos de difusión y transporte activo, controla la composición interna de la célula. Los antimicrobianos alteran su estructura, modifican su permeabilidad provocando la salida de elementos esenciales para la vida bacteriana o dando entrada a otros elementos que alteran el metabolismo, llevando a una muerte celular.

• Inhibición en la síntesis de ácidos nucleicos: El genoma bacteriano contiene la información para la síntesis proteica a través de ARN mensajero, a partir de un molde de ADN, los antimicrobianos impiden la replicación de ADN o la transcripción de ARN, lo que evita la multiplicación bacteriana.

Prueba de discos Gram positivos
Al observar a detalle los resultados obtenidos en la prueba de discos de la Figura 4, se puede observar que los compuestos metálicos salen-Fe y saloph-Fe no mostraron un resultado positivo al inhibir el crecimiento de la bacteria o bien indicaron que se metabolizo el medio al presentar un cambio de color de este alrededor del disco.

Prueba de discos Gram negativo
De acuerdo con la imagen de la Figura 5, la cual corresponde a la prueba de discos de la bacteria gramnegativa de *E. coli* muestra que los compuestos de saloph-Fe, salen-Fe, presentaron halos de inhibición de 4.5mm y 5mm, respectivamente. Lo cual nos indica que, a diferencia de la prueba anterior, los compuestos metálicos de Fe poseen una mejor actividad antimicrobiana en dicha bacteria.

Turbidimetría y soluciones seriadas
Tomando en cuenta los resultados de las pruebas de disco se seleccionaron los compuestos que indicaron un mayor efecto en la inhibición microbiana de las bacterias, destacando así el compuesto complejo metálico saloph-Fe. Al someter dicho compuesto a la prueba de turbidimetría en tres ensayos con concentraciones diferentes de los compuestos (4mg, 8mg y 12mg) no se obtuvieron los resultados esperados ya que se esperaría que a mayor concentración menor sería la cantidad de absorbancia (la cual nos indicaría una menor cantidad de bacterias presentes).

Esto se evidencia ya que en el caso de del compuesto saloph-Fe en concentraciones diferentes de 4mg, 8mg y 12mg se obtuvieron los siguientes resultados: 1.619, 1.638 y 1.871 respectivamente a una longitud de onda de 600nm. Para el compuesto salen-Fe presentaron los siguientes resultados: 1.876, 2.043 y 2.266. Debido a estos resultados inconclusos se sugiere llevar a cabo nuevamente la prueba con el fin de descartar cualquier tipo de erro que se pudo llegar a cometer durante la ejecución de esta.

En cuanto a las diluciones seriadas tal y como se muestra en la tabla 3 se emplearon las mismas concentraciones de compuestos para poder llevar a cabo el conteo de colonias y haciendo uso de la NOM-110-1994 se obtuvieron los siguientes resultados: para el caso de saloph-Fe se calculó un

total de 45,000 UFC/mL, por otra parte, el compuesto salen-Fe se obtuvo u resultado de 43,000 UFC/mL, dichos resultados se obtuvieron al multiplicar el número de colonias por el factor de dilución y dividirlo por 0.1 nos indica que están dentro de los parámetros establecidos por la norma.

CONCLUSIONES

En primera instancia, se corroboró que el método de síntesis empleado en un solo paso y con radiación por microondas es adecuado para la obtención de los complejos metálicos de bases de Schiff, tal y como lo confirman los resultados obtenidos por las espectroscopías de IR y UV-Vis. Las microondas son capaces de interactuar con cada una de las moléculas con las que entran en contacto, debido a la polaridad de estas, lo que genera más energía cinética en las moléculas al tratar de alinearse con el campo de la onda electromagnética del microondas, ayudando así a que se produzcan más choques entre las moléculas, produciendo más enlaces nuevos. Las pruebas antimicrobianas indican que *Staphylococcus aureus* es capaz de metabolizar a los complejos metálicos de Fe evaluados. En contra parte, *E. coli* tuvo crecimiento casi nulo en presencia de estos compuestso de Fe. Aunque más pruebas son necesarias, los resultados demuestran que es viable profundizar en el uso de complejos metálicos de Fe tipo salen contra bacterias gramnegativas.

BIBLIOGRAFÍA

1. P. G. Cozzi, “Metal-Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects”, Chemical Society Reviews, Vol. 33, 2004, pp. 410-421.
2. W. A. Zoubi, “Synthesis and antioxidant activities of Schiff bases and their complexes: a review”, J. Coord. Chem., Vol. 66,13, 2013, pp. 2264-2289.
3. W. A. Zoubi, “Organometallic complexes of Schiff bases: Recent progress in oxidation catalysis”, J. Organom. Chem., Vol. 822, 2016, pp. 173-188.
4. Mendoza, F.; Reguera, E.; Ruíz, R., “- Proceso de obtención de ligandos orgánicos de bases de Schiff sintetizadas por microondas”, MX/a/2018/015147, 413990. Patente otorgada el 10 de junio de 2024.
5. Cabrera, C., Gómez, R.; Zuñiga, A, “La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación”, Colombia Médica, Vol. 32, No 2, 2007.

GESTIÓN DE RESIDUOS CASO: ESCUELA DEL NIVEL MEDIO SUPERIOR DE GUANAJUATO

Yolanda Mahely Morales Padilla, Emilia Silva Lozano, Gladys Morales López, José Juan Carreón Barrientos.

Escuela del Nivel Medio Superior de Guanajuato. Universidad de Guanajuato.
mpadilla@ugto.mx

RESUMEN

Los Sistemas de Manejo Ambiental (SMA), constituyen estrategias que incorporan, mediante diversos instrumentos institucionales, criterios ambientales en el funcionamiento cotidiano de una empresa o institución, de tal modo que su desempeño ambiental (resultados medibles del estudio de manejo sustentable relativo al control de los aspectos ambientales de una organización basados en su política ambiental, sus objetivos y metas) mejore al transcurrir el tiempo[1]. La política institucional de la sustentabilidad de la Universidad de Guanajuato para medir el desempeño ambiental está basada en la metodología de las buenas prácticas ambientales, que en materia de residuos están orientadas a fomentar el consumo responsable y disminuir la generación de estos. En la Escuela del Nivel Medio Superior de Guanajuato (ENMS Guanajuato) se generan diferentes tipos de residuos: residuos sólidos urbanos, residuos de manejo especial y residuos químicos. El objetivo de este trabajo es dar a conocer los resultados del manejo adecuado de los residuos bajo la metodología de las buenas prácticas ambientales y la normatividad ambiental vigente en materia de residuos.[2] Respecto al manejo de residuos sólidos se promueve la separación de papel, cartón, aluminio (latas) y PET para lo cual se cuenta con estaciones de separación de este tipo de residuos ubicadas en lugares estratégicos de la ENMS, posteriormente son enviados al centro de acopio de la Universidad para su cuantificación y destino final a empresas recicladoras. Las lámparas fluorescentes y pilas se acopian en un lugar en el que se almacenan temporalmente hasta ser enviados al centro de acopio de la Universidad de Guanajuato para su cuantificación y disposición final en empresa autorizada. Respecto a los residuos generados en el laboratorio de química estos son identificados, envasados, etiquetados y almacenados temporalmente hasta su destino final. Durante el año 2024, se lograron reciclar 492.95 kilogramos de papel, 289.53 kilogramos de cartón, 23.24 kilogramos de aluminio y 160.58 kilogramos de PET, así mismo se acopiaron 8.28 Kilogramos de pilas y 21.5 kilogramos de lámparas fluorescentes, con relación a los residuos químicos, se generaron 10.745 litros de residuos en solución y 5 kilogramos de residuos sólidos, cabe remarcar que todos estos resultados están basados en la metodología de las buenas prácticas ambientales. A manera de conclusión y de acuerdo con la anterior información, se evitó enviar al relleno sanitario de la ciudad de Guanajuato aproximadamente 1 tonelada de residuos sólidos (966.3 kilogramos), también se logró una disminución 7 litros de residuos líquidos químicos y 10 kilogramos de residuos sólidos químicos.

INTRODUCCIÓN

El Plan de Desarrollo Institucional 2020-2030 de la Universidad de Guanajuato en el eje de gestión sustentable reconoce a la sustentabilidad como un eje transversal y multidisciplinario, que fomenta la comprensión, participación y conciencia sobre la modificación de patrones de conducta en beneficio de las generaciones futuras. Para lo anterior se plantean diversas estrategias para impulsar acciones a favor del cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). A nivel institucional, a través de la coordinación de gestión ambiental se establecen las acciones para el desarrollo de buenas prácticas ambientales y se facilitan la coordinación y mecanismos para las certificaciones ambientales de las que la universidad sea parte. Muy importante de mencionar es que se privilegian las participaciones de estudiantes y profesores en acciones prácticas y de formación de la comunidad UG, encaminadas a mejorar el desempeño ambiental de la Universidad de Guanajuato con proyectos de formación y participación estudiantil.

Lo anterior permite a cada institución de la universidad a establecer proyectos específicos sobre temas prioritarios como residuos sólidos, agua y energía.[3]

Específicamente en el tema de residuos**, e**n la ENMS Guanajuato se generan residuos sólidos urbanos, de manejo especial y químicos. Los dos primeros tipos de residuos se generan debido a las actividades diarias en la Escuela y los residuos químicos son generados en el laboratorio de docencia e investigación. De esta manera la política institucional de la sustentabilidad de la Universidad de Guanajuato para medir el desempeño ambiental en materia de residuos está orientada a fomentar el consumo responsable y disminuir la generación de estos. Así mismo se debe considerar el cumplir con la normatividad vigente para el manejo de cada tipo de residuo.

Para dar cumplimiento a lo anterior en la ENMS Guanajuato se han establecido dos proyectos:

1. Las Buenas Prácticas Ambientales, que son un conjunto de acciones o actividades que permiten la reducción en la generación de residuos. En este proyecto se privilegia la participación de docentes como líderes del sistema de manejo ambiental.
2. Servicio social, que mediante proyectos enfocados a tratar temáticas ambientales se fomenta la educación ambiental y participación de alumnos. El proyecto en materia de residuos sólidos urbanos se denomina: Operación del centro de acopio.

En este trabajo se dan a conocer los resultados del manejo adecuado de los residuos bajo la metodología de las buenas prácticas, servicio social universitario y la normatividad ambiental vigente en materia de residuos.

PARTE EXPERIMENTAL

El manejo de residuos se realizó mediante métodos cualitativos y cuantitativos de manera específica para cada tipo de residuo.

- **Residuos sólidos urbanos y de manejo especial.**

El manejo de residuos sólidos y de manejo especial se lleva a cabo mediante la metodología de buenas prácticas ambientales basadas en el principio del uso responsable de materiales e insumos, teniendo como indicador ambiental la cantidad de residuos que se evita enviar al relleno sanitario. La operación del centro de acopio se lleva a cabo con estudiantes de servicio social supervisados por la encargada del sistema de manejo ambiental de la institución.

La metodología incluye las siguientes etapas:

1. Selección de residuos sólidos urbanos para su reciclo:

Papel
Cartón
Latas vacías de bebidas
PET

2. Ubicación en áreas estratégicas, una estación por piso, de estaciones de separación de residuos. En la Figura 1 se muestra la estación ubicada en el laboratorio de química.



Figura 1. Estación de separación de residuos sólidos urbanos.

3. Recolección periódica de los residuos. La Figura 2 muestra a estudiantes de servicio social realizando la recolección.



Figura 2. Estudiantes de servicio social en la recolección de residuos.

4. Registro en bitácora de cantidad en kilogramos de cada residuo recolectado. En la Tabla 1 se muestra el registro correspondiente al primer semestre enero junio de 2024.

	Tipo de residuo en kilogramos			
Año 2024	**PET**	**Papel**	**Cartón**	**Latas**
Enero	0	33.33	73.48	3.32
Febrero	11.8	30.89	26.5	0.2
Marzo	9.2	56.12	27.105	1.1
Abril	45.92	57.5	40.565	5.38
Mayo	12.54	29.66	11.65	0
Junio	13.2	6.5	7.2	0

Tabla1. Registro correspondiente al semestre enero-junio 2014 de los residuos sólidos urbanos acopiados para su reciclo.

5. Almacenamiento temporal en el centro de acopio. El centro de acopio de muestra en la Figura 3.



Figura 3. Centro de acopio de la ENMS Guanajuato.

6. Envío al centro de acopio de la Universidad de Guanajuato para su destino a empresa recicladora. En la Figura 4 se muestra en resumen el manejo de estos residuos.



Figura 4. (1) Recolección y clasificación del material. (2) Pesado y empaquetado. (3) Bitácora y asistencia de estudiantes. (4) Disposición final de los residuos sólidos urbanos en el centro de acopio de la Universidad de Guanajuato.

Los residuos de manejo especial generados en la ENMS Guanajuato son lámparas fluorescentes y pilas. Estos se reciben periódicamente en el centro de acopio y se registra su peso en la bitácora correspondiente, se almacenan temporalmente para posteriormente ser enviados al centro de acopio de la Universidad de Guanajuato junto con los residuos sólidos urbanos.

- **Residuos químicos**

Los residuos químicos son generados en el laboratorio de docencia e investigación. Su manejo está sujeto a la minimización de residuos. En este sentido las prácticas que se realizan han sido modificadas en cantidad de reactivos a utilizar.

Una vez generado el residuo es identificado, envasado, etiquetado, registrado en bitácora y almacenado temporalmente en un almacén hasta su destino final en empresa autorizada para el manejo de residuos químicos.

1. La identificación de cada residuo se hace de acuerdo en la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005[5], considerando los siguientes códigos de peligrosidad de los residuos enlistados en la Tabla 2.

Característica	Código de Peligrosidad de los residuos
Corrosividad	C
Reactividad	R
Explosividad	E
Toxicidad	T
T ambiental	Te
T aguda	Th
Característica	**Código de Peligrosidad de los residuos**
T crónica	Tt
Inflamabilidad	I
Biológico-infeccioso	B

Tabla 2. Código de peligrosidad de residuos.

2. Una vez identificado el residuo de acuerdo con su peligrosidad se envasa en recipientes de vidrio considerando como máximo volumen un 80% del total del volumen del recipiente.

La Figura 4 muestra un ejemplo de etiqueta para un residuo generado.

<table>
<tr><td>UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO</td><td colspan="7">RESIDUOS PELIGROSOS  </td></tr>
<tr><td>Campus/CNMS:</td><td colspan="7">Escuela del Nivel Medio Superior de Guanajuato</td></tr>
<tr><td>No de recipiente:</td><td colspan="7"></td></tr>
<tr><td>Laboratorio/Lugar de generación de RP:</td><td colspan="7">Laboratorio de Química</td></tr>
<tr><td>Nombre del Responsable:</td><td colspan="7">Q.F.B. Yolanda Mahely Morales Padilla</td></tr>
<tr><td>Nombre del RP:</td><td colspan="7">Residuos de Ag</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Características de peligrosidad</td><td>C</td><td>R</td><td>E</td><td>T</td><td>I</td><td>M</td></tr>
<tr><td>X</td><td></td><td></td><td>X</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Valor de pH :</td><td colspan="7"></td></tr>
<tr><td>Características Físicas:</td><td colspan="2">Líquido</td><td>X</td><td colspan="2">Sólido</td><td></td></tr>
<tr><td>Cantidad de RP:</td><td colspan="2">Volumen (mL)</td><td>500</td><td colspan="2">Masa (g, Kg)</td><td></td></tr>
<tr><td>Fecha de generación:</td><td colspan="7"></td></tr>
<tr><td>Fecha de retiro:</td><td colspan="7"></td></tr>
</table>

Figura 4. Ejemplo de etiqueta de identificación de residuo químico.

3. Registro en bitácora. Una vez que el residuo es identificado envasado y etiquetado se registra en la bitácora de generación. La Tabla 3 muestra un ejemplo del registro de 10 residuos.

Residuos Peligrosos Generados											
		Características Físicas			Características de peligrosidad						Cantidad mensual/ anual (Kg o mL)
No	Nombre del RP	Sólido	Líquido	Otro	C	R	E	T	I	B	
1	Residuos de hexano		X		X				X		150
2	Residuos aromáticos		X		X				X		10
3	Residuos de aceite		X		X				X		150
4	Residuos de acetona		X		X				X		200
5	Residuos orgánicos en agua		X		X				X		300
6	Residuo acuoso ácido		X		X				X		400
7	Residuos orgánicos en etanol		X		X				X		500
8	Residuos de alcoholes		X		X				X		400
9	Residuos de $AlCl_3$		X		X			X			200
10	Residuos de $BaSO_4$ en H_2SO_4		X		X			X			300

Tabla 3. Bitácora de generación de residuos químicos

4. Los recipientes con residuos se ponen en cajas para su almacenamiento temporal hasta su destino final. La Figura 5 muestra una caja lista para ser enviada al almacén temporal de residuos químicos.



Figura 5. Almacenamiento temporal de residuos químicos

RESULTADOS

Los resultados del acopio de los residuos sólidos urbanos y de manejo especial durante el año 2024 se muestra en la Tabla 4.

Año 2024	Tipo de residuo acopiado en kilogramos						Total de residuos acopiados
	PET	Papel	Cartón	Latas	Pilas	Lámparas	
Total por tipo de residuo	160.58	492.95	289.53	23.24	8.28	21.5	996.08

Tabla4. Resultado de cantidades de residuos sólidos urbanos acopiados durante 2024.

Respecto a la generación de residuos químicos en el año 2024 se generaron 10.745 litros de residuos en solución y 5 kilogramos de residuos sólidos. La Figura 5 muestra la disminución en la generación de estos residuos con respecto al año 2023.

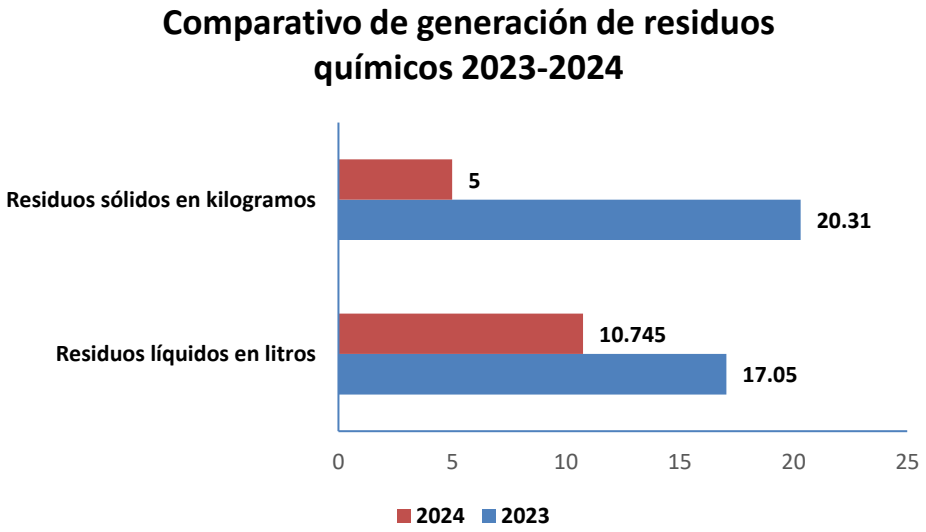


Figura 6. Comparativo de generación de residuos químicos 2023-2024

Cabe señalar que en este trabajo solo se presentan los resultados derivados del manejo de residuos, sin embargo el Sistema de Manejo Ambiental implementado en la ENMS Guanajuato, también contempla los rubros de agua, energía y áreas verdes.

CONCLUSIONES

Derivado del manejo de residuos y alineados a la planeación estratégica de nuestra institución podemos concluir que realizamos acciones locales con impacto global contribuyendo al consumo responsable realizando acopio y reciclo de residuos sólidos urbanos, de manejo especial y con la disminución y destino final adecuado de residuos químicos. Específicamente contribución al objetivo de desarrollo sostenible 12 en lo referente a lograr la gestión ecológicamente racional de los desechos a lo largo de su ciclo de vida para reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente, así como el de reducir considerablemente la generación de desechos mediante actividades de prevención, reducción, reciclado y reutilización.

BIBLIOGRAFÍA

1. H. Villanueva Hernández, “Diseño de un sistema de manejo ambiental en una dependencia de la Universidad Autónoma de Nuevo León”, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, 2014, pp. 3.
2. “Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos”. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 8 de octubre de 2003.
3. C.N. Martínez-Fernández, E. J. G. Gaudiano, “Las políticas para la sustentabilidad de las Instituciones de Educación Superior en México: entre el debate y la acción”, en *Revista de la educación superior*, *44*(174), 61-74.
4. T. Kreis, “Speckle Metrology,” in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
5. Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de residuos peligrosos.

EVALUACIÓN DE RIESGOS ECOLÓGICOS POR MEDIO DE INDICADORES GEOQUÍMICOS EN EL ANP LAGUNA DE MECOACÁN, PARAÍSO, TABASCO

Ilse Irene Hernández Mendoza [1], María Antonia Lunagómez Rocha[2], Hermicenda Pérez Vidal[3], Ciro Eliseo Márquez Herrera[4]

[1,2,3]División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. [4]Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.
232A28001@alumno.ujat.mx

RESUMEN

Los manglares son ecosistemas costeros altamente productivos que se localizan en zonas intermareales tropicales y subtropicales, donde brindan servicios ecosistémicos como lo son la protección costera, la captura de carbono y la filtración de contaminantes (Valiela et al., 2001; Lin, 1999). Gracias a su estructura radicular, alto contenido de materia orgánica y procesos diagenéticos, actúan como sumideros eficientes de metales pesados y metaloides (Furukawa et al., 1997; Kristensen et al., 2008; Marchand et al., 2011a; Wang et al., 2011).

No obstante, su cercanía a zonas urbanas e industriales los hace vulnerables a la contaminación. En el Ejido Aquiles Serdán (Paraíso, Tabasco), la proximidad a la Refinería Olmeca–Dos Bocas plantea un riesgo potencial de acumulación de estos elementos contaminantes. El objetivo del presente estudio fue evaluar la contaminación en sedimentos superficiales mediante índices geoquímicos para evaluar la magnitud de la contaminación.

En enero de 2024 se recolectaron 30 muestras por triplicado en cuatro zonas con distintos usos del suelo. Las muestras fueron sometidas a digestión ácida asistida por microondas y analizadas por ICP-OES. Los resultados mostraron enriquecimiento moderado a severo de Cr, Ni y V, especialmente en zonas intervenidas, superando límites de NOAA y CEQG. Aunque el riesgo ecológico general fue bajo, se recomienda un monitoreo continuo para prevenir impactos mayores en este ecosistema estratégico.

INTRODUCCIÓN

Las zonas costeras mexicanas enfrentan una creciente presión antropogénica derivada de actividades urbanas, industriales, petroquímicas y agrícolas, cuyos desechos impactan negativamente la calidad ecológica de los ecosistemas (Jayaprakash et al., 2015). Los manglares, como sistemas intermareales caracterizados por condiciones anaeróbicas, elevada materia orgánica y sulfuros actúan como sumideros naturales de metales pesados, reteniéndolos eficientemente a través de procesos como adsorción, intercambio iónico, precipitación, complejación y floculación (Caccia et al., 2003; Zhong, 2006; Fernández-Cadena et al., 2020; Gómez-Bernal et al., 2021).

Estos procesos hacen que los sedimentos funcionen como archivos geoquímicos que reflejan tanto la calidad ambiental del ecosistema como los impactos de origen natural y antrópico. De hecho, se ha reportado que concentraciones elevadas de metales pesados en sedimentos superficiales contribuyen a la pérdida global de cobertura de manglares (Fernandes et al., 2012), siendo las fuentes más frecuentes los vertidos industriales, agroindustrias, escorrentía agrícola, lixiviados de vertederos, urbanización acelerada y derrames de hidrocarburos (Bodin et al., 2013). Por ello, la calidad de los sedimentos se considera un indicador del estado ecológico de los manglares y una herramienta útil para su evaluación, gestión y conservación (Zhang et al., 2014; Li et al., 2022).

En el sureste de México, los manglares del Ejido Aquiles Serdán, ubicado en el municipio de Paraíso, Tabasco, representan un ecosistema estratégico que cumple funciones ecológicas críticas como la protección del litoral, el secuestro de carbono y la depuración de contaminantes. Sin embargo, su

cercanía a fuentes de contaminación relevantes, como la Refinería Olmeca–Dos Bocas (Fig. 1) los hace particularmente vulnerables a la acumulación de metales pesados y metaloides.



Figura 1 Refinería Olmeca-Dos Bocas

TEORÍA

La geoquímica ambiental permite identificar y evaluar la magnitud de la contaminación en sedimentos mediante indicadores específicos que ayudan a estimar los niveles de metales pesados, su origen y sus posibles efectos ecológicos. Entre estos indicadores destacan el índice de geoacumulación (Igeo), el factor de enriquecimiento (EF), el factor de contaminación (CF), el grado de contaminación (Cd), el grado de contaminación modificado (mCd), entre otros. Asimismo, se calculan los factores de bioconcentración (BCF) y de translocación (TF), útiles para comprender los mecanismos de absorción y movilidad de los metales en diferentes especies de mangle.

Estos índices proporcionan una aproximación cuantitativa para evaluar la calidad ambiental de los sedimentos y el posible riesgo ecológico. No obstante, la precisión de estas evaluaciones depende del uso adecuado de técnicas analíticas confiables, como ICP-OES, del empleo de materiales de referencia certificados, y de la implementación de monitoreos constantes en zonas vulnerables (Abrahim & Parker, 2008; Saher & Siddiqui, 2019).

El **índice de geoacumulación (Igeo)**, propuesto por Müller (1969), estima la acumulación de un metal comparando su concentración actual con un valor de fondo geológico:

$$Igeo = log_2\left(\frac{C_n}{1.5 \times B_n}\right) \quad (1)$$

donde C_n es la concentración del metal en la muestra y B_n es la concentración de fondo, ya sea regional o tomada de la Corteza Continental Superior (UCC) (Taylor & McLennan, 1995). El factor 1.5 compensa variaciones naturales en el entorno geológico.

El **factor de enriquecimiento (EF)** permite evaluar el grado de contaminación y distinguir entre fuentes naturales y antrópicas (Birth, 2003). Se calcula normalizando la concentración del metal y su valor de fondo mediante un elemento de referencia, comúnmente el hierro (Fe) o el aluminio (Al):

$$EF = \frac{\left(\frac{C_n}{C_{Al}}\right)_s}{\left(\frac{B_n}{B_{Al}}\right)_B} \quad (2)$$

donde C_n es la concentración del metal en la muestra (mg/kg), C_{Al} es la concentración del elemento de referencia (Al) en la muestra (mg/kg), B_n es la concentración de fondo del metal (mg/kg) y B_{Al} es la concentración de fondo del metal de referencia (Al) (mg/kg).

El **factor de contaminación (CF)** es una razón entre la concentración de un contaminante en la muestra y su valor de fondo (Saher & Siddiqui, 2019):

$$CF_i = \frac{C_i}{B_i} \quad (3)$$

El **grado de contaminación (Cd)** representa la sumatoria de todos los CF calculados para los elementos analizados y proporciona una visión global del nivel de contaminación (Hakanson, 1980):

$$Cd = \sum_{i=1}^{n} CF_i \quad (4)$$

El **grado de contaminación modificado (mCd)**, propuesto por Abrahim y Parker (2008), permite estandarizar el Cd dividiéndolo por el número total de contaminantes considerados:

$$mCd = \sum_{i=1}^{n} \frac{CF_i}{n} \quad (5)$$

Este valor facilita la comparación entre zonas con diferente número de elementos analizados, permitiendo establecer patrones de contaminación relativos.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se llevó a cabo en el Ejido Aquiles Serdán, ubicado en el municipio de Paraíso, Tabasco, donde se identificaron cuatro zonas con diferentes condiciones de uso y cobertura vegetal: zona reforestada, zona regenerada, zona agrícola y zona de reserva natural (Fig. 2). En enero de 2024, se recolectaron muestras superficiales de sedimentos (0–5 cm) por triplicado en cada zona, utilizando herramientas plásticas libres de contaminantes y siguiendo una estrategia de muestreo estratificada.



Figura 2. Muestreo de sedimentos en la zona de manglar del Ejido Aquiles Serdán

Las muestras fueron transportadas al laboratorio en condiciones controladas y sometidas a un pretratamiento físico que consistió en secado en estufa a 90 °C durante 24 horas, tamizado con malla de 2 mm y homogenización mecánica para garantizar la representatividad del material (Fig. 3).



Figura 3 Preparación física de muestras (secado)

Posteriormente, se realizó una digestión ácida asistida por microondas utilizando una mezcla de ácido nítrico y ácido clorhídrico en proporción 3:1 (v/v), de acuerdo con el método EPA 3051A (Fig. 4). La digestión se llevó a cabo en un sistema cerrado de alta presión con control de temperatura y tiempo.



Figura 4 Preparación química (digestión asistida por horno de microondas)

La cuantificación de metales pesados (Cr, V, Zn y Ni) se realizó mediante espectroscopía de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), utilizando un equipo PerkinElmer AVIO 500 acoplado a un nebulizador ultrasónico para mejorar la sensibilidad analítica (Fig. 5). La exactitud del análisis se validó mediante el uso del material de referencia certificado Montana Soil II (NIST® SRM® 2710a).

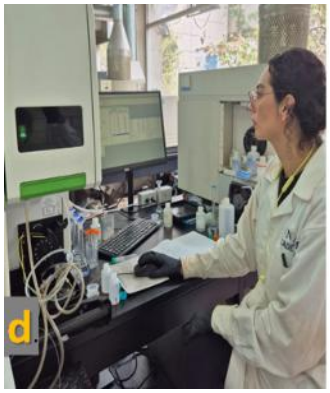


Figura 5 Determinaciones de concentraciones mediante espectroscopía de emisión óptica (ICP-OES)

Finalmente, se calcularon diversos índices geoquímicos (Igeo, EF, Cd y mCd) y se aplicaron análisis estadísticos, incluyendo ANOVA y pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis), con el fin de evaluar diferencias significativas entre zonas y caracterizar el grado de contaminación antes de la entrada en operación de la Refinería Olmeca–Dos Bocas.

RESULTADOS

Se observaron diferencias notables entre las zonas estudiadas. Los elementos con mayor concentración fueron Cr, V, Ni y Zn, con valores medios que en algunas zonas superaron los criterios de la norma mexicana NOM-147 SEMARNAT V> 78 mg/kg en zonas donde hay presencia de manglar.

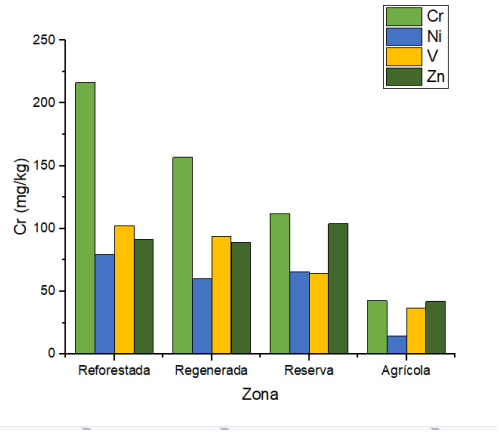


Figura 6. Concentraciones totales (mg/kg) de los elementos contaminantes mayoritarios en los sedimentos de las cuatro zonas del Ejido Aquiles Serdán

El índice de geoacumulación Igeo mostró que no hay contaminación por V en las cuatro zonas a pesar de tener la concentración total por encima de la NOM-147-SEMARNAT, Sin embargo para el resto de los elementos mayoritarios, existe una ligera transición hacia lo poco contaminado de acuerdo con este índice, particularmente en la zonas con presencia de manglar, como es Ni, y Zn y Cr.

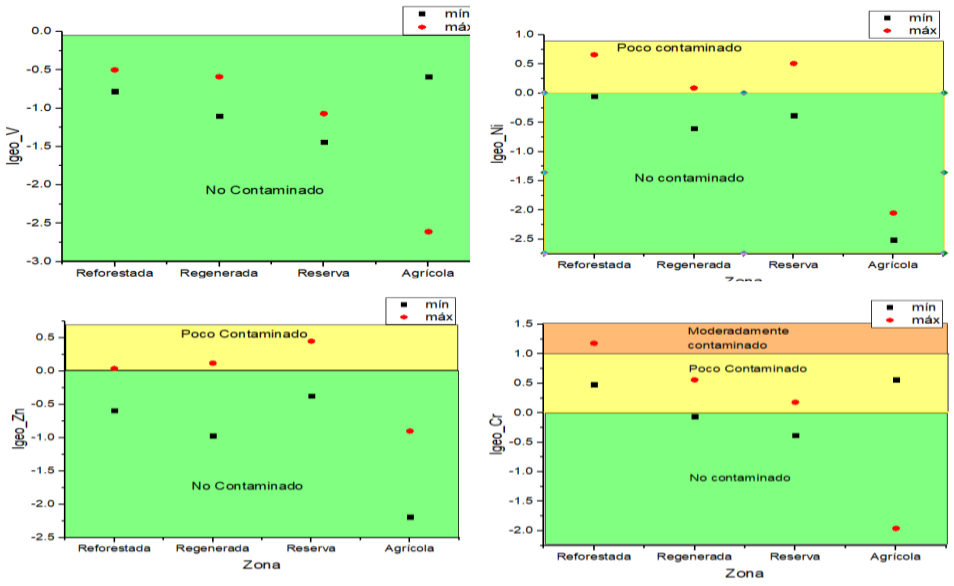


Figura 7 Índices de geoacumulación de los elementos mayoritarios en los sedimentos de las cuatro zonas del Ejido Aquiles Serdán.

El factor de enriquecimiento nos indica que ya hay enriquecimiento de moderado a severo para los elementos Cr>Zn>Ni>V en las cuatro zonas. El Cr se muestra mayormente enriquecido en la zona de reforestación, el Zn y V en la zona agrícola y el Ni en la zona de reserva.

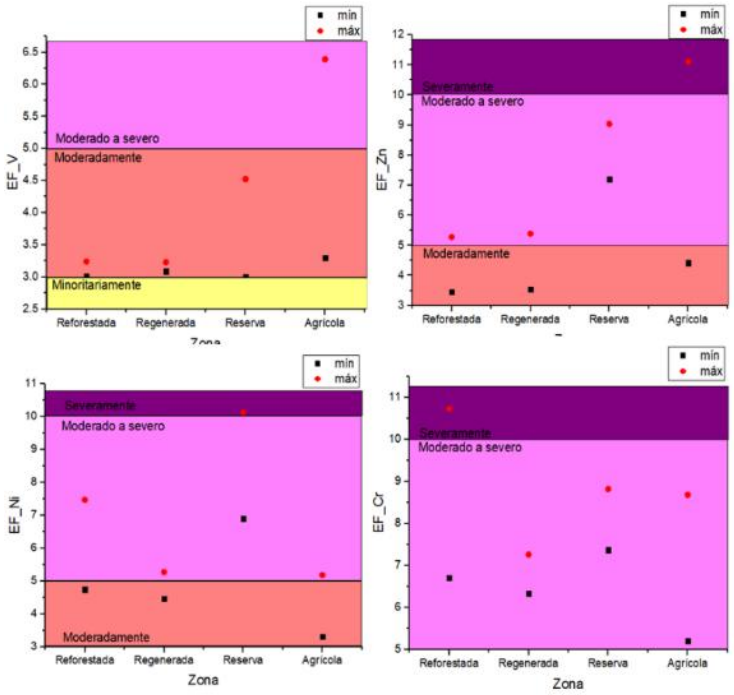


Figura 8 Factores de enriquecimiento de los elemento mayoritarios encontrados en sedimentos en el Ejido Aquiles Serdán.

Sin embargo, los factores de contaminación (Cd y mCd) que consideran la contribución de todos los contaminantes presentes, nos indican que se encuentran de bajo a muy bajo grado de contaminación todas las zonas del Ejido Aquiles Serdán.

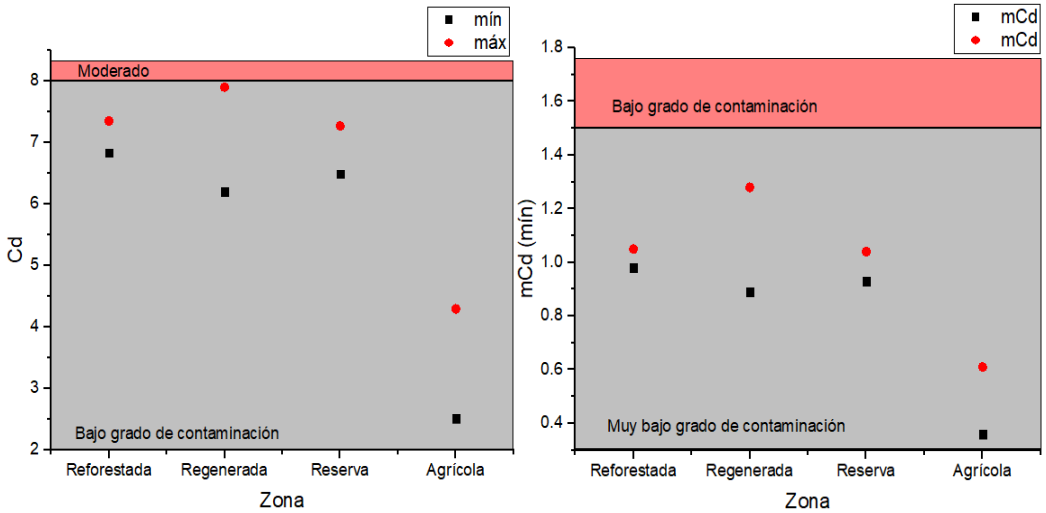


Figura 9. Factres de contaminación (Cd) y contaminación modificado (mCd) de las cuatro zonas del Ejido Aquiles Serdán.

CONCLUSIONES

Los índices geoquímicos aplicados en este estudio demostraron ser herramientas efectivas para evaluar el grado de contaminación por metales pesados en los sedimentos del Ejido Aquiles Serdán. Los resultados evidenciaron un enriquecimiento de moderado a severo en cromo Cr, Ni y Zn en las zonas donde hay presencia de manglar lo que sugiere una mayor susceptibilidad de estas áreas a la acumulación de metales debido a sus características edáficas y al posible arrastre de contaminantes desde fuentes antrópicas cercanas.

A pesar de ello, el riesgo ecológico general, determinado mediante los índices aplicados, se mantuvo en niveles de bajo a muy bajo. Esto indica que, aunque existen señales de contaminación localizada, el ecosistema aún conserva una capacidad amortiguadora significativa frente a los impactos actuales.

Estos hallazgos constituyen una línea base crítica para el establecimiento de un programa de monitoreo ambiental sistemático, especialmente relevante ante la inminente operación de la Refinería Olmeca–Dos Bocas. La implementación de un seguimiento periódico permitirá detectar oportunamente cualquier variación en las concentraciones de metales pesados a lo largo del tiempo, facilitando acciones de prevención, mitigación y conservación en este ecosistema prioritario de manglar.

BIBLIOGRAFIA

Abrahim, G. M. S., & Parker, R. J. (2008). Assessment of heavy metal enrichment factors and the degree of contamination in marine sediments from Tamaki Estuary, Auckland, New Zealand. *Environmental Monitoring and Assessment, 136*(1–3), 227–238.

Benson, N. U., Bassey, D. E., & Omeje, M. (2018). Geoaccumulation and ecological risks of trace metals in mangrove ecosystems. *Environmental Pollution, 239*, 650–661.

Birth, G. S. (2003). *Environmental geochemistry*. Elsevier.

Bodin, N., Le Loc'h, F., Hily, C., & Abarnou, A. (2013). Geochemical and ecological risk assessment of trace metals in mangrove sediments. *Marine Pollution Bulletin, 66*(1–2), 74–84.

Caccia, V. G., Millero, F. J., & Palanques, A. (2003). The distribution of trace metals in Florida Bay sediments. *Marine Pollution Bulletin, 46*(11), 1420–1433.

Duodu, G. O., Goonetilleke, A., & Ayoko, G. A. (2017). Comparison of pollution indices for the assessment of heavy metal in stormwater, road dust and sediments. *Environmental Pollution, 230*, 135–145.

Fernandes, L. L., Nayak, G. N., & Borole, D. V. (2012). Environmental monitoring of metal pollution along Thane creek, Mumbai using geochemical and statistical tools. *Environmental Earth Sciences, 66*, 2459–2470.

Fernández-Cadena, J. C., Rodríguez, M. A., & Lalangui, S. M. (2020). Heavy metal accumulation in estuarine sediments: The case of the Esmeraldas River estuary, Ecuador. *Environmental Monitoring and Assessment, 192*, 161.

Furukawa, K., Wolanski, E., & Mueller, H. (1997). Currents and sediment transport in mangrove forests. *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 44*(3), 301–310.

Goher, M. E., Ali, M. H. H., & Abdel-Moniem, I. A. (2014). Impact of metal pollution on Nile River sediment and the effect on benthic invertebrates. *International Journal of Sediment Research, 29*(3), 351–361.

Gómez-Bernal, I., Aguilar, R. V., & Morales, L. R. (2021). Evaluación de metales pesados en sedimentos de manglar en el sureste mexicano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 37*(1), 79–94.

Hakanson, L. (1980). An ecological risk index for aquatic pollution control. A sedimentological approach. *Water Research, 14*(8), 975–1001.

Jayaprakash, M., Urban, B., Velmurugan, P. M., & Srinivasalu, S. (2015). Accumulation of heavy metals in coastal sediments: A review. *Environment International, 92–93*, 325–346.

Kazem Darvish Bastami, T., Baghapour, M. A., & Soltani, F. (2023). Comparative evaluation of heavy metal contamination in mangrove ecosystems using pollution indices and multivariate analysis. *Marine Pollution Bulletin, 189*, 114648.

Kristensen, E., Bouillon, S., Dittmar, T., & Marchand, C. (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany, 89*(2), 201–219.

Li, L., Wu, J., Li, X., & Zhang, Y. (2022). Mangrove sediment quality as an indicator of ecosystem health: Insights from metal pollution and microbial community structure. *Marine Pollution Bulletin, 179*, 113681.

Lin, Y. M. (1999). Heavy metal contents in the mangrove sediments and benthic organisms in the Jiulong River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin, 39*(1–12), 193–201.

Mao, Q., Zhai, Y., & Zhou, T. (2022). Multi-index assessment of heavy metal pollution in estuarine mangrove sediments of the Pearl River Delta. *Chemosphere, 291*, 132967.

Marchand, C., Lallier-Vergès, E., Baltzer, F., Albéric, P., Cossa, D., & Baillif, P. (2011a). Heavy metals distribution in mangrove sediments along the mobile coastline of French Guiana. *Marine Chemistry, 123*(1–4), 143–152.

Müller, G. (1969). Index of geoaccumulation in sediments of the Rhine River. *Geojournal, 2*, 108–118.

Navarrete Domínguez, J., Hernández, S., & Pech Canul, M. (2020). Análisis multielemental en sedimentos costeros del sureste mexicano mediante técnicas espectroscópicas. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas, 37*(2), 234–248.

Saher, N. U., & Siddiqui, P. (2019). Assessment of sediment contamination by heavy metals in coastal areas of Pakistan. *Environmental Science and Pollution Research, 26*, 15643–15655.

Taylor, S. R., & McLennan, S. M. (1995). *The geochemical evolution of the continental crust*. Reviews of Geophysics, 33(2), 241–265.

Valiela, I., Bowen, J. L., & York, J. K. (2001). Mangrove forests: One of the world's threatened major tropical environments. *BioScience, 51*(10), 807–815.

Wang, F., Chen, J., & Yang, Q. (2011). Metal speciation and bioavailability in sediments of the Le An River, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 74*(7), 2036–2044.

Zhang, J., Liu, C., & Wang, L. (2014). Sediment quality assessment using metal indicators in mangrove wetlands: A case study in China. *Marine Pollution Bulletin, 83*(1), 258–264.

Zhong, A. (2006). Distribution, accumulation and migration of heavy metals in aquatic sediments. *Environmental Geology, 49*(5), 722–732.

EFECTO DEL CONSUMO DE GLIFOSATO SOBRE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS EN GALLINAS DE POSTURA

Jocelyne Mora[1], Olga Vázquez Paulino[2], Ivon Chávez Mora[3], Edmundo Ruesga Gutiérrez[1], Sughey González Torres[1], Zuami Villagrán[1]

[1]Centro Universitario De Los Altos, Universidad de Guadalajara, [2]Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, [3]Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara
blanca.villagran@academicos.udg.mx

RESUMEN

El glifosato es un herbicida ampliamente utilizado en la agricultura moderna debido a su efectividad en el control de malezas. Sin embargo, estudios recientes han evidenciado posibles efectos adversos en organismos no objetivo, como aves y mamíferos. En particular, se ha sugerido que la exposición crónica al glifosato a través del agua de bebida o del alimento contaminado podría generar alteraciones en parámetros fisiológicos esenciales para el crecimiento y la producción en gallinas de postura. Por ello, este estudio tiene como propósito Evaluar el efecto del consumo de glifosato sobre parámetros bioquímicos y hematológicos de gallinas de postura.

Se realizó un bioensayo donde 150 gallinas Bovans White de 14 semanas de edad fueron alojadas en una granja experimental durante 20 semanas, divididas en tres tratamientos dietéticos uno con base de maíz orgánico y dos con base de maíz genéticamente modificado (NK903), los cuales fueron adicionados con glifosato a razón de 0.5 mg/kg y 50 mg/kg de peso, respectivamente. Las aves fueron mantenidas en ambiente controlado con temperatura regulada entre 18 y 20 °C, iluminación de 16 horas diarias y un sistema de ventilación con filtración HEPA para evitar la contaminación del aire. Agua y alimento fueron proporcionados *ad libitum.* Se realizaron tres sacrificios (día 1, semana 10, semana 20) durante los cuales se tomaron muestras de sangre completa, para ser analizadas mediante biometría hemática y química sanguínea.

Respecto a la química sanguínea, los valores promedio obtenidos para el tratamiento de maíz orgánico fueron: glucosa 171 mg/dL, ácido úrico 1.9 mg/dL, proteínas totales 5.1 g/dL, albúmina 2.0 g/dL y ácidos biliares 18.7 umol/L. Para el tratamiento con glifosato 0.5 mg/kg: glucosa 180 mg/dL, ácido úrico 1.9 mg/dL, proteínas totales 4.5 g/dL, albúmina 18 g/dL y ácidos biliares 17.4 umol/L. Y para el tratamiento con glifosato 50 mg/kg: glucosa 178.9 mg/dL, ácido úrico 2.0 mg/dL, proteínas totales 4.4 g/dL, albúmina 1.9 g/dL y ácidos biliares 13.4 umol/L. En cuanto a los parámetros hematológicos, se obtuvo en promedio para el tratamiento orgánico: recuento de eritrocitos 2.7 x 10^6/uL, hemoglobina 15.0 g/dL, hematocrito 28.7 %, plaquetas 93.8 x 10^3/uL. Para el tratamiento glifosato 0.5 mg/kg: eritrocitos 3.0 x 10^6/uL, hemoglobina 15.1 g/dL, hematocrito 32.2 %, plaquetas 74.6 x 10^3/uL; y para el tratamiento glifosato 50 mg/kg, eritrocitos 2.8 x 10^6/uL, hemoglobina 15.5 g/dL, hematocrito 30.1 % y 92.2 plaquetas x 10^3/uL. En general, no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, tiempo de exposición y su interacción ($p>0.05$) para los parámetros evaluados, excepto para linfocitos donde se detectó interacción entre tratamiento*tiempo ($p=0.0400$). En conclusión, el consumo de glifosato en gallinas de postura tiene efecto sobre la concentración de linfocitos, este efecto es dependiente del tiempo de exposición y tiene tendencia a decrementar los valores por tratamiento.

INTRODUCCIÓN

El glifosato es un herbicida sistémico de amplio espectro, no selectivo, que pertenece a la familia de los organofosforados. Desde su aparición en el mercado en 1974, ha sido uno de los herbicidas más utilizados en la agricultura debido a su eficacia en el control de arvenses, especialmente en cultivos genéticamente modificados **(1)**. Se aplica de forma intensiva en los campos de cultivo, por lo que sus residuos pueden ser detectados en el medio ambiente, especialmente en plantas, suelo, agua,

productos alimenticios y en la orina humana **(2)**. El uso intensivo de glifosato provoca contaminación en los diferentes ecosistemas, con efecto negativo sobre animales, plantas y microorganismos, lo que, a su vez, deriva en el deterioro de las cadenas alimentarias **(3)**. Lo anterior ha despertado controversias debido a posibles efectos adversos para el medio ambiente y la salud de personas y animales, destacándose la aparición de arvenses resistentes y la preocupación por sus residuos en alimentos y agua **(4)**. Por lo que el objetivo del presente trabajo es "Evaluar el efecto del consumo de glifosato sobre parámetros bioquímicos y hematológicos en gallinas de postura".

TEORÍA

El glifosato [N-(fosfonometil) glicina] es uno de los herbicidas organofosforados de amplio espectro más utilizados en el mundo. Es un ácido orgánico débil formado por una molécula de glicina y otra de fosfonometilo. Su forma física es un polvo cristalino, blanco, inodoro, altamente soluble en agua e insoluble en solventes orgánicos y no tiene volatilización significativa **(2)**. Tras su aplicación y absorción, el glifosato se transporta a través del floema de las plantas hasta los meristemos de crecimiento, donde interfiere la actividad de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), la cual participa en biosíntesis de aminoácidos esenciales para el desarrollo de la planta como fenilalanina, tirosina y triptófano **(5)**.

En términos de degradabilidad, el glifosato es relativamente persistente en el suelo debido a su alta afinidad por partículas minerales, especialmente arcillas y óxidos de hierro y aluminio, lo que resulta en su adsorción fuerte y limita su movilidad en el perfil del suelo. Este comportamiento reduce el riesgo de lixiviación, aunque también dificulta su biodisponibilidad y biodegradación por microorganismos del suelo. Su vida media en el suelo varía ampliamente, entre 2 y 197 días, dependiendo de factores como la composición del suelo, humedad y temperatura, lo cual refleja su comportamiento semipersistente en condiciones de campo **(6)**.

El uso intensivo del glifosato ha generado un debate considerable sobre sus posibles efectos en el medio ambiente, especialmente debido a su persistencia en el suelo y su potencial impacto en la biodiversidad. Aunque se considera que el glifosato presenta baja toxicidad para muchos organismos no objetivo, su aplicación prolongada y en grandes cantidades ha demostrado tener efectos adversos en diferentes componentes de los ecosistemas acuáticos y terrestres **(7)**.

Con respecto a los animales, se ha reportado daño en la reproducción, y dilatación tubular en los riñones de ratones recién nacidos de la primera generación (30 mg kg-1 diarios) **(8)**. También, se han observado daños oxidativos, hematológicos y bioquímicos en ratones, y daño renal y hepático en ratas, ambos expuestos al glifosato de forma crónica **(9), (10)**. Por otro lado, estudios realizados en cerdos de guinea (*Cavia porcellus*) expuestos de forma crónica a un herbicida a base de glifosato (Willosate), mostraron disminución significativa ($p < 0.05$) en la ganancia de peso corporal (-102.2 %), peso corporal final (-9.8 %) y la ingesta de alimento (-13.1 %). El hígado y riñón tuvieron incremento de 25.4% y 28.8%, respectivamente, mientras que los testículos disminuyeron en un 24 % con dosis crecientes de Willosate. También se observó disminución de la movilidad espermática (-67.9 %), viabilidad (-52.7 %) y concentración por conducto deferente (-40.7%), así como, aumento de las aberraciones morfológicas mayores (28.1%) en comparación con los controles **(10)**. En gallinas de postura, la exposición prolongada al glifosato puede alterar su microbiota intestinal, comprometiendo su salud digestiva e inmunitaria, y potencialmente afectando parámetros productivos como la calidad del huevo y la resistencia a enfermedades. Lo anterior demuestra que los efectos del glifosato no solo se limitan al entorno, sino que impactan directamente la salud animal, por lo que es indispensable realizar estudios que permitan esclarecer el efecto del consumo de dicho herbicida en modelos animales.

PARTE EXPERIMENTAL

Para evaluar el efecto de la ingesta de maíz transgénico y glifosato en gallinas de postura, se realizó un bioensayo con 150 gallinas de postura Bovans de 16 semanas de edad, divididas en tres tratamientos (Tabla 1) considerando 50 aves y 5 réplicas por tratamiento (10 aves por replica). Las

aves fueron adquiridas de una casa comercial con un mismo origen genético. Todo el desarrollo se realizó siguiendo los lineamientos de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales Agrícolas en Investigación y Enseñanza (ADSA et al., 2010), la NOM-062-ZOO-1999 y se hicieron todos los esfuerzos para minimizar el sufrimiento de los animales a lo largo del bioensayo.

Las gallinas fueron alojadas durante 20 semanas, en una caseta experimental de ambiente controlado, con una densidad de población de 400 cm2 por ave, en una jaula en batería (tres aves por jaula) con un promedio de 15 cm de comedero disponible y un bebedero por tres aves. La temperatura ambiente se estimó en un promedio de 18°C. Las gallinas fueron expuestas a 16 h de luz por día. El período de adaptación fue de cuatro semanas antes del inicio de los procedimientos experimentales.

Tabla 1. Tratamientos para evaluar in vivo la ingesta de maíz transgénico cultivado con glifosato en gallinas de postura

Tratamientos	**Descripción**
AE	Maíz agroecológico azul
GLI 0.5	Maíz genéticamente modificado + Glifosato (0.5 mg/kg peso)
GLI 50	Maíz genéticamente modificado + Glifosato (50 mg/kg peso)

El plan nutricional se basó en los requerimientos nutricionales sugeridos en la guía de manejo Bovans de acuerdo con su estadio de desarrollo (Tabla 2) y considerando que además del maíz, la dieta incluirá del 18 al 22 % de soya.

Tabla 2. Requerimientos dietéticos en gallinas de postura Bovans en situaciones estándar

Nutrimento (%)	Pre-postura	Booster
Proteína cruda	18.01	18.7
Grasa cruda	3.4	3.57
Cenizas	10.55	13.71
Fibra cruda	2.65	2.67
Calcio	2.98	4.18
Fosforo	0.57	0.6
Energía Metabolizable (Kcal/kg)	2750	2950

La alimentación y el consumo de agua fue *ad libitum* durante toda la evaluación. Además, las gallinas fueron sometidas a inmunización de acuerdo con la Tabla 3.

Tabla 3. Calendario de vacunación de gallinas de postura

Frecuencia	Cepa	Vía de administración
Cada 4 semanas	Newcastle lasota	Ocular
Cada 8 semanas	Influenza AH5N1 Inactivada	Intramuscular

Se realizaron 3 sacrificios con seis réplicas por tratamiento (primer día, 10 semanas y 20 semanas de bioensayo), durante los cuales se tomaron muestras de sangre completa, para ser analizadas mediante biometría hemática y química sanguínea.

RESULTADOS

En la Tabla 4 se presentan los parámetros bioquímicos por química sanguínea en gallinas de postura alimentados con maíz agroecológico azul y maíz genéticamente con glifosato al 0.5 y 50 mg/kg de

peso. En general, no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, tiempo y su interacción (p>0.05) para la mayoría de los parámetros bioquímicos, excepto para albumina (tratamiento: p=0.0231, tiempo: p<0.0001), glucosa (tratamiento: p=0.0202, tiempo: p=0.0025 y tratamiento*tiempo: p= 0.0076).

En lo referente al contenido de albumina, los valores del primer sacrificio son similares entre tratamientos (2 – 2.20 g/dL), mientras que, en el segundo sacrificio, los valores disminuyen de los tratamientos con maíz transgénico con glifosato (1.83 – 1.66 g/dL) respecto al agroecológico (2.10 g/dL), con mayor notoriedad en el tratamiento GLI50 (1.66 g/dL). Por su parte, en el tercer sacrificio, los valores entre tratamientos son similares (1.70 – 1.80 g/dL), excepto por el tratamiento GLI0.5 (1.60 g/dL).

Tabla 4. Parámetros bioquímicos por química sanguínea en gallinas de postura con maíz agroecológico azul y maíz genéticamente modificado con glifosato al 0.5 y 50 mg/kg de peso.

Parámetro	Tx.	Número de sacrificio (Tiempo)			Valor-p		
		1	2	3	Tx.	T	Tx.*T
Albúmina (g/dL)	AE	2.20 ± 0.10	2.10 ± 0.10	1.80 ± 0.10	0.023	<0.000	0.123
	GLI 0.5	2.13 ± 0.11	1.73 ± 0.15	1.60 ± 0.17	1	1	4
	GLI 50	2.13 ± 0.15	1.66 ± 0.11	1.80 ± 0.10			
Proteína total (g/dL)	AE	4.53 ± 0.70	4.66 ± 0.20	5.96 ± 2.35	0.648	0.1907	0.571
	GLI 0.5	4.66 ± 0.60	4.90 ± 2.60	4.03 ± 1.00	9		4
	GLI 50	4.93 ± 0.37	3.30 ± 0.45	5.00 ± 0.51			
Glucosa (mg/dL)	AE	171.33 ± 34.70	159.66 ± 21.38	182.00 ± 51.09	0.020	0.0025	0.007
	GLI 0.5	154.00 ± 5.29	195.33 ± 17.95	190.66 ± 14.15	2		6
	GLI 50	123.33 ± 27.53	219.00 ± 16.70	194.33 ± 4.04			
Ácidos biliares (µmol/L)	AE	31.76 ± 15.30	8.16 ± 4.32	16.06 ± 8.90	0.704	0.0826	0.086
	GLI 0.5	23.30 ± 12.94	16.36 ± 9.89	12.56 ± 4.25	2		5
	GLI 50	15.16 ± 1.76	17.96 ± 12.70	7.06 ± 3.57			
Ácido Úrico (mg/dL)	AE	2.13 ± 0.23	1.70 ± 0.62	1.86 ± 0.37	0.987	0.1995	0.430
	GLI 0.5	1.66 ± 0.63	2.23 ± 0.77	1.66 ± 0.63	0		1
	GLI 50	1.66 ± 0.05	2.60 ± 1.44	1.66 ± 0.61			

*Hussain et al. (2024). Tx. – tratamiento; T-Tiempo; AE – maíz agroecológico; GLI 0.5 - maíz genéticamente modificado con glifosato a 0.5 mg/kg de peso; GLI 50 - maíz genéticamente modificado con glifosato a 50 mg/kg de peso. P<0.05

Hussain et al. **(11)** reportaron decremento en la concentración de albumina (1.47 a 1.26 mg/dL) en gallos adultos suplementados con glifosato (50, 75, 100 y 125 mg/kg/d) durante 45 días en comparación con el control (1.54 y 3.12 mg/dL, respectivamente), efecto dependiente de la concentración de glifosato. De acuerdo con los autores, este comportamiento puede promover mayor utilización de la proteína inducido por estrés oxidativo. Asimismo, en pollos suplementados con glifosato durante 35 días, particularmente a concentraciones de 100 mg/kg, también se reportó una disminución en la albumina **(12)**. De acuerdo con Bhojane et al. **(13)**, cambios en albumina sérica puede indicar daños en hígado y riñón.

Respecto a la glucosa, en el primer sacrificio se observa decremento en este parámetro en los tratamientos suplementados con glifosato (GLI0.5: 154 mg/dL y GLI50: 123.33 mg/dL), respecto al agroecológico (171 mg/dL). En el segundo sacrificio, se observó que los tratamientos con maíz transgénico con glifosato presentan incremento (195 – 219 mg/dL) en los valores de glucosa en comparación con el agroecológico (159 mg/dL), siendo GLI 50 el tratamiento con valores mayores. En el tercer sacrificio, se observó un comportamiento similar al segundo sacrificio. De acuerdo con Fréville et al. **(14)** la exposición a glifosato en animales se ha asociado con desordenes endócrinos. En la Tabla 5 se presentan los parámetros bioquímicos por hemograma en gallinas de postura alimentadas con maíz agroecológico azul y maíz genéticamente modificado con glifosato al 0.5 y 50 mg/kg de peso. En general, no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, tiempo de exposición y su interacción ($p>0.05$) para los parámetros evaluados, excepto para linfocitos donde se detectó una interacción entre tratamiento*tiempo ($p=0.0400$). En este sentido, se observa una tendencia a decrementar los valores por tratamiento. Kalai et al.**(15)** administraron oralmente una única dosis de glifosato (2.5 mg/kg) en una raza híbrida de pollo (Kuroiler). Los autores reportaron decremento en el recuento de linfocitos. Por su parte, En pollos alimentados con soya y maíz GM (MON810) no se detectaron efectos negativos en linfocitos (Czerwiński et al., 2015). Los recuentos de linfocitos, monocitos y eosinófilos, aunque difieren del control, se mantuvieron dentro de rangos normales, alrededor de 64% en codornices alimentadas con dieta base y suplementadas con glifosato (Bhojane et al., 2018b).

Tabla 5. Parámetros bioquímicos por hemograma (biometría hemática) en gallinas de postura alimentadas con maíz agroecológico azul y maíz genéticamente modificado con glifosato al 0.5 y 50 mg/kg de peso.

Parámetro	Tx.	Número de sacrificio			Valor-p		
		1	2	3	Tx.	T	Tx.*T
Recuento de glóbulos blancos (x10^3/µL)	AE	12.56 ± 1.25	12.57 ± 1.44	12.86 ± 0.97	0.8504	0.0082	0.7381
	GLI 0.5	11.57 ± 0.37	12.14 ± 0.26	13.36 ± 0.41			
	GLI 50	12.20 ± 1.04	12.11 ± 0.97	12.40 ± 0.81			
Recuento de linfocitos (x10^3/µL)	AE	11.60 ± 1.21	9.83 ± 1.05	10.06 ± 0.90	0.4478	0.0051	0.1788
	GLI 0.5	10.43 ± 0.80	9.40 ± 0.78	10.73 ± 0.76			
	GLI 50	10.30 ± 0.86	9.60 ± 0.75	9.96 ± 1.00			
Recuento de glóbulos rojos (x10^6/µL)	AE	2.09 ± 1.50	3.14 ± 0.36	2.95 ± 0.21	0.5540	0.4941	0.5137
	GLI 0.5	2.89 ± 0.09	3.03 ± 0.06	3.07 ± 0.09			
	GLI 50	3.05 ± 0.26	2.54 ± 1.05	2.85 ± 0.18			
Concentración de hemoglobina (g/dL)	AE	14.96 ± 0.45	15.40 ± 0.79	14.56 ± 0.61	0.7823	0.0081	0.6936
	GLI 0.5	14.30 ± 0.36	15.10 ± 0.20	14.73 ± 0.98			
	GLI 50	15.70 ± 1.08	16.63 ± 0.49	14.03 ± 0.77			
Hematocrito (vol. relativo de eritrocitosis)(%)	AE	22.73 ± 16.49	32.06 ± 3.15	31.30 ± 1.99	0.5075	0.5361	0.4776
	GLI 0.5	32.46 ± 0.83	31.03 ± 1.20	32.96 ± 1.49			
	GLI 50	33.60 ± 2.35	25.86 ± 10.27	30.83 ± 1.30			
Recuento de plaquetas (x10^3/µL)	AE	85.33 ± 6.50	114.00 ± 10.44	110.33 ± 19.65	0.03501	0.0001	0.0936
	GLI 0.5	80.33 ± 18.92	89.00 ± 11.00	54.33 ± 14.01			
	GLI 50	70.33 ± 22.03	116.33 ± 29.50	90.00 ± 31.74			

CONCLUSIONES

Con respecto a los parámetros bioquímicos estudiados, el consumo de glifosato en gallinas de postura tiene efecto dependiente del tiempo de exposición sobre la concentración de albúmina y glucosa, lo que puede promover mayor utilización de las proteínas endógenas debido al estrés oxidativo. En este mismo sentido, el consumo de glifosato promovió el decremento de los linfocitos

en las gallinas de postura, efecto dependiente del tiempo de exposición y que indica que el herbicida interactúa con la respuesta inmune de las aves.

BIBLIOGRAFÍA

1 S. O. Duke y S. B. Powles, “Glyphosate: a once-in-a-century herbicide”, *Pest Manag Sci*, vol. 64, núm. 4, pp. 319–325, 2018, doi: 10.1002/ps.1518.

2 L. M. Chiesa, M. Nobile, S. Panseri, y F. Arioli, “Detection of glyphosate and its metabolites in food of animal origin based on ion-chromatography-high resolution mass spectrometry (IC-HRMS)”, *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 36, núm. 4, pp. 592–600, abr. 2019, doi: 10.1080/19440049.2019.1583380.

3 D. Soares, L. Silva, S. Duarte, A. Pena, y A. Pereira, “Glyphosate Use, Toxicity and Occurrence in Food”, *Foods*, vol. 10, núm. 11, p. 2785, nov. 2021, doi: 10.3390/foods10112785.

4 A. H. C. Van Bruggen *et al.*, “Environmental and health effects of the herbicide glyphosate”, *Science of The Total Environment*, vol. 616–617, pp. 255–268, mar. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.309.

5 I. Heap y S. O. Duke, “Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide”, *Pest Manag Sci*, vol. 74, núm. 5, pp. 1040–1049, may 2018, doi: 10.1002/ps.4760.

6 C. P. M. Bento *et al.*, “Dynamics of glyphosate and AMPA in the soil surface layer of glyphosate-resistant crop cultivations in the loess Pampas of Argentina”, *Environmental Pollution*, vol. 244, pp. 323–331, ene. 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2018.10.046.

7 W. A. Battaglin, M. T. Meyer, K. M. Kuivila, y J. E. Dietze, “Glyphosate and Its Degradation Product AMPA Occur Frequently and Widely in U.S. Soils, Surface Water, Groundwater, and Precipitation”, *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, vol. 50, núm. 2, pp. 275–290, abr. 2014, doi: 10.1111/jawr.12159.

8 N. J. Salazar-López y M. L. A. Madrid, “HERBICIDA GLIFOSATO: USOS, TOXICIDAD Y REGULACIÓN”, *Biotecnia*, vol. 13, núm. 2, Art. núm. 2, ago. 2011, doi: 10.18633/bt.v13i2.83.

9 R. Mesnage, M. Arno, M. Costanzo, M. Malatesta, G.-E. Séralini, y M. N. Antoniou, “Transcriptome profile analysis reflects rat liver and kidney damage following chronic ultra-low dose Roundup exposure”, *Environ Health*, vol. 14, núm. 1, p. 70, ago. 2015, doi: 10.1186/s12940-015-0056-1.

10 V. B. Mutwedu *et al.*, “Growth performance and reproductive function impairment of glyphosate-based herbicide in male guinea pig *(Cavia porcellus)*”, *Veterinary Medicine and Science*, vol. 7, núm. 3, pp. 1047–1055, 2021, doi: 10.1002/vms3.443.

11 R. Hussain, “Exposure to Sub-Acute Concentrations of Glyphosate Induce Clinico-Hematological, Serum Biochemical and Genotoxic Damage in Adult Cockerels”, *Pakistan Veterinary Journal*, vol. 39, núm. 02, 2019, doi: 10.29261/pakvetj/2019.064.

12 E. A. Yildirim *et al.*, “Investigating adverse effects of chronic dietary exposure to herbicide glyphosate on zootechnical characteristics and clinical, biochemical and immunological blood parameters in broiler chickens”, *Vet Res Commun*, vol. 48, núm. 1, pp. 153–164, feb. 2024, doi: 10.1007/s11259-023-10195-x.

13 N. M. Bhojane *et al.*, “Individual and Combined Effect of Indoxacarb and Glyphosate on Biochemical Alterations in Japanese Quails *(Cuturnix Cuturnix Japonica)*”, 2018.

14 M. Fréville *et al.*, “Chronic dietary exposure to a glyphosate-based herbicide results in total or partial reversibility of plasma oxidative stress, cecal microbiota abundance and short-chain fatty acid composition in broiler hens”, *Front. Physiol.*, vol. 13, sep. 2022, doi: 10.3389/fphys.2022.974688.

15 K. Kalai, T. N. Upadhyaya, D. C. Pathak, D. C. Roy, S. Sarma, y G. K. Saikia, “Haemato-biochemical alterations in induced acute glyphosate (C3H8NO5P) intoxication in KuroilerTM birds”, *Int. J. Chem. Stud.*, vol. 6, núm. 4, pp. 515–518, 2018.

ACUMULACIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS (EPTs) POR PLANTAS SILVESTRES EN DURANGO, MÉXICO

Lizeth Adriana Larreta Betancourt[1], María Teresa Alarcón Herrera[1], Luz Idalia Valenzuela García[1], María Socorro González Elizondo[2]

[1]Centro de Investigación en Materiales Avanzados-CIMAV Unidad Durango, [2]Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-IPN
lizeth.larreta@cimav.edu.mx

RESUMEN

La presencia de metales y metaloides en suelos urbanos representa un problema ambiental debido a su dispersión eólica y la contaminación de cuerpos de agua superficiales y subterráneos, lo que puede afectar negativamente los ecosistemas y la salud humana[32]. Para mitigar estos impactos, es importante caracterizar y analizar la contaminación del suelo, permitiendo la implementación de estrategias de restauración adecuadas. La fitorremediación es una alternativa sostenible que emplea plantas con capacidad de absorber y acumular contaminantes, reduciendo así su concentración en el suelo[34]. Las plantas que crecen en sitios contaminados con la capacidad de absorber, excluir o acumular altas concentraciones de metales y metaloides en raíces, tallos u hojas son de interés para su uso en procesos de fitorremediación[3]. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de diferentes especies vegetales para la acumulación de metales y metaloides en su biomasa y determinar su potencial para la fitorremediación de suelos contaminados en Durango. Se llevaron a cabo muestreos en sitios previamente identificados como potencialmente contaminados en Durango, recolectando muestras de suelo y de plantas, diferenciando entre parte aérea y raíz. Se determinó la concentración de arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb) y zinc (Zn) mediante espectrometría de absorción atómica, técnica que permite cuantificar estos elementos con alta sensibilidad. Además, se calcularon los factores de translocación y bioconcentración, con el fin de evaluar la movilidad y acumulación de estos elementos en las diferentes partes de las plantas, lo que permitió identificar aquellas especies con mayor potencial fitorremediador. Los resultados indicaron que las especies *Euphorbia heterophylla*, *Adenophyllum cancellatum* y *Tithonia tubiformis* presentan una alta capacidad de acumulación de plomo, sugiriendo su posible utilización en programas de fitorremediación. Se registró una acumulación de 7.16 mg/kg de Pb en la parte aérea de *Euphorbia heterophylla*, 4.94 mg/kg en la raíz de *Adenophyllum cancellatum* y 8.05 mg/kg en la raíz de *Tithonia tubiformis*. Estas concentraciones indican que las plantas pueden desempeñar un papel importante en la remediación de suelos impactados por plomo, ya sea actuando como fitoextractoras o fitoestabilizadoras, dependiendo de su distribución del metal dentro de sus tejidos. En conclusión, las especies estudiadas demostraron capacidad para acumular plomo en distintas partes de su estructura, destacando *Euphorbia heterophylla* por su acumulación en la parte aérea y *Adenophyllum cancellatum* y *Tithonia tubiformis* por su acumulación en la raíz. Estos hallazgos son de relevancia para el desarrollo de estrategias de fitorremediación en la región de Durango, contribuyendo a la restauración de suelos contaminados mediante el uso de especies nativas.

INTRODUCCIÓN

El suelo es un recurso vital no renovable que desempeña un papel importante en la vida y la economía de un país [28]. Además de ser fundamental para el ciclo del agua y los ciclos biogeoquímicos de diferentes elementos, el suelo proporciona alimento y un espacio que permite el desarrollo y evolución de los seres vivos [38].Sin embargo, en las últimas décadas el suelo se ha visto afectado por la presencia de contaminantes provenientes de actividades antropogénicas que aunado a la presencia de contaminantes de origen natural han incrementado los riesgos a la salud pública, así como la productividad de los ecosistemas [34].

Los metales pesados son un grupo de metales o metaloides con altos pesos atómicos [6,17]. Los metaloides son elementos que presentan propiedades químicas de los metales y de los no metales. Estos tienen su origen a partir de fuentes naturales, como rocas madre y fuentes minerales, o de fuentes antropogénicas, como la irrigación de aguas residuales, la industria minera o la aplicación de productos agroquímicos [5,17]. Estos metales pesados son tóxicos y pueden acumularse en el suelo, afectando de manera negativa el crecimiento de las plantas y causando daños a los organismos del suelo y a la cadena alimenticia incluso en bajas concentraciones [34]. Algunos de los metales pesados y metaloides son considerados como elementos potencialmente tóxicos (EPTs) por su presencia los suelos. En México, elementos como el arsénico (As), cadmio (Cd), el plomo (Pb) y zinc (Zn) son considerados EPTs [6,14,32]. Estos metales y metaloides pueden encontrarse en el suelo de varias formas, como solubles en la solución del suelo, formando complejos con la materia orgánica o como constituyentes de minerales secundarios, y pueden permanecer en el suelo o movilizarse a través de mecanismos biológicos y químicos. Las propiedades del suelo, como el pH, la textura, las condiciones de óxido-reducción, el contenido de materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico, determinan la acumulación, biodisponibilidad y movilidad de los contaminantes [8].

El riesgo que representa a la salud la presencia de metales y metaloides como el arsénico (As) ha sido ampliamente documentado. Se conoce que la exposición prolongada a As puede conducir a arsenicosis, cáncer, diabetes, problemas neurológicos y afecciones cardiacas, por lo que la OMS ha establecido un límite de 10 µg/L en agua de consumo humano[33,39]. La presencia de As en el suelo aumenta el riesgo de exposición, ya que este elemento es capaz de translocarse en los cultivos y pasar a través de la cadena alimenticia [16,29].

El plomo (Pb) es un elemento que no tiene ninguna función biológica en los seres vivos, lo que lo convierte en otro EPT. Cuando entra a la cadena alimenticia, este se presenta principalmente en plantas superiores, de las cuales pasa a los animales menores y luego al ser humano [4]. En seres humanos puede provocar enfermedades cardiovasculares, problemas de coordinación, pérdida de memoria a corto plazo y problemas de insuficiencia renal [19,34]. La mayor parte del Pb liberado en el ambiente es retenido por el suelo; los principales procesos que dictan su destino incluyen la adsorción, el intercambio iónico, la precipitación y el acomplejamiento con materia orgánica [30].

El cadmio (Cd), al igual que el plomo, no tiene ninguna función biológica en los seres vivos [4]. Es uno de los elementos más tóxicos y móviles del medio ambiente clasificado en el Grupo I de carcinógenos para humanos. El Cd tiende a depositarse y adherirse a la materia orgánica debido a que su comportamiento químico es muy similar a la del calcio y sus cargas son idénticas, por lo tanto, puede sustituirlo en los minerales, o bien, parte de él se disuelve en agua, por lo que puede llegar a los cuerpos de agua y ser incorporado por las plantas entrando en la cadena alimenticia [5,15].

El zinc (Zn) es un micronutriente esencial que interviene en varios procesos fisiológicos, como el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que participa en el funcionamiento de diversas enzimas y proteínas de la fotosíntesis y la absorción de nutrientes [14,36]. Las concentraciones de Zn en plantas varían en su efecto según la especie y las condiciones ambientales, por ejemplo, altas concentraciones de Zn en el suelo pueden volverlo tóxico para las plantas y los microorganismos, reducir la fertilidad del suelo y, en casos más graves, alterar el ciclo de los nutrientes, lo que afecta al equilibrio de los ecosistemas [14]. Según Natasha et al (2022),valores entre 30-200 mg/kg de peso seco (PS) se consideran óptimos, mientras que entre 25-100 mg/kg son tolerables y entre 150-400 mg/kg PS pueden provocar toxicidad [21]. Sin embargo, este rango no es absoluto, ya que la toxicidad del Zn depende de factores como el tipo de planta, la composición del suelo y la interacción con otros elementos. Algunas especies pueden tolerar concentraciones superiores a 100 mg/kg sin síntomas visibles, aunque su rendimiento puede verse afectado. En cambio, por encima de 150 mg/kg, es más probable que aparezcan signos de toxicidad, como clorosis y reducción del crecimiento. Esta variabilidad explica por qué no hay un límite estricto entre lo tolerable y lo tóxico, sino una transición dependiente del contexto [13,14,21].

Varias organizaciones han definido los límites críticos de los niveles de estos EPTs en los suelos en términos de exposición humana y medioambiental y de riesgos asociados según el tipo y uso del suelo. En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 establece como límites máximos permisibles para uso agrícola, residencial o comercial concentraciones límite de 22 mg/kg para As; 37 mg/kg para Cd y 400 mg/kg para Pb. Mientras que para uso industrial las concentraciones límite son de 260 mg/kg para As, 450 mg/kg para Cd y 800 mg/kg para Pb [41]. En cuanto al Zn, los límites máximos permitidos para los suelos agrícolas oscilan entre 120 y 250 mg/kg, para los suelos residenciales 250 mg/kg y para los suelos industriales y comerciales se recomiendan las concentraciones más elevadas (410 mg/kg) [21].

Remover metales y metaloides contaminantes del suelo a través de estrategias de remediación fisicoquímicas resulta muy costoso y los agentes utilizados pueden afectar fuertemente la fertilidad del suelo con graves consecuencias al ecosistema, por lo que una de las estrategias utilizadas por ser de bajo costo y amigable con el ambiente, es la fitorremediación de los suelos [18,26]. La fitorremediación es una técnica in-situ que utiliza plantas vivas y sus diversos mecanismos para estabilizar o reducir la contaminación de suelos, lodos, sedimentos y agua superficial contaminada, especialmente por metales [19,34]. Existen diferentes estrategias dentro de la fitorremediación, entre ellas la fitoextracción, en la cual las plantas absorben y acumulan metales en sus tejidos; la fitoestabilización, que reduce la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes en el suelo; la fitodegradación, donde los compuestos contaminantes son degradados por la acción de las plantas y sus microorganismos asociados; la rizofiltración, que se enfoca en la remoción de contaminantes del agua a través de las raíces; y la fitovolatilización, en la que ciertos metales son absorbidos y luego liberados a la atmósfera en formas menos tóxicas [3,34].

Las plantas utilizadas en la fitorremediación de metales absorben los contaminantes mientras crecen, pero se deben considerar diferentes factores del sitio y de la planta para poder determinar su potencial uso en la fitorremediación [3]. Estos factores incluyen la capacidad de extraer o degradar los contaminantes, la adaptación al clima, la producción de biomasa, la compatibilidad con los suelos, la tasa de crecimiento, la facilidad de mantenimiento y siembra, así como la capacidad de absorber grandes cantidades de agua a través de sus raíces [16,34]. Para utilizar plantas para fitorremediación es necesario conocer su factor de translocación (FT), que indicará qué especies de plantas pueden ser consideradas acumuladoras, tolerantes o exclusoras de los metales [3,7,27] y su factor de bioconcentración (FBC) el cual indica la capacidad o la eficiencia de las plantas para acumular los contaminantes a nivel de la raíz, en relación con la concentración de metales en el suelo o sustrato [2]. La selección y evaluación de plantas con potencial uso en la fitorremediación depende totalmente de los valores de BCF y TF [3]. Un valor de FT>1 indica la translocación del metal de la raíz a la parte aérea y un valor de FCB mayor a 1 indica que la planta tiene la capacidad de bioacumular el contaminante en su biomasa [2]. Además, solo las especies vegetales con un FBC y un FT mayores a 1 pueden utilizarse para la fitoextracción [3].

La zona de la Cd. de Durango México, se caracteriza por ser una región con altos niveles de concentración de As e acuíferos, los cuales son usados para riego agrícola, por lo que su presencia puede ser alta en diferentes lugare [1]. Así mismo diversos estudios han indicado que algunas actividades económicas como la minería y la industria de la madera han conducido a la presencia de metales como As, Pb, Cd y Zn en el suelo [12,25,31]. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de EPTs en suelo, así como el potencial de las plantas silvestres presentes, para evaluar su potencial en procesos de fitorremediación. Por lo cual, una vez determinada la presencia de los principales EPTs del suelo, se determinaron los factores de translocación y bioconcentración, de las plantas presentes en los sitios caracterizados.

PARTE EXPERIMENTAL

Puntos de muestreo

Las áreas de estudio se eligieron por cercanía a actividades mineras y agrícolas, con posibilidad de riesgo de contaminación por metales y metaloides. La ubicación de cada punto se muestra en la Figura 1.

El muestreo fue realizado según los criterios de la Norma Técnica Mexicana 132-SCFI-2006 [40] en los sitios siguientes: Antigua Estación del Ferrocarril, el humedal artificial de la Planta de Tratamiento de Agua Residual Oriente y Río la Sauceda.

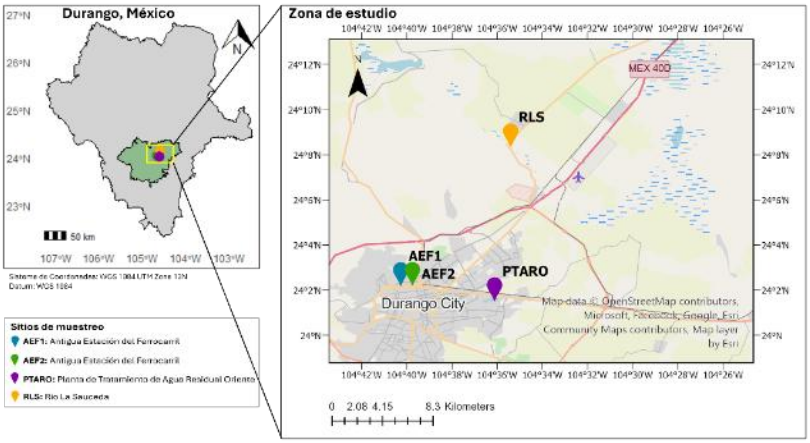


Figura 4. Ubicación de los puntos de muestreo.

Fuente: Elaboración propia. Mapa generado con R y RStudio.

Recolección de las muestras de suelo

Las muestras de suelo recolectadas se muestran en la Tabla 1. El muestreo se tomó de la primera capa del suelo. Para ello, se eliminó la vegetación superficial y se tomó una muestra de aproximadamente 2 kg de suelo a una profundidad no mayor de 5 cm. Las muestras de suelo fueron etiquetadas y almacenadas en bolsas de plástico y fueron trasladadas al Laboratorio de Ambiental de CIMAV-Unidad Durango para su posterior análisis.

Tabla 1.Muestras de suelo recolectado en cada sitio.

Sitios de muestreo	Características del suelo	Folio
Antigua Estación del Ferrocarril	Suelo seco	SSEE
Río La Sauceda	Suelo húmedo	SRS1
Planta de tratamiento de agua residual oriente	Suelo entrada del humedal	SE2PT
	Suelo entrada del humedal pegado a la raíz de la planta RE1PT	SR2PT
	Suelo salida del humedal	SS1PT

Recolección de plantas

Las muestras de plantas recolectadas se muestran en la Tabla 2. La recolección de las plantas se llevó a cabo tomando en cuenta características como elevada producción de biomasa aérea. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de papel o plástico para su traslado. En total se recogieron seis muestras vegetativas, las cuales se transportaron hasta el Laboratorio de Ambiental de CIMAV-Unidad Durango para su identificación y posterior análisis.

Tabla 2. Muestras de plantas recolectadas en cada sitio.

Sitios de muestreo	Plantas recolectadas en el sitio	Parte	Folio
Antigua Estación del Ferrocarril	*Euphorbia heterophylla L*	Aérea	PBPA
		Raíz	PBPR
	Adenophyllum cancellatum	Aérea	PFAA
		Raíz	PFAR
	Tithonia tubiformis	Aérea	PGPA
		Raíz	PGPR
	Bidens odorata	Aérea	PFBA
Río La Sauceda	*Schoenoplectus americanus*	Aérea	PRSA
		Raíz	PRSR
Planta de tratamiento de agua residual oriente	*Typha domingensis (entrada humedal)*	Raíz	RE1PT
	Typha domingensis (salida humedal)	Raíz	RS1PT

Identificación de las plantas colectadas

Para su identificación, las plantas fueron recolectadas al menos por duplicado. La identificación fue llevada a cabo por la Dra. María Socorro González Elizondo, taxónoma experta del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional[11].

Preparación de las muestras para determinación de metales y metaloides

Para el análisis de metales y metaloides del suelo las muestras fueron preparadas de acuerdo con las indicaciones de los métodos estándar de análisis de suelo [28]. A continuación, se llevó a cabo el proceso de digestión ácida con el procedimiento técnico 3051 (*Digestión ácida asistida por microondas de sedimentos, lodos, suelos y aceites*) de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) [35]. La digestión se llevó a cabo en un digestor de microondas marca Milestone modelo Ethos Easy. Se preparó un estándar control para este método a partir del material de referencia certificado NIST STR 210ª *Montana I S*oil [10].

Para el análisis de metales y metaloides en las plantas, se separaron en parte aérea y raíz (Tabla 2), se lavaron cuidadosamente con agua de grifo para retirar el exceso de polvo proveniente del punto de muestreo y se secaron en estufa a 40°C hasta peso constante. Una vez secas, las muestras se trituraron en un molino y se tamizaron en una malla #35 (500 μm). Luego se llevó a cabo el proceso de pre-digestión y se dejó reposar durante 24 horas. Al día siguiente, se sometió a un ciclo de digestión ácida en un digestor de microondas marca Milestone modelo Ethos Easy, el método utilizado fue el *Dried Plant Tissue* incorporado en el equipo de digestión. Terminando el ciclo, se transfirió la mezcla ácida a un matraz aforado de 100 ml, completándose el volumen con agua desionizada y se almacenó en el refrigerador hasta su posterior análisis. Se preparó un estándar control para este método a partir del material de referencia certificado NIST STR 1573ª Tomato Leaves [9].

Determinación de As, Cd, Pb y Zn por medio de espectrofotometría de absorción atómica.

Para la determinación de As Cd, Pb y Zn en suelo y plantas se examinaron 11 muestras de material vegetal y 5 muestras de suelo por medio de espectrometría de absorción atómica (EAA) horno de grafito en el equipo marca GBC modelo XplorAA del Laboratorio de Ingeniería Ambiental.

Factores de translocación y bioconcentración

El factor de translocación se calculó mediante la ecuación 1 que relaciona la proporción de metal(oide) acumulada en tallo, hojas, flores, semillas o frutos con respecto a la concentración del metal(oide) en la raíz [27].

$$Traslocación = \frac{[Metal_{(\text{tallo,hojas,flores,semillas o frutos})}]}{[Metal_{raíz}]} \quad (1)$$

El factor de bioconcentración (FBC) se calculó de acuerdo con la relación de la concentración del metal(oide) acumulado en la raíz respecto al metal(oide) presente en el suelo o sustrato, calculada en base al peso seco, ecuación 2 [2].

$$FBC = \frac{[Metal_{raíz}]}{[Metal_{suelo}]} \quad (2)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de EPTs en suelo

El contenido de As, Cd, Pb y Zn fue determinado en los suelos recolectados con el fin de evaluar su grado de contaminación conforme a la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para suelos de uso agrícola/residencial/comercial. En el caso del Zn, las concentraciones fueron comparadas con los límites establecidos por Natasha et al. (2022) para suelos contaminados.

Los suelos provenientes de la Antigua Estación del Ferrocarril (SSEE) y de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Oriente (SR2PT) mostraron niveles elevados de arsénico, con 26.87 mg/kg y 26.99 mg/kg respectivamente, superando el umbral permitido de 22 mg/kg (Figura 2a). La muestra SR2PT también presentó una concentración de Zn de 405.01 mg/kg, superando el límite de 250 mg/kg establecido para suelos agrícolas (Figura 2d). En cuanto al Cd y Pb, ningún sitio superó los límites normativos (37 mg/kg para Cd y 400 mg/kg para Pb); sin embargo, la muestra SSEE presentó un contenido de Pb de 354.33 mg/kg, cercano al valor máximo permitido (Figura 2c).

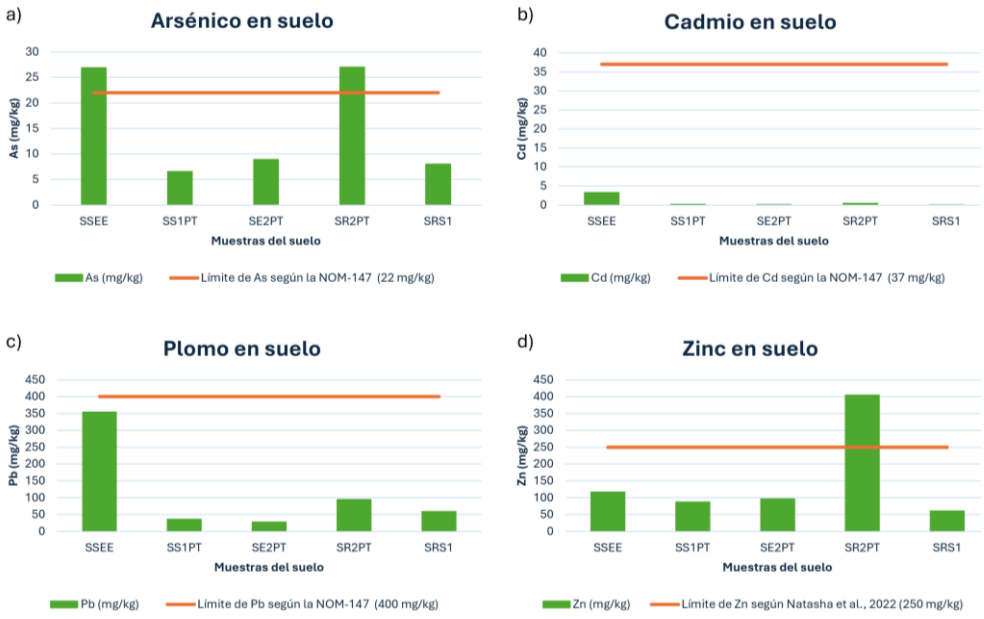


***Figura 2**. Concentración de ETPs en suelo.*

Nota. La concentración de los EPTs fue determinada en suelo como se establece en materiales y métodos y comparada con los límites permitidos, los niveles de EPTs en suelo se muestran en mg/kg para a) Arsénico, b) Cadmio, c) Plomo y d) Zinc.

Translocación y bioconcentración de EPTs en plantas silvestres

Para determinar el potencial fitorremediador de las plantas silvestres, se evaluaron los factores de translocación (FT) y bioconcentración (FB) de As, Cd, Pb y Zn. Un FT > 1 indica que el elemento es translocado de la raíz a la parte aérea. Así mismo, un FB > 1 sugiere bioacumulación en la biomasa vegetal [2].

Las especies *Euphorbia heterophylla*, *Adenophyllum cancellatum* y *Tithonia tubiformis*, recolectadas en el sitio de la ex estación del ferrocarril, demostraron capacidad de translocación para Cd y Zn, con FT de Cd superiores a 1 (3.09, 1.08 y 1.48, respectivamente). En el caso del Pb, *E. heterophylla* y *Schoenoplectus americanus* mostraron FT de 1.36 y 1.67, respectivamente, indicando movilidad del metal hacia la parte aérea (Tabla 3 y Figura 3). Por otro lado, *S. americanus* fue la única planta que presentó FB > 1 para As (1.07) y Zn (5.77), lo que indica una elevada capacidad de bioacumulación de estos elementos.

En la antigua estación del ferrocarril, los altos niveles de As y Pb detectados en el suelo se relacionan con las actividades históricas en el sitio, como la operación de una impregnadora de durmientes de madera. Aunque no se observan riesgos inmediatos para la salud humana debido al uso actual del sitio, se recomienda su remediación por encontrarse en zona urbana.

En este contexto, *E. heterophylla* demostró capacidad para translocar Pb, sugiriendo un posible uso en fitoextracción. Aunque esta especie no ha sido reportada previamente como fitorremediadora de Pb, su pertenencia a la familia Euphorbiaceae —conocida por especies acumuladoras— apoya este potencial (Ullah et al., 2019). *T. tubiformis* y *A. cancellatum*, al retener el Pb en sus raíces, muestran potencial para fitoestabilización. Aunque no han sido reportadas anteriormente como fitorremediadoras, su pertenencia a la familia Asteraceae, con géneros reconocidos en fitorremediación como *Helianthus*, refuerza su potencial [11].

Respecto al Cd, si bien sus concentraciones en planta fueron bajas, el FT > 1 sugiere una movilización activa hacia la parte aérea. Esta movilidad puede explicarse por la similitud química entre Cd y Ca, lo cual favorece su transporte interno en la planta [5,15].

Los niveles de Zn en las especies estudiadas estuvieron dentro del rango óptimo para plantas sanas, indicando una regulación eficiente del micronutriente [14]. Una excepción fue *Bidens odorata*, que presentó un contenido aéreo de Zn de 105.39 mg/kg, dentro del rango donde se reportan posibles efectos negativos sobre el crecimiento [21],aunque no se observaron síntomas visibles de toxicidad. Cabe señalar que no se pudo evaluar el contenido radicular por falta de muestra.

Respecto al arsénico, ninguna de las plantas recolectadas en el sitio mostró FT > 1, lo cual puede deberse a mecanismos de tolerancia y detoxificación que impiden su movilización hacia las partes aéreas [22].

En los sitios del Río Sauceda y el humedal de la Planta de Tratamiento Oriente, los suelos presentaron concentraciones más bajas de EPTs. Esto puede atribuirse a una menor influencia antropogénica y a la presencia de especies vegetales con potencial fitorremediador como *Typha domingensis* y *S. americanus*. En el humedal artificial, se evidenció una disminución progresiva en la concentración de As desde la entrada (14.21 mg/kg) hasta la salida (2.24 mg/kg), sugiriendo la retención del contaminante por las raíces de *T. domingensis*. Esta especie ha sido ampliamente reconocida por su capacidad de fitoestabilización [24,37].

De manera similar, en la zona del Río Sauceda, *S. americanus* mostró una notable capacidad de bioconcentración de As y translocación de Pb, en línea con estudios previos que destacan su tolerancia y utilidad para la remediación de suelos contaminados [20,23]. Esta especie también demostró capacidad de acumulación de Zn en raíces sin presentar síntomas de toxicidad, lo que refuerza su utilidad en estrategias de rizofiltración o fitoestabilización.

En conjunto, los resultados evidencian el potencial de diversas especies silvestres para ser utilizadas en programas de fitorremediación de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos en zonas urbanas y semiurbanas de Durango.

Tabla 3. *Concentración de EPTs en las plantas silvestres recolectadas de los sitios de estudio.*

		Concentración de EPTs (mg/kg)				Factor de translocación				Factor de bioconcentración			
Plantas recolectadas en el sitio	**Parte de la planta**	**As**	**Cd**	**Pb**	**Zn**	**As**	**Cd**	**Pb**	**Zn**	**As**	**Cd**	**Pb**	**Zn**
Euphorbia heterophylla	Aérea	0	0.46	7.16	57.18	0	3.09	1.36	1.43	0.02	0.04	0.01	0.34
	Raíz	0.63	0.15	5.27	39.93								
Adenophyllum cancellatum	Aérea	0	0.63	1.18	52.58	0	1.08	0.24	1.12	0	0.19	0	0.4
	Raíz	0.69	0.58	4.94	46.95								
Tithonia tubiformis	Aérea	0	0.83	0	91.61	0	1.48	0	1.26	0.07	0.17	0.02	0.62
	Raíz	1.81	0.56	8.05	72.81								
Bidens odorata	Aérea	0	2.12	2.25	105.39	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
Schoenoplectus americanus	Aérea	2.49	0	10.49	59.73	0.29	0	1.67	0.17	1.07	0.06	0.11	5.77
	Raíz	8.61	0.0036	6.27	351.12								
Typha domingensis (RE1PT)	Raíz	14.21	0.3	14.25	81.1	SD	SD	SD	SD	0.53	0.62	0.15	0.2
Typha domingensis (RS1PT)	Raíz	2.24	0	5.04	52.45	SD	SD	SD	SD	0.34	0	0.14	0.6

*SD: sin dato

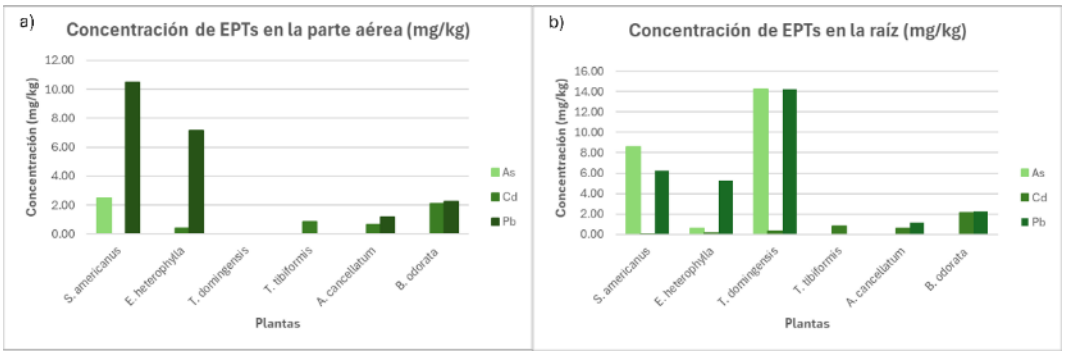


Figura 5. Concentración de EPTs en plantas silvestres.

Nota. La concentración de los EPTs (mg/kg) en plantas fue determinada en a) La parte aérea de las plantas y en b) en la raíz de las plantas como se indicó en materiales y métodos.

CONCLUSIONES

Los resultados del estudio indican que en el sitio la Antigua Estación del Ferrocarril presentó las concentraciones más altas en suelo de As y Pb. Se identificó el potencial fitorremediador de *Euphorbia heterophylla*, *Adenophyllum cancellatum* y *Tithonia tubiformis* para Pb, destacando que estas especies no han sido reportadas previamente con esta capacidad, mientras que *Bidens odorata* presentó altos niveles de Zn en su parte aérea. En otros sitios, la menor contaminación podría estar relacionada con la presencia de especies como *Typha dominguensis* y *Schoenoplectus americanus*, que mostraron acumulación y estabilización de metales. Esto resalta la importancia de seguir investigando los mecanismos fisiológicos de las plantas para desarrollar estrategias tecnológicas de fitorremediación con especies nativas para la recuperación ambiental de sitios contaminados.

REFERENCIAS

[1] M.T. Alarcón-Herrera, D.A. Martin-Alarcon, M. Gutiérrez, L. Reynoso-Cuevas, A. Martín-Domínguez, M.A. Olmos-Márquez, J. Bundschuh, Co-occurrence, possible origin, and health-risk assessment of arsenic and fluoride in drinking water sources in Mexico: Geographical data visualization, Science of The Total Environment 698 (2020) 134168.

[2] B.M. Alderete-Suárez, M.C. Valles-Aragón, S. Canales-Reyes, M. del R. Peralta-Pérez, E. Orrantia-Borunda, BIOCONCENTRACIÓN DE Pb, Cd Y As EN BIOMASA DE Eleocharis macrostachya (CYPERACEAE), Revista Internacional de Contaminación Ambiental 35 (2019) 93–101.

[3] H. Ali, E. Khan, M.A. Sajad, Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications, Chemosphere 91 (2013) 869–881.

[4] Y.J. Avalos-Ramírez, Contaminación por plomo en suelo, agua, alimentos y sus efectos en los seres humanos, Revista de Investigaciones de La Universidad Le Cordon Bleu 10 (2023) 59–68.

[5] L. Bouida, M. Rafatullah, A. Kerrouche, M. Qutob, A.M. Alosaimi, H.S. Alorfi, M.A. Hussein, A Review on Cadmium and Lead Contamination: Sources, Fate, Mechanism, Health Effects and Remediation Methods, Water (Basel) 14 (2022) 3432.

[6] S.A. Covarrubias, J.J. Peña Cabriales, Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación, Revista Internacional de Contaminacion Ambiental 33 (2017) 7–21.

[7] A.E. Delgadillo-López, C.A. González-Ramírez, F. Prieto-García, J.R. Villagómez-Ibarra, O. Acevedo-Sandoval, Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación, Tropical and Subtropical Agroecosystems 14 (2011) 594–612.

[8] J. Díez Lázaro, Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas, 2009.

[9] C.A. Gonzalez, S.J. Choquette, Standard Reference Material 1573a Tomato Leaves, National Institute of Standards and Technology. (2018).

[10] C.A. Gonzalez, S.J. Choquette, Standard Reference Material 2710a Montana I Soil, National Institute of Standards and Technology. (2018).

[11] M.S. González-Elizondo, M. González-Elizondo, I.L. López-Enríquez, J.A. Tena-Flores, J.G. González-Gallegos, L. Ruacho-González, A. Melgoza-Castillo, J.Á. Villarreal-Quintanilla, A.E. Estrada-Castillón, Diagnóstico del conocimiento taxonómico y florístico de las plantas vasculares del norte de México, Bot Sci 95 (2017) 760–779.

[12] P. Guadarrama Guzmán, G. Fernández Villagómez, M.T. Alarcón Herrera, Assessment of risk to health caused by the exposure to mining waste in Durango, Mexico, Ingeniería Investigación y Tecnología 22 (2021) 1–9.

[13] A. Kabata-Pendias, Zinc, in: Trace Elements in Soils and Plants, 3rd ed., CRC Press, 2001: pp. 146–158.

[14] H. Kaur, S. Srivastava, N. Goyal, S. Walia, Behavior of zinc in soils and recent advances on strategies for ameliorating zinc phyto-toxicity, Environ Exp Bot 220 (2024).

[15] A. Kubier, R.T. Wilkin, T. Pichler, Cadmium in soils and groundwater: A review, Applied Geochemistry 108 (2019).

[16] A. Kumar, S. Basu, A.K. Rishu, G. Kumar, Revisiting the mechanisms of arsenic uptake, transport and detoxification in plants, Environ Exp Bot 194 (2022).

[17] H. Kumar, G. Singh, V.K. Mishra, R.P. Singh, P. Singh, Airborne heavy metals deposition and contamination to water resources, Metals in Water: Global Sources, Significance, and Treatment (2023) 155–173.

[18] M.M. Lasat, Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms, Journal Environmental Quality 31 (2002) 109–120.

[19] C. Lavado-Meza, J.A. Suazo, L. De La Cruz-Cerrón, R.A. Vasquez, G. López-Orihuela, Lead phytoremediation by three plant species with an organic amendment, in: Proceedings of the LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology, Latin American and Caribbean Consortium of Engineering Institutions, 2023.

[20] C. Mendieta-Webster, K. Taisigüe-López, Acumulación y traslocación de metales, metaloides y no metales en plantas nativas de la zona minera de Chontales: Implicaciones para el potencial de fito-remediación, 2014.

[21] N. Natasha, M. Shahid, I. Bibi, J. Iqbal, S. Khalid, B. Murtaza, H.F. Bakhat, A.B.U. Farooq, M. Amjad, H.M. Hammad, N.K. Niazi, M. Arshad, Zinc in soil-plant-human system: A data-analysis review, Science of the Total Environment 808 (2022).

[22] S. Nath Barbhuiya, R. Warisa, D. Barhoi, J. Das, S. Giri, Consequences of arsenic exposure in Plant-health status: an overview, in: Arsenic in the Environment - Sources, Impacts and Remedies, IntechOpen, 2023.

[23] G.O. Núñez-Montoya, M.T. Alarcón-Herrera, A. Melgoza-Castillo, F.A. Rodríguez-Almeida, M.H. Royo-Márquez, Evaluación de Tres Especies Nativas del Desierto Chihuahuense para uso en Fitorremediación, Terra Lationoamericana 25 (2007) 35–41.

[24] J.P. V. Oliveira, M.P. Pereira, V.P. Duarte, F.F. Corrêa, E.M. Castro, F.J. Pereira, Cadmium tolerance of Typha domingensis Pers. (Typhaceae) as related to growth and leaf morphophysiology, Brazilian Journal of Biology 78 (2017) 509–516.

[25] M.E. Pereda-Sol, . J.H.M.-G., . J.A.T.-R., Estimation of Hepatic Levels of Heavy Metals and Metalloids in Aquatic Birds from a Wetland Irrigated with Residual Water in the City of Durango, Mexico, Journal of Animal and Veterinary Advances 11 (2012) 826–830.

[26] S. Rajendran, T.A.K. Priya, K.S. Khoo, T.K.A. Hoang, H.-S. Ng, H.S.H. Munawaroh, C. Karaman, Y. Orooji, P.L. Show, A critical review on various remediation approaches for heavy metal contaminants removal from contaminated soils, Chemosphere 287 (2022) 132369.

[27] J.M. Rosas-Castor, J.L. Guzmán-Mar, J.L. Hernández-Ramírez, L. Hinojosa Reyes, Evaluación de la transferencia y especiación de arsénico en cultivos de maíz (Zea mays), Ciencia UANL 18 (2015).

[28] S. de M.A. y R.N. SEMARNAT, Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados 2021-2024, Programa Especial Derivado Del Plan Nacional Del Desarrollo 2019-2024 (2021).

[29] P. Sevak, B. Pushkar, Arsenic pollution cycle, toxicity and sustainable remediation technologies: A comprehensive review and bibliometric analysis, J Environ Manage 349 (2024) 119504.

[30] W. Shotyk, G. Le Roux, Biogeochemistry and Cycling of Lead, 2005.

[31] F.S. Sosa-Rodríguez, J. Vazquez-Arenas, P.P. Peña, M.A. Escobedo-Bretado, F.X. Castellanos-Juárez, I. Labastida, R.H. Lara, Spatial distribution, mobility and potential health risks of arsenic and lead concentrations in semiarid fine top-soils of Durango City, Mexico, Catena (Amst) 190 (2020) 104540.

[32] M.F. Soto Jiménez, D. Olvera-Balderas, Elementos potencialmente tóxicos (Cd, Hg, Pb Y Zn) en suelos impactados por planta recicladora de plomo (Zacatecas, México), a una década de parar operaciones, Revista Internacional de Contaminación Ambiental 35 (2019) 651–669.

[33] P.B. Tchounwou, C.G. Yedjou, U.K. Udensi, M. Pacurari, J.J. Stevens, A.K. Patlolla, F. Noubissi, S. Kumar, State of the science review of the health effects of inorganic arsenic: Perspectives for future research, Environ Toxicol 34 (2019) 188–202.

[34] N.S. Titirmare, A.S. Gaikwad, P.B. Margal, Soil Pollution and Environmental Health, in: Advances in Soil Science, Bright Sky Publications, New Delhi, India, 2023: pp. 267–307.

[35] U.S. EPA., METHOD 3051A- MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SEDIMENTS, SLUDGES, SOILS AND OILS, in: U.S. EPA., Washington, DC., 2007.

[36] H.T. Van, V.H. Hoang, L.T.Q. Nga, V.Q. Nguyen, Effects of Zn pollution on soil: Pollution sources, impacts and solutions, Results in Surfaces and Interfaces 17 (2024).

[37] A. Vera, K. Ramos, E. Camargo, C. Andrade, M. Núñez, J. Delgado, C. Cárdenas, E. Morales, Phytoremediation of wastewater with high lead content and using Typha dominguensis and Canna generalis, Revista Técnica de La Facultad de Ingeniería 39 (2016).

[38] D.J. Welbourne, Soil and Environment, Journal of Environmental and Soil Sciences (2019).

[39] World Health Organization, Guidelines for Drinking-water Quality, 2011.

[40] NMX-AA-132-SCFI-2006, in: Secretaría de Economía, Diario Oficial de la Federación, México, 2006.

[41] NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, in: Diario Oficial de La Federación, Diario Oficial de la Federación, Mexico, 2007.

ESTUDIO BIOLÓGICO-PESQUERO DE ASTEROIDEOS EN PUERTO ÁNGEL, OAXACA: ESTRUCTURA DE TALLAS, ALOMETRÍA Y REPRODUCCIÓN

Tania Abigail Martínez Angeles, Isaías Hazarmabeth Salgado-Ugarte, Verónica Mitsui Saito-Quezada, Mixtli Crisóstomo Pérez

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM
taniamartinez922@gmail.com

RESUMEN

Los asteroideos, del Phylum Echinodermata, cumplen funciones ecológicas clave como depredadores en los ecosistemas marinos bentónicos, regulando poblaciones y participando en el flujo trófico. En México, se ha documentado una amplia diversidad, con más de 600 especies reportadas en sus litorales[9]. En este estudio se analizaron tres especies del Pacífico mexicano: *Pharia pyramidatus*, *Pentaceraster cumingi* y *Phataria unifascialis*, con el objetivo de analizar su estructura de tallas, algunas relaciones alométricas, proporción sexual, índice gonadosomático (*IGS*) y factor de condición relativo (*Kr*) a lo largo del tiempo. Se analizaron 173 organismos recolectados (con el apoyo de buzos locales) en diversos periodos entre 2018 y 2023 en Puerto Ángel, Oaxaca. A cada individuo, se le tomaron mediciones morfométricas: se registró la longitud de los cinco brazos desde el disco oral hasta la punta distal. Posteriormente, se extrajeron las gónadas mediante disección para registrar su peso y se prepararon laminillas para determinar el sexo por observación microscópica. Se registraron los pesos total, eviscerado y seco. Las longitudes se usaron para estimar la estructura de tallas mediante estimadores de densidad por kernel (*EDKs*). La proporción sexual se evaluó mediante la prueba de χ^2 con corrección de Yates (α = 0.05). Se calcularon relaciones alométricas longitud-longitud y peso-longitud utilizando regresión no lineal para ajustar el modelo potencial $Y = aX^b$. Se calculó el índice gonadosomático (*IGS*) como el porcentaje del peso gonadal respecto al peso eviscerado, y el factor de condición relativo (*Kr*) con base en las relaciones alométricas peso-longitud. Los *EDKs* revelaron distribuciones multimodales en las tres especies, con modas dominantes cercanas a 10 cm en *P. pyramidatus*, 14 cm en *P. cumingi* y 8.1 cm en *P. unifascialis*, sugiriendo estructuras poblacionales heterogéneas. En proporción sexual, *P. pyramidatus* y *P. unifascialis* mostraron desviaciones significativas hacia hembras (2:1 y 1:2 respectivamente, $p < 0.05$), mientras que en *P. cumingi* no se hallaron diferencias significativas de la proporción 1:1. En cuanto a la alometría, *P. pyramidatus* y *P. unifascialis* presentaron crecimiento relativo hipoalométrico en la mayoría de sus relaciones longitud-longitud y peso-longitud, a diferencia de *P. cumingi*, que mostró crecimiento relativo isométrico en varios casos. Los valores del IGS evidencian que las tres especies poseen estrategias reproductivas diferenciadas, posiblemente asociadas a factores ambientales locales. *Pharia pyramidatus* muestra picos reproductivos en primavera, lo cual puede reflejar una adaptación a condiciones de mayor temperatura o disponibilidad trófica. *Pentaceraster cumingi* se reproduce principalmente en invierno, indicando una estrategia contrastante. *Phataria unifascialis* mantiene reproducción continua, lo cual puede explicarse por su amplia distribución y adaptabilidad ecológica. Las diferencias en el crecimiento relativo entre especies sugieren variabilidad en la asignación energética y en el desarrollo morfológico. Finalmente, la asociación entre *IGS* y *Kr* demuestra que ambos indicadores permiten evaluar eficientemente la actividad reproductiva y la salud de las poblaciones. Estos hallazgos contribuyen al conocimiento biológico-pesquero de equinodermos en zonas de pesca artesanal, proporcionando una base útil para futuras estrategias de manejo sostenible.

INTRODUCCIÓN

Los equinodermos, un diverso grupo de invertebrados marinos, desempeñan un papel esencial en la comunidad bentónica marina, participando activamente en las redes tróficas y contribuyendo a diversos procesos ecológicos[2]. El Phylum Echinodermata comprende aproximadamente 7,000 especies, organizadas en cinco clases: Asteroidea, Ophiuroidea, Echinoidea, Holothuroidea y

Crinoidea[29;11]. Estos organismos, caracterizados por su simetría radial, endoesqueleto calcáreo, sistema acuífero y sistema nervioso descentralizado, se distribuyen en hábitats marinos a nivel mundial, desempeñando funciones clave en los ecosistemas[22]. Pese a su importancia ecológica, su estudio ha sido limitado frente a otros grupos marinos de interés comercial.

Investigaciones recientes, como las llevadas a cabo por Rahman *et al*. (2018), han resaltado el potencial de las estrellas de mar como objeto de estudio. En México, se han registrado 643 especies de equinodermos, lo que representa el 10% de la diversidad mundial[8].

Clase Asteroidea

La clase Asteroidea, conocida como estrellas de mar, cumple funciones ecológicas fundamentales, como la regulación de poblaciones en la comunidad bentónica y en las cadenas tróficas[8]. Esta clase, descrita por Linneo por su forma estrellada, incluye cerca de 2,000 especies distribuidas en cinco órdenes: Paxillosida, Valvatida, Velatida, Spinulosida y Forcipulatida[4].

Presentan vida libre, cuerpo flexible, un disco central pentagonal o radiado y cinco o más brazos. En la superficie oral se encuentra la abertura ambulacral delimitada por canales, en cuyo interior se alojan las gónadas y glándulas digestivas[26;19;10]

Su reproducción asexual, por fisiparidad, depende de las condiciones ambientales y el estado nutricional del organismo. Este mecanismo incluye la división del cuerpo por el disco o la separación de brazos capaces de regenerar un nuevo individuo, lo cual también actúa como estrategia de escape ante depredadores[5].

Este estudio se centró en tres especies: *Pharia pyramidatus*, *Pentaceraster cumingi* y *Phataria unifascialis*.

Pharia pyramidatus: La estrella piramidal de México

Pharia pyramidatus, de la familia Ophiasteridae, es una de las estrellas de mar más comunes de México. Presenta un disco elevado sobre los radios, gran cuerpo madrepórico irregular y coloración variable, de pardo oscuro a amarillo o crema, con bandas claras en zonas papulares. Tiene cinco radios robustos de forma triangular en vista transversal, cubiertos de gránulos[24].

Habita en aguas tropicales someras desde California hasta Perú e Islas Galápagos, en fondos rocosos, arenosos y arrecifales. Es un depredador generalista de algas y moluscos, y se ha reportado como potencial coralívoro[28].

Su función como depredador impacta la red trófica y el flujo de materia y energía, especialmente en ecosistemas arrecifales[24]. Ha cobrado valor ornamental en el Golfo de California, aunque no existe un registro histórico de sus capturas[28].

***Pentaceraster cumingi:* Estrella de mar cosmopolita del océano Pacífico**

Pentaceraster cumingi es una especie gonocórica con sexos separados que habita zonas tropicales del océano Pacífico, desde el Indopacífico hasta el Pacífico mexicano[9]. Su cuerpo es robusto, con superficie dorsal convexa, reticulada y con espinas cónicas; la superficie ventral es cóncava, cubierta por gránulos y espinas pequeñas[4].

Posee pedicelarios sésiles distribuidos irregularmente y un gran cuerpo madrepórico irregular cerca del centro del disco. Las placas dorsales y espinas son brillantes, con tonalidades verde-marrón entre ellas[4].

Puede reproducirse sexual y asexualmente mediante fisiparidad, especialmente si posee múltiples madreporitos y una porción significativa del disco intacta[10].

***Phataria unifascialis:* La estrella de mar de la costa occidental de América**

Phataria unifascialis[18], o estrella bronceada, es común en la costa del Pacífico oriental, desde el Golfo de California hasta Perú[30]. Tiene un disco pequeño piramidal, cinco brazos largos, redondeados y afilados, con superficie suave y granular. Su coloración varía entre marrón-naranja, azul-gris, rojizo o amarillo, con un diámetro de 8 a 13.7 cm[30;17]

Posee un ciclo reproductivo continuo, con una o más fases gametogénicas durante el año, y participa en el control de biomasa algal en arrecifes. En Baja California se utiliza en la elaboración de artesanías[30].

Habita en aguas someras de hasta 40 m de profundidad. Es herbívora, aunque puede ser parasitada por el gasterópodo *Thyca callista* (Berry, 1959), exclusivo de asteroideos. La creciente demanda de recursos marinos ha generado presión sobre esta especie, afectando sus poblaciones cuando la captura no es sostenible[30].

Área de estudio: Puerto ángel, Oaxaca

Puerto Ángel, ubicado en la costa del Pacífico mexicano dentro del municipio de Pochutla, al suroeste de Oaxaca (15° 39’ 54.04’’ N y 96° 29’ 35.44’’ O), constituye una región clave por su relevancia ecológica y oceanográfica[24]. Esta localidad forma parte de una franja costera que se extiende a lo largo de 597.5 km, con una considerable riqueza ambiental representada por ecosistemas estuarinos y lagunas costeras [31]. La costa de Puerto Ángel se inserta dentro del Golfo de Tehuantepec, una zona de alta productividad primaria influenciada por los vientos Tehuanos, que provocan surgencias ricas en nutrientes durante la temporada de “Nortes”, de noviembre a febrero[31]. Asimismo, el litoral rocoso, que va desde Salinas del Marqués hasta Puerto Ángel, se distingue por su compleja geomorfología de acantilados, playas, bahías y arrecifes, y está sujeto a diversos factores como oleajes, aportes fluviales, mareas rojas y el fenómeno de El Niño[24]. Bajo la clasificación climática de Köppen modificada por García (2004), la zona presenta un clima cálido subhúmedo tipo Aw_0 (w)igw’’, con lluvias concentradas en verano, temperaturas promedio anuales de 28°C y una marcada influencia isotermal[31].

PARTE EXPERIMENTAL

Para la realización de este proyecto, se utilizó una base de datos histórica del Laboratorio de Biometría y Biología Pesquera (LBBP) de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM, ubicado en el Campus II, en la Ciudad de México. La recolección de organismos se realizó en Puerto Ángel, Oaxaca (Figura 1), con la ayuda de buzos locales, durante un período comprendido desde agosto de 2018 hasta abril de 2019, obteniéndose un total de 110 estrellas de mar.

Adicionalmente, se incluyeron 9 organismos recolectados en abril de 2022. También se incorporó otra muestra compuesta por 44 organismos recolectados durante el período de febrero a marzo de 2023. Los ejemplares fueron transportados al laboratorio en hieleras con solución frigorífica (hielo y sal), con el fin de preservar su integridad. Es importante señalar que existe una falta de información correspondiente al período 2020–2021, debido a que, durante ese lapso, se presentó la pandemia de SARS-CoV-2 y no se realizaron muestreos.



Figura 1. Puerto de Puerto Ángel, Oaxaca

Procesamiento de muestras

Se procedió a su descongelación mediante inmersión en agua. A continuación, se registraron tres tipos de peso por cada organismo: peso total, peso eviscerado y peso seco.

Con el objetivo de registrar el tamaño de cada estrella de mar, se tomaron medidas morfométricas centradas en la longitud de los brazos. Estas mediciones se realizaron desde una vista dorsal, midiendo desde la boca, ubicada en el centro del disco blanco, hasta el extremo distal de cada brazo (*L*). A cada organismo se le asignó como "brazo 1" aquel que presentó la mayor longitud, y el resto fueron numerados en sentido de las manecillas del reloj. Para facilitar este procedimiento, se empleó una plantilla en la que se registraron las longitudes de los cinco brazos (Figura 2).

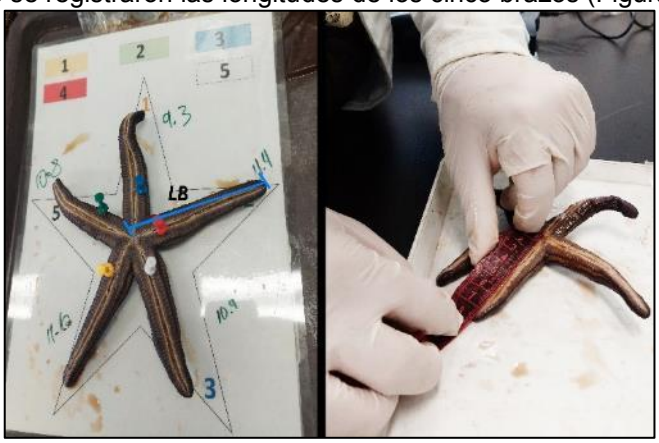


Figura 2. Medición morfométrica (Longitud de los brazos) en los organismos recolectados.

En los casos de *Pharia pyramidatus* y *Phataria unifascialis*, se colocaron tachuelas en los brazos para mantener la numeración al momento de seccionarlos. Estas tachuelas eran retiradas antes de registrar los pesos de cada brazo, utilizando una balanza electrónica de precisión Ohaus Scout Pro (precisión de 0.01 g).

Los brazos fueron abiertos cuidadosamente a lo largo del surco ambulacral empleando pinzas de disección, lo que permitió el acceso directo al par de gónadas presentes en cada organismo. En el caso de *Pentaceraster cumingi*, no fue necesario seccionar los brazos para acceder a las gónadas. El peso total de las gónadas extraídas fue registrado individualmente.

Posteriormente, se aplicó el procedimiento conocido como "*splash*", el cual consiste en colocar una pequeña porción de gónada junto con una gota de agua sobre un portaobjetos, cubriéndolo con un cubreobjetos y ejerciendo presión para extender el tejido. Las muestras fueron observadas bajo un microscopio óptico con aumentos de 4x y 10x. Con base en estas observaciones, se realizó la asignación del sexo para cada uno de los organismos analizados.

Gabinete
Composición de tallas - *EDKs*

La estructura de tallas de las estrellas de mar se analizó mediante estimadores de densidad por kernel (*EDKs*) (gaussiano), técnica no paramétrica que resuelve limitaciones de los histogramas como el origen y la discontinuidad. Un *EDK* sustituye la función constante del histograma por una curva suave centrada en cada observación, lo cual permite representar mejores distribuciones de variables continuas como el tamaño de los organismos[15;14;13].

Los estimadores de densidad de kernel (EDKs) se calculan mediante:

$$\hat{\boldsymbol{f}}(\boldsymbol{x}) = \frac{\mathbf{1}}{\boldsymbol{nh}} \sum_{\boldsymbol{i=1}}^{\boldsymbol{n}} \boldsymbol{k}\left(\frac{\boldsymbol{x}-\boldsymbol{X_i}}{\boldsymbol{h}}\right) \text{.....(1)}$$

Donde $\hat{f}(x)$ es la densidad estimada, *n* el tamaño de muestra, *h* la amplitud de banda, y *k* el kernel (forma de la curva, en este estudio fue Gaussiano)[16;15;14].

Para este estudio, se utilizó el ancho de banda óptimo propuesto por Silverman para distribuciones gaussianas:

$$\hat{h} = 1.06\hat{\sigma}n^{-1/5} \text{.....(2)}$$

Donde $\hat{\boldsymbol{\sigma}}$ es la desviación estándar estimada. Los *EDKs* se generaron con rutinas en R desarrolladas por Salgado-Ugarte y Saito-Quezada[13]. Se probaron tres bandas: sobresuavizada (para identificar características como sesgo o multimodalidad), óptima y semióptima, usando la función "bandw.R"[16;13].

Proporción sexual

Se aplicó la prueba de χ^2 con corrección de Yates (α=0.05) para evaluar si la proporción de sexos (hembras y machos) era de 1:1 [31]. Las hipótesis fueron:

- *Ho*: proporción 1:1 entre hembras y machos.
- *Ha:* proporción distinta de 1:1.

La fórmula utilizada fue:

$$\boldsymbol{\chi_Y^2} = \sum_{\mathbf{i=1}}^{\boldsymbol{k}} \frac{(|\boldsymbol{Oi}-\boldsymbol{Ei}|-\mathbf{0.5})^{\mathbf{2}}}{\boldsymbol{Ei}} \text{.....(3)}$$

Donde Oi son frecuencias observadas y Ei las esperadas.

Alometría: relación longitud-longitud y peso-longitud

Se analizaron relaciones entre la longitud de los brazos y el peso de los organismos mediante la ecuación alométrica:

$$Y = aX^b \quad \text{.....(4)}$$

donde *Y* es el peso o longitud total, *X* la longitud de los brazos, *a* el coeficiente de proporcionalidad y *b* el índice alométrico[13]. Para la relación peso-longitud se consideró la suma de las longitudes de los cinco brazos. Los parámetros fueron estimados por medio de las rutinas para el lenguaje R de regresión no lineal "nls" (R Core Team, 2022) y del programa "potfun.R" [13].

Índice Gonadosomático (*IGS*)

El *IGS* se calculó para evaluar la actividad reproductiva mediante:

$$\boldsymbol{IGS = \frac{Peso\ total\ de\ la\ gónadas}{Peso\ eviscerado} * 100} \quad \text{.....(5)}$$

Este índice refleja el desarrollo gonadal y la época de desove. Se empleó el peso eviscerado para mayor precisión[14], considerando también factores ambientales que pueden afectar el peso gonadal y los procesos reproductivos[3].

Factor de condición relativo (*Kr*)

Para evaluar la condición corporal asociada a la madurez gonadal, se calculó el índice Kr:

$$Kr = \frac{Pe}{aX^b} \quad \text{.....(6)}$$

Donde *Pe* es el peso eviscerado observado, *X* la longitud de los brazos, y *a*, *b* los parámetros alométricos[4] de la relación peso-longitud. Este índice permite identificar cambios en la condición corporal somática durante el ciclo anual.

RESULTADOS

Composición de tallas – EDKs

Las longitudes del brazo en las especies estudiadas oscilaron entre 7.2–15.6 cm en *Pharia pyramidatus*, 6.0–12.0 cm en *Phataria unifascialis* y 7.8–14.6 cm en *Pentaceraster cumingi*. En el caso de *P. pyramidatus*, la longitud máxima fue ligeramente menor a la reportada por Martínez-García[28] en Isla Montosa, Oaxaca (7–16 cm) y notablemente mayor que la informada por Caso[25], quien reportó un intervalo de 5.1–13.7 cm. Por otro lado, Morales-Montesinos[27] registró individuos más grandes, con longitudes de 6.6–18.2 cm. Para *P. unifascialis*, las tallas observadas en este estudio (6.0–12.0 cm) fueron mayores que las documentadas por Morgan y Cowles[23] en Bahía de Loreto (5.7–10.7 cm) y menores al intervalo superior observado por Herrera-Escalante[30] en Bahía de La Paz (4.7–13.9 cm). Además, se supera el tamaño máximo reportado por Caso[25], de sólo 7.5 cm, mientras que dicha autora indicó una talla máxima de 12.7 cm, similar a la hallada en este estudio. Finalmente, en *P. cumingi* se registraron longitudes de 7.8–14.6 cm, mayores a las observadas por Morales-Montesinos[27] (4.8–13.0 cm) y por Caso[23] (3.9–9.5 cm), lo cual indica la presencia de individuos más grandes en la población analizada (de Puerto Ángel).

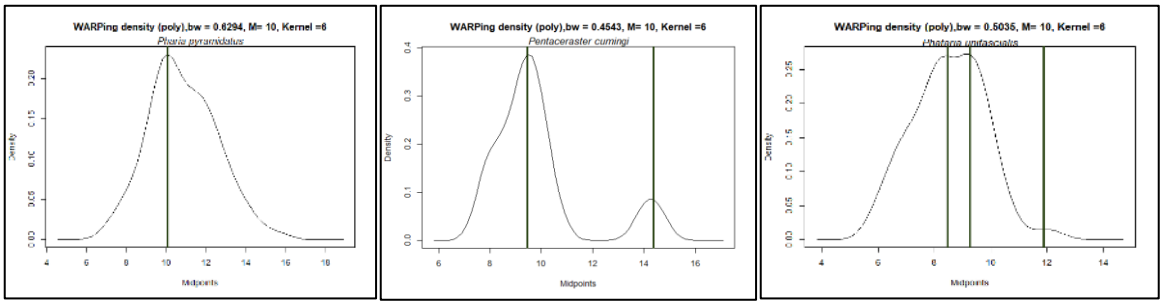


Figura 3. EDK con amplitud “óptima”, para la longitud del brazo 1 de *Pharia pyramidatus* (n= 86), *Pentaceraster cumingi* (n= 17) y *Phataria unifascialis (n*= 58).

Estas diferencias en los intervalos de longitud pueden estar relacionadas con diversos factores ambientales y biológicos. De acuerdo con Lessios[12] y Levitan[6], la temperatura del agua, la densidad poblacional, la disponibilidad de alimento, la presión de depredación y la tasa de mortalidad influyen directamente en la estructura de tamaños de las poblaciones de asteroideos. Además, se observó que algunos individuos presentaban brazos en proceso de regeneración, lo cual puede modificar las mediciones y afectar la evaluación del crecimiento (individual y relativo). También se ha documentado que los individuos juveniles son difíciles de detectar en campo, por su rareza y menor visibilidad, mientras que los ejemplares de mayor tamaño son más fácilmente capturados, lo que puede influir en la distribución de tallas observadas.

Proporción sexual

De acuerdo con Martínez-García[28], *Pharia pyramidatus* no presenta dimorfismo. En el estudio realizado en Puerto Ángel, se observó una mayor abundancia de hembras (39 individuos) en comparación con los machos (16 individuos), lo cual coincide con lo reportado por la autora citada[28]. La prueba de Ji-cuadrada mostró diferencias significativas (χ^2 = 8.80, P = 0.00) entre las proporciones de hembras y machos, indicando que estas no siguen una relación esperada de 1:1. Este resultado contrasta con lo hallado por Martínez-García[28], quien reportó proporciones equilibradas en la mayoría de los meses, salvo en octubre, donde los machos predominaron significativamente.

En *Pentaceraster cumingi*, se identificó una proporción de hembras (10 individuos) mayor a la de machos (6 individuos); sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas (χ^2 = 0.56, P = 0.45), por lo que se asume una proporción cercana a 1:1 en esta población.

En cuanto a *Phataria unifascialis*, los resultados indicaron una mayor frecuencia de hembras (27 individuos) respecto a machos (13 individuos), con diferencias estadísticamente significativas (χ^2 = 4.23, P = 0.04). Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Herrera-Escalante[30] en la localidad de Pichilingue, Bahía de La Paz, Baja California Sur, donde también se observó una mayor frecuencia de hembras. No obstante, en ese estudio no se encontraron diferencias significativas en la proporción global, a diferencia del patrón detectado en Puerto Ángel.

Alometría. Relación longitud–longitud y peso–longitud

Se analizaron las relaciones entre las longitudes de los brazos en machos y hembras de las tres especies. En *Pentaceraster cumingi*, se obtuvo un crecimiento relativo isométrico, sustentado por los intervalos de confianza al 95 % que incluyeron el valor de 1, lo cual indica proporcionalidad entre las longitudes de los brazos.

En contraste, *Phataria unifascialis* y *Pharia pyramidatus* presentaron un crecimiento relativo hipoalométrico, ya que los límites del intervalo de confianza del 95 % fueron inferiores a 1. Este patrón indica que el alargamiento de los brazos no ocurre en proporción directa con el crecimiento del organismo. Como lo señala Herrera-Escalante[30], los asteroideos juveniles suelen tener discos

centrales proporcionalmente más grandes y brazos más cortos, lo que influye en este tipo de alometría.

En cuanto a la relación peso–longitud, se aplicó un análisis de regresión no lineal entre el peso eviscerado y la longitud de cada brazo. En las tres especies analizadas, *Pentaceraster cumingi*, *Pharia pyramidatus* y *Phataria unifascialis*, se obtuvo un crecimiento relativo hipoalométrico, respaldado por intervalos de confianza al 95 % cuyos límites superiores fueron menores a 3. Estos resultados indican que el incremento en peso no es proporcional al crecimiento en longitud, lo cual puede explicarse por la forma pentámera y alargada de los brazos, característica morfológica de estos equinodermos.

Finalmente, el análisis de la relación entre el peso eviscerado y la suma de las longitudes de los cinco brazos también reveló un crecimiento relativo hipoalométrico en las tres especies, con límites superiores del intervalo de confianza al 95 % menores a 3. Este resultado reafirma la ausencia de isometría en el crecimiento relativo entre estas variables estructurales.

Índice Gonadosomático (*IGS*)

Estudios previos sobre *Pharia pyramidatus* en distintas localidades han permitido caracterizar su ciclo reproductivo como anual. En Bahía de La Paz, se observó una mayor proporción de individuos maduros entre mayo y septiembre, con picos reproductivos en junio y julio; el desove se extendió de junio a diciembre, alcanzando su máxima intensidad en agosto y septiembre. Las fases de post-desove fueron más frecuentes entre septiembre y marzo, especialmente en octubre. Asimismo, se registró la presencia de individuos en estado indiferenciado durante casi todo el año, con excepción de junio y julio[7].

De acuerdo con Martínez-García[28] en Isla Montosa, la especie presentó un ciclo anual con fase de desarrollo gonadal de enero a junio, alcanzando su máximo en abril y mayo. La madurez y el inicio del desove se detectaron en julio y agosto (≈30 % de los individuos), y el desove se prolongó hasta septiembre. Las fases de post-desove se incrementaron en septiembre y concluyeron en octubre, mientras que la fase de reabsorción inició en octubre y alcanzó su pico en noviembre y diciembre.

En el Parque Nacional Archipiélago Espíritu Santo, también se observó un ciclo reproductivo anual durante la temporada de verano, coexistiendo con otras especies como *Phataria unifascialis*, que mostraron patrones similares[30].

En el presente estudio en Puerto Ángel, Oaxaca, el *IGS* de *Pharia pyramidatus* mostró variaciones estacionales significativas. En hembras, el valor más alto se registró en noviembre de 2018, coincidiendo con el inicio del desove, mientras que el más bajo fue en febrero de 2023. Para los machos, el *IGS* más alto se observó en abril de 2019, y el más bajo en marzo de 2023. Estos resultados respaldan un ciclo reproductivo anual, con una fase activa durante la temporada seca (primavera) y valores altos de *IGS* asociados a la madurez gonadal, en concordancia con los ciclos reportados en otras regiones.

La naturaleza continua del ciclo reproductivo en esta especie implica que pueden observarse una o varias fases de gametogénesis a lo largo del año[19]. En Baja California, se ha documentado que las fases gametogénicas presentan frecuencias variables: la fase de desarrollo (diciembre a abril) se presentó en el 15.2 % de los casos; la madurez, en el 5 %; el desove, en el 37.4 %; el post-desove, en el 27.3 %; y la fase indiferenciada o de reposo, en el 15.1 %[28].

Los resultados obtenidos en Puerto Ángel coinciden con estos patrones. En machos, los valores más altos de *IGS* en octubre indican fases de desarrollo y madurez, mientras que los valores mínimos en marzo de 2023 corresponden a la fase de reabsorción. En hembras, el valor máximo en abril de 2019 también refleja una fase de madurez, y el mínimo en marzo de 2023, la fase de reabsorción. Se identificaron todas las fases reproductivas (desarrollo, madurez, desove, post-desove y reposo), aunque con variaciones en el momento de su ocurrencia. En conjunto, estos

hallazgos sugieren que la población de *Pharia pyramidatus* en Puerto Ángel presenta un ciclo reproductivo continuo y regionalmente coherente con lo reportado previamente.

Factor de Condición Relativo (*Kr*)

Los estudios previos sobre el factor de condición relativo (*Kr*) en organismos marinos han demostrado su estrecha relación con el ciclo reproductivo. Durante la etapa de desarrollo gonadal, es común observar una disminución en la condición somática debido a la asignación energética hacia la formación de gónadas, lo que reduce las reservas corporales[14]. Aunque no se encontraron estudios específicos sobre el *Kr* en estrellas de mar, se recurrió (preliminarmente) a antecedentes de peces marinos de la misma localidad, que comparten condiciones ambientales similares.

En el presente estudio, se analizó el *Kr* de *Pharia pyramidatus*, *Pentaceraster cumingi* y *Phataria unifascialis*, observándose variaciones mensuales asociadas al ciclo reproductivo. Para *Pharia pyramidatus*, el *Kr* disminuyó durante la etapa de su reproducción, en concordancia con lo reportado por Salgado-Ugarte *et al*.[13]. Posteriormente, en los meses de marzo y abril, se registró un aumento en el *Kr*, indicando una recuperación de la condición somática tras la inversión energética en la reproducción. Esto sugiere que el patrón de condición relativa en esta especie en Puerto Ángel sigue tendencias previamente descritas.

Phataria unifascialis mostró un comportamiento similar, con una reducción del *Kr* durante el desarrollo gonadal. La variabilidad observada puede atribuirse a su ciclo reproductivo continuo y a la superposición de fases reproductivas, fenómeno ya mencionado en la literatura[14;3].
.

En *Pentaceraster cumingi*, también se identificó una disminución del *Kr* durante las fases de desarrollo y reabsorción de las gónadas. Este patrón coincide con lo planteado por Salgado-Ugarte *et al*.[14] y se alinea con las observaciones realizadas en peces marinos bajo condiciones reproductivas similares[3].

En conjunto, los resultados sugieren que las tres especies de estrellas de mar estudiadas en Puerto Ángel experimentan variaciones en su condición somática asociadas al ciclo reproductivo, con una tendencia general de reducción del *Kr* durante las fases de inversión energética en reproducción, seguida de una recuperación posterior.

CONCLUSIONES

El presente estudio permitió caracterizar aspectos clave del ciclo reproductivo de *Pharia pyramidatus*, *Pentaceraster cumingi* y *Phataria unifascialis* en Puerto Ángel, Oaxaca, mediante el análisis de la estructura de tallas, proporción sexual, relaciones morfométricas, índice gonadosomático (*IGS*) y factor de condición relativo (*Kr*). Se comprobó que *Pharia pyramidatus* y *Pentaceraster cumingi* presentan ciclos reproductivos anuales, aunque con picos en diferentes épocas (primavera e invierno, respectivamente), mientras que *Phataria unifascialis* mostró una reproducción continua. Los análisis morfofisiológicos confirmaron que la inversión energética en la reproducción se refleja en la disminución del *Kr* durante las etapas de desarrollo gonadal. Las diferencias observadas entre especies evidencian estrategias reproductivas particulares, adaptadas a las condiciones ambientales locales, lo que aporta información relevante para la comprensión ecológica y el manejo potencial de estos equinodermos en la región.

Se agradece el apoyo de la DGAPA y la FES Zaragoza a través de los proyectos PAPIME claves PE204822 y PE206724

BIBLIOGRAFÍA

1. B.W. Silverman, *Density Estimation for Statistics and Data Analysis* (Chapman y Hall, Londres, 1986), 175 p.
2. C. Birkeland, "The influence of echinoderms on coral-reef communities," in *Echinoderm Studies*, vol. 3, M. Jangoux and J. M. Lawrence, Eds. (Balkema, Rotterdam, 1989), pp. 1–79
3. C. Granado-Lorencio, *Ecología de peces* (Editorial Universidad de Sevilla, Sevilla, España, 2002), 353 pp.
4. C. P. Hickman, *A Field Guide to Sea Stars and Other Echinoderms of Galápagos* (Sugar Spring Press, Lexington, Virginia, 1998).
5. D. Díaz-Guisado, C. F. Gaymer, K. B. Brokordt, and J. M. Lawrence, "Autotomy reduces feeding, energy storage and growth of the sea star *Stichaster striatus*," *J. Mar. Biol. Ecol.*, 2006, 338, pp. 73–80.
6. D. R. Levitan, "Density-dependent size regulation in *Diadema antillarum*: effects on fecundity and survivorship," *Ecology*, 1989, 70(5), pp. 1414–1424.
7. E. E. Sánchez-Villalobos, "Dinámica poblacional y ciclo reproductivo de *Pharia pyramidatus* (Gray, 1840) (Echinodermata: Asteroidea) en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México," Tesis de Maestría, IPN-CICIMAR, México, 2012, 79 p.
8. E. Mutschke, C. Ríos, C. Aldea, A. Montiel, and F. Silva, "Biodiversidad marina en Magallanes: Equinodermos del Pabellón de Colecciones Edmundo Pisano," *An. Inst. Patag.*, 2016, 44(2), pp. 23–33. https://doi.org/10.4067/s0718-686x2016000200002
9. F. A. Solís-Marín, A. Laguarda-Figueras, and M. Honey-Escandón, "Biodiversidad de equinodermos (Echinodermata) en México," *Rev. Mex. Biodiv.*, Supl., 2014, 85, pp. 441–449.
10. F. S. Chia and C. W. Walker, "Echinodermata: Asteroidea," in *Reproduction of Marine Invertebrates, Vol. VI: Echinoderms and Lophophorates*, A. C. Giese, J. S. Pearse, and V. B. Pearse, Eds. (The Boxwood Press, USA, 1991), pp. 301–340.
11. F. W. Harrison and F. S. Chia, *Microscopic Anatomy of Invertebrates, Vol. 14: Echinodermata* (Wiley-Liss, 1994), 510 p.
12. H. A. Lessios, "Reproductive periodicity of the echinoids *Diadema* and *Echinometra* on the two coasts of Panama," *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1981, 50, pp. 47–61.
13. I. H. Salgado-Ugarte and V. M. Saito-Quezada, *Métodos cuantitativos computarizados para biología pesquera* (Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y DGAPA, UNAM, México, 2020), 487 p.
14. I. H. Salgado-Ugarte, J. L. Gómez-Márquez, and B. Peña-Mendoza, *Métodos actualizados para el análisis de datos biológicos-pesqueros* (Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y DGAPA, UNAM, México, 2005), 240 p.
15. I. H. Salgado-Ugarte, *Métodos estadísticos exploratorios y confirmatorios para análisis de datos. Un enfoque biométrico* (Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y DGAPA, UNAM, México, 2013), 299 p.
16. I. H. Salgado-Ugarte, *Suavización no paramétrica para análisis de datos* (FES Zaragoza y DGAPA, UNAM, México, 2002), 139 p.
17. J. A. Ramírez-Ramírez, "Elaboración de un catálogo de equinodermos (Asteroidea) que habitan en los Bajos 52 y Vicioso de la REMACOPSE, durante el periodo de estudio julio a diciembre del 2013," Tesis de Licenciatura, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador, 2014, 48 p.
18. J. E. Gray, "A synopsis of the genera and species of the class Hypostoma (Asterias Linn)," *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 1840–1841, 6, pp. 157–184, 275–290.
19. J. Lawrence, *A Functional Biology of Echinoderms* (The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1987), 340 p.
20. J. M. Shick, W. F. Taylor y A. N. Lamb, "Reproduction and genetic variation in the deposit-feeding seastar *Ctenodiscus crispatus*," *Mar. Biol.*, 1981, 63, pp. 51–66.
21. L. Maluf, *Composition and Distribution of the Central Eastern Pacific Echinoderms* (Natural History Museum of Los Angeles County, Technical Reports, 1987), 242 p.

22. M. A. Rahman *et al*., “The sea stars (Echinodermata: Asteroidea): Their biology, ecology, evolution and utilization,” *SF J. Biotechnol. Biomed. Eng.*, 2018, 1(2), p. 1007.
23. M. B. Morgan y D. L. Cowles, “The effects of temperature on the behaviour and physiology of *Phataria unifascialis* (Gray) (Echinodermata, Asteroidea): Implications for the species’ distribution in the Gulf of California, Mexico,” *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1996, 208(1–2), pp. 13–27.
24. M. Castillo-Cabrera, Aspectos biológicos-pesqueros y diversidad de la ictiofauna proveniente de la pesca artesanal de Puerto Ángel, Oaxaca, Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, México, 2023, 170 p.
25. M. E. Caso, “Contribución al conocimiento de los Astéridos de México,” Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, 1943.
26. M. E. Caso, *Estado actual de los conocimientos acerca de los equinodermos de México*, Tesis Doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1961, 387 p.
27. M. I. Morales-Montesinos, “Revisión taxonómica de los asteroideos del mar peruano,” Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 2011, 155 p.
28. M. Martínez-García, “Patrones reproductivos de *Pharia pyramidatus* (Gray, 1840) (Echinodermata: Asteroidea) en Isla Montosa, Pacífico Tropical Mexicano,” Tesis de Licenciatura, Universidad del Mar, Campus Puerto Ángel, México, 2010, 78 p.
29. R. C. Brusca and G. J. Brusca, *Invertebrates* (Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, 1990), 992 p.
30. T. Herrera-Escalante, “Dinámica poblacional y reproducción de la estrella de mar *Phataria unifascialis* (Gray, 1840) (Echinodermata: Asteroidea) en Pichilingue, Bahía de la Paz, BCS México,” Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, 2005, 80 p.
31. V. M. Saito-Quezada *et al*., “Reproductive cycle of *Hexaplex princeps* (Broderip, 1833) from one artisanal fishery at the southern coast of Mexico,” Lat. Am. J. Aquat. Res., 2018, 46(1), pp. 91–103.
32. V. M. Saito-Quezada, “Edad y crecimiento por lectura de otolitos de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) en la presa Emiliano Zapata, Morelos,” Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México D.F., 2004, 95 p.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E HISTOQUÍMICAS DE LAS HOJAS DE *Bauhinia Variegata* L. (PATA DE VACA)

Karen Robledo Amador, Sofia Loza Cornejo, María de la Luz Miranda Beltrán

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara
karen.robledo4153@alumnos.udg.mx

RESUMEN

Las especies del género *Bauhinia* se han estudiado ampliamente por los efectos positivos que causan a la salud. Particularmente, la especie *Bauhinia variegata* L., tiene gran reconocimiento por su actividad biológica, debido a los principios activos identificados en cada uno de sus órganos como raíz, tallo, corteza, hojas, flores y frutos, los cuales han sido objeto de estudio; sin embargo, las hojas se han estudiado más ampliamente. A pesar de ello, la especie *B. variegata* L., carece de información morfo anatómica e histoquímica, lo cual es importante identificar ya que puede ser de gran importancia, principalmente para tener marcadores a nivel anatómico para identificar la taxonomía de la especie, así como también conocer su composición histoquímica.

INTRODUCCIÓN

Las plantas se han utilizado desde tiempos ancestrales como alimento principalmente, pero también por sus propiedades curativas; aproximadamente el 25 % de los fármacos utilizados en la medicina actual provienen de especies vegetales, 50% son de origen sintético con principios activos aislados de las plantas. No obstante, de una gran variedad de especies es limitada la información en cuanto a su composición química, morfo anatómica e histoquímica *(Da Silva y col., 2002). Bauhinia variegata* L., es poco conocida; sin embargo, ha despertado el interés en la comunidad científica por sus propiedades, aunque los análisis morfo anatómicos son escasos; asimismo, se carece de los datos o caracteres histoquímicos de la planta. El estudio a las especies medicinales ha tenido un aumento significativo, debido a la actividad biológica que han demostrado algunas de ellas. Por lo anterior, es fundamental investigar sobre la composición química, morfoanatómica e histoquímica de las especies para determinar si hay variaciones significativas que puedan contribuir a diferenciarlas; para esta caracterización es necesario partir de aspectos macromorfológicos para conocer más a la especie. En la presente investigación se llevó a cabo un análisis morfológico e histoquímico de las hojas de ejemplares con flores blancas y rosas de *Bauhinia variegata* L., con la finalidad de conocer si existe variación entre ambas y contribuir al establecimiento de caracteres morfo anatómicos que permitan reafirmar su identidad.

TEORÍA

De las 300 especies que componen el género *Bauhinia*, se encuentran cerca de 50 distribuidas en México, Centroamérica y América del Sur. El género *Bauhinia* fue llamado así, en honor a los hermanos Bauhin, quienes fueron dos botánicos que diversificaron la botánica con sus aportaciones, para dar apertura hacia una nueva ciencia enfocada en la clasificación de las especies vegetales *(Hernández y col., 2021)*.

La especie *Bauhinia variegata* L., es conocida como falsa orquídea o árbol mariposa, debido a la forma de sus flores, también en algunas localidades es nombrada falsa caoba, por su corteza; sin embargo, comúnmente es llamada pata de vaca en diversas regiones del mundo, este nombre es debido a la morfología de sus hojas *(Khare y col., 2018)*. La especie es originaria de China, pero crece bien en Nepal, Pakistán y Colombia; se cultiva ampliamente en India como planta ornamental y como alimento al Sur de Asia *(Shahi y col., 2022; Deswal y col., 2015; Agroforestry, 2009)*.

Es una planta de climas tropicales y subtropicales, se adapta bien a veranos de tipo caluroso-seco y a inviernos moderados. Requiere luz solar directa, riego constante por lo que necesita un buen

drenaje; sin embargo, resisten bien las sequías. Aunque las heladas pueden afectar drásticamente a las hojas y árboles jóvenes, estos se pueden recuperar en verano *(Agroforestry, 2009).*
Su cultivo puede ser por dos vías, natural y artificial. El primero es a través de las semillas, estas se dispersan por la apertura de las vainas (dehiscencia), germinan fácilmente siempre y cuando las condiciones del suelo sean favorables para su crecimiento; y la segunda, se lleva a cabo mediante la siembra directa de la semilla o un trasplante de la planta entera. Los periodos de siembra varían dependiendo de la región, por lo que se sugiere comenzar la germinación una semana después de las primeras lluvias *(Mali y col., 2009)*.

La especie se caracteriza por su morfología, lo que la hace especial y de fácil identificación. Es un árbol caducifolio, alcanza una altura de 12 m, el color de su corteza es café oscuro, lisa y ligeramente agrietada, la parte interna de la corteza es rosada, las ramas son grises, no hay presencia de espinas; sus hojas miden entre 5 a 9 cm de ancho y 7 a 11 cm de largo, la lámina puede ser ovada o circular, con dos lóbulos y base cordada. Por lo general, cada lóbulo tiene 6 venas primarias, que salen radialmente del mismo punto y convergen en los bordes para formar la vena principal (marginal) *(Kansal y col., 2020; Lusa y col., 2009; Ávila, 2008)*.

Las flores pueden ser rosas o blancas; los pétalos tienen bordes rizados, obovados con longitud de 4 a 5 cm con estambres curvados. Los frutos son en forma de vaina, presentan una longitud de 20 cm y 2 cm de ancho; pueden almacenar de 10 a 20 semillas, con un diámetro de 10-15 mm, la coloración de estas es café, una vez maduras *(Khare y col., 2018; Ávila, 2008)*.

Bauhinia variegata L., se utiliza ampliamente en la medicina tradicional para tratar diferentes padecimientos, particularmente la diabetes, pero también se utiliza para tratar bronquitis, lepra, inflamación, trastornos hepáticos, diarrea, disentería, enfermedades de la piel, heridas, úlceras e incluso, tumores. Las diversas estructuras de la planta han sido utilizadas por grupos étnicos de la India y debido a estas afirmaciones, se han llevado a cabo estudios para justificar su eficacia como agente curativo *(Shahana y col., 2017; Mali y col., 2007)*.

Las posibles aplicaciones farmacológicas podrían deberse a los compuestos químicos encontrados en la especie; se han identificado flavonoides (kaempferol), alcaloides, terpenoides, lectinas, taninos, saponinas, azúcares reductores, esteroides y glucósidos cardiotónicos. Se han aislado también compuestos como saponinas triterpénicas, responsables de actividades antinflamatorias, así como la fenantraquinona, llamada bauhiniona. Estos metabolitos podrían ser los responsables de la actividad biológica de la planta y justificar con base científica los usos en la medicina tradicional. Cabe mencionar que además de la identificación de compuestos químicos, llevar a la par análisis morfoanatómicos e histoquímicos podrían proporcionar un panorama amplio y completo a la especie para su identificación taxonómica de acuerdo con *Gilber y col. (2022); Irchhaiya y col. (2014)* y *Singh y col. (2012).*

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de las especies de *Bauhinia* reciben el nombre “Pata de vaca” debido a la morfología de las hojas, esta característica puede generar una gran confusión entre las especies, además de ser un peligro para quienes la consumen debido a los distintos compuestos químicos y actividad terapéutica que presenta cada especie del género. Los estudios morfo anatómicos permiten marcar diferencias significativas entre especies y ejemplares; por su parte, los análisis histoquímicos ayudan a la identificación de compuestos químicos en tejidos especializados de manera cualitativa. Estas características anatómicas resaltan el potencial de la especie, y a su vez, pueden contribuir a determinar o definir aplicaciones medicinales y farmacológicas *(Marmitt y col., 2016).*

Existen numerosos trabajos publicados enfocados a la caracterización morfo anatómica de otras especies del género *Bauhinia* donde se incluye *Bauhinia variegata* L., sin embargo, no se menciona si es ejemplar con flor rosa o ejemplar con flor blanca. Por otro lado, los estudios histoquímicos son amplios en otras especies como *Bauhinia forficata* L. y ausentes en *Bauhinia variegata* L.; por ello,

es necesaria la identificación de estos caracteres para dar pauta a futuras investigaciones de la especie.

PARTE EXPERIMENTAL

Las hojas de *Bauhinia variegata* L., se recolectaron de plantas localizadas en cuatro localidades de Lagos de Moreno, Jalisco con las siguientes coordenadas 21°20'56.3"N 101°56'19.7"W, 21°20'53.4"N 101°56'16.0"W, 21°21'35.6"N 101°56'25.0"W, 21°21'16.4"N 101°55'44.3"W. Se seleccionaron hojas sanas, posteriormente se enjuagaron con agua destilada para eliminar materia extraña. El trabajo se dividió en dos etapas: caracterización morfológica y caracterización histoquímica.

Para la caracterización morfológica se consideró una n=36 hojas (n=18 de hojas por cada árbol); se midieron variables largo, ancho y grosor con vernier digital (Stainless Hardened) y con ayuda de un estereomicroscopio (Leica) se observaron estructuras como: venas primarias, vena principal (adaxial, abaxial), bordes, pulvino y peciolo. El peso seco y contenido de humedad de las hojas, se determinó por termogravimetría de secado en estufa y posteriormente con balanza analítica se registraron los valores de peso fresco y peso seco *(Yongsa y col., 2024; Antunes y col., 2021).*

Para la caracterización histoquímica, se utilizaron reactivos indicadores de la presencia de metabolitos primarios *(Moreno., 2017)*. Se consideró una n=3 hojas para cada ejemplar, se realizaron cortes histológicos a mano alzada con ayuda de una navaja de dos filos a: lámina, nervadura, pulvino y peciolo; se aclararon con cloro para quitar la mayor concentración de clorofila, posteriormente se enjuagaron con agua destilada para retirar el exceso y finalmente aplicar las tinciones correspondientes para la identificación de metabolitos (Cuadro 1). Para su análisis se llevaron las muestras al microscopio óptico de marca (Leica) *(Lusa y col., 2009)*.

Cuadro 1. Tinciones histoquímicas utilizadas para identificación de metabolitos primarios.

Tinción	Tipo de metabolito
Lugol	Almidón
Sudán IV	Lípidos
Safranina	Celulosa
	Lignina
Azul de toluidina	Proteínas
Floroglucinol	Lignina
Ácido peryódico-Schiff	Polisacáridos insolubles

RESULTADOS

Análisis morfológico

Los resultados del estudio morfológico demostraron valores más altos en variables largo (10.5±0.92) y ancho (11.0±0.92) de las hojas en los árboles con flor blanca; el valor promedio fue ligeramente mayor (0.08±0.033) en variable grosor de hojas en árboles con flor rosa. En cuanto a variable peso fresco fue mayor en ejemplares de flor blanca (1.6±0.29), mientras que el contenido de humedad fue mayor en el ejemplar con flor rosa (58.40%). El Cuadro 2 muestra los valores promedio de cada variable en ejemplares con flor rosa y blanca.

Cuadro 2. Variables para caracterización morfológicas entre los ejemplares.

Hoja de ejemplar con flor rosa						
	Largo (cm)	Ancho (cm)	Grosor (mm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Humedad %
DVT	0.81	0.98	0.033	0.25	0.11	3.31
Media	9.5	10.3	0.08	1.3	0.53	58.40

Hoja de ejemplar con flor blanca						
	Largo (cm)	Ancho (cm)	Grosor (mm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Humedad %
DVT	0.92	0.92	0.036	0.29	0.139	1.95
Media	10.5	11	0.07	1.6	0.7	53.77

Análisis histoquímico

De manera cualitativa el Cuadro 2 muestra que las hojas del ejemplar con flor blanca mostraron mayor presencia de metabolitos primarios. Cabe destacar, que se observó una diferencia notable en la forma del peciolo, pulvino y tipos de tricomas al comparar los ejemplares con flor rosa y flor blanca (Figura 1). Se identificó la presencia de almidón en el mesófilo de las hojas en ambos ejemplares, mientras que en la nervadura y peciolo del ejemplar rosa fueron ausentes. La presencia de almidón en pulvino en ejemplar blanco fue mayormente presente en el tejido de parénquima en comparación con el ejemplar rosa.

Se detecto la presencia de cuerpos lipídicos en el tejido de mesófilo de la lámina en ambos ejemplares, siendo más abundante cerca de las nervaduras; además de tricomas presentes en ambos ejemplares, pero con mayor presencia en los ejemplares con flor color rosa. En estos últimos ejemplares fueron evidentes los lípidos en los tricomas, principalmente en su superficie o pared externa (Figura 2); los lípidos fueron ausentes en el pulvino de ejemplares con flor rosa.

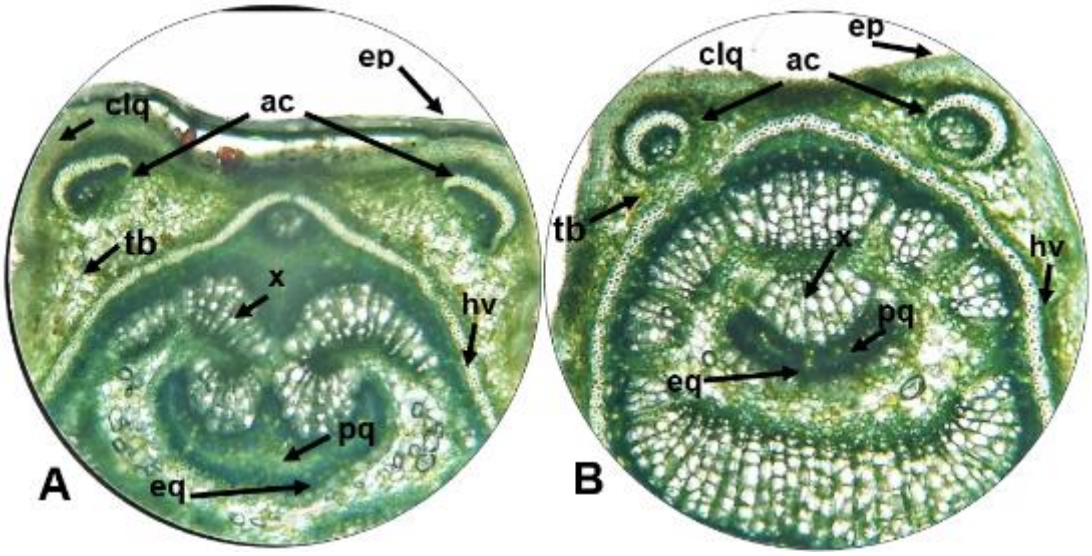
La presencia de celulosa fue mayor en mesófilo de la hoja y xilema de pulvino del ejemplar rosa; mientras que para ejemplares con flor blanca se identificó mayor presencia de celulosa en xilema y haz vascular de peciolo (Figura 3B). En cuanto a la presencia de proteínas, fueron ausentes los resultados en la lámina de las hojas en ambos ejemplares, pero presentes en nervadura, peciolo y pulvino. En ejemplares con flores rosas fue más abundante la presencia de proteínas en el xilema, pero también se detectó en tejido de parénquima, clorénquima y floema en el pulvino, como se muestra en la Figura 3A. Estructuras lignificadas fueron ausentes en la lámina de ejemplares con flor rosa, mientras que en los de flores blancas se observó ligeramente presente en la epidermis. En ambos ejemplares los tejidos lignificados estuvieron presentes en el haz vascular de nervadura, pulvino y peciolo, aunque mayormente en este último. La presencia de polisacáridos insolubles fue mayor en mesófilo de lámina del ejemplar con flor blanca; mientras que en ejemplar con flor rosa fue abundante en el xilema, haz vascular y parénquima del peciolo y pulvino.

El Cuadro 3 muestra los resultados de las tinciones utilizadas para identificar presencia-ausencia de los diferentes tipos de metabolitos primarios.

Cuadro 3. Presencia cualitativa de metabolitos primarios en tejidos de hojas de *Bauhinia variegata* L.

Hojas de ejemplares flor rosa				
Metabolito	**Lamina**	**Nervadura**	**Peciolo**	**Pulvino**
Almidón	+	-	-	+
Lípidos	+++	++	+	-
Celulosa	+++	++	++	+++
Proteínas	-	+	++	+++
Lignina	-	+	+++	+
Polisacáridos insolubles	++	+	+++	+++
Hojas de ejemplares flor blanca				
Metabolito	**Lamina**	**Nervadura**	**Peciolo**	**Pulvino**
Almidón	+	+	+	+++
Lípidos	+++	+	++	+
Celulosa	+	+	+++	+
Proteínas	-	++	++	++
Lignina	+	+	+++	+
Polisacáridos insolubles	+++	+	+	++

(-) ausencia (+) presencia



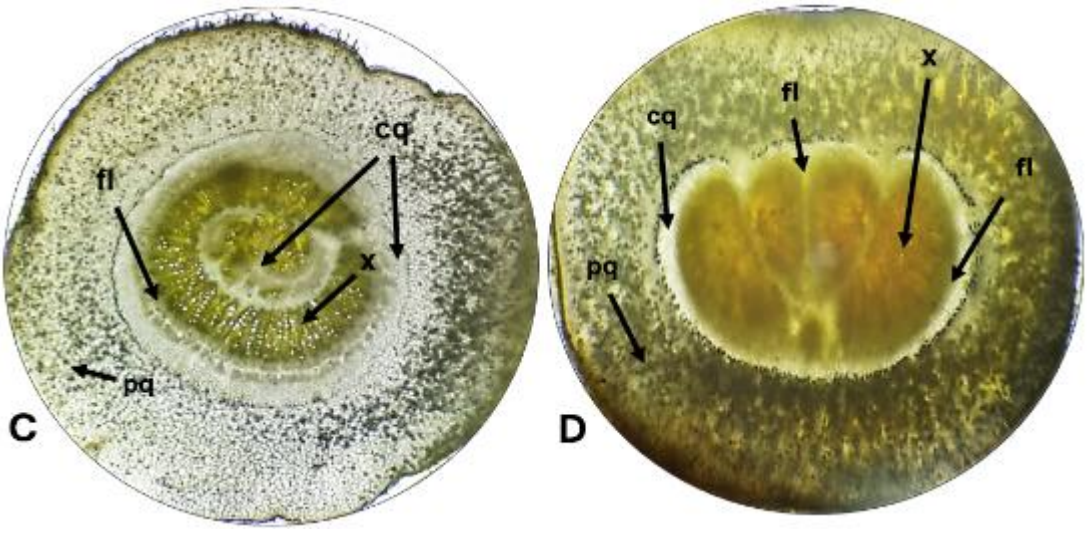


Figura 1. Corte transversal en peciolo. A) ejemplar flor rosa. B) ejemplar flor blanca. Corte transversal en pulvino. C) ejemplar flor rosa. D) ejemplar flor blanca. Haces colaterales (ac), epidermis (ep), tejido blando (tb), colénquima (clq), floema (fl), clorénquima (cq). Aumento: A, B, C, D 40x. Tinción azul mercúrico de bromofenol: A, B. Tinción Lugol: C, D.

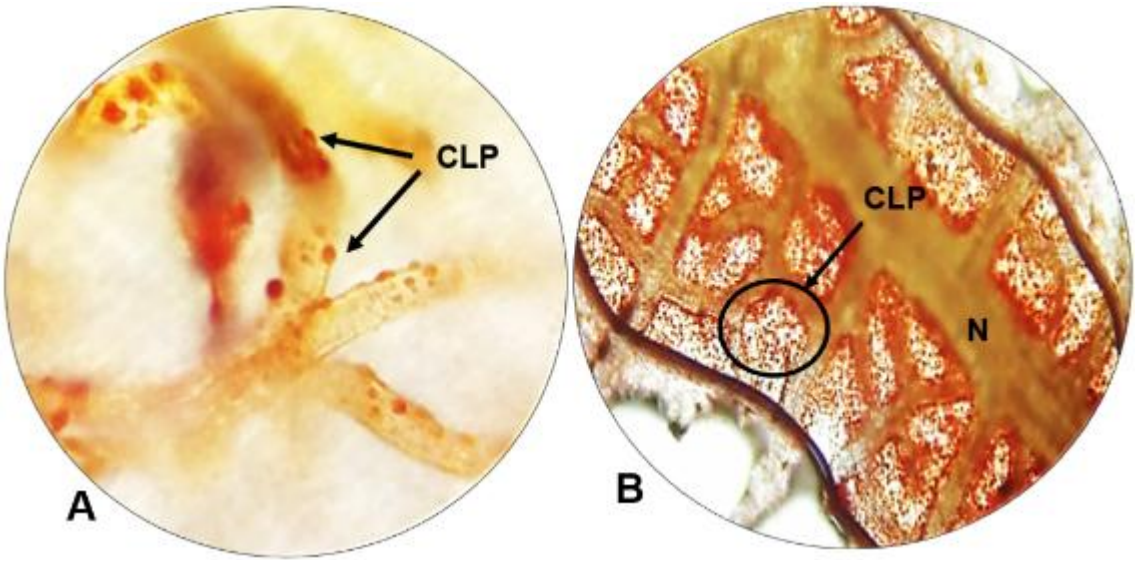


Figura 2. A) corte longitudinal en nervadura de ejemplar flor rosa. B) corte longitudinal en hoja de ejemplar blanca. Nervadura (N), cuerpos lipídicos (CLP), tricomas (tt). Aumento: A, 100x; B, 40x. Tinción sudán IV.

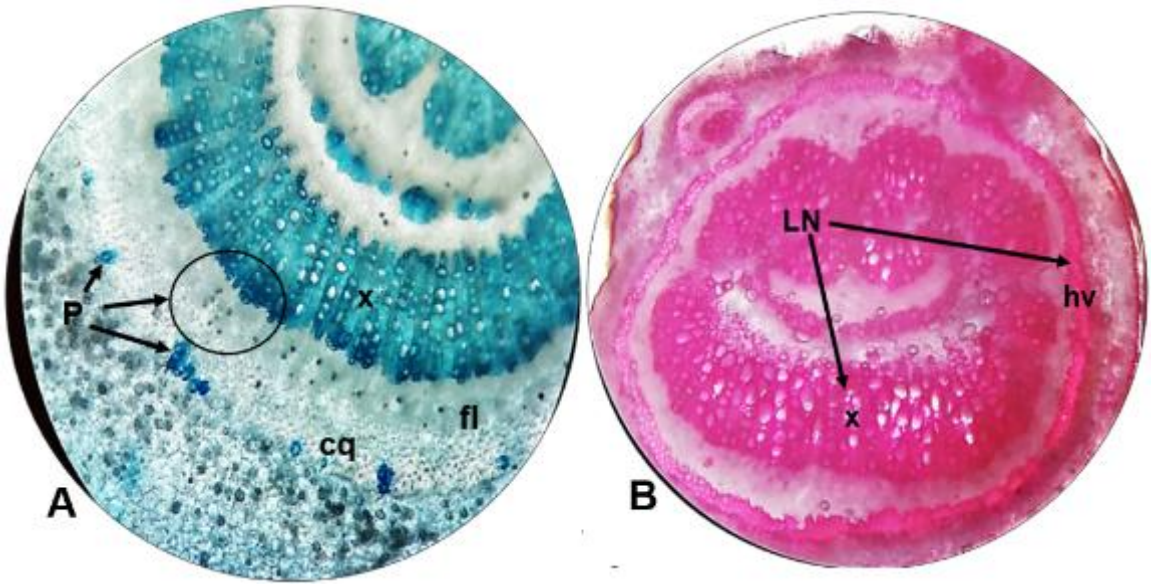


Figura 3. A) corte transversal de pulvino en ejemplar con flor rosa teñido con azul de toluidina. B) corte transversal en peciolo de ejemplar blanco teñido con safranina. Proteína (P), xilema (x), floema (fl), clorénquima (cq), haz vascular (hv), lignina (LN). Aumento: A y B 40x. Tinción azul de toluidina: A. Tinción safranina: B

CONCLUSIONES

Se determinaron diferencias notables al comparar los caracteres morfo anatómicos e histoquímicos de ejemplares de *Bauhinia variegata* L. con flor rosa y flor blanca. Ello podría ser relevante en investigaciones posteriores sobre esta especie de planta medicinal. No obstante, se requieren estudios adicionales para concluir al respecto, considerando también otras variables; por ejemplo, variables fisicoquímicas del suelo y del ambiente donde se distribuyen los ejemplares de *B. variegata*, así como considerar las distintas etapas de desarrollo de la especie como la floración y fructificación, ya que podrían influir en la presencia o ausencia de los distintos compuestos químicos que estén presentes en la especie.

BIBLIOGRAFÍA

1. Da Silva K., Cechinel V., 2002. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. Quim. Nova. 25, 449-454.
2. Hernández M., Maruri B., Ugalde H., Sánchez E., 2021. Los dos Bauhin. *En:* Macpalxóchitl. Órgano de información y difusión de la Sociedad Botánica de México., pág. 28.
3. Khare P., Kishore K., Sharma D., 2018. Historical aspects, Medicinal uses, Phytochemistry and Pharmacological review of *Bauhinia variegata*. Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology. 4(5), 546-562.
4. Deswal G., Arora K., 2015. Ethnobotany and phytopharmacology of *bauhinia variegata*. international Journal of Pharmaceutics & Drug Analysis. 3, 261-263.
5. *Bauhinia variegata*. Agroforestry., 2009. Disponible en: https://apps.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Bauhinia_variegata.PDF Accesado el 07/01/25

6. Shahi P., Sharma O., Shahi R., Panwar N., 2022. Kanchnara (*Bauhinia variegata* L.) a review. World Journal of Pharmaceutical Research. 11, 386-394.
7. Mali R., Dhake A., 2009. *Bauhinia variegata* Linn. (Mountain Ebony): a review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine. 3, 207-216.
8. Ávila D., 2008. Aislamiento de los metabolitos secundarios presentes en la *Bauhinia variegata* L. Biodirigido por ensayos de inhibición sobre la enzima glucosa-6-fosfatasa. Universidad Central de Venezuela (tesis).
9. Kansal M., Shukla P., Shukla P., 2020. A boon to human health *Bauhinia variegata*. International Journal of Pharmacognosy. 7, 155-161.
10. Lusa M., Bona C., 2009. Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinioideae). Acta bot. Bras. 23, 196-211.
11. Shahana S., Pratima A., 2017. A Brief Review on *Bauhinia variegata*: Phytochemistry, Antidiabetic and Antioxidant potential. American Journal of Pharmtech Research. 7, 186-197.
12. Mali R., Mahajan S., Mehta A., 2007. Phcog Rev.: Plant Review Rakta Kancha (*Bauhinia variegata* L.): chemistry, traditional and medicine uses. Pharmacognosy Reviews. 1, 34-319.
13. Irchhaiya R. Kumar A., Gurjar H., Gupta N., Kumar S., Kumar M., 2014. Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Bauhinia variegata* linn. (kachnar): an-overview. International Journal of Pharmacognosy. 1, 279-287.
14. Singh R., Bachheti R., Saraswat S., Kumar S., 2012. Assessment of Phytochemical and Biological Potentials of *Bauhinia variegata* L. International Journal of Pharmaceutical Research. 4, 95-100.
15. Gilber B., Ferreira L., Favoreto R., 2022. *Bauhinia forficata*, *B. variegata*. Monografías de Plantas Medicinais Brasileiras e Aclimatadas. 2, 37-72.
16. Marmitt D., Rempel C., 2016. Análise fitoquímica das folhas de três espécimes de *Bauhinia forficata* link comparando com um espécime de *Bauhinia variegata* l. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações. 14, 229-237.
17. Yongsa M., Hong T., Hoang C., 2024. The morphological and anatomical characteristics of *bauhinia* plants collected in Thai nguyen, Vietnam. TNU Journal of Science and Technology. 230, 251-258.
18. Antunes M., Pereira F., Espolador C., 2021. Structural Characterization of the Leaf of *Bauhinia monandra* Kurz (Fabaceae - Cercidoideae). Brazilian Archives of Biology and Technology. 64, 1-17.
19. Moreno A., 2017. Tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs): su efecto en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos variedades de *Capsicum annuum* (Solanaceae). Universidad de Guadalajara (Tesis maestría).

DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN SUELO UTILIZANDO UN BIOSENSOR DE CÉLULA COMPLETA DESARROLLADO EN *Bacillus Subtilis*

Luz I. Valenzuela-García[1*], María Teresa Alarcón Herrera[1], Víctor Manuel Ayala García[2], Manuel Ríos Herrera[3], Mario Pedraza Reyes[4], Luis Arturo Torres Castañón[1], José Rafael Irigoyen Campuzano[1].

[1] Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV). Subsede Durango. [2]Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango [3]Federación Agronómica en Durango A.C. [4]Departamento de Biología. Universidad de Guanajuato.

*luz.valenzuela@cimav.edu.mx

RESUMEN

El arsénico es un contaminante natural presente en la corteza terrestre, sin embargo, representa un fuerte riesgo a la salud, tanto por su presencia en agua de consumo humano como por su capacidad de translocarse del suelo a los cultivos y así pasar a través de la cadena alimenticia propiciando incrementos en las dosis de exposición diaria [1,2]. Aunado a la ya existente contaminación natural de ciertas regiones, algunos usos del arsénico contribuyen a mayor disponibilidad de este metaloide en el ambiente, entre estos el uso de compuestos de arsénico orgánico como pesticidas, herbicidas y antibióticos para aves [3]. El riesgo que representa el As en la salud de los seres humanos resalta la importancia de su monitoreo.

En este proyecto se desarrolló un biosensor de célula completa en *Bacillus subtilis* (BsWCB-GFP) para la emisión de señal fluorescente ante la detección de arsénico inorgánico [4]. La funcionalidad del biosensor fue evaluada para la detección de arsénico en muestras de suelo de la ciudad de Durango, donde existe problema de contaminación con este metaloide. Para ello el biosensor fue encapsulado en alginato e incubado en presencia del suelo contaminado, observando y cuantificando la emisión de fluorescencia emitida mediante microscopia y lector de placas con detección de fluorescencia. Como referencia, la concentración de arsénico en las muestras de suelo fue determinada mediante espectrometría de absorción atómica de acuerdo con el método método EPA 3015.

Los resultados de este estudio comprobaron la capacidad de sobrevivencia y respuesta del *BsWCB-GFP* en muestras de suelo conteniendo As, siendo capaz de dar una respuesta cuantificable en un corto tiempo de inducción en presencia del suelo (3h), lo que refleja su potencial para el desarrollo de un método de campo de bajo costo y fácil manejo.

INTRODUCCIÓN

El arsénico es un contaminante natural del suelo y agua de origen geológico presente en más de 245 minerales entre ellos arsenopirita (FeAsS), oropimente (As_2S_3), realgar (As_4S_4) y loellingita ($FeAs_2$), liberándose al ambiente por meteorización, disolución de minerales, actividad volcánica, fluidos geotérmicos y disolución microbiana, lo cual propicia su presencia en altas concentraciones en agua subterránea [5].

La exposición a arsénico puede conducir a problemas de salud tanto agudos como crónicos, dependiendo de la dosis y el grado de exposición. Los efectos agudos se dan por la intoxicación con alta concentración de arsénico (As) y van desde efectos gastrointestinales como vómito, dolor abdominal o diarrea hasta problemas musculares y la muerte. Por otro lado, los efectos crónicos son aquellos que se dan a largo plazo por la constante exposición a concentraciones relativamente bajas o no letales, sin embargo, estos conducen a problemas de salud como hiperqueratosis, cáncer de pulmón y vejiga, diabetes, enfermedades cardiovasculares y problemas de desarrollo neurológico [1,6]. Por su toxicidad, la OMS ha establecido cómo límite máximo 10 µg/L de As en agua de

consumo humano y la autoridad de seguridad alimentaria europea (EFSA) identificó un límite de entre 0.3 y 8 µg de As/Kg de peso corporal por día como riesgo para el desarrollo de diferentes tipos de cáncer [7].

La principal fuente de exposición a As para la mayor parte de la población es el agua de consumo humano, estimándose que alrededor de 140 millones de personas en al menos 70 países beben agua con concentraciones de As por encima de 10 µg/L. Sin embargo, ya que el As puede bioacumularse a través de la cadena alimenticia, el consumo de plantas cultivadas en suelos agrícolas contaminados o irrigados con agua conteniendo este metaloide puede incrementar la dosis de exposición [8–10]. Entre los cultivos alimenticios que han sido descritos con acumulación de As en sus tejidos están: arroz, trigo, maíz, sorgo, frijol, lentejas, garbanzo, chile, papas, zanahorias, tomate, cebolla, ajo, espinacas, alfalfa, pepino, berenjena, repollo, champiñones, banana, mango, papaya, manzana y limón siendo variable el grado de bioacumulación dependiendo de factores como tipo de suelo, pH, potencial redox (E_H), actividad microbiana, nutrientes del suelo y concentración de arsénico en suelo y agua [11].

Adicional a la presencia geológica de arsénico en el suelo y agua, algunas actividades antropogénicas conducen a que el As represente un mayor riesgo a la salud humana al incrementar las concentraciones y frecuencia de exposición a este metaloide. Entre estas actividades se encuentran la extracción de agua subterránea, actividades mineras, la quema de carbón, actividades industriales, aplicación de agroquímicos y tratamientos de preservación de la madera [12].

Comúnmente se ha considerado que el As inorgánico es más tóxico que los compuestos de arsénico orgánico metilados como monometilarsénico (MMA) y dimetilarsénico (DMA) y que compuestos como arsenobetaína (asB) y arsenocolina (asC) considerados no tóxicos [3]. Sin embargo, esta subestimación de la toxicidad de las formas orgánicas ha conducido a un bajo monitoreo y a un incremento de su presencia en el ambiente por su uso frecuente en agricultura como plaguicidas en el caso del MMA y del DMA [7–10] y como suplemento en alimento para animales, como es el caso de la roxarsona, una forma de arsénico orgánico usada como antibiótico para aves de corral [13]. Recientemente, SAGARPA emitió un listado de sustancias prohibidas para su uso en animales de consumo, entre estas, la roxarsona, sin embargo, aún sigue siendo un producto empleado en ganadería. El riesgo por la abundancia en el ambiente de este compuesto se acentúa debido a que el ácido 3-nitro-4-hidroxibencenoarsónico se degrada a 4-hidroxi-3-ácido aminofenilarsónico y eventualmente a arsénico inorgánico, incrementando potencialmente la contaminación de agua y suelo con este metaloide [14]. Así mismo, el arsénico inorgánico que se consume en el agua al ser metabolizado por humanos y animales se convierte en MMA y DMA, por lo que en la orina es excretado alrededor del 70-90% como arsénico orgánico y de 10 al 30% como As inorgánico [15], por lo que el uso de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales como abono o el abono de heces de ganado para cultivos agrícolas constituye un riesgo de incremento de exposición a arsénico.

En México se estima que al menos 1.5 millones de personas consumen agua con concentraciones de As por encima de los 25 µg/L que era la concentración máxima permitida hasta la modificación de la norma en 2021 (NOM 127-SSA1-2021). El estado de Durango se encuentra entre los estados del país con mayor problema de exposición a As en agua de consumo humano, como consecuencia de la geología del estado y el uso de agua subterránea [12]. Aunado a esto, entre las principales actividades económicas del estado están la minería, la agricultura, la ganadería y la industria forestal lo cual contribuye fuertemente a la contaminación de As de agua y suelo.

Algunos estudios han demostrado que en Durango también existe contaminación de As en alimentos de consumo humano. En la comarca lagunera se han reportado concentraciones de entre 7-740µg/L de As en agua de riego y alrededor de 30 mg/Kg de As en suelos [16]. También en estudios llevados a cabo en Durango se observó la presencia de As en alfalfa y maíz en concentraciones mayores a 3 mg/kg [17] . Otro estudio encontró una asociación entre los niveles totales de arsénico en la orina

y la contribución de As por la dieta con el consumo de agua no embotellada, tubérculos, verduras y frutas ricas en agua, huevos, pescados y mariscos en población mexicana [18].

La determinación de arsénico en suelo y agua puede llevarse a cabo con alta precisión en el laboratorio mediante técnicas analíticas como espectrometría de fluorescencia atómica, espectroscopia de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES), espectroscopia de absorción atómica (AAS) y por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente. Sin embargo, estas técnicas son muy costosas y requieren personal de operación certificado, limitando el número de muestras a analizarse [19].

Interesantemente, una nueva estrategia para detección de metales y metaloides ha sido desarrollada, la cual consiste en usar microorganismos conocidos como biosensores de célula completa (WCB). Este tipo de biosensores consisten en microorganismos genéticamente modificados para emitir una señal al detectar algún elemento o compuesto de interés [20]. La ventaja de este tipo de estrategia radica en que los biosensores son de fácil manejo y bajo costo. Previamente, ha sido desarrollado un WCB en la bacteria propia del suelo *Bacillus subtilis* portando el plásmido *Pars::gfpmut3a* (BsWCB-GFP), el cual permite que la cepa de *B. subtilis* generada emita fluorescencia verde al ponerse en contacto con muestras conteniendo arsénico [4]. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el uso del BsWCB-GFP para determinar la fracción de arsénico soluble en agua en suelos colectados en diferentes zonas de la Cd. de Victoria de Durango.

PARTE EXPERIMENTAL

Descripción del *Bs*WCB-GFP

El biosensor de célula completa *Bs*WCB-GFP fue generado por transformar la cepa silvestre (168) de *B. subtilis* con una construcción generada por la clonación del promotor del operón ars de *B.subtilis* (P-*ars*) en el plásmido autoreplicativo pAD123 que contiene el gen *gfpmut3a* [4]. La respuesta específica del biosensor ante As fue evaluada, así como cuantificada la capacidad de inducción de respuesta fluorescente por concentraciones incrementales de As.

Obtención del extracto soluble de suelo (ESS).

En este estudio se utilizaron muestras de dos suelos recolectados en Victoria de Durango, Durango, designados como suelo A y suelo B.
Para la preparación del extracto soluble del suelo (ESS), una muestra de cada suelo tamizado con malla #100 y esterilizado por autoclave antes de ser usado para la determinación de As usando el BsWCB-GFP. Posteriormente se mezcló el suelo con el agua ddH_2O en una proporción 1:5 en un matraz previamente esterilizado. Este matraz se dejó en agitación orbital a 250 rpm durante 18 h. Transcurrido este tiempo, se separó por centrifugación el sobrenadante (4500 rpm por 15 min) el cual fue filtrado usando un filtro Whatman #42. El líquido recuperado fue usado para determinación de As total tanto por el uso del BsWCB-GFP como por AAS.

Determinación de As usando AAS

La determinación de As en suelo por espectrometría de absorción atómica (AAS) por horno de grafito se realizó haciendo digestión de acuerdo con el método 3051 de la EPA, usando un horno de digestión por microondas Mileston, Etos Easy. Para la determinación de As en el ESS por medio de AAS se utilizó el método EPA 3015.

Determinación de As usando el *Bs*WCB-GFP

La evaluación del contenido de As en el ESS fue llevada a cabo mediante la adición de medio LB 10X a los extractos de suelo previamente esterilizados con luz UV. El ESS de suelo con menor concentración de As total determinado por AAS fue usado para preparar una curva estándar por adición de As a concentraciones conocidas de 25, 50, 100 y 150 µg/L.
Por otro lado, un cultivo de la cepa de *B. subtilis* portando el plásmido P*ars::gfpmut3a* fue crecido hasta fase exponencial, donde se tomaron muestras del cultivo para dividirlas en alícuotas de 3 mL, las cuales fueron centrifugadas para generar una pastilla celular. Posteriormente esta pastilla celular fue resuspendida en los ESS tanto del ESS(A) con las concentraciones de As adicionadas para

generar la curva dosis-respuesta como con el ESS(B). Los cultivos fueron incubados durante 2 h a 250 rpm, 37°C, después de lo cual se colectó 1 mL para quitar el medio de cultivo por centrifugación, resuspendiendo en buffer Tris-HCl 50mM pH 8. Las células del *Bs*WCB-GFP se colocaron en placas de 96 pozos para la cuantificación de fluorescencia en el equipo VARIOSKAN LUX. También las muestras fueron usadas para observación al microscopio y captura de fotografías.

Determinación de As en suelo con el biosensor encapsulado en alginato.

Se preparó un cultivo de la cepa del biosensor en medio GMI suplementado con Cm (5 µg/mL) hasta alcanzar fase exponencial (OD_{600nm}= 0.5). El cultivo fue mezclado con alginato de sodio 4% en proporción 1:1. Las perlas de alginato se prepararon dejando caer gotas de las mezclas anteriores través de una jeringa estéril sobre $CaCl_2$ 0.1M. Las perlas con las bacterias encapsuladas se tamizaron y lavaron con agua estéril.

Un volumen de 20 mL de perlas con el biosensor encapsulado se depositó en matraces Erlenmeyer estériles conteniendo 20 mL de medio GMI estéril o GMI mezclado con 10 gr de suelo A (Deportiva "Mangas") o suelo B (Ex estación). Estos fueron incubados 3h a 37°C y 250 RPM de agitación constante. Transcurrido este tiempo de incubación, las perlas se lavaron con agua destilada estéril y se observaron al haz azul del microscopio de fluorescencia.

Cuantificación de la fluorescencia en perlas de alginato conteniendo el biosensor ante la exposición a As en agua o suelo.

Para la cuantificación de fluorescencia se colocaron dos perlas del biosensor encapsulado después de incubación en medio con o sin suelo, en placas de 96 pozos negras, embebidas en medio GMI. Para le detección y cuantificación de la fluorescencia se utilizó un lector de placas multimodal Varioskan Lux (ThermoScientific) ajustado a 485nm de emisión y 510 nm de emisión acorde a los requerimientos de la proteína verde fluorescente GFPmut3a. Los datos fueron obtenidos mediante el software Skan-It proporcionado por el fabricante del equipo.

RESULTADOS

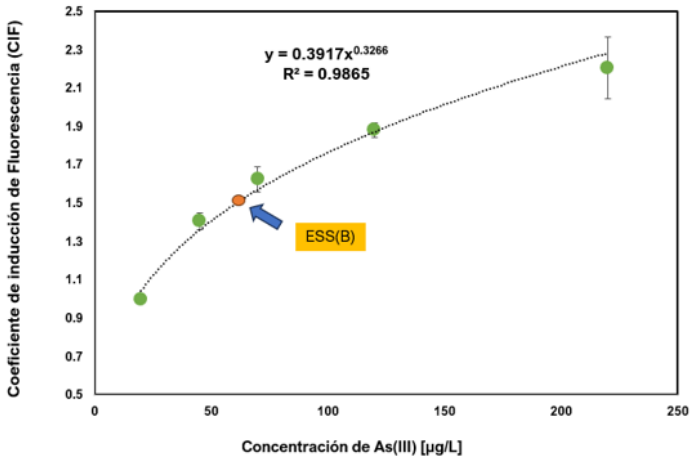
El contenido de As de suelos colectados de dos sitios distintos de la ciudad de Durango, fueron analizados por AAS, encontrando un contenido del metaloide bajo en el suelo A y un contenido alto en el suelo B de 49.44 mg/kg, el cual supera el límite de 22 mg/kg de As establecido por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para suelos de uso agrícola, residencial o comercial (Tabla 1)

Tabla 1. Contenido de As total en suelos colectados en Durango para el estudio

Folio	Coordenadas del sitio muestreado	As (mg/kg) *
A	104°41'8.64"O, 24° 3'6.35"N	7.4
B	104°40'01.9"W, 24°02'09.5"N	49.44

*Determinada por AAS

Utilizando el extracto del suelo A con adición de concentraciones conocidas de As, se logró obtener una curva con ajuste potencial R^2=0.9932. Con la ecuación obtenida $y=0.3917X^{0.3266}$ se calculó la concentración del ESS(B), obteniendo una concentración de 76.72 µg/L mientras que la concentración obtenida por AAS en el ESS(B) fue de 49.93 µg/L, indicando que la cuantificación obtenida con el biosensor se encuentra en el mismo orden de magnitud que el obtenido por la técnica analítica (Figura 1).



	Concentración AAS (µg/L)	CIF	[X]Calculada
	20	1.00	17.60
	45	1.41	50.02
	70	1.62	77.62
	120	1.88	121.51
	220	2.20	197.81
ESS(B)	49.93	1.62	76.72

Figura 1. Cálculo de concentración de As en el ESS(B) usando el BsWCB-GFP. La ecuación de la curva fue obtenida en base al coeficiente de inducción de fluorescencia (CIF) obtenido con el biosensor para diferentes concentraciones de As. Con esta curva y el CIF del ESS(B) se calculó la [X] de este extracto.

Adicionalmente la observación al microscopio mostro claramente que el suelo B indujo mayor fluorescencia en el biosensor *Bs*WCB-GFP que el suelo A, el cual tiene un contenido de As soluble más bajo que el suelo B, pero más alto que el control sin suelo (Figura 2). Es notable también en esta figura que el crecimiento celular de *B. subtilis* no se ve afectado por el ESS, indicando la capacidad de la bacteria para contender con los efectos nocivos del arsénico tras la activación del operón *ars*.

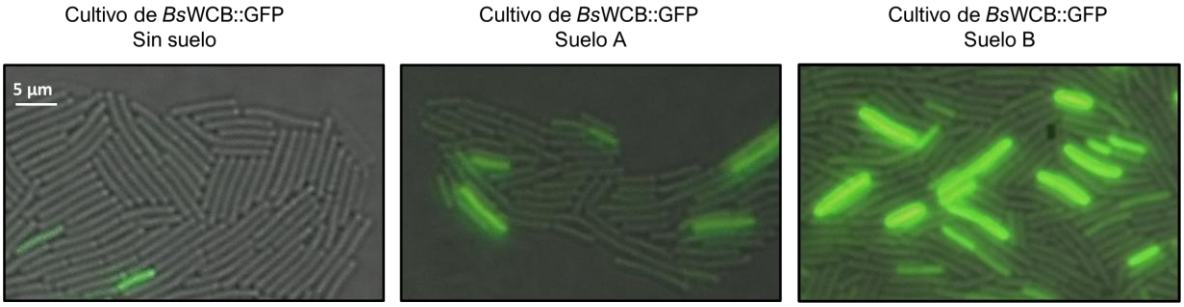


Figura 2. Microfotografías de fluorescencia de la cepa de *B. subtilis* pAD123-*Pars*::GFP en presencia/ausencia de ESS. Aumento 100X.

La encapsulación del biosensor en perlas de alginato permitió facilitar el proceso de detección de As en suelo al incubar directamente el biosensor encapsulado con el suelo. En cambio, cuando se usó el biosensor sin encapsular, fue necesario obtener un extracto soluble del suelo (ESS) para ponerlo en contacto con las bacterias, dada la dificultad de separar las partículas de suelo de la bacteria si se ponían en contacto directo. La estimación de arsénico en el ESS con el biosensor llevo alrededor de 20 h entre la preparación del extracto y la incubación con el biosensor, en cambio al realizar la estimación de As en el suelo usando el biosensor encapsulado el proceso completo desde el crecimiento del biosensor hasta fase exponencial, la encapsulación en alginato y la incubación con el suelo llevó entre 6 y 7 horas. Importantemente, los resultados mostraron que el As presente en el suelo es capaz de activar al biosensor dentro de las perlas de alginato, indicando que el

biopolímero de alginato de calcio es permeable al As, lo cual permite la activación de la respuesta genética al metaloide.

La fluorescencia en las perlas de alginato fue evaluada por visualización directa al microscopio bajo la luz azul filtrada en el rango para la proteína GFP (Figura 3 A), observando la iluminación por la fluorescencia en las perlas expuestas al suelo. Adicionalmente, la fluorescencia fue verificada mediante la observación de cortes transversales de las perlas mediante microscopía con el mismo filtro en un aumento de 40X (Fig. 3A). La visualización de estos cortes mostró que el biosensor encapsulado continúo creciendo dentro de las perlas, emitiendo fluorescencia verde, mostrando aparentemente mayor inducción del biosensor la incubación con el suelo de la Ex estación en comparación con el de la Deportiva Mangas.

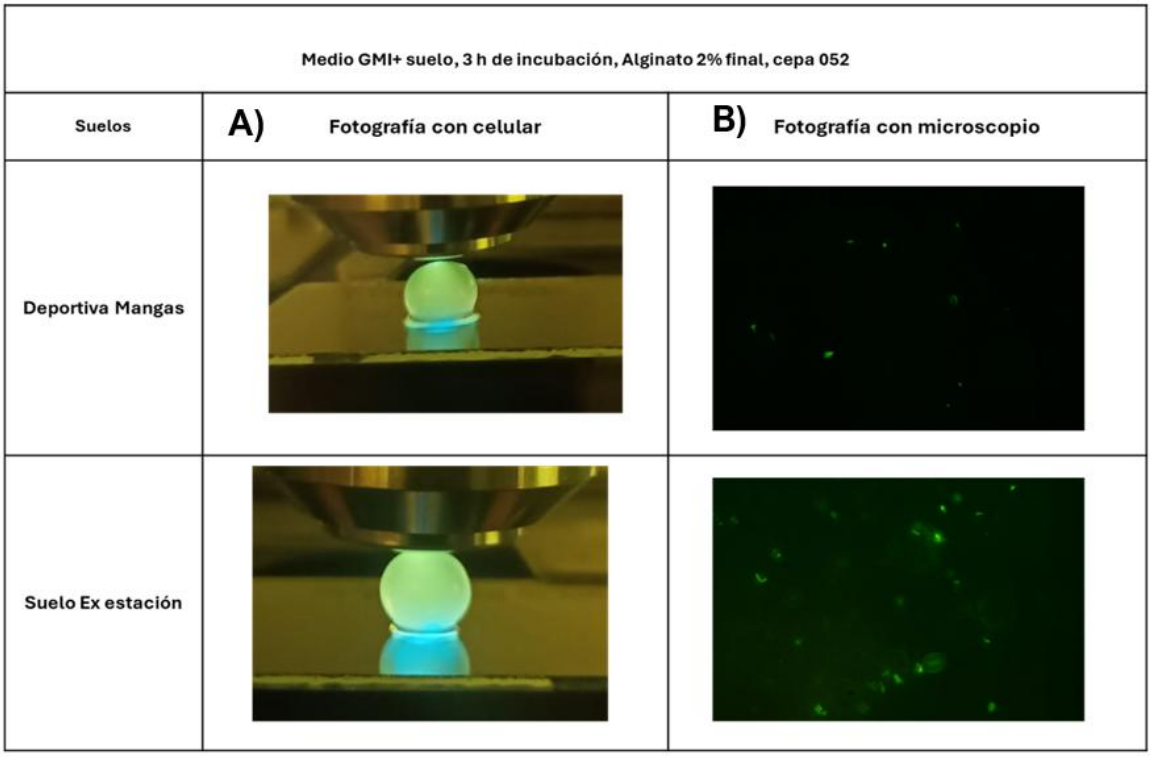


Fig.3. Evaluación de la respuesta del biosensor encapsulado en presencia de suelo. A) Fotografía con el celular de las perlas iluminadas con el haz de luz azul del microscopio B) Microfotografía de un corte de las perlas con el biosensor encapsulado (40X), con el filtro de fluorescencia 485 excitación/510 de emisión.

Para evaluar la factibilidad de la cuantificación de la respuesta fluorescente del biosensor encapsulado en las perlas de alginato, se determinó la fluorescencia de las perlas expuestas a los dos suelos descritos y se comparó con la fluorescencia del biosensor encapsulado incubado en medio GMI sin arsénico. Los resultados mostraron que este procedimiento permite cuantificar la respuesta fluorescente y establecer niveles para diferenciar entre un control sin arsénico con respecto a muestras conteniendo diferentes concentraciones de arsénico (Fig.4).

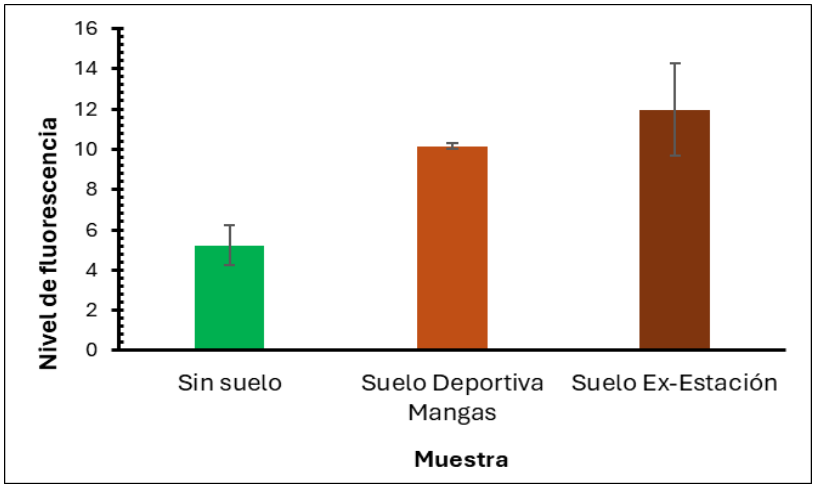


Fig.4. Cuantificación de fluorescencia del biosensor encapsulado en alginato no expuesto y expuesto a dos distintos suelos contaminados con As.

CONCLUSIONES

El muestreo de suelo realizado en la ciudad de Durango indica la presencia de As en concentraciones mayores a las recomendables en el suelo para uso residencial, comercial y agrícola. Una baja proporción (0.2%) de ese suelo se solubilizó y fue capaz de inducir la respuesta fluorescente del biosensor, brindando la oportunidad de verificar la funcionalidad del biosensor desarrollado con la medición del metaloide en muestras del suelo.

Encapsular al biosensor permite detectar en menos tiempo la presencia de As en el suelo, facilitando el manejo del biosensor bacteriano. Sin embargo, se requiere adicional caracterización y estandarización del protocolo para lograr cuantificación de As en suelo por parte del biosensor obtenido (BsWCB-GFP).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango (COCyTED) por el apoyo al proyecto “Desarrollo de un biosensor de célula completa en *Bacillus subtilis* para la detección de As orgánico en diferentes matrices ambientales” con folio 1362. L.I.V.G. agradece a SECIHTI por la beca posdoctoral otorgada.

BIBLIOGRAFIA

[1] World Health Organization, Guidelines for Drinking-water Quality, 2011. https://doi.org/10.1016/S1462-0758(00)00006-6.
[2] R. Singh, S. Singh, P. Parihar, V.P. Singh, S.M. Prasad, Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review, Ecotoxicol Environ Saf 112 (2015). https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.009.
[3] G. Genchi, G. Lauria, A. Catalano, A. Carocci, M.S. Sinicropi, Arsenic: A Review on a Great Health Issue Worldwide, Applied Sciences (Switzerland) 12 (2022). https://doi.org/10.3390/app12126184.
[4] L.I. Valenzuela-García, M.T. Alarcón-Herrera, V.M. Ayala-García, M. Barraza-Salas, J.M. Salas-Pacheco, J.F. Díaz-Valles, M. Pedraza-Reyes, Design of a Whole-Cell Biosensor Based on Bacillus subtilis Spores and the Green Fluorescent Protein To Monitor Arsenic, Microbiol Spectr (2023). https://doi.org/10.1128/spectrum.00432-23.

[5] L.M. Camacho, M. Gutiérrez, M.T. Alarcón-Herrera, M. de L. Villalba, S. Deng, Occurrence and treatment of arsenic in groundwater and soil in northern Mexico and southwestern USA, Chemosphere 83 (2011). https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.067.
[6] K.S. Mohammed Abdul, S.S. Jayasinghe, E.P.S. Chandana, C. Jayasumana, P.M.C.S. De Silva, Arsenic and human health effects: A review, Environ Toxicol Pharmacol 40 (2015). https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.09.016.
[7] E. Nava-Reyna, J. Medrano-Macías, Arsenic occurrence in the environment: Current situation of the Comarca Lagunera in northern Mexico and bioremediation approaches, J Agric Food Res 10 (2022). https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100379.
[8] M.F. Alam, K.G. Villholth, J. Podgorski, Human arsenic exposure risk via crop consumption and global trade from groundwater-irrigated areas, Environmental Research Letters 16 (2021). https://doi.org/10.1088/1748-9326/ac34bb.
[9] A. Biswas, S. Swain, N.R. Chowdhury, M. Joardar, A. Das, M. Mukherjee, T. Roychowdhury, Arsenic contamination in Kolkata metropolitan city: perspective of transportation of agricultural products from arsenic-endemic areas, Environmental Science and Pollution Research 26 (2019). https://doi.org/10.1007/s11356-019-05595-z.
[10] S. Singh, R. Yadav, S. Sharma, A.N. Singh, Arsenic contamination in the food chain: A threat to food security and human health, J Appl Biol Biotechnol (2023). https://doi.org/10.7324/jabb.2023.69922.
[11] M.K. Upadhyay, A. Shukla, P. Yadav, S. Srivastava, A review of arsenic in crops, vegetables, animals and food products, Food Chem 276 (2019). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.069.
[12] M.T. Alarcón-Herrera, D.A. Martin-Alarcon, M. Gutiérrez, L. Reynoso-Cuevas, A. Martín-Domínguez, M.A. Olmos-Márquez, J. Bundschuh, Co-occurrence, possible origin, and health-risk assessment of arsenic and fluoride in drinking water sources in Mexico: Geographical data visualization, Science of the Total Environment 698 (2020). https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134168.
[13] Y.-C. Jang, Y. Somanna, H. Kim, Source, Distribution, Toxicity and Remediation of Arsenic in the Environment – A review, International Journal of Applied Environmental Sciences ISSN 11 (2016).
[14] J.H. Huang, K.N. Hu, B. Decker, Organic arsenic in the soil environment: Speciation, occurrence, transformation, and adsorption behavior, Water Air Soil Pollut 219 (2011). https://doi.org/10.1007/s11270-010-0716-2.
[15] M. Styblo, L.M. Del Razo, E.L. LeCluyse, G.A. Hamilton, C. Wang, W.R. Cullen, D.J. Thomas, Metabolism of Arsenic in Primary Cultures of Human and Rat Hepatocytes, Chem Res Toxicol 12 (1999) 560–565. https://doi.org/10.1021/tx990050l.
[16] D.A. Martínez-Cruz, M.T. Alarcón-Herrera, L. Reynoso-Cuevas, L.A. Torres-Castanõ´n, Space-time variation of arsenic and fluoride in groundwater in the city of Durango, Mexico, Tecnologia y Ciencias Del Agua 11 (2020). https://doi.org/10.24850/j-tyca-2020-02-09.
[17] I. Rosas, R. Belmont, A. Armienta, A. Baez, Arsenic concentrations in water, soil, milk and forage in Comarca Lagunera, Mexico, Water Air Soil Pollut 112 (1999). https://doi.org/10.1023/A:1005095900193.
[18] K. Rangel-Moreno, Á. Mérida-Ortega, B. Gamboa-Loira, M.K. Flores-García, S.J. Rothenberg, L. López-Carrillo, Dietary contribution to total urinary arsenic in Mexican women, Food Additives and Contaminants - Part A 39 (2022). https://doi.org/10.1080/19440049.2022.2093982.
[19] X. Liu, W. Zhang, Y. Hu, H. Cheng, Extraction and detection of organoarsenic feed additives and common arsenic species in environmental matrices by HPLC-ICP-MS, Microchemical Journal 108 (2013). https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.12.005.
[20] D. Merulla, N. Buffi, S. Beggah, F. Truffer, M. Geiser, P. Renaud, J.R. Van der Meer, Bioreporters and biosensors for arsenic detection. Biotechnological solutions for a world-wide pollution problem, Curr Opin Biotechnol 24 (2013). https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.09.002.

RECUPERACIÓN DE NAPROXENO CON UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO SUSTENTABLE

Isabel Guadalupe Mendoza Reyes[1], Diana Esmeralda Martínez Rodríguez[1], Mario Avila Rodríguez[1]

Universidad de Guanajuato. Campus Guanajuato. División de Ciencias Naturales y Exactas. Departamento de Química.

ig.mendozareyes@ugto.mx

RESUMEN

El Naproxeno (Nap) es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo[1]. Debido a su popularidad y fácil adquisición se ha considerado como un contaminante emergente que ha sido detectado en medios acuosos a bajas concentraciones (ng/L y µg/L). La presencia del Nap en el entorno es preocupante, ya que la exposición prolongada puede ser dañina para la salud de seres vivos[2]. A pesar de que existen técnicas de remoción/recuperación de este tipo de compuestos, aun presentan ciertas desventajas como los altos costos y la formación de subproductos químicos[3]. Por ello, es importante considerar nuevas metodologías que sean fáciles de aplicar, de bajo costo y sustentables. Los sistemas acuosos bifásicos (SAB) han sido una interesante alternativa para reemplazar los procesos de extracción líquido-líquido convencionales (que utilizan solventes orgánicos volátiles)[4]. Anteriormente, los SAB han sido empleados con la finalidad de recuperar Nap, sin embargo, para llevar a cabo el proceso era necesario realizar el pre-equilibrio de fases ((Fase Polímero (FP) y Fase Salina (FS)). y adicionar el fármaco a la FS. Este paso restringía el uso de SAB basados en Polietilenglicol (PEG)/Sulfato de sodio (Na_2SO_4), debido a que el Nap no era soluble en la FS y, por lo tanto, sólo fue estudiado el comportamiento de repartición de Nap en sistemas conformados por PEG/Citrato de sodio (Na_3Cit)[5].

En este proyecto, se realizó el proceso de ELL de manera directa, adicionando el Nap a la fracción acuosa (de carácter alcalino) a cada SAB de distintas conformaciones (cuatro diferentes sistemas): PEG-400 g/mol / Na_3Cit, PEG-400 g/mol / Na_2SO_4, PEG-1000 g/mol / Na_3Cit y PEG-1000 g/mol / Na_2SO_4. La preparación de cada SAB implicó la adición, de PEG, sal y agua (la cual contiene Nap disuelto en NaOH 0.01 M), los componentes se mezclan hasta su total disolución y se espera un tiempo de equilibrio de fases para su posterior separación. Por último, se llevó a cabo la caracterización y cuantificación del Nap, en ambas fases, mediante espectroscopia UV/Visible. Los resultados demuestran que todos los SAB estudiados presentan porcentajes de recuperación de >99 %, 95.59 %, 97.19 % y 96.09 %, respectivamente. Estos porcentajes están relacionados al pH del medio ya que, en promedio, los SAB se encuentran en un pH de 7.51, 4.22, 6.78 y 3.48, respectivamente. Esto implica que existe una menor recuperación cuando el pH es cercano a la constante de disociación del Nap (4.19)[6], sin embargo, tambien debe considerarse el factor de hidrofobicidad del medio (el cual es mayor en la FP) ya que el soluto es considerado hidrofóbico[2] y esto puede favorecer su afinidad hacia la FP. Los espectros UV/Vis demuestran, en conjunto con los resultados de recuperación, que una mayor fracción del Nap se encuentra en la FP.

En conclusión, la metodología propuesta es eficiente para llevar a cabo el proceso de ELL de forma directa y permitió estudiar la aplicación del Na_2SO_4 como agente formador de fases. Todos los SAB estudiados tienen la ventaja de que son compuestos accesibles, de bajo costo y de menor impacto ambiental.

INTRODUCCIÓN

El naproxeno (Nap) (Figura 1) [1] es un fármaco catalogado como antiinflamatorio no esteroideo, su principal función es la inhibición de la prostaglandina E2, la cual se relaciona con la supresión de las enzimas ciclooxigenasas COX-1 (protección de mucosa gástrica) y COX-2 (causa inflamación y

dolor). Es por ello por lo que este compuesto es eficaz para el tratamiento del dolor e inflamación. Sin embargo, también se le han adjudicado efectos adversos como la nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, eventos cardio y cerebrovasculares [2].

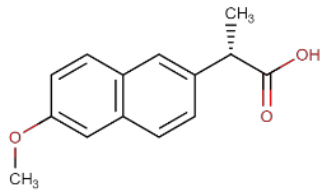


Figura 1. Estructura química del Naproxeno (Nap) [1].

Debido a la popularidad de este fármaco por su eficacia y fácil adquisición, la presencia de este fármaco en el medio ambiente ha sido más común y alarmante en los últimos años. Se ha detectado en todo tipo de medio acuoso (desde agua potable hasta subterránea), Aunque las concentraciones analizadas son muy bajas (a nivel de ng/L y µg/L), la exposición prolongada del compuesto principal y de subproductos de degradación/interacción, pueden ser nocivos para la salud de seres vivos [3].

Los tratamientos de adsorción, biológicos, coagulación/floculación, procesos de oxidación avanzada, ozonización y membranas han sido los más estudiados para la búsqueda de alternativas de remoción/recuperación de este tipo de fármacos. En la Tabla 1 se muestran algunos ejemplos de estudios de remoción de Nap y su correspondiente eficiencia [4]. A pesar de que en algunos casos el porcentaje de eficiencia es alto, se debe considerar que son procesos costosos y que también generan subproductos químicos que pueden ser desfavoreceros para el medio ambiente. Por tal razón, la aplicación de un método de extracción líquido-líquido sustentable es una excelente propuesta para lograr el mismo objetivo, pero con un menor impacto ambiental y disminución de costos.

Tabla 1. Métodos de remoción de Nap y su correspondiente eficiencia [4].

Método de remoción	Eficiencia de remoción (%)
Proceso de adsorción (magnetita sintetizada a partir de lodo rojo)	100
Carbón activado granular (75 días de tratamiento)	91.9
Carbón activado granular (una semana de tratamiento)	> 75
Lodos activados	40 - 55

Los sistemas acuosos bifásicos (SAB) fueron conocidos a mediados de 1950 cuando Albertsson mostró que pueden ser una alternativa a la extracción líquido-líquido convencional (en donde se utilizan solventes orgánicos) debido a que estos sistemas se conforman mayoritariamente por agua. El fundamento de estos sistemas implica la separación de dos fases acuosas posterior a la mezcla de al menos tres componentes. Cada fase tiene características que permiten la separación de distintos solutos y está en función de la afinidad que tengan hacia cada fase [5]. Se han estudiado distintas conformaciones de SAB las cuales se enlistan a continuación:

- Polímero/Polímero de distinta naturaleza
- Polímero/Sal
- Sal/Sal
- Alcohol/Sal.
- Liquido iónico
- Disolventes Eutécticos Profundos
- SAB termoseparadores
- SAB No convencionales: Polímeros hiperramificados, sales especiales, surfactantes, campos magnéticos, adición de nanopartículas y solventes.
- Entre otros.

Esta versatilidad de conformaciones permite estudiar la repartición de una amplia gama de solutos (desde moléculas orgánicas hasta las inorgánicas). Sin embargo, es importante considerar que la búsqueda de alternativas ecológicas y de menor costo es de suma importancia, es por ello por lo que en este trabajo se estudia la repartición del Nap en sistemas del tipo Polímero/Sal. Como polímero se utilizó el Polietilenglicol (PEG) de dos pesos moleculares (400 g/mol y 1000 g/mol) y las sales sulfato de sodio y citrato de sodio. Anteriormente, se ha reportado el uso de estos sistemas para el mismo objetivo, sin embargo, en el proceso de extracción era necesario considerar un paso más (pre-equilibrio de fases) para poder determinar la afinidad del fármaco entre las fases, teniendo entonces eficiencias de extracción del 92 - 99 % dependiendo del SAB utilizado, la relación de fases y el método de equilibrio de fases [6]. En este trabajo se omite ese paso y la extracción se realiza de manera directa teniendo al fármaco en disolución acuosa alcalinizada (NaOH 0.01 M) para determinar el comportamiento de afinidad al hacerlo interaccionar con el polímero y la sal directamente

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

El fármaco naproxeno fue adquirido en Sigma-Aldrich, grado reactivo. El polímero polietilenglicol (PEG) de peso molecular 1000 g/mol fue adquirido en Karal (grado reactivo) y el de 400 g/mol fue amablemente proporcionado por la empresa Polioles S.A. de C.V. (grado reactivo). Los reactivos sulfato de sodio, citrato de sodio e hidróxido de sodio se adquirieron en Karal (grado reactivo). Todas las disoluciones fueron realizadas con agua desionizada marca Karal.

Métodos

Solubilidad del Nap en medio acuoso.

La solubilidad del Nap en medio acuoso es baja (0.0299 mg/mL) [DrugB], por lo tanto, se realizaron distintas pruebas de solubilidad del fármaco tomando en cuenta su constante de disociación ácida (4.19) [DrugB] por lo que se prepararon disoluciones de NaOH a distintas concentraciones de 0.1 M y 0.01 M y se evaluó la solubilidad del fármaco considerando que ésta puede favorecerse en un medio acuoso con un pH >4.19.

Caracterización y cuantificación de Nap en medio acuoso alcalino.

El análisis de los espectros UV-Visible característicos del Nap en medio acuoso (NaOH 0.01 M) se realizó con un equipo de espectroscopia UV-Vis (Varian Cary 50 probe). Para ello, se prepararon las siguientes muestras modificando la concentración de Nap (disuelto en NaOH 0.01 M): 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm y 25 ppm. Como blanco se utilizó el medio NaOH 0.01 M. La celda utilizada fue de cuarzo de 1 mm de espesor. El escaneo de las muestras se realizó en un intervalo de longitud de onda de 200 – 400 nm. Con la información anterior se seleccionó la señal de 257 nm la cual presentaba una mejor linealidad para realizar la curva de calibración.

Procedimiento para la preparación de los sistemas de extracción líquido-líquido.

En un vial se adicionó el % p/p de polímero, sal y Nap (10 ppm) disuelto en medio alcalino (NaOH 0.01 M) correspondiente. Se mezclaron los reactivos hasta su completa disolución. Se esperó un tiempo de reposo de 24 horas para asegurar el equilibrio completo de las fases superior e inferior. Por último, se separaron las fases y se sometieron a determinación de pH (913 pHmeter Metrohm) y caracterización y cuantificación mediante espectroscopia UV-Vis.

Caracterización y cuantificación de Nap en fase polímero y fase salina mediante espectroscopia UV-Vis.

El análisis de los espectros UV-Visible característicos del Nap en fase polímero y fase salina se realizó con un equipo de espectroscopia UV-Vis (Varian Cary 50 probe). Para ello, se prepararon las siguientes muestras modificando la concentración de Nap (disuelto en un medio de características similares a la fase polímero y fase salina: 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm y 25 ppm. Como blanco se utilizó el medio NaOH 0.01 M. La celda utilizada fue de cuarzo de 1 mm de espesor. El escaneo de las muestras se realizó en un intervalo de longitud de onda de 200 – 400

nm. Con la información anterior, se seleccionó la señal de 247.9 nm la cual presentaba una mejor linealidad para la curva de calibración.

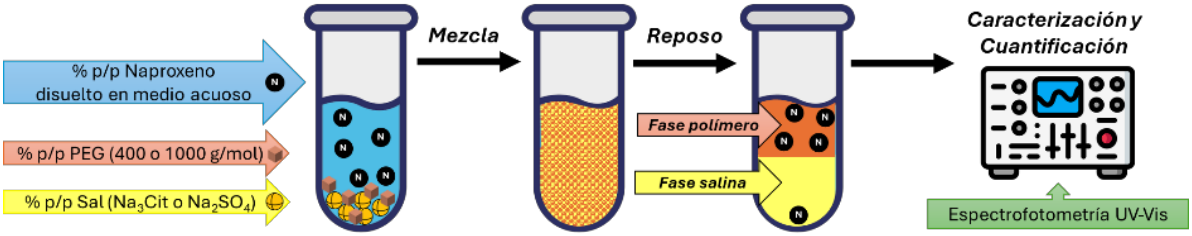


Figura 2. Proceso general de extracción directa del Nap utilizando SAB.

RESULTADOS

Solubilidad del Nap en Medio Acuoso.
Durante esta fase experimental, el fármaco mostró una baja solubilidad en medio acuoso neutro, en concordancia con su comportamiento reportado. Para mejorar su solubilidad, se realizaron pruebas en soluciones alcalinas de NaOH 0.1 M y 0.01 M, observándose que en ambos casos el Nap se disolvió completamente. No obstante, se optó por utilizar la disolución menos concentrada (NaOH 0.01 M) con el fin de evitar condiciones excesivamente alcalinas que pudieran interferir con la estabilidad de los componentes del sistema.

Además, considerando que el Nap posee una constante de disociación ácida (pk_a) de 4.19, se sabe que en condiciones de pH > 5, la especie predominante es su forma aniónica (Nap^-). Por esta razón, en este estudio se eligió trabajar a pH ≈ 12, asegurando que el Nap se encuentra completamente desprotonado, como se ilustra en el diagrama de predominio de especies (Figura 3).

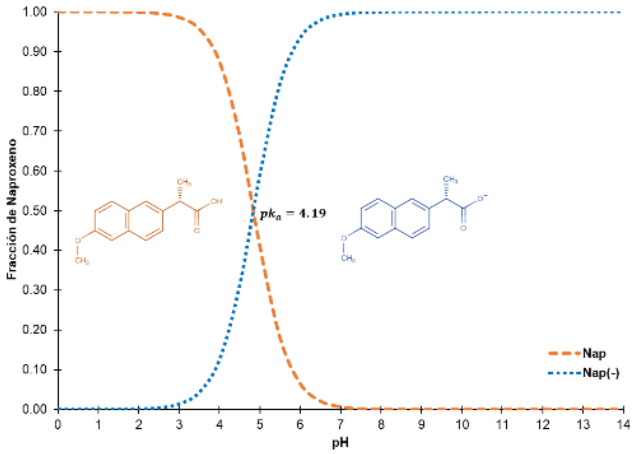


Figura 3. Diagrama de zonas de predominio del Nap en función del pH.

Porcentaje de recuperación de Nap^- en cada SAB.
Una vez disuelto el Nap en NaOH 0.01 M, asegurando la presencia de la especie aniónica Nap^-, se sometieron las muestras a estudios de extracción líquido-líquido utilizando diferentes sistemas acuosos bifásicos (SAB). Los resultados se presentan en la Figura 4. Todos los sistemas evaluados demostraron ser idóneos para lograr una recuperación eficiente del fármaco.

En orden decreciente de eficiencia, se obtuvo: PEG-400 g/mol / Na_3Cit > PEG-1000 g/mol / Na_3Cit > PEG-1000 g/mol / Na_2SO_4 > PEG-400 g/mol / Na_2SO_4. Este comportamiento se relaciona principalmente con el tipo y concentración del agente formador de fases, así como con las propiedades del polímero utilizado.

Los sistemas con Na_3Cit requieren una mayor concentración de sal para inducir la separación de fases, lo que favorece el efecto *salting-out*: un fenómeno que excluye solutos no iónicos o poco solubles de la fase salina, desplazándolos hacia la fase polimérica. Adicionalmente, la hidrofobicidad del polímero también influye en la eficiencia de extracción. En este caso, el PEG-1000, debido a su mayor peso molecular, presenta mayor hidrofobicidad y viscosidad en comparación con el PEG-400, lo cual puede favorecer la afinidad del Nap^- por esta fase.

El Nap tiene un coeficiente de partición octanol/agua (log K_o/w) de 3.2, lo que indica un comportamiento marcadamente hidrofóbico. Esto explica su preferencia por la fase polimérica, que también posee características hidrofóbicas.

Cabe destacar que el Na_3Cit ofrece una ventaja adicional por ser biodegradable y de baja toxicidad, lo que lo convierte en una opción más sustentable frente al Na_2SO_4. No obstante, para fines experimentales específicos, los cuatro SAB evaluados se consideran adecuados para la recuperación eficiente del Nap^- resultan ser idóneos para realizar una recuperación del fármaco eficiente.

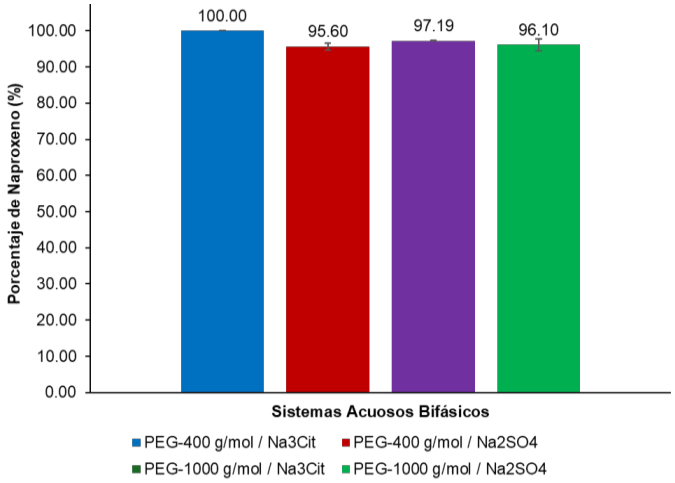


Figura 4. Porcentajes de recuperación de Nap en distintas conformaciones de SAB tipo polímero/sal.

Análisis del pH en la recuperación de Nap^- mediante SAB.
El pH del medio es un parámetro determinante en la recuperación del Nap debido a su comportamiento ácido-base. El Nap tiene una constante de disociación ácida (pk_a) de 4.19, lo que significa que a pH > 4.19, predomina en su forma aniónica (Nap^-), más soluble en medio acuoso. En el estudio, se utilizó NaOH 0.01 M (pH ≈ 12) para asegurar la completa desprotonación del Nap, facilitando su solubilidad inicial.

Evaluando los cuatro SAB con sus respectivos pH (Ver Tabla 2) y porcentajes de recuperación (Ver Figura 4), los valores de pH cercanos al pk_a (≈ 4.19), como en el sistema PEG-400/Na_2SO_4, disminuyen la eficiencia de recuperación. Esto es porque se encuentra una mezcla de especies neutras y aniónicas de Nap, reduciendo su afinidad por la fase polimérica.

Cuando el pH es mucho mayor al pk_a, como en los sistemas con Na_3Cit (pH > 6.7), se favorece la forma aniónica, aumentando su interacción con la fase polimérica más hidrofóbica y permitiendo mayor recuperación.

Curiosamente, el sistema PEG-1000/Na_2SO_4 tiene un pH más ácido (3.48) que el pk_a y aun así una buena recuperación (96.09 %). Esto sugiere que, además del pH, intervienen otros factores como la hidrofobicidad de la fase polimérica y el efecto *salting-out*.

Tabla 2. Valores de pH determinados en las fases de los SAB después del proceso de extracción.

MUESTRA		pH
NaOH 0.01 M		11.89
Nap en NaOH 0.01 M		8.89
PEG-400/Citrato de sodio	Fase polímero	7.62
	Fase salina	7.38
PEG-400/Sulfato de sodio	Fase polímero	4.28
	Fase salina	4.15
PEG-1000/Citrato de sodio	Fase polímero	6.75
	Fase salina	6.81
PEG-1000/Sulfato de sodio	Fase polímero	3.62
	Fase salina	3.33

Caracterización de las fases poliméricas y fases salinas de cada SAB, antes y después de la extracción, mediante espectroscopia UV-Vis.

La caracterización espectroscópica mediante UV-Vis permitió realizar un seguimiento cualitativo del comportamiento del Nap en ambas fases (polimérica y salina) de los sistemas acuosos bifásicos. En la Figura 5 se muestran los espectros correspondientes a los blancos (fases sin Nap) y a las muestras analizadas tras el proceso de extracción, realizadas en triplicado para cada sistema.

Los resultados evidencian que la mayor parte del fármaco (>95 %) se encuentra en la fase polimérica, lo cual se confirma por la presencia clara de las señales características del Nap en dicha fase. Estas señales presentan un ligero desplazamiento, atribuible a las diferencias en el entorno químico respecto a la fase acuosa original. En contraste, las señales en la fase salina son débiles o nulas, dependiendo del sistema evaluado.

Estos resultados cualitativos respaldan de manera contundente que el método de extracción propuesto es efectivo para la recuperación del Nap, y confirman su afinidad por la fase polimérica en los SAB estudiados.

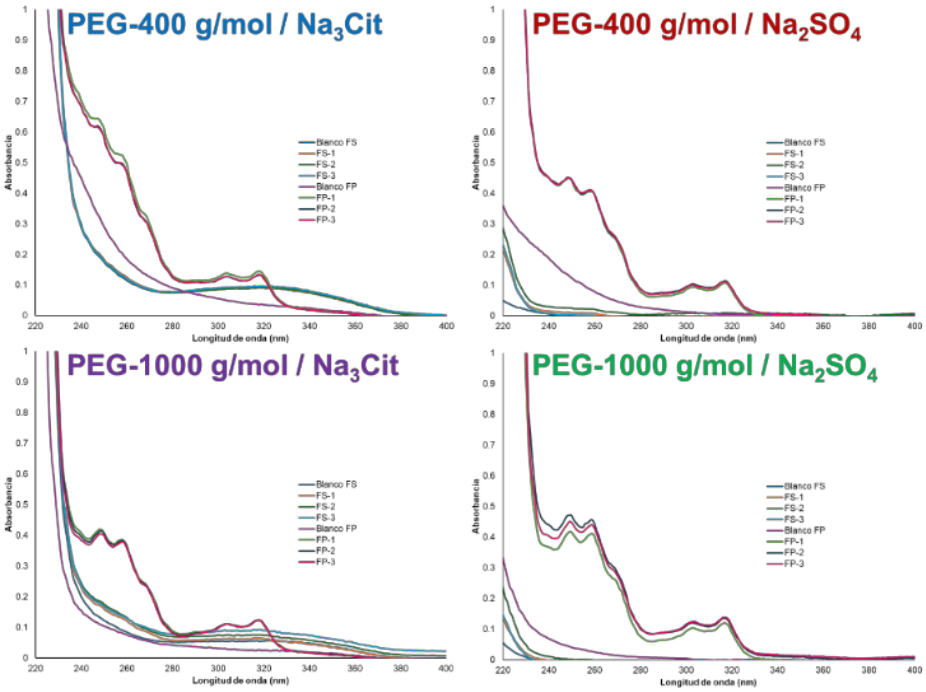


Figura 5. Espectros de absorción UV-Vis de fases poliméricas y fases salinas de cada SAB como blancos (sin Nap^-) y después del proceso de extracción del Nap^-.

CONCLUSIONES

El presente estudio demuestra que los SAB basados en polietilenglicol y sales (Na_3Cit y Na_2SO_4) son una alternativa efectiva y sustentable para la recuperación del Nap en su forma aniónica (Nap^-), sin necesidad de realizar el pre-equilibrio de fases comúnmente requerido en otras metodologías. Los resultados indican que todos los SAB evaluados permitieron una recuperación mayor al 95 %, siendo el sistema PEG-400/Na_3Cit el más eficiente (>99 %). Esta alta eficiencia se debe principalmente a la combinación de factores como: El pH alcalino controlado (NaOH 0.01 M), que asegura la desprotonación completa del Nap. La hidrofobicidad del fármaco y su correspondiente afinidad por la fase polimérica. El efecto *salting-out*, especialmente notorio en sistemas con Na_3Cit, que promueve la exclusión del Nap^- de la fase salina.

La caracterización espectroscópica UV-Vis validó que el Nap se encuentra mayoritariamente en la fase polimérica, lo que respalda cualitativamente los porcentajes de recuperación calculados. Además, se confirma que el tipo de sal y el peso molecular del polímero influyen significativamente en el desempeño del sistema, siendo el PEG-1000 ligeramente más favorable en términos de hidrofobicidad que el PEG-400.

Desde un enfoque ambiental, el uso de Na_3Cit, una sal biodegradable y de baja toxicidad, representa una opción más ecológica en comparación con el uso de Na_2SO_4, sin comprometer la eficiencia del proceso.

En conjunto, este trabajo propone una metodología sencilla, de bajo costo y de menor impacto ambiental para la remoción y recuperación de contaminantes emergentes como el Nap, abriendo paso a futuras aplicaciones de SAB en el tratamiento de aguas contaminadas con fármacos.

BIBLIOGRAFÍA

1. *DRUGBANK Online: Naproxen*. (2025, February 20). https://go.drugbank.com/drugs/DB00788
2. Farque, M. O., Islam, R. M., Rahman Joni, M. F., Akter, M., Akter, S., Islam, M. D., Salim, M. J. bin, Aziz, A. A., Kabir, E., & Uzzaman, M. (2025). Structural modification of Naproxen; physicochemical, spectral, medicinal, and pharmacological evaluation. *Informatics in Medicine Unlocked*, *53*, 101617. https://doi.org/10.1016/j.imu.2025.101617
3. Wojcieszyńska, D., & Guzik, U. (2020). Naproxen in the environment: its occurrence, toxicity to nontarget organisms and biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *104*(5), 1849–1857. https://doi.org/10.1007/s00253-019-10343-x
4. Luna Deng. (2025). *Pharmaceutical Pollutants in Water Environments: A Literature Review of Removal Methods, Actions, and Regulations.* https://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A1922896&dswid=-3573
5. Gómez, E., Domínguez, I., Domínguez, Á., & Macedo, E. A. (2018). Ionic Liquids-Based Aqueous Biphasic Systems with Citrate Biodegradable Salts. *Journal of Chemical & Engineering Data*, *63*(4), 1103–1108. https://doi.org/10.1021/acs.jced.7b00849
6. González Rodríguez, F. M., Martínez Rodríguez, D. E., & Ávila Rodríguez, M. (2022). Extracción de Naproxeno Mediante Sistemas Bifásicos Acuosos Basados en PEG-400 g·mol-1 /Citrato de sodio y PEG-1000 g·mol-1 /Citrato de sodio. *Jóvenes En La Ciencia: XXII Verano de La Ciencia UG. Vol. 16 (2022)*, *16*. Retrieved February 24, 2025, from http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/7454

DESARROLLO DE BIOPELÍCULAS A BASE DE MUCÍLAGO DE LINAZA, HIDRÓXIDOS DOBLES LAMINARES Y NANOPARTÍCULAS DE SELENIO

Karla Nicole Velasco Ledezma, Jenny Arratia-Quijada*, Lucia Flores-Contreras, Beatriz Adriana Andrade-Espinoza.

Departamento de Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de Tonalá, Universidad de Guadalajara, Nuevo Perif. Ote. 555, Ejido San José, Tateposco, Tonalá, Jalisco. C.P. 45425
karla.velasco4988@alumnos.udg.mx; jenny.arratia@academicos.udg.mx

RESUMEN

En los últimos años, la industria alimentaria ha dependido en gran medida de plásticos sintéticos no renovables ni biodegradables como empaques para el envasado de alimentos, lo que representa un desafío ambiental significativo. Un empaque adecuado de los alimentos evita la contaminación con microorganismos patógenos debido a la manipulación excesiva, y con ello se evitan riesgos graves de salud pública. Ante esta problemática, el uso de películas basadas en polímeros naturales representa una alternativa prometedora. Particularmente, los polisacáridos de semillas de plantas muestran propiedades tecnológicas óptimas para el desarrollo de películas y son seguros para el consumo humano. Uno de estos polímeros es el mucílago, el cual tiene una propiedad funcional en la formación de películas y ha mostrado una excelente actividad contra bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas. Este efecto puede potenciarse mediante la incorporación de nanopartículas de selenio (NPSe), las cuales actúan sinérgicamente promoviendo un mayor daño celular en los microorganismos. Por otro lado, los hidróxidos dobles laminares (HDLs) han ganado relevancia debido a sus propiedades de intercambiabilidad aniónica, biocompatibilidad y estabilidad. Estas propiedades los convierten en candidatos ideales para el transporte y liberación controlada de compuestos bioactivos en matrices poliméricas. El objetivo de esta investigación propone desarrollar biopelículas a base de mucílago de linaza, adicionadas con nanopartículas de selenio e hidróxidos dobles laminares. El mucílago fue extraído a partir de semillas de linaza mediante ebullición y agitación constante, filtración de la muestra y secado para su posterior formación de películas. La síntesis de nanopartículas de selenio se realizó mediante reducción química y la síntesis de hidróxidos dobles laminares usando el método de coprecipitación directa a partir de sales metálicas precursoras de cationes divalentes y trivalentes. Durante la formación de las biopelículas se incorporaron el mucílago, las NPSe y los HDLs. Los resultados de la investigación mostraron que fue posible obtener biopelículas homogéneas y estables con un rendimiento de entre 54.9% - 60%. La caracterización mediante espectroscopía infrarroja y difracción de rayos X confirmó la estructura esperada de los HDLs y la interacción efectiva con las NPSe, evidenciando su integración en la matriz polimérica. Estas biopelículas representan una alternativa potencial para aplicaciones en la industria alimentaria como empaque biodegradable y comestible para el envasado de alimentos.

INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria utiliza diversos tipos de empaques con la finalidad de proteger y facilitar la manipulación de los alimentos para facilitar su distribución y almacenamiento. Los compuestos comúnmente utilizados en la industria son polímeros sintéticos a base de petróleo debido a su facilidad y comodidad. No obstante, se ha replanteado el uso debido al alto riesgo de contaminación ambiental, ya que no son renovables y no biodegradables, además de representar posibles riesgos para los consumidores, como la intoxicación debido a algunos químicos liberados por estos empaques. Por lo anterior, investigaciones recientes muestran el uso de biopolímeros, incluyendo las proteínas, polisacáridos y lípidos, para la formación de películas y recubrimientos comestibles, debido a características biodegradables y seguras para el consumo en alimentos. Además, poseen funciones de soporte mecánico, barrera de gases y aromas, y permiten la incorporación de compuestos con acción antimicrobiana y antioxidante, lo cual puede aumentar la vida útil de los alimentos (Giteru et al., 2017).

Dentro de los nuevos materiales considerados amigables con el ambiente, se encuentran los mucílagos vegetales como materia prima para el desarrollo de películas, micropartículas y nanofibras en la industria alimentaria debido a propiedades no tóxicas, no irritantes y bajo costo de producción, entre otras ventajas. El mucílago es un polisacárido que se encuentra como parte del recubrimiento de algunas semillas, entre ellas: chía, linaza, mostaza, etc. Debido a su naturaleza química hidrofílica, la extracción de este tipo de polímeros es sencilla, dando lugar a la obtención de una sustancia gelatinosa o también conocida como hidrocoloide en el medio acuoso (De Paiva et al., 2020).

En cuanto a las propiedades del biopolímero, destaca el uso como agente encapsulante debido a la naturaleza hidrogelificante. Esto proporciona una función como matriz de soporte para otros compuestos o sustancias bioactivas, brindando a su vez una mayor estabilidad a estos (Haseeb et al., 2024). Además, mediante el uso de herramientas de nanotecnología, se ha permitido brindar propiedades adicionales a estos biopolímeros al incorporar nanopartículas y nanomateriales en la matriz. Una de las propiedades de interés en la industria alimentaria es el efecto antimicrobiano de las nanopartículas, debido a su gran área de contacto superficial. En particular, las nanopartículas de selenio (NPSe) pueden afectar las células bacterianas a través de múltiples vías, lo que sugiere que las bacterias podrían enfrentar dificultades para desarrollar resistencia a esas múltiples vías de ataque (Bisht et al., 2021).

Por su parte, los hidróxidos dobles laminares (HDLs), conocidos como hidrotalcita o arcillas aniónicas, son compuestos formados de metales divalentes y trivalentes; formados en capas, los cuales tienen características de gran interés en el área biomédica y en las ciencias de los alimentos, entre ellas: biocompatibilidad, estabilidad, solubilidad dependiente del pH. De acuerdo con investigaciones, se ha demostrado que los HDLs tienen un potencial como transportadores de agentes funcionales en el área de salud, ciencias de los alimentos y ambiental (Mishra et al., 2017). El objetivo de la investigación es desarrollar biopelículas a base de mucílago de linaza, adicionadas con nanopartículas de selenio e hidróxidos doble laminares.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción del mucílago

La extracción del mucílago de linaza se realizó a partir de las semillas enteras que se adquirieron de una tienda local de Tonalá, Jalisco. Para ello, se utilizaron 10 gramos de semilla, en un vaso de precipitado. Se agregó agua destilada en una proporción de 1:40 (muestra: agua), ajustando el pH a 8 con el equipo Starter 3100 pH Bench pH Meter ST3100-B con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1 M de la marca J.T Baker, Inc. Para proceder con la extracción, se elevó la temperatura a 80 °C durante 2 horas bajo agitación continua (Muñoz-Tebar et al., 2021). Una vez concluido este tiempo, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente. La sustancia mucilaginosa se recuperó sin mezclar con las semillas. Los mucílagos obtenidos se distribuyeron en moldes de plástico y se dejaron secar a 37 °C durante 72 horas en el horno de convección de aire con el equipo INUCELL LSIK-B2V/ICICIII (Figura 1). Finalmente, se recolectaron los mucílagos secos y se almacenaron en tubos Falcon a temperatura ambiente hasta su posterior uso.

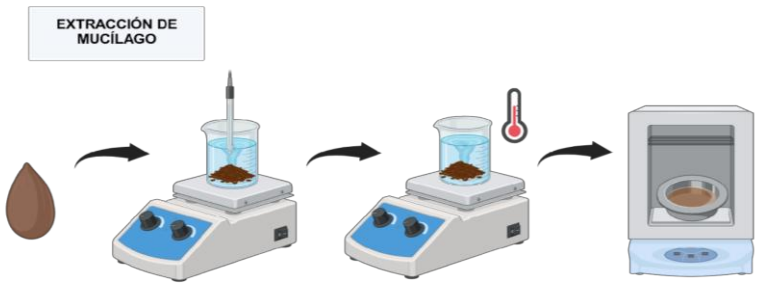


Figura 1. Procedimiento de extracción de mucílagos por ebullición. Creado con Biorender.com

Síntesis de nanopartículas de selenio

La síntesis de nanopartículas se llevó a cabo mediante el método de reducción química de selenito de sodio (Na2O3Se) de marca Sigma-Aldrich,USA y L-(+)-Ácido Ascórbico (C6H8O6) de la marca J.T Baker a una concentración de 0.1 M en medio acuoso. La síntesis de NPSe se llevó a cabo a una temperatura de 60°C en el equipo Benchmark Scientific agitador de placa caliente H3770-HS adicionando de manera gradual el ácido ascórbico (Bisht et al., 2021). Al finalizar, se almacenaron a 4°C, hasta su utilización (Figura 2).

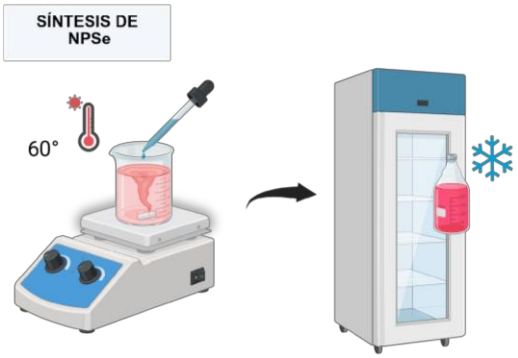


Figura 2. Procedimiento de preparación de nanopartículas de selenio por método de reducción. Creado con Biorender.com

Síntesis de Hidróxidos doble laminares

La síntesis de HDLs de Mg-Al se llevó a cabo mediante la coprecipitación directa de sales de nitrato de magnesio $(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ de la marca Golden Bell y nitrato de aluminio $AlN_3O_9 \cdot 9H_2O$ de la marca Sigma Aldrich en medio acuoso, al adicionar NaOH 1.0 M de la marca J.T Baker, Inc hasta alcanzar un pH de 8 con el equipo Starter 3100 pH Bench pH Meter ST3100-B. Durante la reacción de coprecipitación se mantuvo agitación constante para su homogeneización (Mosconi et al., 2022). Posteriormente, se agregaron las NPSe previamente sintetizadas (Figura 3). Una vez incorporadas, se dejaron en agitación de 20-24 hrs a temperatura ambiente. Una vez transcurrido ese tiempo, se realizaron 4 lavados y se dejó secar a 37 °C por 48 hrs en el horno de convección de aire con el equipo INUCELL LSIK-B2V/ICICIII, para su posterior recuperación en polvo.

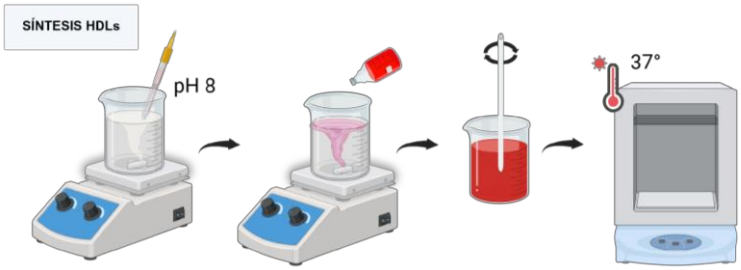


Figura 3. Síntesis de Hidróxidos doble laminares mediante coprecipitación. Creado con Biorender.com

Desarrollo de biopelículas

Las biopelículas se elaboraron con base en el procedimiento de Muñoz-Tebar et al. (2021) con algunas modificaciones. Para la incorporación de los hidróxidos doble laminares (HDLs) y nanopartículas de selenio (NPSe) se utilizó el mucílago de linaza previamente seco, disuelto en agua bidestilada. Se ajustó el pH a 9 con NaOH al 0.1 M de la marca J.T Baker con el equipo Starter 3100 pH Bench pH Meter ST3100-B, bajo agitación continua a temperatura ambiente, se agregaron los HDLs con NPSe. Posteriormente se calentó a 80°C durante 30 minutos. Se añadieron 15 % de Tween 80 y, 35 % de glicerina (p/p, basados en el peso del mucílago seco). La mezcla se mantuvo

en agitación para permitir la incorporación homogénea de todos los componentes. Posteriormente, se vertió en placas de Petri y se colocaron en un horno con convección de aire a 37°C durante 48 horas en el horno de convección de aire con el equipo INUCELL LSIK-B2V/ICICIII. Una vez secas, se caracterizaron mediante espectroscopia de infrarrojo (Figura 4).

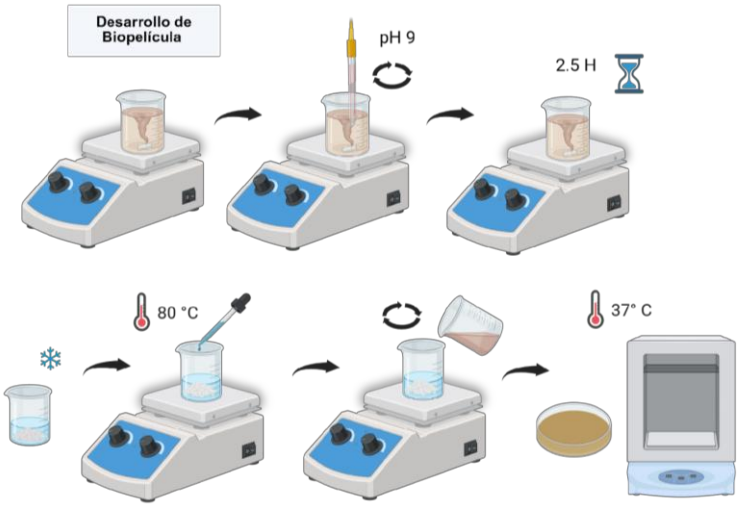


Figura 4. Desarrollo de biopelículas. Creado con Biorender.com

RESULTADOS

Las biopelículas nanocompuestas se caracterizaron mediante FTIR (Figura 5) en el espectro del hidróxido doble laminar Mg–Al 2:1, se identificaron bandas características de los hidróxidos dobles laminares asociadas a su estructura. La banda ancha centrada en 3430 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del grupo hidroxilo (O–H) presente tanto en el agua interlaminar como en los grupos estructurales de la matriz. A su vez, la señal en 1635 cm^{-1} se atribuye a la flexión de la molécula de agua (H–O–H), lo que confirma la presencia de agua en el espacio interlaminar. Se identificó una banda menos intensa en la zona de 1389 cm^{-1}, asociada a aniones nitrato (NO_3^-) intercalados durante el proceso de síntesis. En la región baja del espectro, se observaron señales en torno a ~970cm^{-1}, asignadas a las vibraciones de enlace metal–oxígeno (Mg–O y Al–O), evidenciando la formación de la red inorgánica característica de estos materiales laminares. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Hasanin et al. (2024), quienes observaron bandas similares en 3420 cm^{-1} y 1630 cm^{-1}, respectivamente, en su estudio de películas de empaque activas basadas en HDL.

Respecto a el espectro de las nanopartículas de selenio (NPSe) se identificaron señales tenues en 970 cm^{-1} y región de 500–600 cm^{-1}, asociadas a vibraciones de Se-O y M-O sugiriendo que las NPSe presentan interacción en el momento de su síntesis. Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Siddique et al. (2024), quienes observaron un pico en 978 cm^{-1}, también asociado a modos vibracionales superficiales de las NPSe. Sin embargo, en el presente estudio no se detectaron otras bandas presentes en el espectro de Siddique et al., como las de 1106, 1375 o 1626 cm^{-1}. La diferencia en la cantidad y la intensidad de las bandas podría deberse a variaciones en la síntesis, como el tipo de precursor utilizado o el tamaño final de las partículas, lo cual influye directamente en los enlaces y la pureza de las nanopartículas.

El espectro M.L Mg-Al 2:1 NPSe muestra la interacción de todos los componentes de la biopelícula, en la banda 3430 cm^{-1} se observan las señales O–H más ancha e intensa, indicando aumento de puentes de hidrógeno por interacción entre el mucílago, los HDL y las NPSe. La banda 1389 cm^{-1}

se observa ligeramente desplazada, lo que indica interacción entre aniones nitrato y el mucílago. En la banda 970 cm^{-1} se tiene una señal persistente, asociada a M–O, lo que confirma que la estructura del HDL se mantiene tras la incorporación al polímero. Respecto al rendimiento de los HDLs, se relaciona con diversos factores al momento de su síntesis; como lo pueden ser el pH, la agitación durante su síntesis. En este caso se obtuvo un rendimiento entre el 54.9% - 60%.

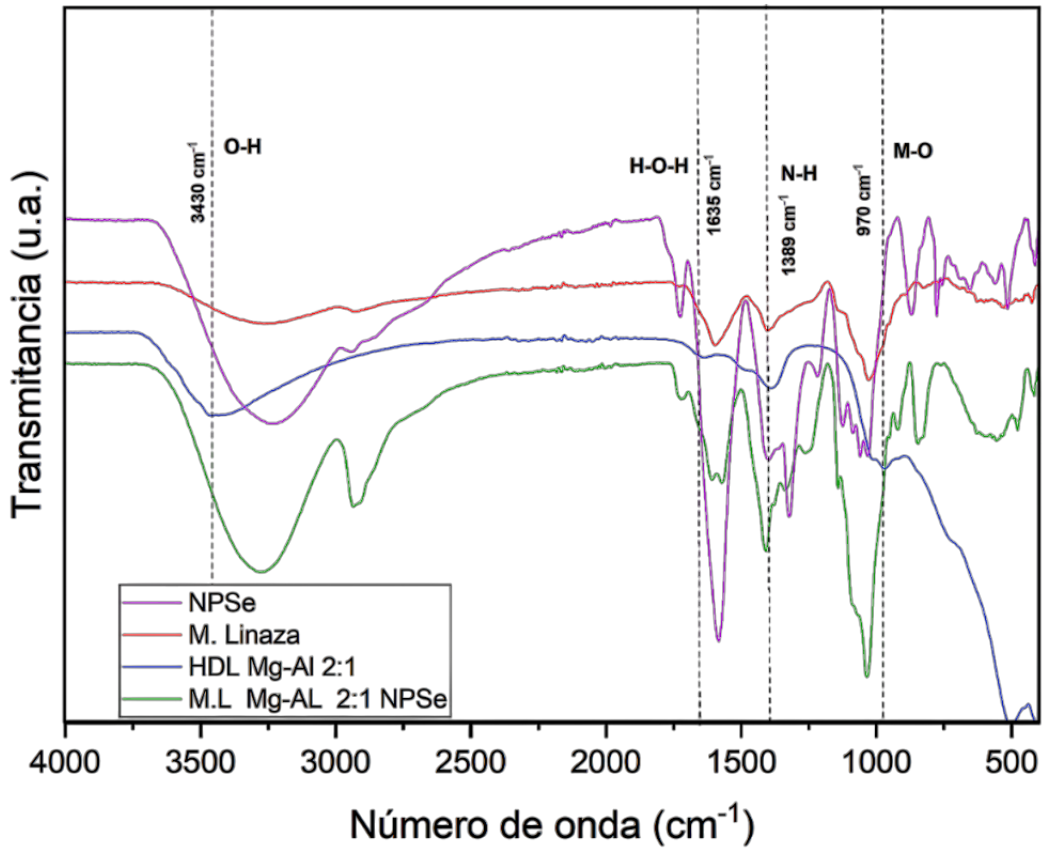


Figura 5. Espectroscopía infrarroja de Biopelícula de mucílago de linaza, HDLs y NPSe.

Características físicas de la biopelícula

La biopelícula elaborada a partir del mucílago seco de linaza, incorporando HDLs y NPSe presentó una apariencia homogénea que cubría completamente la superficie de la placa de petri, sin roturas visuales, una superficie lisa y con un brillo moderado, con algunas variaciones en la textura. Su coloración fue marrón claro y posee una transparencia ligera que permite el paso de la luz (Figura 6). Se observó una buena flexibilidad y resistencia al manipular la biopelícula, sin que esta se rompiera o presente zonas quebradizas.



Figura 6. Biopelícula de mucílago de linaza con HDLs y NPSe.

CONCLUSIONES

La caracterización mediante espectroscopía infrarroja confirmó la estructura esperada de los Hidróxidos doble laminares y la interacción efectiva con las nanopartículas de Selenio, evidenciando su integración en la matriz polimérica del mucílago. Estas biopelículas a base de polímeros naturales en conjunto representan una alternativa potencial para aplicaciones en la industria alimentaria como empaque biodegradable y comestible para el envasado de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bisht, N., Phalswal, P., & Khanna, P. K. (2021). Selenium nanoparticles: a review on synthesis and biomedical applications. Materials Advances, 3(3), 1415–1431. https://doi.org/10.1039/d1ma00639h
2. De Paiva, P. H. E. N., Correa, L. G., Paulo, A. F. S., Balan, G. C., Ida, E. I., & Shirai, M. A. (2020). Film production with flaxseed mucilage and polyvinyl alcohol mixtures and evaluation of their properties. Journal Of Food Science And Technology, 58(8), 3030-3038. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04806-7
3. Giteru, S. G., Oey, I., Ali, M. A., Johnson, S. K., & Fang, Z. (2017). Effect of kafirin-based films incorporating citral and quercetin on storage of fresh chicken fillets. *Food Control*, *80*, 37–44. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.029
4. Hasanin, M. S., Hassan, Y. R., & Youssef, A. M. (2024). Active packaging films based on the nanoform of chitin, alginate, and layered double hydroxides: characterization, mechanical properties, permeability, and bioactive properties. RSC Advances, 14(50), 37380–37391. https://doi.org/10.1039/d4ra06306f
5. Haseeb, M. T., Muhammad, G., Hussain, M. A., Bukhari, S. N. A., & Sheikh, F. A. (2024). Flaxseed (Linum usitatissimum) mucilage: A versatile stimuli–responsive functional biomaterial for pharmaceuticals and healthcare. International Journal of Biological Macromolecules, 278, 134817. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134817.
6. Mishra, G., Dash, B., & Pandey, S. (2017). Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. Applied Clay Science, 153, 172–186. https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.12.021
7. Mosconi, G., Salguero, Y., Valenti, L. E., Rojas, R., Strumia, M. C., Gomez, C. G., & Giacomelli, C. E. (2022). Antimicrobial modification of polypropylene films by photograft and layered double hydroxides assembly. Reactive and Functional Polymers, 178, 105349. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2022.105349
8. Muñoz-Tebar, N., Molina, A., Carmona, M., & Berruga, M. I. (2021). Use of Chia by-Products Obtained from the Extraction of Seeds Oil for the Development of New Biodegradable Films for the Agri-Food Industry. Foods, 10(3), 620. https://doi.org/10.3390/foods10030620

9. Siddique, M. a. R., Khan, M. A., Bokhari, S. a. I., Ismail, M., Ahmad, K., Haseeb, H. A., Kayani, M. M., Khan, S., Zahid, N., & Khan, S. B. (2024). Ascorbic acid-mediated selenium nanoparticles as potential antihyperuricemic, antioxidant, anticoagulant, and thrombolytic agents. Green Processing and Synthesis, 13(1). https://doi.org/10.1515/gps-2023-0158

PRESENCIA DE HUEVOS DE HELMINTO EN SUELO DE TIRADERO A CIELO ABIERTO DE LA REGIÓN DE TEPEXI DE RODRÍGUEZ

Verónica Machorro Sánchez, Luis Ricardo Morales Juárez, Odilón Vázquez Cuchillo, Eduardo González Flores y Fernando Medina Pérez.

Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Puebla. Av. Tecnológico 420, Col. Maravillas, Puebla, Puebla. 72220. Laboratorio de Posgrado.

veronica.machorro@puebla.tecnm.mx .

RESUMEN

La generación excesiva de residuos sólidos urbanos (RSU) es la causa principal de la gran contaminación en; agua, aire y suelo. En el caso del suelo, los lixiviados que se generan de la descomposición de los RSU, ocasiona contaminación de materia orgánica, metales pesados, gases como CH_4 y CO_2. Además, se anidan cantidades importantes de virus, bacterias y parásitos, causando efecto nocivo en salud humana e impacto negativo en la naturaleza. El objetivo de este trabajo se basa en establecer la técnica para detectar la presencia de huevos de helminto en muestras de suelo provenientes de tiradero a cielo abierto (TCA). La metodología se basa en 1) obtención de muestras de suelo a nivel profundidad, 2) determinación humedad y pH según la NOM-021-RECNAT-2000, 3) Montaje de técnica propuesta; peso de muestra, agitación de muestra, toma de muestra superficial, centrifugar, preparación de muestras en portaobjetos y observar en microscopio. El pH del suelo a nivel profundidad es de 8.046 con una variabilidad en las muestras de +/- 0.092 con humedad del 20%. Se pudo observar la presencia de huevos helminto en las muestras de suelo en estado infectante. Este resultado nos indica una vez más que en esencia, la endemicidad de los helmintos transmitidos por el suelo depende de la contaminación fecal del suelo habitual o continua, de un ambiente (temperatura, humedad, textura del suelo) favorable al desarrollo de las fases infecciosas y del contacto frecuente de individuos no infectados con el suelo contaminado. Cabe mencionar que los huevos de helminto presentan persistencia y alta resistencia en el suelo y esto genera gran preocupación en la región de Tepexi de Rodríguez, con los resultados obtenidos se pueden aplicar alternativas que ayuden a mitigar el foco de infección a esta comunidad.

INTRODUCCIÓN

La sociedad se preocupa por producir materiales continuamente con el objetivo de crear un entorno social confortable. Sin embargo, esto conduce a la degradación del medio ambiente porque los agentes participantes -las personas, instituciones, sector privado- no ponen suficiente énfasis en la gestión de residuos, lo que impide que los residuos se utilicen en beneficio de otras industrias (Najar, 2024).

Los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) son aquellos materiales que se desechan después de su vida útil (después de que ha realizado un trabajo, cumplido si misión), y que por lo general por si solos carecen de valor económico para el común de la gente. Por lo tanto, se conciben como algo inservible que se convierte en basura (Osorio-Hernández et al., 2022). Asimismo, se componen principalmente de desechos procedentes de materiales utilizados en la fabricación, transformación o utilización de bienes de consumo. Estos residuos pueden eliminarse cuando se destinan a rellenos sanitarios, tiradero a cielo abierto o se reciclan para otros nuevos usos (2022, p. 3717). La generación excesiva de residuos sólidos urbanos (RSU) es la causa principal de la gran contaminación en; agua, aire y suelo. En el caso del suelo, los lixiviados que se generan de la descomposición de los RSU, ocasiona contaminación de materia orgánica, metales pesados, gases como CH_4 y CO_2. Además, se anidan cantidades importantes de virus, bacterias y parásitos, causando efecto nocivo en salud humana e impacto negativo en la naturaleza.

TEORÍA

Las parasitosis intestinales constituyen un problema sanitario de gran magnitud, sobre todo en lo niños, y poseen una alta prevalencia en los países en vías de desarrollo a causa del escaso saneamiento, escaso control y escasa educación sanitarios. La contaminación fecal del suelo, agua y alimentaciones, asociadas a la inadecuada higiene, produce condiciones favorables para la transmisión y reinfección por parásitos (Figura.1a). Las formas latentes no se reproducen y/o proliferan en el medio, pero algunos parásitos pueden atravesar una etapa libre, aumentando las posibilidades de contagio (Figura.1b). La incidencia de estas parasitosis se considera un indicador del estado de salud de las poblaciones en el que la media de la prevalencia puede variar ampliamente en una zona determinada (Juarez & Rajal, 2013).

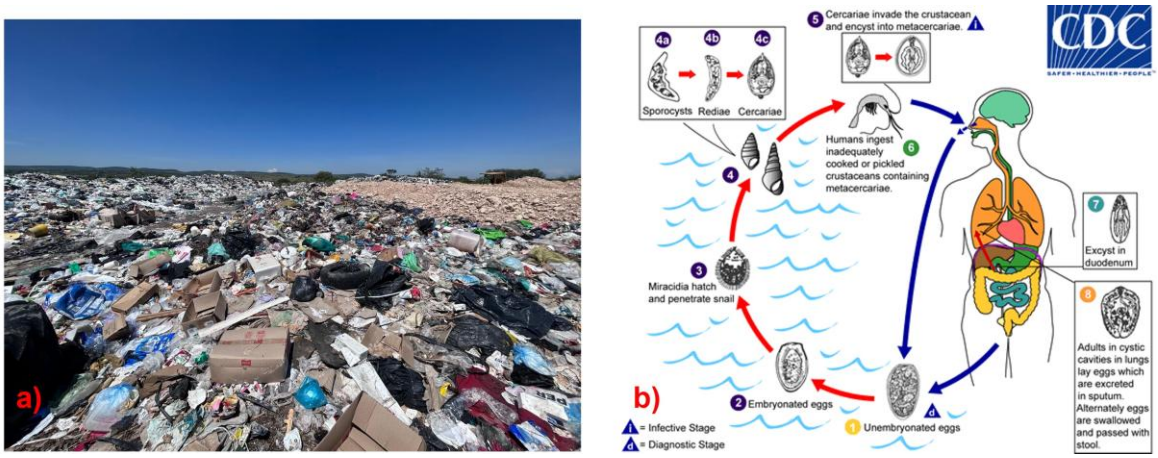


Figura 1. a) Tiradero a cielo abierto del municipio de la región de Tepexi de Rodríguez, b) Ciclo vital de paragonimiasis, imagen tomada de la página: https://www.cdc.gov/dpdx/paragonimiasis/index.html

Juarez & Rajal (2013), indican que las condiciones ambientales (temperatura, humedad, vientos, suelo) son determinantes en la viabilidad y maduración de los huevos de helmintos patógenos, mientras que los quistes y ooquistes de protozoarios son relativamente más resistentes a condiciones adversas. La variedad de helmintos encontrada en el ambiente es muy amplia. Un grupo muy importante entre ellos son los geohelmintos, agentes transmitidos por el suelo debido a que sus formas de propagación necesitan pasar un período de tiempo en la tierra para madurar y volverse infectivas para sus hospedadores; por lo que su desarrollo y viabilidad dependen de las condiciones que este sustrato les brinde (Figura. 2).

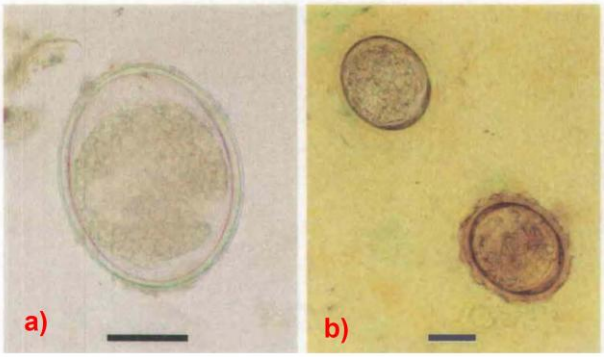


Figura 2. *Ascaris* a) Huevos fértiles decorticado y b) Huevo normal y decorticado. (Organización Mundial de la Salud,1994).

METODOLOGÍA

La metodología se basa en lo siguiente: obtención de muestras de suelo a nivel profundidad (Figura 3). Posteriormente, se procede a la determinación de humedad y pH según la NOM-021-RECNAT-2000.



Figura 3. Obtención de muestras de suelo

De acuerdo con Rodríguez et al., (2024) las técnicas de flotación permiten una separación más limpia de quistes y huevos mediante el uso de soluciones de alta gravedad específica. No obstante, ciertas estructuras parasitarias, como huevos operculados o densos, no se concentran eficazmente con estos métodos, requiriendo el uso complementario de técnicas de sedimentación. El método de concentración rápida se basa en la sedimentación gravitacional de los huevos, mientras que el método de Sheather utiliza una solución azucarada de alta densidad para la flotación de quistes, ooquistes y huevos.

En el montaje de la técnica se consideró el método de Sheather (Figura 4).



Figura 4. Metodología establecida

RESULTADOS

El pH del suelo a nivel profundidad es de 8.046 con una variabilidad en las muestras de +/- 0.092 con humedad del 20%. Se pudo observar la presencia de huevos helminto en las muestras de suelo provenientes de tiradero a cielo abierto en estado infectante (Figura 5).

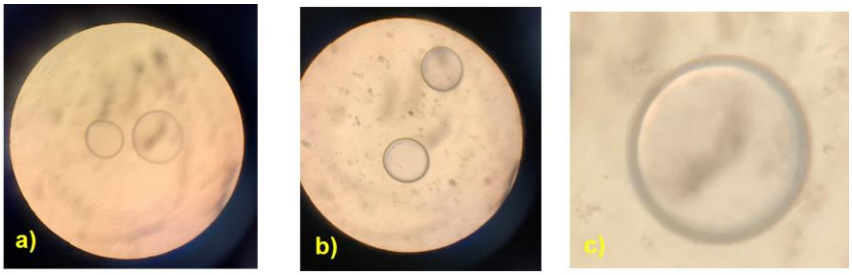


Figura 5. Las imágenes a) y b) se observaron con objetivo de 40x, c) con objetivo de 100x.

Comparando las imágenes obtenidas con el manual de la Organización Mundial de la Salud (1994), se puede visualizar que los huevos de helminto son normal y decorticado. Este resultado nos indica una vez más que en esencia, la endemicidad de los helmintos transmitidos por el suelo depende de la contaminación fecal del suelo habitual o continua, de un ambiente (temperatura, humedad, textura del suelo) favorable al desarrollo de las fases infecciosas y del contacto frecuente de individuos no infectados con el suelo contaminado.

CONCLUSIONES

Cabe mencionar que los huevos de helminto presentan persistencia y alta resistencia en el suelo y esto genera gran preocupación en la región de Tepexi de Rodríguez, con los resultados obtenidos se sugieren alternativas que ayudaran a mitigar el foco de infección a esta comunidad.
Fuentes (2022), menciona que las mejores alternativas que pueden ayudar a mitigar el foco de infección por presencia de huevos de helminto son:

1) Control y reducción de la presencia de perros en las viviendas para disminuir la transmisión de parásitos.
2) Promover la higiene personal, especialmente la correcta lavado de manos antes de comer.
3) Fomentar practicas higiénicas en la manipulación y lavado de frutas y verduras.
4) Implementar campañas de educación sobre higiene y saneamiento para la comunidad.
5) Realizar campañas de desparasitación periódica en niños y personas vulnerables.
6) Promover la eliminación adecuada de residuos para reducir la contaminación ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fuentes, M. (2022). Factores de riesgo asociados a la prevalencia de parasitosis intestinal en niños de 1 a 12 años en la Comunidad Campesina de Chocco, Cusco - 2020. Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Tecnología Médica con Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica - Especialidad de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, Universidad Continental, Cusco, Perú.
2. Juárez, M. M., & Rajal, V. B. (2013). Parasitosis intestinales en Argentina: principales agentes causales encontrados en la población y en el ambiente. *Revista Argentina de microbiología*, *45*(3), 191–204. https://doi.org/10.1016/s0325-7541(13)70024-5
3. Najar Marín, Edilberto. (2024). Manejo de residuos sólidos en zonas urbanas en América Latina. *Visión de futuro*, *28*(2), 78-97. Epub 03 de octubre de 2023.https://dx.doi.org/10.36995/j.visiondefuturo.2024.28.02.003.es
4. Osorio-Hernández, V. O., Morales Bautista, B. N., & Huerta-Paniagua, R. A. (2022). Diagnóstico del manejo de residuos sólidos urbanos: estúdio de caso del municipio de

Chicoloapan, estado de México. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *6*(4), 3715-3727. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i4.2880

5. Organización Mundial de la Salud. (1994). *Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. ISBN 92-4-354476-4.
6. Rodríguez Vega, J., Carrasco Solano, F., Vergara Espinoza, M., & Vásquez Del Castillo, A. (2024). Diagnóstico de helmintos intestinales con cuatro métodos de concentración. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 43*. Recuperado de https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3000

DETERMINACIÓN DE ASPECTOS RELACIONADOS CON LA DINÁMICA POBLACIONAL DEL *Ocypode Quadrata* (FABRICIUS 1787), EN LA LAGUNA DE LA MANCHA EN EL ESTADO DE VERACRUZ

Gabriela Selene Ortiz-Burgos [2], Rocío Zárate-Hernández [1], Angélica Martínez-Bernal [1], Laura Georgina Calva Benítez[1], Janet Elizabeth Osnaya Becerril [1], Roberto Tenorio Mendoza [1]

[1] Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. C.P.: 09340, San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, México. [2] Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Batalla 5 de Mayo s/n esquina Fuerte de Loreto, Colonia Ejército de Oriente, Iztapalapa C.P. 09230, Ciudad de México, México.

gsob@xanum.uam.mx

RESUMEN

Las playas arenosas expuestas son sistemas ampliamente influidos y estructurados por una gama de factores físicos. Debido a esto las especies que las habitas deben de presentar ciertas adaptaciones para asegurar su supervivencia como son: movilidad, construcción de galerías, ritmos circadianos, orientación y un cierto nivel de plasticidad en su comportamiento. Resultado de este amplio dinamismo presente en este tipo de ambiente, influye en alto grado la regulación de las poblaciones y comunidades de invertebrados presentes en este. Dentro de los organismos que habitan estas zonas encontramos al cangrejo fantasma *Ocypode quadrata* Fabricius 1787, siendo la única especie de este género que habita en el Atlántico. Esta especie distribuye desde Rhode Island en Estados Unidos hasta Río Grande del Sur en Brasil y que viven en galerías que construyen en la zona supralitoral desde la zona superior de resaca del oleaje hasta las dunas. No obstante, lo anterior poco se conoce sobre los aspectos poblacionales de la especie. Este estudio tiene como objetivo contribuir al conocimiento de algunos aspectos sobre la dinámica poblacional de la especie *O. quadrata* en la playa arenosa en la laguna de la Mancha, Veracruz., designado como sitio Ramsar por su importante biodiversidad. Los organismos se colectaron manualmente durante, a cada ejemplar se le determinó el sexo, se midió la longitud (LC) y el ancho del caparazón (AC) con ayuda de un calibrador, para luego devolverlos vivos al medio. Se colectaron un total de 345 individuos de los cuales 311 fueron machos y 34 hembras, mostrando una proporción de sexos de 9,1:1. En promedio las hembras presentaron un mayor tamaño con un promedio de AC igual a 26.69 mm, mientras que para los machos fue de 17.56, siendo significativas estas diferencias ($P<0.001$), en cuanto a la LC las hembras mostraron un promedio de 18.9 y el de los machos fue de 13.3, siendo significativas estas diferencias ($P< 0.001$). De acuerdo a lo anterior las hembras mostraron un mayor tamaño, lo que puede relacionarse con el dimorfismo sexual y que ha sido observado para otras especies cangrejos, en cuanto a la determinación de la proporción de los sexos en las especies es de interés biológico, pues permite detectar fluctuaciones en las poblaciones, migraciones reproductivas o alimenticias y el uso de diferentes hábitats por organismos de diferentes sexos.

INTRODUCCIÓN

México se encuentra posición geográfica privilegiada al estar rodeado por una amplia diversidad de sistemas acuáticos como son el Océano Pacífico, el Golfo de México y de California, así como del mar Caribe. Esta característica hace del país una zona de alta diversidad en las zonas costeras y especialmente las playas arenosas como las que encontramos en la laguna de la Mancha en Veracruz. En este tipo de sistemas que se encuentran bajo la influencia de factores físicos que determinan su estructura y función. Debido a esta complejidad ambiental los organismos que los habitan a su vez deben de presentar adaptaciones que les permitan la supervivencia a ambientes tan cambiantes. De estas las más conspicuas son las que se presentan en su movilidad, construcción de galerías, ritmos circadianos, orientación y un cierto nivel de plasticidad en su comportamiento (Ocaña et al., 2012).

Es así que dentro de las playas arenosas la zona supralitoral es un ambiente como mencionamos altamente cambiante pero que también se ve sobremanera afectado por las actividades humanas como son la urbanización y el desarrollo turístico, causas que se han visto directamente relacionadas con la extinción local de varias especies que habitaban estos ecosistemas (). Una de las especies que podemos encontrar en estas zonas es al cangrejo fantasma *Ocypode quadrata* Fabricius 1787 (Figura 1), que es la única especie de este género que habita en el Atlántico. El cangrejo fantasma se distribuye desde Rhode Island en Estados Unidos hasta Río Grande del Sur en Brasil, es una especie que vive en galerías que construyen en la zona supralitoral desde la zona superior de resaca del oleaje hasta las dunas ((Ocaña et al., 2012). El sistema lagunar La Mancha forma parte del área de distribución del cangrejo *O. quadrata*, el cual ha sido declarado sitio Ramsar, que se caracteriza por ser pequeño y somero; y como una laguna de conexión efímera con el mar, la cual se encuentra intermitentemente cerrada durante un periodo del año y se abre durante la época de lluvias, lo que permite el intercambio de organismos, nutrientes y agua (Díaz-Ruiz et al., 2018). Este estudio tiene como objetivo contribuir al conocimiento de algunos aspectos sobre la dinámica poblacional de la especie *O. quadrata* en la playa arenosa en la laguna de la Mancha, Veracruz., designado como sitio Ramsar.



Figura 1. Individuo de la especie *Ocypode quadrata*.

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo de investigación se realizó La laguna de la Mancha, Veracruz, México, que se encuentra situada en el Golfo de México hacia los 19° 34’ y 19° 42’ de latitud norte y a los 96° 23’ y 96° 27’ de longitud oeste, es una laguna con características intermitentes. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura media anual está entre 22° y 26°C y la precipitación oscila entre 1 200 y 1 500mm anuales. El aporte de agua marina a la laguna es a través de la boca en su parte noreste, mientras que el aporte principal de agua dulce es a través del arroyo Caño Grande, en el extremo sur (Figura 2). La región presenta tres periodos climáticos lluvias (de junio a septiembre), nortes (frentes polares de finales de septiembre a marzo) y secas (que se traslapa con nortes, de finales de febrero a mayo). El agua marina que se aporta a la laguna es a través de la boca en su parte noreste, mientras que el aporte principal de agua dulce es a través del arroyo Caño Grande, en el extremo sur. Estacionalmente, la boca estuarina se abre en época de lluvias y se cierra durante la época de nortes. Adicionalmente de la apertura natural de la barra arenosa, los pescadores locales remueven la arena para formar un canal angosto para abrirla, para evitar la muerte de ostiones y peces al disminuir la concentración de oxígeno en el interior (Ruiz & López-Portillo, 2014).

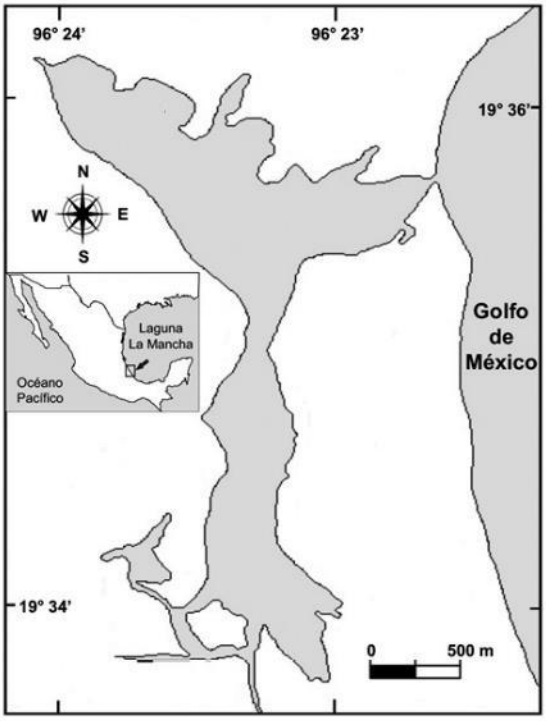


Figura 2. Ubicación geográfica y toponimia del área de estudio, en la laguna de la Mancha, Veracruz. (Modificado de Díaz-Ruiz *et al*., 2018).

Para el registro de la información se realizó un muestreo sin área en la línea de costa del Golfo de México, durante dos días consecutivos durante octubre de 2015 en un horario de las 20:00 a las 23:00 horas. Para evitar el menor daño y estrés a los organismos se colectaron manualmente, se marcaron y se registró el número de individuos, a cada ejemplar se le determinó el sexo, se midió la longitud del caparazón (LC) y el ancho del caparazón (AC) con ayuda de un calibrador, para luego devolverlos vivos al medio. Posteriormente se realizó un análisis estadístico descriptivo utilizando la longitud y el ancho del caparazón, para determinar el número de clases se utilizó la regla de Sturges. Además se aplicó un análisis bivariado para comparar el AC y LC entre sexos, que al no cumplirse con los supuestos de homocedasticidad y normalidad se aplicó la prueba no paramétrica de U-Mann-Whitney.

RESULTADOS

Se colectaron un total de 345 individuos de los cuales 311 fueron machos y 34 hembras, mostrando una proporción de sexos de 9:1. El promedio de AC y LC resultó ser mayor en las hembras (Tabla 1) comparado con el que presentaron los machos, el análisis de U-Mann-Whitney demostró que diferencia de ambos parámetros resulto ser significativa ($p<0.001$).

Tabla 1. Análisis descriptivo de la longitud y ancho del caparazón de *Ocypode quadrata*, entre machos y hembras y total, en la Laguna de la Mancha, Veracruz.

Ancho del Caparazón							
	Número	**Promedio (mm)**	**Desviación estándar**	**Error estándar**	**Mínimo**	**Máximo**	**Recorrido**
Machos	345	18.572	9.118	0.491	6	75	69
Hembras	311	17.685	8.497	0.482	6	75	69

Total	34	26.691	10.636	1.824	10	54	44
Largo del caparazón							
Machos	345	13.857	6.881	0.370	3	38	35
Hembras	311	13.305	6.470	0.367	3	38	35
Total	34	18.897	8.442	1.448	6	38	32

El número de clases calculado de acuerdo con la regla de Sturges se determinó en 9. La distribución de la longitud del caparazón y el ancho del caparazón, mostraron que el mayor número de individuos se encuentran en las dos primeras clases, resaltando que hay un alto número de individuos pequeños por ende un alto número de juveniles (Figura 3), nos obstante se encontraron muy pocos individuos de tallas grandes (Figura 3).

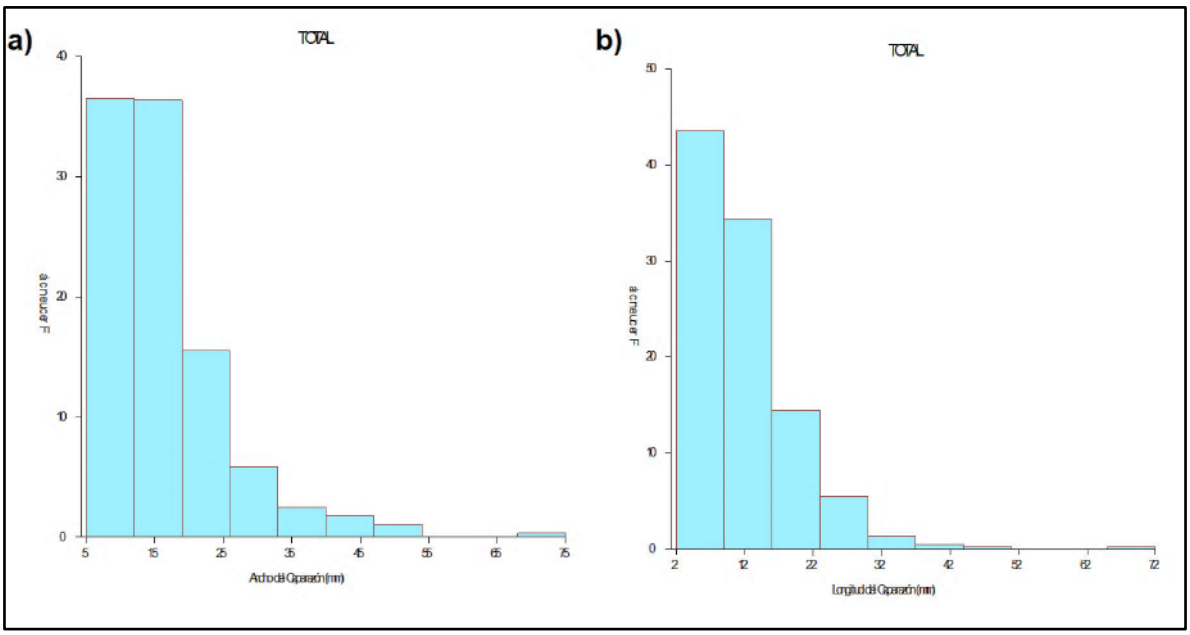


Figura 3 Distribución de frecuencias del Ancho y Largo del caparazón considerando el número total de individuos del Cangrejo *Ocypode quadrata*.

El análisis descriptivo por sexos separados mostro que para los machos tanto el AC y la LC mostraron una distribución muy similar a la total, efecto que se ve influido por su alto número. Donde se observa que el mayor número de individuos se agrupo en las primeras dos clases, aunque para la longitud del caparazón se nota claramente una sola moda, que se presenta en la clase uno (Figura 4 a y b).

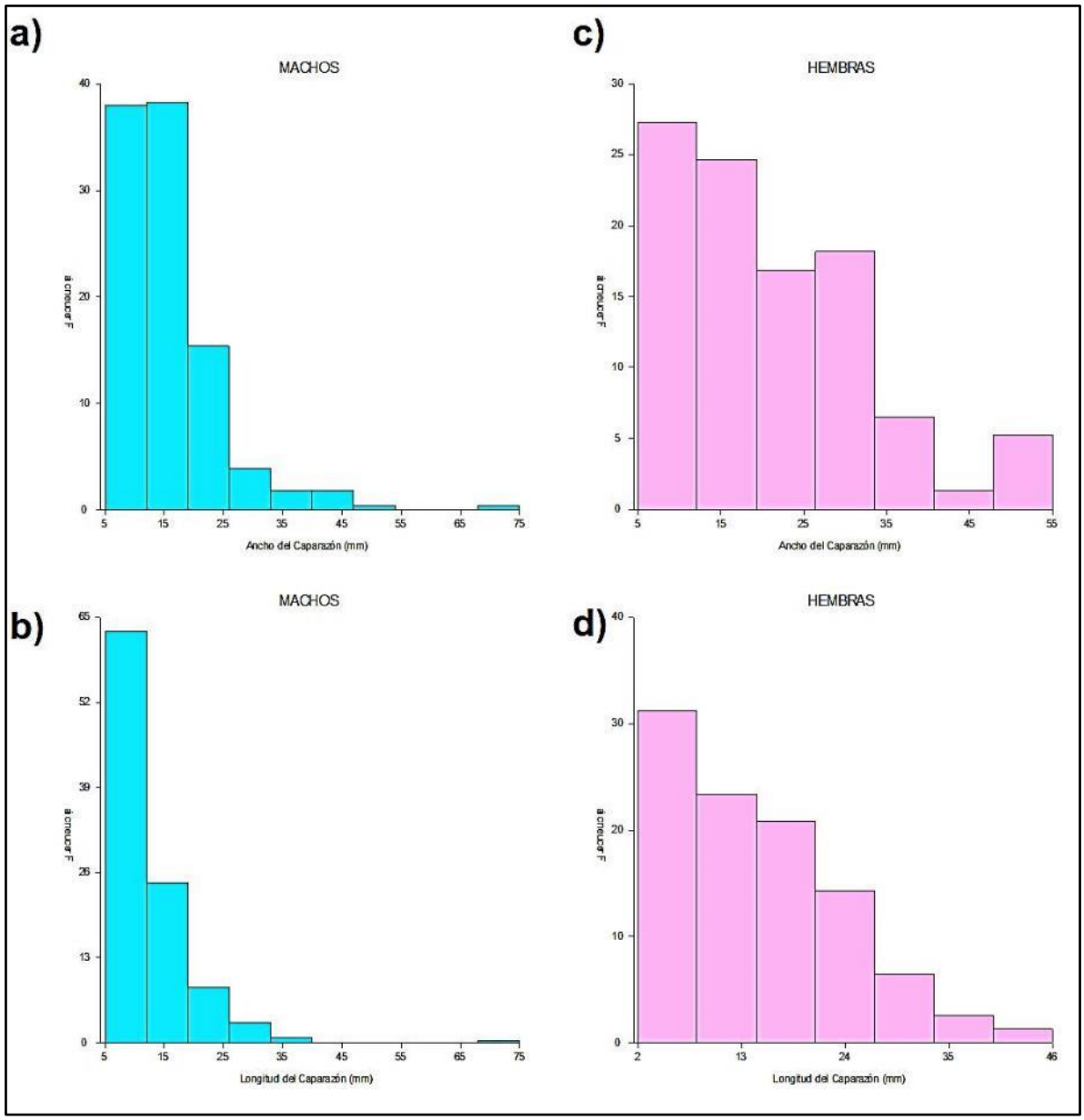


Figura 4. Distribución de frecuencias del Ancho y Largo del caparazón para machos (a y b) y de hembras (c y d) del Cangrejo *Ocypode quadrata***.**

En lo referente a la distribución del AC y LC en las hembras se nota una clara diferencia con respecto a la observada en los machos, ya que se presenta una distribución más homogénea del número de individuos entre las diferentes clases (Figura 4 c y d).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los análisis realizados se determinó que las hembras mostraron un mayor tamaño considerando los dos parámetros evaluados en este trabajo, aspecto que ha sido relacionado con el dimorfismo sexual y que ha sido observado para otras especies cangrejos y específicamente otros crustáceos. En lo, en cuanto a la determinación de la proporción de los sexos en las especies es de interés biológico, pues permite detectar fluctuaciones en las poblaciones, migraciones reproductivas o alimenticias y el uso de diferentes hábitats por organismos de diferentes sexos (Negreiros-Fransozo, 2002). Considerando lo anterior esta información podrá servir para reconocer las

variaciones en la población de *O, quadrata* en la laguna de La Mancha, Veracruz, y así aportar al conocimiento de su dinámica poblacional, debido a la poca información que existe sobre esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

1. S. Díaz-Ruiz, A. Aguirre-León, E. Mendoza-Sánchez, A.L. Lara-Domínguez. “Factores ambientales que influyen en la ictiofauna de la laguna La Mancha, sitio Ramsar, Golfo de México”. Rev. Biol. Trop. Vol. 66,1, 2018, pp: 246-265.
2. M.L. Negreiros-Fransozo, A. Fransozo, & G. Bertin. “Reproductive cycle and recruitment period of *Ocypode quadrata* (Decapoda, Ocypodidae) at a sandy beach in southeastern Brazil”. Journal of Crustacean Biology, 22, 1, 2002: pp157-161.
3. F.A. Ocaña,F.A. A. Vega & E.A. Córdova. Distribución espacial de *Ocypode quadrata* (Decapoda: Ocypodidae) en ocho playas de la zona norte oriental de Cuba. Rev. Biol. Trop. Vol. 60, 3, 2012: pp. 1177-1186.
4. M. Ruiz, & J. López-Portillo. “Variación espacio-temporal de la comunidad de macroinvertebrados epibiontes en las raíces del mangle rojo *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) en la laguna costera de La Mancha, Veracruz, México”. Revista de Biología Tropical, 62,4, 2014, pp: 1309-1330.

ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO GLUTÁMICO MEDIANTE UNA REACCIÓN COLORIMÉTRICA CON NINHIDRINA POR ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS

María del Carmen Aguilar de Paz[1], Diego Bryan Padilla García[1], Sandra Ivett Padilla López[1], Andrea Barrón Coellar[1], Alejandro Núñez Vilchis[1]

[1]Laboratorio de Instrumentación Analítica, Parque Biotecnológico UAQ, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N Querétaro Qro. C.P. 76010
maguilar67@alumnos.uaq.mx

RESUMEN

El ácido L-glutámico es un aminoácido de alta importancia en la industria de aditivos alimentarios por su uso como precursor del glutamato monosódico, un conservador ampliamente utilizado. Es en este sentido, que la determinación del aminoácido (AA) libre en distintas matrices adquiere relevancia, siendo HPLC lo más utilizado para su detección y cuantificación; en vista de los elevados costos de dicha técnica, se han desarrollado métodos analíticos basados en técnicas espectrofotométricas mediante derivatización del compuesto, ejemplo de esto es la reacción de los AAs con ninhidrina que produce un compuesto colorido que puede analizarse mediante espectrofotometría visible. Considerando que existen límites determinados para los residuos de ácido L-glutámico en la producción de alimentos (10 g/kg), la estimación de la incertidumbre en la medición del compuesto en matrices acuosas es indispensable para la emisión de resultados con una medida de dispersión robusta, sobre todo considerando que es una metodología indirecta. En este estudio, se estimó la incertidumbre en la medición de absorbancia del producto de reacción a 570 nm asociada a las principales fuentes de variación del método: curva de calibración, material volumétrico, micropipeta, factor de dilución y el espectrofotómetro. Para esto, se obtuvo un modelo de correlación lineal multivariable para estudiar el efecto de la temperatura y el tiempo de incubación sobre el mensurando, indispensable para la obtención del coeficiente de sensibilidad en la incertidumbre tipo A. Se obtuvo una incertidumbre expandida de ± 0.075 UA con un nivel de confianza del 95 % (k = 2), con un aporte para cada fuente de ± 0.0016 UA (equipo), ± 0.022 mL (material volumétrico), ± 0.0044 mL (factor de dilución), ± 2.4x10-6 mL (calibración de micropipeta), ± 4.8x10-4 mL (temperatura asociada a la micropipeta), 0.0001 s (tiempo), 0.0024 ºC (temperatura) y ±0.0541 (curva de calibración). El modelo reveló que la temperatura afecta significativamente la absorbancia (p=0.000005), mientras que el tiempo tiene un impacto menor (p=0.4898), lo que podría incrementar la variación de los resultados si no se cuenta con un equipo que permita un control adecuado de la temperatura durante el proceso de derivatización; el trabajo representa un preámbulo para la correcta estimación de incertidumbre y su importancia durante la validación de metodologías para la determinación de AAs libres en matrices alimentarias.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la determinación del ácido glutámico y otros aminoácidos libres se realiza principalmente por la técnica de HPLC. Aunque estos métodos son muy sensibles para medir los niveles picomolares de aminoácidos individuales, suelen requerir un proceso de derivatización, lo que implica el uso de columnas especializadas y solventes grado HPLC. Estas condiciones conllevan un mayor costo económico para la cuantificación de compuestos comunes como los aminoácidos. A menudo es necesario determinar los aminoácidos libres totales en cantidades muy pequeñas de tejidos biológicos sin separación cromatográfica de aminoácidos individuales. La reacción con ninhidrina permite la cuantificación de aminoácidos libres y tiene gran importancia clínica especialmente en el contexto de prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas y detectar proteínas residuales en instrumentos quirúrgicos, además el ácido L-glutámico es uno de los aminoácidos más ampliamente producidos a nivel comercial, con una producción anual global estimada en dos mil millones de kilogramos. La mayor parte de esta producción se destina a la

industria de aditivos alimentarios, donde se emplea para la síntesis de glutamato monosódico (MSG). Por lo tanto, la determinación rutinaria de aminoácidos libres requiere un método rápido y sensible.

Debido a esta problemática, se propuso un método basado en una reacción colorimétrica con ninhidrina mediante espectroscopía UV-Vis, este es un método simple en comparación con otros métodos donde se utiliza instrumentación compleja. La metodología previamente descrita ya se encuentra validada, sin embargo, es necesario estimar las fuentes de incertidumbre asociadas al método de cuantificación de ácido glutámico, con el fin de garantizar la calidad y la confiabilidad de las mediciones realizadas.

Este aminoácido al reaccionar con ninhidrina produce el púrpura de Ruhemann (dicetohidrindilideno-deicetohidrindamina o DYDA). Esta reacción inicia con la desaminación de los aminoácidos generando amoniaco el cual reduce la ninhidrina en hidrindantina, finalmente el amoniaco se condensa con la hidrindantina, lo que resulta en la formación de DYDA. El procedimiento presentó una linealidad apropiada y fue altamente sensible con un LOD y LOQ de 0.03 y 0.1 mmol L^{-1}, respectivamente. Además se evaluaron el tiempo y temperatura de incubación, para la valoración de la estabilidad del púrpura de Ruhemann obtenido con asparagina, donde se definieron condiciones óptimas solo para ese aminoácido (90°C y 45 minutos). Esto sugiere la necesidad de realizar mediciones adicionales del tiempo y temperatura de incubación para analizar el comportamiento de la reacción con el ácido glutámico, nuestro aminoácido de interés, ya que estas variables se asocian a una posible fuente de incertidumbre, la cual es el resultado de una medición que refleja la imposibilidad de conocer exactamente el valor del mensurando. Las fuentes de incertidumbre que se asocian al método validado para la cuantificación de ácido glutámico son las que se muestran en la Figura 1.

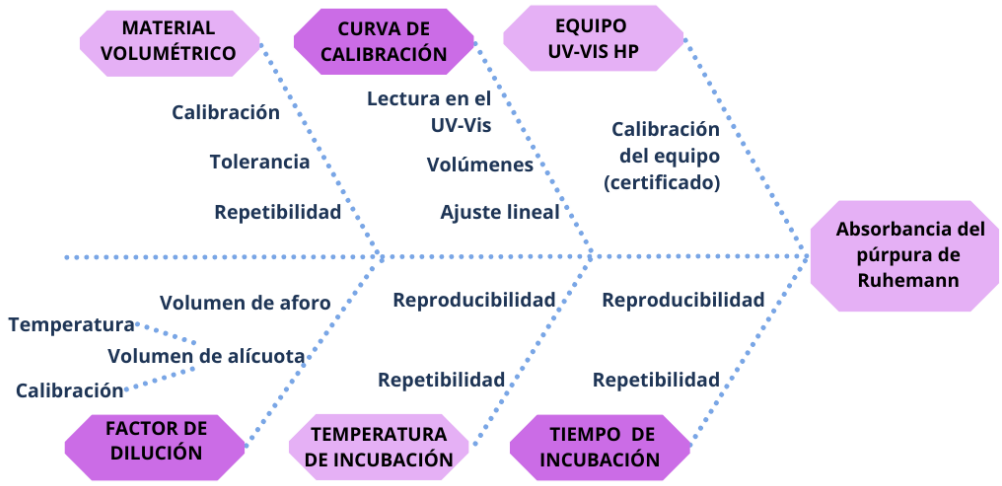


Figura 1. Diagrama de Ishikawa para la absorbancia del ácido glutámico por espectroscopía de UV-Vis

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y Métodos
Productos químicos y reactivos
La ninhidrina, el DMSO (dimetilsulfóxido), el 2-propanol, el ácido acético, el acetato de potasio, así como el ácido glutámico se adquirieron del almacén de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Preparación de los reactivos necesarios para la curva de calibración

Primero se prepararon 5 mL de una disolución madre de ácido glutámico a una concentración de 2.5 mmol/L, se prepararon cuatro disoluciones idénticas de la misma concentración y volumen. Posteriormente, se prepararon 100 mL de tampón ácido acético/acetato de potasio. Para ello, se disolvieron 19.62 g de acetato de potasio en 50 mL de agua; luego, se agregaron 22.2 mL de ácido acético y se aforó con agua destilada. A continuación, se preparó 22 mL de una disolución A, la cual consiste en la disolución de 550±10 mg de ninhidrina en 11 mL de DMSO. A esta mezcla se le añadieron 11 mL de tampón de ácido acético/acetato de potasio previamente preparado, se aseguró de haber mezclado bien. Esta disolución se debe utilizar antes de 12 horas desde su preparación. Finalmente, se preparó una mezcla de 100 ml de 2-propanol y agua en una proporción 1:1 (v/v).

Cuantificación por espectroscopia UV/Vis
La curva de calibración se preparó en cuatro réplicas para cada una de las disoluciones madre preparadas en el punto 1. Para llevar a cabo el método, se prepararon disoluciones a concentraciones de 0, 0.1, 0.2, 0.5 y 1.0 mmol/L en matraces volumétricos de 5 mL, a partir de la disolución madre de 2.5 mmol/L. Posteriormente se transfirió 200 µL de cada disolución a tubos eppendorf de 1.5 mL, añadiendo a cada tubo 800 µL de la disolución A y se mezclaron bien. Se incubaron las muestras en un termobloque a 90°C durante 45 minutos. Posteriormente, se retiraron los tubos y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Luego, se transfirieron 500 µL de cada muestra a una celda y se añadieron 2500 µL de nuestra mezcla de 2-propanol y agua en una proporción de 1/1 (v/v). Se mezcló bien y se midió la absorbancia a 570 nm en el espectrofotómetro de UV/Vis HP que se encuentra en el laboratorio.

Incertidumbre asociada a la curva de calibración obtenida por espectroscopia UV-Vis
Se realizó una medición por quintuplicado de las disoluciones estándar (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 y 2.5 mmol/L). Se estimó la incertidumbre de la concentración del analito "**γ" en** base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración.

$$u_\gamma = \frac{S}{b_1}\sqrt{\frac{1}{p}+\frac{1}{n}+\frac{(\gamma_{AA}-\gamma_{media})^2}{S_{XX}}} \quad (1)$$

Donde:
u_γ: incertidumbre del mensurando obtenida por el instrumento calibrado
S: desviación estándar residual del cálculo de la regresión lineal
b_1: pendiente calculada
p: número de réplica de la muestra en estudio
γ_{AA}: la concentración en estudio
γ_{media} : promedio de las concentraciones calculadas
S_{XX}: suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas

Incertidumbre asociada al material volumétrico, calibración, tolerancia y temperatura.
Para los matraces volumétricos, se tomó en cuenta la incertidumbre de la tolerancia reportada por el fabricante, asumiendo una distribución rectangular, realizando la conversión a incertidumbre estándar:

$$u_{tolerancia} = \frac{Tolerancia}{\sqrt{3}} \quad (2)$$

Para determinar la calibración de los matraces volumétricos que se utilizaron, se pesaron los matraces vacíos (Mb) y después se llenaron con agua hasta la marca de aforo para volver a pesarlos (Mc); la diferencia de masas entre ambas mediciones corresponde a la masa del agua contenida en el recipiente (Ma). Se consideraron las correcciones por flotación y la diferencia de temperatura respecto a la temperatura de referencia (20 °C) y la temperatura del recipiente durante las mediciones (T_A). Se calculó el mensurando V_{20} mediante la siguiente ecuación, constituyendo así el modelo matemático:

$$V_{20} = Ma \cdot \left(\frac{1}{\rho_A - \rho_a}\right) \cdot \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_B}\right) \cdot \left(1 - \alpha \cdot (T_A - 20)\right)$$

(3)

Donde:
V_{20} : Es el volumen de agua contenido en el matraz a la temperatura de 20 °C
Mc-Mb: Es la masa del recipiente con agua (Mc) menos la masa del recipiente vacío (Mb); es decir, la masa de agua contenida en el recipiente (Ma).
ρ_A: Es la densidad del agua que se usa en la calibración.
ρ_a: Es la densidad del aire a las condiciones ambientales del laboratorio.
ρ_B: Es la densidad de las pesas de la balanza (8000 kg/m^3), valor convencional según la recomendación internacional No. 33 de la OIML
α: Coeficiente de expansión cúbica del vidrio de borosilicato (1.0×10^{-5} K^{-1}).
T_A: Es la temperatura del agua medida durante la calibración.

Según el fabricante, el matraz se ha calibrado a una temperatura de 20 °C, mientras que la temperatura del laboratorio varía entre los límites de ±4 °C. La incertidumbre derivada de este efecto se calculó a partir de la estimación del intervalo de temperatura y del coeficiente de dilatación volumétrica. La dilatación volumétrica del líquido es mayor que la del matraz, por lo que sólo hay que considerar la primera. El coeficiente de dilatación volumétrica del agua es de 2.1×10^{-4} °C^{-1}.
La incertidumbre estándar se calculó utilizando la hipótesis de una distribución rectangular para la variación de temperatura, es decir:

$$u_{\Delta T} = \frac{V_m \cdot \Delta T \cdot \alpha}{\sqrt{3}};\ \alpha = 2.1 \times 10^{-4}\ °C^{-1}$$

(4)

Finalmente, tomando en consideración estas 3 contribuciones se obtuvo el valor de la incertidumbre combinada:

$$u_{VF} = \sqrt{u_{tol}^2 + u_{rep}^2 + u_{\Delta T}^2}$$

(5)

Incertidumbre asociada al factor de dilución.
Para esta metodología se utilizó únicamente una micropipeta de 100-1000 µL. El modelo matemático de una dilución está dado por:

$$fd_n = \frac{V_F}{V_i}$$

(6)

Donde:
fd_n= factor de dilución
V_F =volumen final (aforo)
V_i =volumen inicial (alícuota)
La incertidumbre asociada al V_i está sujeto a 2 principales fuentes de incertidumbre que se mencionan a continuación.
Calibración: Esta fuente de incertidumbre se calculó suponiendo una distribución triangular y tomando la incertidumbre declarada por el fabricante para la micropipeta de 100-1000 µL.

$$u_{cal} = \frac{\alpha}{\sqrt{6}}$$

(7)

Temperatura: Esta segunda fuente de incertidumbre se ajusta a una distribución rectangular, tomando en cuenta la variación de la temperatura del laboratorio, que se encuentra en un intervalo de ±4 °C.

$$u_T = \frac{V_m \cdot 2.1 \times 10^{-4} {}^{\circ}C^{-1}}{\sqrt{3}} \tag{8}$$

Combinando estas contribuciones se obtiene que:

$$u(V_i) = \sqrt{u_{cal}^2 + u_T^2} \tag{9}$$

Finalmente se realizó la estimación de incertidumbre relativa del factor de dilución combinando las incertidumbres de ambas mediciones, volumen de la alícuota de la muestra y volumen de aforo, de forma relativa y cuadrática, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\frac{u_{fdn}}{fd_n} = \sqrt{\left(\frac{u_{Vi}}{V_i}\right)^2 + \left(\frac{u_{VF}}{V_F}\right)^2} \tag{10}$$

Determinación del modelo matemático para la estimación de la incertidumbre asociada a la temperatura y tiempo de incubación en la absorbancia.
Las temperaturas de incubación que se trabajaron fueron 85, 90, 95, 100 y 105 °C, durante 5, 10, 15, 25, 35 y 45 minutos cada temperatura. Para cada combinación de temperatura y tiempo se realizaron 4 réplicas independientes.
Primero se prepararon 5 mL de una disolución de ácido glutámico a una concentración de 1.5 mmol/L, para cada una de las combinaciones de temperatura y tiempo. Después se transfirieron 200 µL de cada disolución a tubos eppendorf de 1.5 mL, se añadieron a cada tubo 800 µL de la disolución A, preparada con anterioridad, y se mezclaron bien. Se incubaron las muestras en un termobloque a la temperatura y tiempo correspondiente; después de la incubación, se retiraron los tubos y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Luego,se transfirieron 500 µL de cada muestra a una celda y se añadieron 2500 µL de la mezcla de 2-propanol y agua en una proporción de 1/1 (v/v). Se mezclaron bien y se midió la absorbancia a 570 nm (Stauß et al., 2024). Se registraron los valores de absorbancia en una tabla organizada de acuerdo con la combinación de temperatura y tiempo.

Estimación de la Incertidumbre estándar asociada al Equipo (Espectrofotómetro de ultravioleta visible marca HP)
Se siguió la metodología descrita por Núñez-Vilchis, para obtener la incertidumbre del espectrofotómetro UV-Vis marca HP. En primer lugar se realizó la conversión del % de transmitancia a unidades de absorbancia con el objetivo de comparar el valor nominal de absorbancia con los valores reportados en la literatura. Posteriormente se calculó el coeficiente de sensibilidad, el cual es igual a la primera derivada de la absorbancia con respecto al porcentaje de transmitancia:

$$Coeficiente\ de\ Sensibilidad = \frac{\partial A}{\partial \%T} = \frac{1}{\%T * ln10} \tag{11}$$

Con el coeficiente de sensibilidad calculado, se multiplicó por nuestro valor obtenido de Transmitancia y se obtuvo así la incertidumbre del equipo a 570 nm.

Estimación de la incertidumbre estándar combinada y la expandida.
Para determinar la incertidumbre estándar combinada, se tomó en cuenta la incertidumbre de los parámetros independientes $x_1, x_2, \ldots x_n$ y su relación con la incertidumbre estándar combinada $u_{abs}(y)$ para un valor de y, la cual depende de la siguiente ecuación:

$$u_{abs}(y(x_1, x_2, \dots x_n)) = \sqrt{\sum_{i=1,n} u(y, x_i)^2} \tag{12}$$

Donde:

$y(x_1, x_2, \dots x_n) =$ función de varios parámetros

Para estimar la incertidumbre expandida (U), se multiplicó la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura $k = 2$, con un nivel de confianza del 95%.

$$U = u_{abs}(y) \cdot k \tag{13}$$

Finalmente el resultado de la concentración de ácido glutámico en las disoluciones, se expresó como:

$$Y = Abs_{GLU} \pm U \tag{14}$$

RESULTADOS

Incertidumbre asociada a la curva de calibración

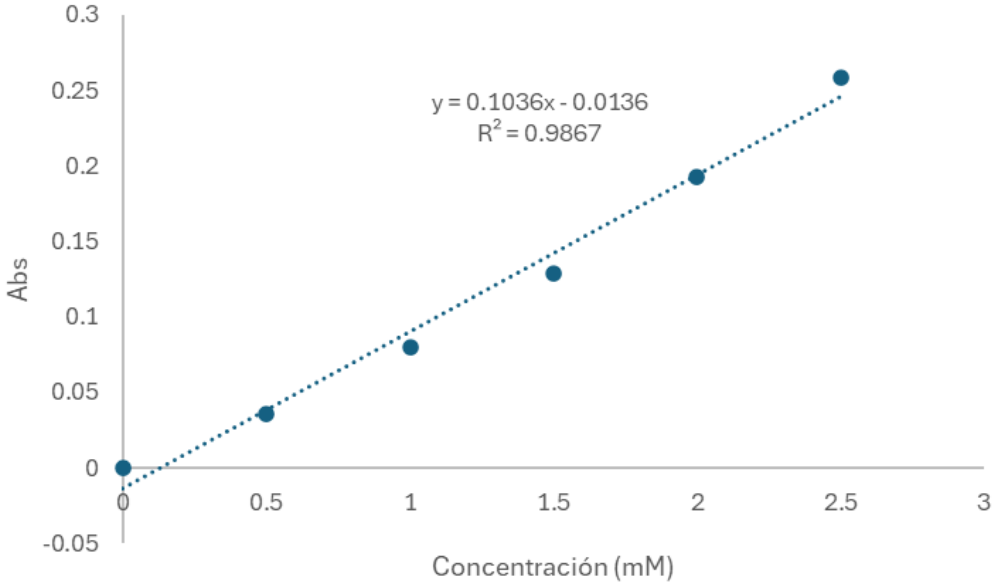


Figura 2. Curva de calibración del ácido glutámico

u_γ: incertidumbre del mensurando obtenida por el instrumento calibrado
S: 0.0090
b_1: 0.1117
p: 4 réplicas
γ_{AA}: muestra 1.5 mM
γ_{media} : 1.5
S_{XX}: 2.5
n: 5 (número de puntos de la curva)

$$u_\gamma = \frac{0.0090}{0.1117}\sqrt{\frac{1}{4}+\frac{1}{5}+\frac{(1.5\,mM\ -1.5\,mM)^2}{2.5}}$$

$$u_\gamma = \pm 0.05416\,mM$$

Incertidumbre asociada al material volumétrico

Tabla 1. Valores intermedios e incertidumbres del material volumétrico

Descripción	Valor (x)	Incertidumbre (U_{xi})
Repetibilidad	4.98 mL	$\pm$ 0.018 mL
Tolerancia	0.02 mL	$\pm$ 0.011 mL
Temperatura	20 °C	$\pm$ 0.0024 mL

Tabla 2. **Incertidumbre combinada asociada al material volumétrico**

	Valor (x)	Incertidumbre combinada (u_c)
Material volumétrico	5 mL	$\pm$ 0.022 mL

Incertidumbre asociada al factor de dilución

Tabla 3. **Valores intermedios e incertidumbres asociadas a la micropipeta**

Descripción	Valor (x)	Incertidumbre (u_{xi})
Calibración	$6x10^{-6}$ mL	$\pm$ $2.4x10^{-6}$ mL
Temperatura	20 °C	$\pm$ $4.8x10^{-4}$ mL

Tabla 4. **Incertidumbre combinada asociada al factor de dilución**

	Valor (x)	Incertidumbre combinada (u_{xi})
Factor de dilución	1000 µL	$\pm$ 0.0044 mL

Determinación del modelo matemático

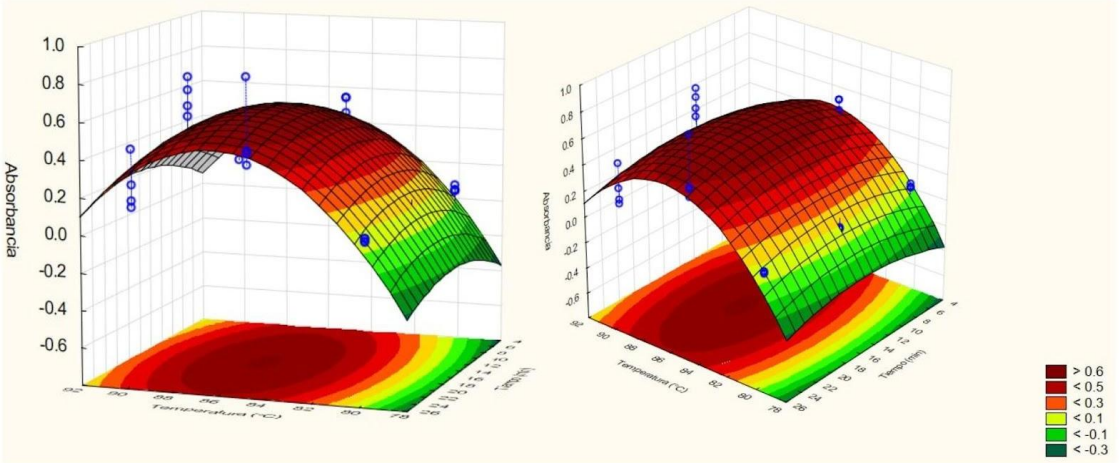


Figura 3. Gráfico de superficie de respuesta que representa la transformación del ácido glutámico en púrpura de Ruhemann en función del tiempo y temperatura.

Effect Estimates; Var.:Absorbancia; R-sqr=.70524; Adj:.66721 (Spreadsheet1)
2 3-level factors, 1 Blocks, 36 Runs; MS Residual=.0186883
DV: Absorbancia

Factor	Effect	Std.Err.	t(31)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	**+95.% Cnf.Limt**
Mean/Interc.	0.312378	0.022784	13.71030	0.000000	0.265909	0.358846	0.312378	0.022784	0.265909	0.358846
(1)Temperatura (°C)(L)	0.307925	0.055810	5.51742	0.000005	0.194101	0.421749	0.153963	0.027905	0.097050	0.210875
Temperatura (°C)(Q)	0.297246	0.048333	6.15002	0.000001	0.198671	0.395821	0.148623	0.024166	0.099335	0.197910
(2)Tiempo (min)(L)	0.039000	0.055810	0.69880	0.489884	-0.074824	0.152824	0.019500	0.027905	-0.037412	0.076412
Tiempo (min)(Q)	0.112508	0.048333	2.32780	0.026623	0.013933	0.211083	0.056254	0.024166	0.006967	0.105542

Figura 4. Obtención de valores para modelo matemático y valores de significancia.

Modelo matemático obtenido:

$$abs = 0.3079T + 0.2972T^2 + 0.039t + 0.1125t^2 + 0.3123$$

Cálculo para los coeficientes de sensibilidad:

Temperatura (T)

$$\frac{\partial abs}{\partial T} = 0.3079 + 2(0.2972T) \quad + 0.039t + 0.1125t^2 + 0.3123$$

$$\frac{\partial abs}{\partial T} = 0.3079T + 0.2972T^2 + 0.039t + 0.1125t^2 + 0.3123$$

$$\frac{\partial abs}{\partial T} = 0.3079T + 0.05944T$$

Tiempo (t)

$$\frac{\partial abs}{\partial T} = 0.3079T + 0.2972T^2 + 0.039t + 0.1125t^2 + 0.3123$$

$$\frac{\partial abs}{\partial T} = 0.3079T + 0.2972T^2 + 0.039 + 2(0.1125t) + 0.3123$$

$$\frac{\partial abs}{\partial T} = 0.039 + 0.225t$$

Tabla 5. Estimación de la incertidumbre combinada

Temperatura	Tiempo
$u_T = \pm 0.0024$ °C	$u_t = \pm 0.0001$ s
Incertidumbre combinada	
$U_c = 0.03$	

Tabla 6. Incertidumbre de la absorbancia asociada a la temperatura.

Temperatura (ºC)	Coeficiente de sensibilidad	Incertidumbre
80	5.0631	$\pm$ 0.012
85	5.3603	$\pm$ 0.013
90	5.6575	$\pm$ 0.014
95	5.9547	$\pm$ 0.014
100	6.2529	$\pm$ 0.015

Tabla 7. Incertidumbre de la absorbancia asociada al tiempo.

Tiempo (min)	Coeficiente de sensibilidad	Incertidumbre
5	1.164	$\pm$ 0.00011
15	3.414	$\pm$ 0.00034
25	5.664	$\pm$ 0.00057
35	7.914	$\pm$ 0.00080
45	10.164	$\pm$ 0.0010

Estimación de la incertidumbre asociada al equipo

Tabla 8. Estimación de la incertidumbre asociada al equipo HP UV-Vis

%Transmitancia		Absorbancia	
Valor de referencia	Incertidumbre (K=2)	Valor de referencia	Incertidumbre
42.266	$\pm$ 0.179	0.374	$\pm$ 0.0016

Estimación de la incertidumbre estándar combinada y expandida

Tabla 9. Estimación de la incertidumbre estándar combinada y la expandida

Incertidumbre estándar combinada	$\pm$ 0.0657
Incertidumbre expandida K=2	$\pm$ 0.1314

El resultado de las absorbancias del ácido glutámico en las disoluciones se expresa como:

$$Y = Abs_{Glu} \pm 0.1314$$

DISCUSIÓN

En la Figura 2, se obtuvo la ecuación y= 0.1117x - 0.0285, con un coeficiente de determinación de 0.9867, mostrando una relación lineal consistente entre la concentración y la absorbancia de cada uno de los puntos de la curva. Esto indica estadísticamente que es un buen modelo para el análisis cuantitativo. Además, la incertidumbre estimada asociada a la curva de calibración fue de ± 0.5416. Sin embargo, al llevar a cabo el método para obtener la absorbancia de las muestras a diferentes tiempos y temperaturas, surgieron limitaciones que impidieron la cuantificación de las muestras, ya que no se presentó la coloración púrpura característica esperada, lo cual señala posibles discrepancias en las condiciones de reacción o en la interacción del ácido glutámico con los reactivos, por lo tanto, las absorbancias medidas en las muestras no se ubican dentro del rango cuantificable definido por la curva de calibración, haciendo que no fuera posible realizar su análisis con el modelo lineal obtenido.

Como se indica en la Tabla 1, se obtuvieron los valores correspondientes a la incertidumbre estándar de cada variable, tolerancia, repetibilidad y variación de la temperatura. En cuanto a la repetibilidad, el valor fue relativamente bajo, lo cual indica una buena precisión en el uso del material volumétrico además, el efecto de la temperatura sobre el volumen es mínimo. En la Tabla 2, se muestra el valor de la incertidumbre combinada, el cual fue calculado utilizando la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las incertidumbres individuales (Tabla 1) y representa el grado de incertidumbre asociado al uso del material volumétrico, dado que el valor combinado es pequeño en comparación con el volumen total (5 mL), los resultados muestran que el material volumétrico utilizado fue confiable para las mediciones realizadas en el laboratorio.

Como se mencionó anteriormente, para esta metodología solo se utilizó una micropipeta de 100-1000 µL. Y la incertidumbre asociada al volumen de la alícuota (V_i), está sujeto a 2 principales fuentes de incertidumbre, la calibración y la temperatura. La estimación de la incertidumbre estándar para cada una de estas fuentes, se muestra en la Tabla 3, en donde se puede observar que ambas contribuciones son relativamente pequeñas.

En el gráfico de superficie (Figura 3), se observa que el tiempo no generó un cambio significativo en la absorbancia, mientras que la temperatura tuvo un efecto importante. A medida que la temperatura aumenta, la absorbancia presenta una tendencia ascendente hasta alcanzar un máximo, lo que podría estar asociado a una mayor formación del púrpura de Ruhemann. Sin embargo, después de este punto, la absorbancia disminuye, lo que puede indicar degradación del producto o cambios en la eficiencia de la reacción. El modelo demuestra que la temperatura es el factor más significativo en la variación de la absorbancia, como lo confirman los valores de p muy bajos tanto para los términos lineales como cuadráticos. Por otra parte, el tiempo muestra una influencia menos marcada en la absorbancia. El término lineal asociado al tiempo tiene un p-valor de 0.4898 (Figura 4), lo que indica que no es estadísticamente significativo. Sin embargo, el término cuadrático del tiempo presenta un p-valor de 0.0266 (Figura 4), por lo que sugiere que el tiempo ejerce un efecto secundario, pero significativo en la variación de la absorbancia. Estos resultados en conjunto demuestran que la temperatura es el parámetro crítico que determina el comportamiento de la reacción, mientras que el tiempo solo tiene un impacto moderado y no lineal.

Con base en el modelo matemático ajustado a la gráfica (Figura 3), la cual nos combina las variables independientes, tiempo y temperatura con la absorbancia. Se calcularon los coeficientes de sensibilidad correspondientes a la temperatura y tiempo; el cual es igual a la primera derivada de la absorbancia con respecto a la temperatura manteniendo el tiempo constante. Y el mismo caso fue para el tiempo, pero ahora manteniendo la temperatura constante. El coeficiente de sensibilidad representa la magnitud con que se relaciona el comportamiento del mensurando con cada variable. Como se puede observar en las tablas 3 y 4 para la temperatura y tiempo respectivamente, los coeficientes de sensibilidad de la temperatura, fueron mayores en comparación con los del tiempo lo cual nos indica que hay una mayor relación de la temperatura con los valores de absorbancia obtenidos que con el tiempo. Y esta relación se puede observar en el gráfico de superficie (Figura 3) y se sustenta con los p-valor calculados para cada variable tanto lineal como cuadrática (Figura 4).

Se determinó el valor de la incertidumbre estándar combinada (Tabla 9) de acuerdo a los pasos reportados en la literatura]. Y finalmente se obtuvo la incertidumbre informada de 0.1314 (Tabla 9), corresponde a la incertidumbre expandida, usando un factor de cobertura igual a 2, lo que nos da un nivel de confianza de aproximadamente un 95%. Este valor nos indica el intervalo alrededor de una medición, que en este caso corresponde a la absorbancia del ácido glutámico, del que se puede esperar que abarque una fracción grande de la distribución de valores que pudiera atribuirse razonablemente al mensurando.

Finalmente, el resultado de las absorbancias del ácido glutámico se expresa como:

$$Y = Abs_{Glu} \pm 0.1314$$

CONCLUSIONES

La reacción colorimétrica con ninhidrina no generó la coloración esperada en varias muestras, dejando algunas absorbancias fuera del rango de la curva de calibración e impidiendo su cuantificación.

La temperatura de incubación tuvo un impacto significativo, mientras que el tiempo fue menos relevante.

El valor de la incertidumbre combinada asociada a la absorbancia del ácido glutámico fue de ±0.0657, y la incertidumbre expandida fue de ±0.1314.

Los resultados inesperados podrían deberse a que el método empleado estaba optimizado para asparagina, mientras que las muestras utilizadas en este experimento se enfocaron en ácido glutámico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agius, C., Von Tucher, S., Poppenberger, B., & Rozhon, W. (2018). Quantification of glutamate and aspartateby Ultra-High Performance Liquid Chromatography. Molecules, 23(6), 1389. https://doi.org/10.3390/molecules23061389
2. Anantharaman, S., Padmarajaiah, N., Al-Tayar, N. G. S., & Shrestha, A. K. (2017). Ninhydrin-sodium molybdate chromogenic analytical probe for the assay of amino acids and proteins. Spectrochimica Acta Part a Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 173, 897–903. https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.10.040
3. Brunelle, E., Huynh, C., Le, A. M., Halámková, L., Agudelo, J., & Halámek, J. (2016). New Horizons for Ninhydrin: Colorimetric Determination of Gender from Fingerprints. Analytical Chemistry, 88(4), 2413-2420. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04473
4. Guía CG 4 EURACHEM / CITAC. (2012). Cuantificación de la incertidumbre en medidas analíticas. https://www.citac.cc/QUAM2012_P1_ES.pdf

5. Nayuni, N., Cloutman-Green, E., Hollis, M., Hartley, J., Martin, S., & Perrett, D. (2013). Critical evaluation of ninhydrin for monitoring surgical instrument decontamination. Journal of Hospital Infection, 84(2), 97–102. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.11.029
6. Núñez Vilchis, A. (2014). Metrología y calibración de espectrofotómetros UV-Visible y espectrómetros FT-IR [Memoria de trabajo para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo]. Universidad Autónoma de Querétaro.
7. Ruggiero, M. T., Sibik, J., Zeitler, J. A., & Korter, T. M. (2016). Examination of L-Glutamic acid polymorphs by Solid-State Density Functional Theory and Terahertz Spectroscopy. The Journal of Physical Chemistry A, 120(38), 7490–7495. https://doi.org/10.1021/acs.jpca.6b05702
8. Stauß, A. C., Fuchs, C., Jansen, P., Repert, S., Alcock, K., Ludewig, S., & Rozhon, W. (2024). The Ninhydrin reaction revisited: Optimisation and application for quantification of free amino acids. Molecules, 29(14), 3262. https://doi.org/10.3390/molecules29143262
9. Trujillo Juárez S. y Arias Romero R., Incertidumbre en la calibración de un matraz volumétrico. Centro Nacional de Metrología, México, diciembre 2002. Disponible en http://www.cenam.mx

DETERMINACIÓN DE FENÓLES Y FLAVONOIDES TOTALES, Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTO ETANOLICO DEL FRUTO DE AGRILLO (*Rhus Schmidelioides* Schltdl)

Rosario Guzmán García*, Evelia Martínez Cano, Gabriel Alejandro Reveles Hernández, Jesús Nicodemo González Gallegos y Egla Yareth Bivián Castro

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara.
rosario.guzman9963@alumnos.udg.mx

RESUMEN

La especie *Rhus schmidelioides* S. (RSS), también conocida como agrillo, es una clase de arbusto endémico de los municipios de Arandas y Jesús María en Jalisco. Los pobladores de estas regiones consumen el fruto como agua fresca, dulces, atole, salsas, licor, entre otros[1]. La especie RSS pertenece a la familia Anacardiaceae y al género Rhus. El agrillo es consumido por los pobladores no solo por su sabor sino por las propiedades que se le atribuyen en la medicina tradicional mexicana, entre las que destacan la antifúngica y antioxidante. Cabe señalar que, se han encontrado fitoconstituyentes con actividad biológica en algunas especies de este género, por ejemplo, *R. coriaria, R. chinensis* y *R. typhina*. A estas especies se les han atribuido diversas propiedades como antiinflamatorias, antiespasmódicas, antienvejecimiento, antioxidantes, entre otras. Sin embargo, no existe evidencia que avale la actividad antioxidante que se le atribuye a RSS[2]. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante (DPPH) y la correlación entre estos. El extracto se obtuvo por maceración a partir de muestra fresca y etanol en proporción (1:7), se dejó reposar por 48 horas y se filtró. A partir del extracto obtenido se cuantifico el contenido de fenoles y flavonoides totales utilizando acido gálico y quercetina como estándares. Para determinar la actividad antioxidante (DPPH) en diferentes concentraciones del extracto se utilizó Trolox como estándar, y se calculó el porcentaje de inhibición y el IC_{50} (concentración inhibitoria media)[3,4,5]. También se correlacionó el contenido de fenoles y flavonoides totales, con la actividad antioxidante (DPPH). El resultado obtenido para fenoles totales fue 20.92 ± 1.89 mg EAG/g de m.f. y para flavonoides totales fue 112.6 ± 6.69 mg EQ/g de m.f. El rango promedio de la actividad antioxidante osciló 44.1093 a 10.0081 mM ET /g m.f. y el valor para IC_{50} fue de 732.78 mM/mL. Al correlacionar el contenido de fenoles y flavonoides con la actividad antioxidante a diferentes concentraciones del extracto, el valor más alto para fenoles fue de 37.420 ± 495.77 mM ET/g m.f. (R^2=0.1), mientras que para flavonoides fue de 45.6956 ± 44.6610 mM ET/g m.f. (R^2=0.2). Sin embargo, a pesar de que la concentración de flavonoides totales fue más alta que para fenoles totales, al correlacionarlos con la actividad antioxidante se pudo observar que en ambos casos la correlación fue positiva baja. En conclusión, se pudo observar que el agrillo tiene un alto poder antioxidante debido al contenido de fenoles y flavonoides totales, aun a pesar de haber obtenido valores de R^2 bajos al correlacionarlos. En este sentido, con este estudio se corroboran las propiedades antioxidantes que se le atribuyen al agrillo en la medicina tradicional de México. Por lo tanto, es posible proponer el consumo de RSS como una fuente natural de antioxidantes contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Palabras clave: actividad antioxidante, flavonoides, fenoles

INTRODUCCIÓN

La utilización de especies vegetales para tratar enfermedades ha sido practicada por gran parte de la población mundial. En México, se ha llevado a cabo desde la época prehispánica dando origen a la medicina tradicional[3]. Actualmente, se sabe que las propiedades terapéuticas de las plantas se deben a la presencia de compuestos bioactivos especialmente los compuestos fenólicos. Actualmente, el interés por identificar las propiedades terapéuticas que se le atribuyen a algunas especies vegetales ha aumentado debido a que son fuentes naturales que contrarrestan los efectos de diversas enfermedades. Una especie es la *Rhus schmidelioides* S., perteneciente a la familia Anacardiaceae comúnmente conocida como agrillo, es una especie perteneciente a una de las 250

especies del género *Rhus*[2]. Esta planta se localiza en los municipios de Arandas y Jesús María en Jalisco, lugar en donde los pobladores la consumen el fruto tanto por su agradable sabor como por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes. Con el fruto de RSS elaboran alimentos como dulces, licor, agua fresca, aderezos, salsas y atole, entre otros[1]. A pesar de ser una especie endémica de la región la información que avale sus propiedades dentro de la medicina tradicional es escasa. No obstante, la familia Anacardiaceae es extensa y se han realizado estudios en otras especies de este género como en las especies *R. coriaria, R. chinensis* y *R. typhina* en las cuales se ha comprobado sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antidiabéticas y antioxidantes, esto debido a la identificación de más de 200 componentes químicos como fenoles, flavonoides, taninos, isoflavonoides, antocianinas y otros componentes fitoquímicos responsables de las propiedades ya mencionadas[2,8-10]. Sin embargo, no se cuenta con información que avale dichas propiedades. Por lo que el objetivo de esta investigación fue identificar el contenido total de fenoles y flavonoides y actividad antioxidante, así como la correlación de estos en extracto etanólico de fruto de *Rhus schmidelioides* S.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección de material vegetal y obtención de extractos

EL fruto recolectó del municipio de Jesús María en el estado de Jalisco, en la geolocalización 20°38'20.9"N 102°13'21.1" W. Los frutos fueron lavados y secados. Posteriormente, para la obtención del extracto se molieron 20 g de fruto y se mezclaron con 140 mL de etanol por 48 horas[4].

Determinación de fenoles totales

La concentración de fenoles totales se determinó por el método Folin-Ciocalteu, con algunas modificaciones (Singleton y Rossi, 1965). Para calcular el contenido fenólico total, se utilizó una solución estándar de ácido gálico (0.1 mg/mL), a partir de la cual se construyó una curva de calibración en un rango de 0 a 0.1 mg/mL. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 765 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent, Cary 60) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de muestra fresca (m.f.). Se realizaron tres experimentos por triplicado[5].

Determinación de flavonoides

La concentración de flavonoides totales se determinó por el ensayo de $AlCl_3$, y NaOH con algunas modificaciones (Morales y Paredes, 2014). Para calcular el contenido de flavonoides totales se utilizó una solución estándar de quercetina (1mg/mL), a partir de la cual se construyó una curva de calibración con un rango de 0 a 1 mg/mL. La absorbancia se midió a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent, Cary 60). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina (EQ) por g de muestra fresca (m.f.) Se realizaron tres experimentos por triplicado [6].

Evaluación de actividad antioxidante (DPPH)

La capacidad antioxidante fue evaluada mediante el método del radical DPPH con algunas modificaciones (Brad-Williams, 1995). Para calcular la actividad antioxidante por DPPH se preparó una solución de Trolox (1000 μM) a partir de la cual se construyó una curva de calibración con un rango de concentración de 0 a 1000 μM. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent, Cary 60). Los resultados se expresaron como mM equivalentes de Trolox (ET) por g de muestra fresca (m.f.) Se realizaron tres experimentos por triplicado[7].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de fenoles totales para el extracto crudo de RSS fue de 20.92 ± 1.89 mg EAG/g de m.f., para flavonoides totales fue de 112.6 ± 5.96 mg EAG/g de m.f. Como se puede ver en la figura 1 el contenido de fenoles totales fue menor al de flavonoides.

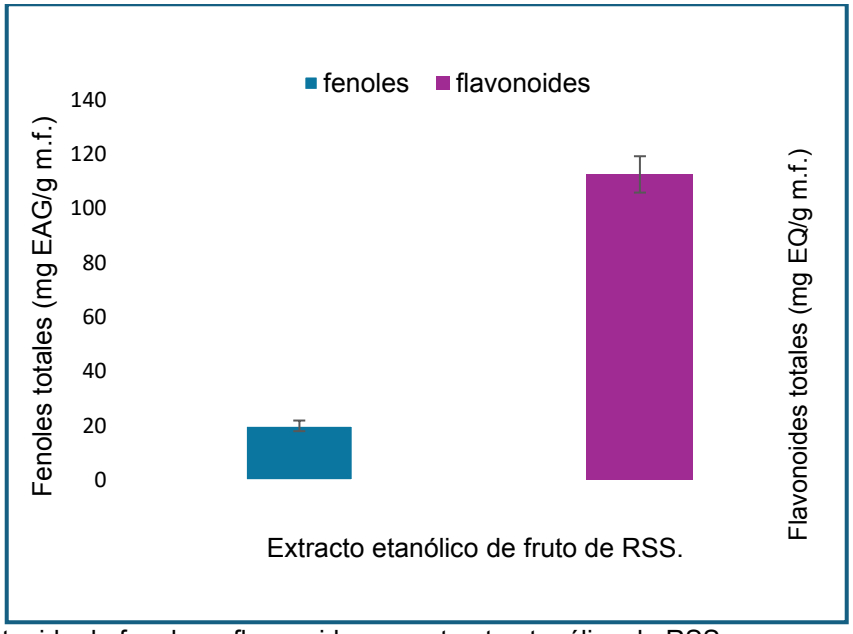


Figura 1. Contenido de fenoles y flavonoides en extracto etanólico de RSS.

Al comparar los resultados obtenidos con los de otras especies del género *Rhus* se encontró un valor menor (20.92 mg EAG/g m.f.). Por ejemplo, en un estudio realizado por Soria Melgarejo *et al.* (2024) en extracto etanólico del fruto de *Rhus schmidelioides* obtuvieron 62.28 ± 0.13 mg EAG/g [2]. Por otro lado, Hossein Fereidoonfar *et al.* (2019) en el extracto hidro metanolico del fruto de *Rhus coriaria* reportaron 190 mg EAG/g p.s.[12] Quizás el aumento se deba a que los disolventes orgánicos mezclados con agua permiten la extracción de compuestos fenólicos de forma más eficiente, posiblemente debido a la presencia de glucósidos con hidroxilos hidrófilos externos en la estructura química. Mientras que Ünver A. *et al.* (2009) reportó en un extracto hidrometanolico acidificado de cáscara de *Rhus coriaria* un valor de 497.87 mg EAG/g[11], probablemente la acidificación del solvente permite que el analito permanezca en forma no ionizada, lo cual mejora la solubilidad en disolventes orgánicos[13].

Los flavonoides son el tipo más común de compuestos fenólicos, en este trabajo se encontró una concentración alta en comparación con lo obtenido de fenoles totales. En contraste con otras investigaciones como en la realizada por Soria Melgarejo G. *et al.* (2024) en el extracto etanólico del fruto de *Rhus schmidelioides* S. el contenido de flavonoides fue de 19.29 ± 0.69 mg EQ/g [2]. Por otro lado, Hossein Fereidoonfar *et al.* (2019) en extracto hidrometanolico de *Rhus coriaria* reportó 4.64 mg EQ/g p.s. Por lo cual, en esta investigación se observó que este método de extracción es más eficiente[12].

La variabilidad en los resultados reportados y los obtenidos en este trabajo puede atribuirse a diversos factores, tales como la especie analizada, ubicación geográfica y las condiciones ambientales en las que se desarrolla la planta, grado de madurez del fruto, parte de la planta estudiada, método de extracción empleado y la afinidad de los compuestos fenólicos hacia los solventes empleados en la extracción[2].

Con la finalidad de poder determinar a qué grupo de compuestos se atribuye la actividad antioxidante se correlacionó el contenido total de fenoles totales con la actividad antioxidante y el contenido total de flavonoides totales con la actividad antioxidante.

La actividad antioxidante se determinó a diferentes concentraciones del extracto en un rango de (44.1093 a 10.0081) mM ET/g m.f., ver cuadro 1. Se observó que la mejor correlación entre fenoles totales con actividad antioxidante se presentó a una concentración de 37.420 mM ET/g m.f., con un coeficiente de correlación de R^2=0.1. Mientras que la mejor correlación entre flavonoides y actividad antioxidante se obtuvo a una concentración de 45.695 mM ET/g m.f., con R^2= 0.2, ver figura 2. El contenido de flavonoides totales fue mayor que de fenoles y al hacer la correlación el resultado fue mejor en flavonoides, por lo cual se puede atribuir el poder antioxidante a los flavonoides. En un estudio realizado por Hossein Fereidoonfar *et* al. (2019) se reportó una correlación R^2= 0.45 entre flavonoides totales y actividad antioxidante lo cual sugiere el alto contenido de flavonoides en el extracto influye en la mayor capacidad antioxidante.

	Fenoles		Flavonoides	
Actividad antioxidante DPPH (mM ET/g mf)	Ecuación de la recta	R^2	Ecuación de la recta	R^2
44.109	y= -0.1508x+88.986	0.047	y = -0.0756x+14.391	0.138
45.695	y = 0.035x+98.091	0.015	y = -0.0611x+16.016	0.209
37.420	y=-0.024x+10.459	0.126	y = -4.4488x+10.479	0.050
18.760	y=-0.0125x+10.255	0.079	y = -4.116x+10.469	0.101
10.008	y= -0.01007x+10.210	0.064	y = -3.9063x+10.448	0.113

Cuadro 1. Comparación de resultados de correlaciones entre fenoles totales con actividad antioxidante y flavonoides con actividad antioxidante.

En esta investigación el valor del IC_{50}, del extracto fue de 732.78 mM/mL. Comparado con el estándar de Trolox (759.9 mM/mL) su actividad antioxidante es mayor que el estándar, ya que el extracto con una concentración menor inhibe el 50 % de radicales libres.

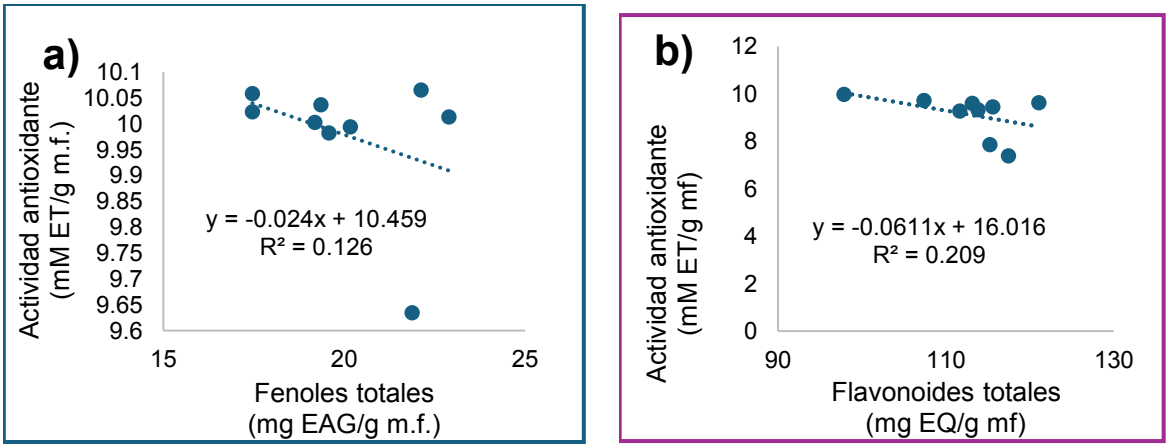


Figura 2. a) Correlación del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante b) Correlación de flavonoides totales con actividad antioxidante

CONCLUSIONES

En esta investigación se encontró que el extracto etanólico del fruto de *Rhus schmidelioides* al igual que otras especies del género *Rhus* contiene compuestos fenólicos. Sin embargo, este estudio demostró mayor contenido de flavonoides que de fenoles, así como mayor correlación actividad

antioxidante con flavonoides. Por lo que, se sugiere su actividad antioxidante se atribuye a los flavonoides. Por otro lado, debido a los valores de fenoles y flavonoides totales obtenidos, el fruto de *Rhus schmidelioides* S. puede considerarse una fuente adecuada de estos. Además, la capacidad inhibitoria de radicales libres es superior en comparación con el estándar utilizado. Por lo cual, es posible proponer el consumo de agrillo como una fuente natural de antioxidantes contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

BIBLIOGRAFÍAS

1. F. G. Arriaga López, N. Santiago Olivares, E. Martínez Orozco, S. Iñiguez Gómez, Y. Rizo García, "Aprovechamiento integral del "agrillo" (Rhus aromática) como una alternativa de sustentabilidad regional" RA XIMHAI, Vol.18, 4, 2022, pp. 291-314.
2. G. Soria Melgarejo, J.C. Raya Pérez, J. G. Ramírez Pimentel, J. Covarrubias Prieto, G. M. Gutiérrez Benicio, I. Andrade González, C. L. Aguirre Mancilla "Physicochemical, nutritional properties, and antioxidant potential of 'limilla' fruit (*Rhus aromática* var. schmidelioides (Schltdl.) Engl.)" Heliyon Vol. 10, 15, 2024, pp.1-12.
3. Can Ortiz, G. O., Aguilar Cordero, W. D., & Ruenes Morales, R. Médicos tradicionales mayas y el uso de plantas medicinales, un conocimiento cultural que continúa vigente en el municipio de Tzucacab, Yucatán, México. *Teoría y Praxis, Vol.* 21, 2017, pp. 67-89
4. Martínez Cano E., Martínez Cano S.M., Avalos Lopez K. I. y Gonzalez Simental J. A. (2017) Preliminary phytochemical study and TLC analysis of the fruit, leaves and flowers of *Citrus limetta* Risso Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Vol. 6, 5, 2017, pp. 594-599
5. M. S. Stanković, "Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. extracts", Kragujevac J. Sci. Vol. 33, 2011, pp. 63-72.
6. M. Liu. X. Q. Li, C. Weber, C. Lee, J. Brown and R. H. Liu Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. J. Agric. Food Chem. Vol. 50, 2022, pp.926-2930
7. M. El-Din, S. M., & El-Ahwany, A. M. D. "Bioactivity and phytochemical constituents of marine red seaweeds (Jania rubens, Corallina mediterranea and Pterocladia capillacea)". Journal of Taibah University for Science, Vol. 10, 4, 2016, pp.471–484
8. Khoshkharam M., Heram Shahrajabien M., Sun W. y Cheng Qi Sumac (Rhus coriariaL.) a spice and medicinal plant-a mini review Amazonian Journal of Plant Research Vol. 4, 2, 2020, pp. 517-523.
9. Djakpo O. y Yao W. Rhus Chinensis and Galla Chinensis-Folklore to modern evidence: Review Vol. 24, 2010, pp. 1739-1747.
10. Cocirlea M. D. y Oancea S. Rhus Thyphina – From environmental threat to industry development opportunity Current Trends in Natural Sciences Vol.12, 23, 2023, pp. 305-320.
11. Ünver A., Akbulut M. y Arslan D. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Spices World Applied Sciences Journal Vol. 6, 3, 2009, pp. 373-377,
12. Fereidoonfara H., Salehi-Arjmanda H., Khadivib A., Akramiana M., Safdaria L., Chemical variation and antioxidant capacity of sumac (Rhus coriaria L.) Industrial and products Vol. 139, 2019, pp. 3-8.
13. Petreska Stanoeva J., Balshikevska E., Stefova M., Tusevski O., and Sonja G. Simic Comparison of the Effect of Acids in Solvent Mixtures for Extraction of Phenolic Compounds From Aronia melanocarpa Natural Product Communications Vol.15, 7, 2020, pp. 1–10.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO A PARTIR DE CÁSCARAS DE CAMARÓN

Erick Antonio Maldonado Mondragón[1], María Teresa Fuentes Romero[2], Jesús Nicolás Bermudez[3]y Manuel Medina Mendoza[4]

Universidad Tecnológica Fidel Velázquez,
erick.maccio@gmail.com y teresa.fuentes@utfv.edu.mx

INTRODUCCIÓN

El quitosano es un biopolímero derivado de la quitina, el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Se encuentra principalmente en los exoesqueletos de crustáceos como camarones, cangrejos y langostas, así como en insectos y paredes celulares de hongos y levaduras. La quitina está compuesta por 2-amino-2-desoxi-B-Glucopiranosa, como polímero natural tiene un gran potencial en diferentes aplicaciones [I] y mediante el proceso de desacetilación es posible extraer este polímero de exoesqueletos (caparazones), de muchos crustáceos, alas de insecto (escarabajos, cucarachas), paredes celulares de hongos, algas, etc. [II]

El interés en el quitosano se ha incrementado debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, y sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, y quelantes [III]. Esto lo convierte en un material de gran interés para aplicaciones en la industria farmacéutica, biomédica, agrícola, alimentaria y en el tratamiento de aguas residuales. Por ello, su obtención a partir de residuos marinos como las cáscaras de camarón representa una alternativa sustentable y de valor agregado para el aprovechamiento de desechos.

Objetivo del Estudio

Este trabajo tuvo como objetivo sintetizar quitosano a partir de exoesqueletos de camarón mediante precipitación química, evaluando sus propiedades estructurales y morfológicas mediante técnicas de caracterización como difracción de rayos X (DRX). Además, se optimizó el tamaño de partícula del quitosano mediante molienda para asegurar una distribución homogénea.

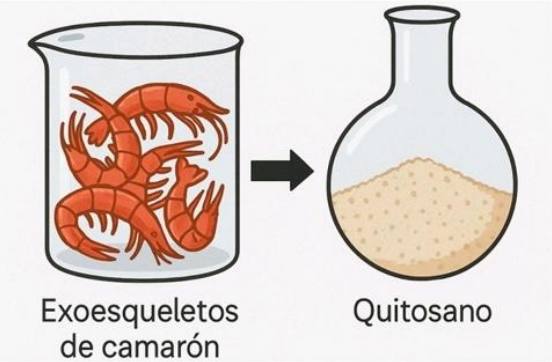


Ilustración 1. Obtención de quitosano a través de cascaras de camarón

METODOLOGÍA

La síntesis del quitosano se llevó a cabo en varias etapas:

1. Limpieza: Se lavaron los exoesqueletos de camarón para remover impurezas.
2. Desproteinización: Se utilizó NaOH al 3% para eliminar las proteínas presentes.
3. Desmineralización: Se aplicó HCl al 1% para remover los minerales, especialmente carbonatos de calcio.

4. Desacetilación: La quitina obtenida se sometió a un tratamiento con NaOH concentrado (50%) a temperaturas elevadas para eliminar los grupos acetilo y producir quitosano.
5. Secado y Pulverización: El producto fue secado y pulverizado, posteriormente desaglomerado para asegurar una distribución de partículas adecuada

La metodología empleada es una adaptación de procedimientos estandarizados, permitiendo obtener un producto final con propiedades morfológicas y estructurales optimizadas.

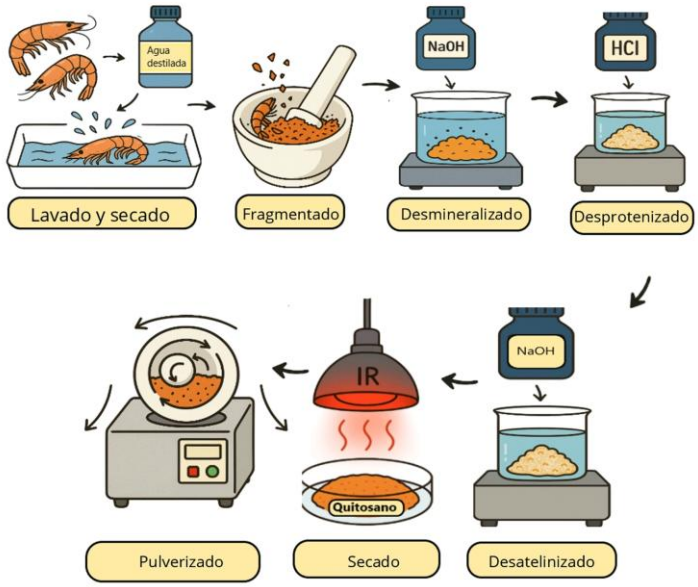


Ilustración 2. Metodología para el proceso de síntesis de quitosano

RESULTADOS

Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX)

Se obtuvo un espectro de difracción característico del quitosano, donde se observaron picos principales en 10° y 19.45°, y secundarios en 22.95°, 26.01°, 32.90° y 39.22°, lo cual coincide con patrones reportados para la conformación cristalina ortorrómbica de la α-quitina transformada en quitosano de [IV] y [V],

Estos resultados concuerdan con literatura previa, indicando que el tratamiento químico permitió una correcta transformación de la quitina a quitosano, manteniendo características estructurales deseadas.

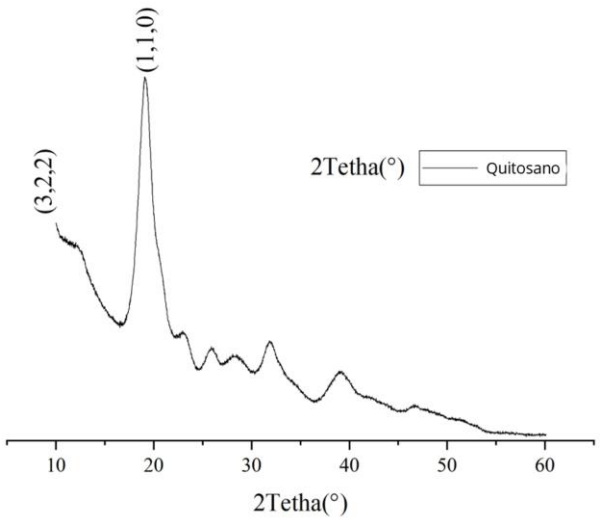


Ilustración 3. Difractograma de rayos X del quitosano.

Distribución de Tamaño de Partícula

Mediante molienda optimizada, se logró obtener quitosano con un tamaño de partícula en el rango de 1 a 1.5 µm, con una media de 1.3393 µm y una desviación estándar de 0.5411 µm, lo que indica una distribución estrecha y homogénea de las partículas.

Esta propiedad es fundamental para aplicaciones industriales que requieren uniformidad en la dispersión del quitosano, por ejemplo, en formulaciones farmacéuticas o en matrices poliméricas.

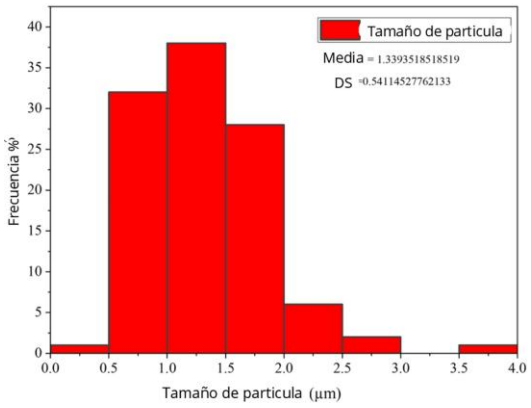


Ilustración 4. Distribución del tamaño de partícula del quitosano después de una pulverización mediante molino planetario

CONCLUSIÓN

El proceso de extracción y caracterización del quitosano mostró resultados positivos, ya que la desacetilación fue efectiva para transformar la quitina en quitosano, validado por la presencia de picos característicos en el análisis de rayos X que confirmaron la adecuada conservación de la estructura cristalina del biopolímero. Asimismo, la molienda permitió reducir el tamaño de partícula a rangos micrométricos uniformes, entre 1 y 1.5 µm, lo cual facilita su aplicación en sectores que demandan biomateriales de alta calidad, al mejorar su dispersión en matrices compuestas, su capacidad de absorción y su bioactividad. Esta distribución estrecha asegura la reproducibilidad y eficiencia del quitosano en diferentes usos. Los resultados obtenidos permiten validar una metodología sencilla, económica y eficiente para sintetizar quitosano a partir de residuos de camarón mediante etapas de desprotenización, desmineralización y desacetilación, promoviendo así el aprovechamiento sustentable de residuos agroindustriales, especialmente en zonas costeras y pesqueras, y contribuyendo al desarrollo de biopolímeros de valor agregado en México dentro de un enfoque de economía circular.

BIBLIOGRAFIA

i. David Giraldo Pedraza, J. (2015). *PROPIEDADES, OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES DEL QUITOSANO*. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3350.9287

ii. Lárez Velásquez, C. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. In *Avances en Química* (Vol. 1, Issue 2). www.saber.ula.ve/avancesenquimica

iii. Universidad Nacional Autónoma de México. (2020). *Quitosano: una alternativa sustentable para el empaque de alimentos*. Revista UNAM. Recuperado de https://www.revista.unam.mx/2020v21n5/quitosano_una_alternativa_sustentable_para_el_empaque_de_alimentos/revista.unam.mx+1revista.unam.mx+1

iv. Kaya, M., Baran, T., Mentes, A., Asaroglu, M., Sezen, G., & Tozak, K. O. (2014). Extraction and Characterization of α-Chitin and Chitosan from Six Different Aquatic Invertebrates. *Food Biophysics*, *9*(2), 145–157. https://doi.org/10.1007/s11483-013-9327-y

v. Iveth Sáenz-Mendoza, A., Baruk Zamudio-Flores, P., & Manuel Tirado-Gallegos, J. (2019). *Revista Mexicana de Ingeniería Química CONTENIDO* (Vol. 18, Issue 1). https://www.researchgate.net/publication/334207332Physicochemical,morphologicalandstructuralcharacterizationofthechitinandchitosanofTenebriomolitorandGalleriamellonellainsects

ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE LA SEMILLA DE *Casuarina Equisetifolia L.*

Celia Guadalupe Pedroza Pedroza[1], Sofía Loza Cornejo[1], Teresa Margarita Terrazas Salgado[2], Luis Javier López Reyes[1], Rita Judit Patakfalvi[1], Bertha Alicia Arce Chávez[1] y Paola Susana Alcaraz Tapia[1]

[1]Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, [2]Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

celiapedrozaza@outlook.com

RESUMEN

Casuarina equisetifolia L., también conocida como casuarina o pino australiano, es originaria de Australia; sin embargo, sus poblaciones se distribuyen en diferentes regiones del mundo, especialmente en zonas tropicales y subtropicales. *C. equisetifolia* es una especie perenne de crecimiento rápido y poco exigente con respecto a las condiciones en las cuales se desarrolla ya que presenta cierta tolerancia a suelos salinos y con pocos nutrientes; característica por la cual es utilizada tanto para la reforestación como para la estabilización de dunas costeras. Este árbol tiene hojas pequeñas que se encuentran en tallos modificados en forma de aguja. La casuarina se caracteriza por la producción de infrutescencias de consistencia leñosa que albergan semillas pequeñas con alas lo cual facilita su dispersión a través del viento permitiendo que germinen en suelos distantes del árbol madre. Además de su valor ecológico, la casuarina tiene diversas aplicaciones; la semilla por ejemplo, se puede utilizar para la regeneración de plantas que colonicen suelos degradados; la madera del tronco, por otro lado, al ser resistente es útil para la construcción. Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente trabajo de investigación se realizaron técnicas histológicas y de microscopía (óptica y electrónica de barrido), así como pruebas histoquímicas con diferentes colorantes, para la caracterización anatómica de semillas de *Casuarina equisetifolia*. Se encontró que la semilla presenta esclereidas tanto en su testa como en el ala, así como también se observó la presencia de sistema vascular. Del mismo modo, se identificó cualitativamente la presencia de lípidos, proteínas y carbohidratos.

INTRODUCCIÓN

Casuarina equisetifolia L. es una especie arbórea de rápido crecimiento, forma parte de la familia Casuarinaceae, ampliamente distribuida en zonas tropicales y subtropicales del mundo (Figura 1). Su capacidad de adaptación a suelos carentes de nutrientes y salinos, además de su asociación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno como lo son especies del género *Frankia*, la han convertido en una especie de importancia para programas de reforestación, control de erosión y restauración de ecosistemas degradados (Parrota, 1993; Ngom *et al.*, 2020).



Figura 1. Ramas, hojas e infrutescencias de *Casuarina equisetifolia L. © Heike Vibrans 1998, 2007*.

La semilla de *C. equisetifolia* está contenida en una infrutescencia de consistencia leñosa. Estas semillas son pequeñas, de forma elíptica y aladas, lo que favorece su dispersión anemócora (se lleva a cabo por el viento) (Turner & Skelton, 1983). Anatómicamente, la semilla esta protegida por una testa delgada y dura, que protege al embrión de condiciones ambientales adversas (Esau, 1977). Desde el punto de vista histológico, la semilla de casuarina muestra una organización tisular bien definida: una testa formada por células esclerenquimatosas lignificadas, un endospermo que puede estar ausente o reducido, y un embrión con cotiledones bien desarrollados (Corner, 1976). Estos rasgos reflejan un desarrollo embrionario avanzado y una inversión adaptativa en la protección y viabilidad de la semilla. El estudio detallado de su anatomía e histología permite comprender mejor su fisiología, mecanismos de germinación y potencial de su uso en programas de restauración ecológica (Midgley *et al*., 1983; National Research Council, 1984). Por lo anterior, en la presente investigación se pretende describir anatómica e histológicamente la semilla de *Casuarina equisetifolia* L. mediante técnicas de microscopia óptica y electrónica de barrido.

METODOLOGÍA

Se recolectaron infrutescencias de casuarina, lignificadas y con brácteas cerradas, para asegurar que la semilla se encontrara dentro de estas, de la localidad denominada El Mosaico, en Lagos de Moreno, Jalisco, México (21°21’02’’, 101°55’42’’ y 1 870 msnm). Posteriormente se lavaron con agua corriente y se dejaron secar al aire libre sobre papel Kraft hasta esperar que la infrutescencia terminara el ciclo de maduración de sus embriones y abriera sus brácteas para liberarlos. Una vez se obtuvieron las semillas, se tomaron dos muestras aleatorias para su estudio S1 y S2.

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM): se envió la muestra S1 de semillas al Laboratorio LINAN (Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología), IPICYT, San Luis Potosí, SLP. Posteriormente, se describieron las imágenes obtenidas en SEM con el microscopio electrónico de barrido ambiental FEI-ESEM QUANTA FEG-250.

Microscopía Óptica: se trabajaron las semillas de la muestra S2. Primeramente, se colocaron en hipoclorito de sodio (NACIO) al 5% durante 24 hrs. Después, se realizaron cortes a mano alzada de las brácteas y de la testa de la semilla, se colocaron en portaobjetos y se realizaron las siguientes técnicas de tinción histológica para la detección de metabolitos (Tabla 1). Finalmente, las muestras histológicas se observaron bajo el microscopio óptico OPTIKA B-159.

Tabla 1 Técnicas de tinción.

Colorante	Metabolito o estructura celular que tiñe
Lugol	Almidón
Rojo “O” de aceite	Reservas lipídicas, cutina y suberina
Azul mercúrico de bromofenol	Proteínas
Ácido periódico- Reactivo de Schiff (APS)	Polisacáridos insolubles
Azul negro de naftol- (APS)	Proteínas-polisacáridos insolubles
Safranina acuosa	Pared celular secundaria lignificada
Azul de metileno	Pared celular

RESULTADOS

Las técnicas histológicas en la semilla de casuarina y su observación en Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y Microscopía Óptica, permitió identificar estructuras celulares típicas del ala. Se observaron células alargadas que forman una red flexible con paredes celulares visibles por las tinciones de safranina acuosa y azul de metileno. Se observó tejido epidérmico y parenquimático

del ala, con paredes celulares teñidas por la presencia de celulosa y lignina (Figura 2). Además, se encontraron resultados positivos para las tinciones selectivas para: almidón, reservas lipídicas, proteínas y polisacáridos insolubles (Tabla 2.)

Tabla 2 Resultados cualitativos de técnicas histológicas

Colorante	Resultado cualitativo
Lugol	+
Rojo "O" de aceite	+
Azul mercúrico de bromofenol	+
Ácido periódico- Reactivo de Schiff (APS)	+
Azul negro de naftol- (APS)	+
Safranina acuosa	+
Azul de metileno	+

Donde (+) significa presencia y (-) ausencia

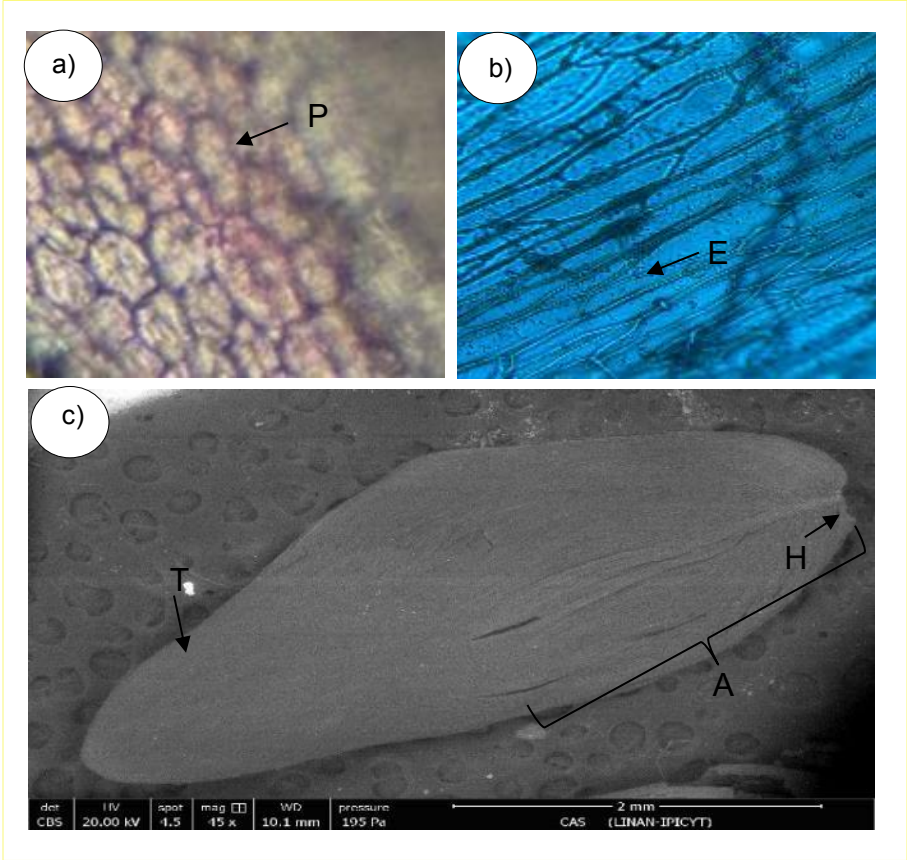


Figura 2. Micrografías MO y SEM de semilla de *C. equisetifolia* L. **a)** Células de parénquima con inclusiones de lípidos **(P)**. **b)** Esclerénquima **(E)**, células alargadas de paredes secundarias engrosadas. **c)** Hilum (**H),** ala **(A)**, testa **(T).**

CONCLUSIONES

Los análisis microscópicos de las semillas de *Casuarina equisetifolia* L. demuestran una estructura especializada para la dispersión; la epidermis de la testa está conformada por células esclerenquimáticas con paredes celulares gruesas y lignificadas. La presencia de los metabolitos analizados, nos indican que la semilla posee células parenquimáticas con paredes delgadas que almacenan estos nutrientes (almidón, lípidos y proteínas); además, las tinciones fueron eficaces para visualizar los componentes celulares que sustentan su función. Estos resultados contribuyen al conocimiento morfo-funcional de las semillas con estructuras alares en especies de dispersión por el viento (anemócora).

AGRADECIMIENTOS

La primera autora agradece el apoyo brindado por la Coordinación de Doctorado en Ciencia y Tecnología del Centro Universitario de los Lagos, por la beca otorgada para la inscripción y asistencia al evento.
Agradecimiento al laboratorio y personal técnico del Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) del IPICYT, San Luis Potosí, por el servicio de análisis y caracterización de muestras en el microscopio electrónico de barrido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Corner, E. J. H. (1976). *The Seeds of Dicotyledons* (Vols. 1-2). Cambridge University Press.
2. Esau, K. (1977). *Anatomy of Seed Plants.* (2da ed.). Wiley.
3. Midgley, S. J., Turnbull, J. W., & Johnston, R. D. (1983). *Casuarina Ecology, Management, and Utilization.* CSIRO.
4. National Research Council (1984). *Casuarinas: Nitrogn-Fixing Trees for Adverse Sites.* National Academy Press.
5. Ngom, M., Djighaly, P.I., Diagne, N., Ndour, M., Ndong, G., Ngom, D., Ngom, M., Ngom, S., & Svistoonoff, S. (2020). Effect of *Casuarina Crushed Nodules, Rhizospheric Soil and Leaves Compost on Salt Tolerance os Casuarina equisetifolia* L. *and Casuarina obesa Miq.* Open Journal os Soil Science, 10(9), 359-373. https://doi.org/10.4236/ojss.2020.109019. Recuperado el 20 de mayo del 2025.
6. Parrotta, J. A. (1993). *Casuarina equisetifolia* L. *ex J.R. & G. Forst. Casuarina, Australian Pine. In J. A. Vozzo (Ed.) Tropical Tree Seed Manual* (pp. 1-4). DOI:10.13140/RG.2.1.5074.1848. Recuperado el 20 de mayo del 2025.
7. Turner, J. & Skelton, D. J. (1983). Seed Morphology and Dispersal in Casuarina. In S. J. Midgley et al. (Eds.), *Casuarina Ecology, Management, and Utilization* (pp. 20-27). CSIRO.
8. Vibrans, H. (1998). *Casuarina equistifolia* L. Terrenos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Municipio Texcoco, Estado de México. Junio 2007. Sin colecta. Recuperado el 20 de mayo del 2025 de: http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/casuarinaceae/casuarina-equisetifolia/fichas/pagina1.htm

MODIFICACIÓN DE TIERRA DE DIATOMÁCEA A PARTIR DE LA ADICIÓN DE LOS IONES DE HIERRO PARA SU APLICACIÓN EN LA DEGRADACIÓN DEL COLORANTE "REACTIVE ORANGE 84" A PARTIR DE REACCIONES TIPO FENTON

Mónica Berenice Hernández Báez[1], Oscar Manuel Rodríguez Narváez[1], Fabricio Guadalupe Méndez Landin[2]

[1]Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), [2]Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato del IPN.
mhernandez.estudiantepicyt@ciatec.mx

RESUMEN

La industria textil es reconocida por su alto impacto económico, pero también por sus efectos negativos en el ambiente. Esto se debe a la liberación de grandes volúmenes de agua con colorantes sintéticos, los cuales son altamente persistentes y difíciles de degradar mediante tratamientos convencionales. En respuesta a esta problemática, se han desarrollado nuevas tecnologías para su eliminación, entre las cuales los procesos avanzados de oxidación, como la reacción tipo Fenton, han demostrado ser una alternativa eficiente para la degradación de compuestos orgánicos recalcitrantes. Sin embargo, el uso de hierro en solución puede generar residuos secundarios. Por ello, la inmovilización del catalizador en una matriz sólida, como la tierra de diatomácea, podría mejorar su estabilidad y reutilización. En este estudio, se modificó la tierra de diatomácea mediante la adición de iones de hierro, generando dos tipos de catalizadores (Fe/TD y Fe/TD pretratada). Se evaluó su desempeño en la degradación del colorante Reactivo Naranja 84 (RO84) mediante reacciones tipo Fenton en fase heterogénea, variando el pH, la concentración de hierro y el percarbonato de sodio (PCS) como agente oxidante. Los resultados mostraron que la reacción tipo Fenton a pH ácido alcanzó eficiencias de degradación superiores al 90 % en tiempos cortos, mientras que a pH neutro no se observó actividad catalítica significativa debido a la precipitación del hierro.

INTRODUCCIÓN

La industria textil es importante sector económico en Guanajuato, destacando como tercer productor textil en México y con una gran presencia en la región sur del estado [1]. El rápido crecimiento del sector industrial ha ocasionado un incremento de contaminantes emitidos al ambiente, donde la industria textil se ha caracterizado por su alto consumo de agua, y es actualmente considerada como la principal fuente emisora de efluentes con colorantes [2]. Los colorantes son contaminantes diseñados para ser altamente resistentes químicamente, incluso a la degradación microbiana, ocasionando que los tratamientos convencionales de aguas residuales no sean eficientes [3].

Existen algunas tecnologías capaces de remover colorantes por medio de la adsorción con carbón activado, tecnologías de membrana y coagulación-floculación. Sin embargo, no han sido tan efectivos en el porcentaje de remoción. Además, que algunas de estas técnicas presentan costos elevados en el proceso de tratamiento de aguas residuales. Debido a ello, los procesos avanzados de oxidación han emergido como una alternativa para el tratamiento de agua y son procesos que involucran la generación de especies altamente oxidantes capaces de degradar substancias orgánicas, destacando entre estas tecnologías las reacciones tipo Fenton [4,5]. Este tipo de reacción requiere utilizar agentes oxidantes así como reductores químicos que permiten realizar transformaciones en contaminantes tóxicos poco susceptibles a la oxidación. Además, se caracteriza por trabajar con pH ácidos y alcalinos, utilizar diferentes tipos de agentes oxidantes y metales de transición, así como también soportes catalíticos [4,6]. Sin embargo, al utilizar metales para el tratamiento de agua, dichos metales se encuentran disueltos en el agua, por lo que pueden ser también considerados como contaminantes y por ello, se ha buscado ponerlos dentro de matrices sólidas, como los silicatos para que estos no se vayan en el efluente. Por lo tanto, al ajustar

un sistema de tierra diatomacea con Fe/PCS, se pretende utilizarlo para la decoloración de colorantes u otro tipo de contaminantes orgánicos con una composición química similar. El contaminante objetivo reportado en esta investigación es el reactivo naranja 84, el cual por su composición química tiene grupos azo (N=N). Este tipo de grupo cromóforo se le considera tóxico y cancerígeno provocando daños en los ecosistemas acuáticos tanto como en la salud humana [7].

TEORÍA

Procesos avanzados de oxidación

Los procesos avanzados de oxidación (PAOs) han emergido como una alternativa para el tratamiento de agua y son procesos que involucran la generación de especies altamente oxidantes capaces de atacar y degradar substancias orgánicas. Son considerados procesos físico-químicos con la habilidad de producir cambios en la estructura química de los contaminantes como resultado de la participación de radicales libres (principalmente radicales hidroxilo, HO·) en reacciones Redox. Algunas PAOs, como las reacciones Fenton, tipo Fenton, entre otras tecnologías, requieren utilizar agentes oxidantes, así como reductores químicos que permiten realizar transformaciones en contaminantes tóxicos poco susceptibles a la oxidación [5,8].

Reacciones tipo Fenton

Las reacciones Fenton son procesos de descomposición catalítica usando peróxidos de hidrogeno y un metal de transición en específico (i.e., Fe). Sin embargo, los procesos Fenton tienen limitaciones críticas, debido a que trabajan en condiciones ácidas (i.e., pH= 3) para poder alcanzar una mayor efectividad, el cual usualmente eleva los costos, generando un reajuste de pH antes y después del proceso del tratamiento. Para evitar las limitaciones de los procesos Fenton, se puede utilizar un proceso modificado conocido como reacciones tipo Fenton, las cuales consisten en el uso de diferentes agentes oxidantes y metales de transición para conseguir efectos similares en la degradación o remoción de algún contaminante orgánico [9].

Percarbonato de Sodio

El percarbonato de sodio (PCS) puede ser aplicado como un agente oxidante fuerte para degradar compuestos orgánicos activados mediante metales de transición. El PCS es un polvo sólido o compuesto cristalino no tóxico a temperatura ambiente y sus subproductos al descomponerse tampoco se consideran tóxicos. El PCS ha sido aceptado universalmente como una alternativa prometedora al H_2O_2 debido a su comportamiento estable durante el almacenamiento, transporte y manipulación, así como por su nobleza con la naturaleza. El PCS se disuelve fácilmente en agua para producir H_2O_2 y carbonato de sodio (Ecuación. 1) a temperatura ambiente, lo que da como resultado un ambiente oxidativo alcalino. Como en la reacción de Fenton, los radicales hidroxilos se generan en presencia de Fe^{+2} (Ecuación. 2).

$$2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2 \rightarrow 2Na_2CO_3 + 3H_2O2 \quad (1)$$

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \rightarrow \cdot OH + OH^- + Fe^{+3} \quad (2)$$

Debido a esta reactividad, el PCS se ha considerado un portador sólido de H_2O_2 con las mismas propiedades. Sin embargo, a diferencia delH_2O_2, el PCS es más eficaz en un amplio rango de pH y no introduce ningún producto químico potencialmente dañino en la matriz del agua. Cuando se introduce en la solución, el PCS aumenta el pH y esta capacidad amortiguadora puede contrarrestar la disminución del pH causada por la reacción de Fenton [10,11].

Sistema Fe/PCS

El percarbonato de sodio ($2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2$) se ha considerado como una alternativa del H_2O_2 debido a su estabilidad durante el manejo, el transporte y el almacenamiento. Además, el percarbonato de sodio (PCS) también posee una función similar al H_2O_2 líquido, ya que cuando el PCS se mezcla con el agua, libera H_2O_2 en solución. Sin embargo, a la adición de un metal de transición (i.e., Fe), el PCS se descompone mejor. Las ecuaciones siguientes (1) – (3) muestran la reacción pertinente en dicho proceso tipo Fenton en presencia de iones ferrosos:

$$2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2 \rightarrow 2Na_2CO_3 + 3H_2O_2 \quad (1)$$
$$H_2O_2 + Fe^{+2} \rightarrow \cdot OH + OH - + Fe^{+3} \quad (2)$$
$$Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+2} + HO_2 \cdot + H^+ \quad (3)$$

Haciendo una comparación entre el agente oxidante (H_2O_2) para los procesos Fenton y el percarbonato de sodio, el PCS tiene ciertas ventajas; (1) es aplicable en un amplio rango de pH; (2) los subproductos finales del sistema por el PCS son generalmente dióxido de carbono (CO_2), agua (H_2O) y carbonato de sodio (Na_2CO_3); y (3) los productos de descomposición del PCS no son tóxicos para los organismos vivos [12].

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y RECATIVOS:

La tierra diatomacea proveniente de la síntesis Kieselgel GF254 (Typ 60) suministrada por Merck. Ácido sulfúrico (H_2SO_4, 98% de pureza) y ácido nítrico (HNO_3, 70% de pureza), suministrados por Jamek. Sulfato Ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), Percarbonato de sodio ($Na_2CO_3 \cdot 1.5H_2O_2$) RO84 ($C_{58}H_{30}Cl_2N_{14}Na_8O_{26}S_8$ con un peso molecular de 1850.28 g/mol) fue obtenido comercialmente por Química-Mexifibras.

Síntesis de Material 1 (FE/TD)
Para la preparación del material (Fe/TD), 2 g de TD se disolvió en 50 ml de una solución acuosa de sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), manejando 4 tipos de concentraciones diferentes (1.8, 7.2, 14 y 28 mM). Posteriormente de la solución preparada, se ajustó el pH = 3, utilizando una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 1 M. Por lo tanto, fue sometida a un proceso de agitación magnética durante 24 h, una vez cumpliendo el tiempo de agitación, se sometió a un proceso de secado de 60°C durante 48 h.

Síntesis del material 2 (Fe/TD pretratada)
Para la preparación del material (Fe/TD pretratada), se calcino la tierra de diatomacea en una mufla a condiciones de 550°C y 15 h. Después, 2 g de TD calcinada se deja sonicando por 4 h a 80°C en 50 mL de una solución 13 M de ácido nítrico (HNO_3), una vez terminado el proceso anterior, se disuelve la solución de HNO_3 en 500 mL de agua destilada, para después someter dicha solución en un proceso de filtración utilizando papeles filtro. Los papeles filtro se dejan secar en una estufa de calentamiento a 60°C durante toda la noche. Después del secado, 2 g de TD pretrada se disolvió en 50 mL de una solución acuosa de sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), manejando 4 tipos de concentraciones diferentes (1.8, 7.2, 14 y 28 mM). Posteriormente de la solución preparada, se ajustó el pH = 3, utilizando una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 1 M. Por lo tanto, fue sometida a un proceso de agitación magnética durante 24 h, una vez cumpliendo el tiempo de agitación, se sometió a un proceso de secado de 60°C durante 48 h.

Degradación del RO84 en fase heterogénea
Para las pruebas experimentales del RO84, se utilizó 200 mL de muestra de RO84 con una concentración de 100 mg/L. Para los procesos de Fe + TD/PCS y Fe + TD pretratada/PCS, se

manejaron dos tipos de pH (3 y 6), así como concentraciones de PCS (20 y 40 mM), y de material (4 g/L) para todos los procesos de degradación. La cantidad requerida por cada muestra fue de 3 ml tomando diferentes tiempos de reacción para el pH = 3 (0, 3, 6, 9, 12 y 15 min) y para el pH = 6 (0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min.), para todas las pruebas se utilizó filtros de jeringa de 0.22 µm. Por lo tanto, las muestras fueron analizadas por el método de fotometría en un espectrofotómetro.

RESULTADOS

Para las pruebas experimentales en fase heterogénea con pH = 3, los resultados fueron diferentes a cada concentración correspondiente del material. En el figura 1, muestra una variación de la concentración de hierro en el material de la síntesis 1, utilizando una concentración de 40 mM de PCS para todas las pruebas. La concentración de 1.8 mM tuvo una degradación del 31.7%, mientras que la concentración más alta (28 mM) alcanzo una degradación del 74%. Sin embargo, los valores de degradación más altos fueron para las concentraciones de 7.2 y 14 mM, alcanzando valores de 87 y 90.5 %. Estos resultados se encuentran retribuidos, a que a pH ácido el sistema de Fe/PCS trabaja sinérgicamente, debido a que se sabe que el hierro para que funcione como catalizador es necesario un pH ácido [11]. Por lo tanto, se estima que el PCS al momento de entrar en contacto en un medio ácido, tiene una mejor descomposición. Ocasionado que el PCS libere grupos $\mathbf{H_2O_2}$ y reaccione con el metal de transición (i.e., Fe).

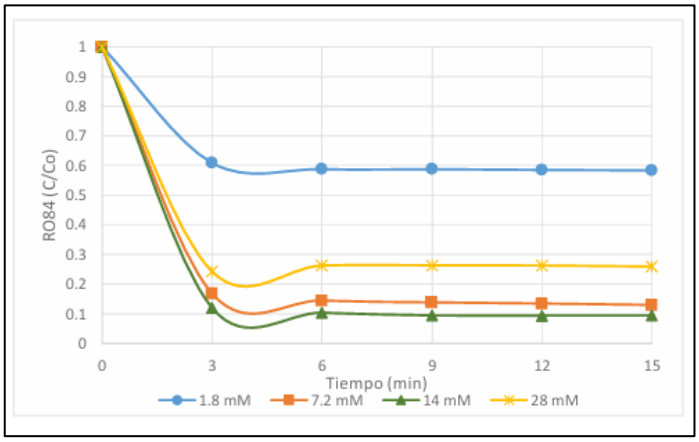


Figura 1. *C/Co de RO84 con [40 Mm] de PCS + 4 g/L de material en S1.*

En el figura 2, muestra una variación de la concentración de hierro en el material de la síntesis 1, utilizando una concentración de 20 mM de PCS para todas las pruebas. La concentración de 1.8 mM tuvo una degradación del 48.8%, mientras que la concentración de 7.2 mM y la más alta (28 mM) alcanzo una degradación del 85%. Sin embargo, el valor de degradación más alto fue de 14 mM, alcanzando un 90%. Comparando los valores de degradación con las pruebas de 40 mM de PCS, La degradación aumento en un 17.1 y 11 % para las concentraciones de 1.8 y 28 mM utilizando una concentración de 20 mM de PCS.

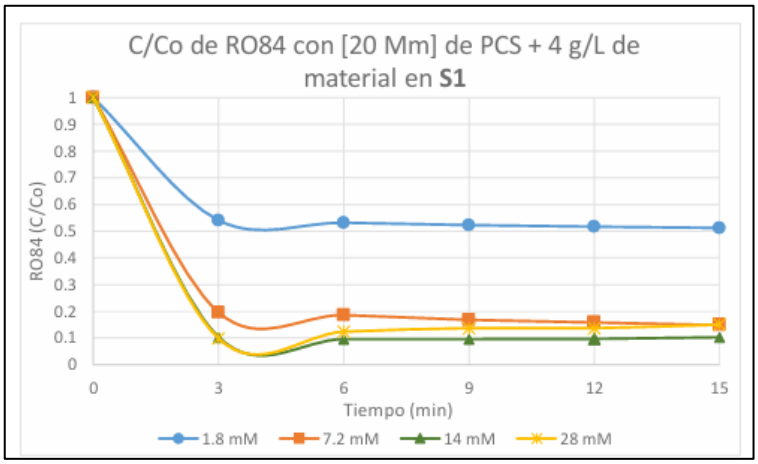


Figura 2. *C/Co de RO84 con [20 Mm] de PCS + 4 g/L de material en S1.*

Para las pruebas experimentales de la síntesis dos, el figura 3, muestra una variación de la concentración de hierro en el material, utilizando una concentración de 40 mM de PCS para todas las pruebas. La concentración de 1.8 mM tuvo una degradación del 24.6%, mientras que la concentración de 7.2 mM alcanzo una degradación del 71.2%. Sin embargo, los valores de degradación más altos fueron de 14 y 28 mM, alcanzando un 90.1 y 90.16%. Comparando los valores de degradación de la síntesis dos con base a la síntesis uno a las mismas condiciones, se observa que para las concentraciones más bajas (1.8 y 7.2 mM), la síntesis uno alcanzo un porcentaje mayor a la degradación del colorante. Sin embargo, la concentración de 14 mM tuvo un comportamiento similar al porcentaje de degradación de la síntesis uno.

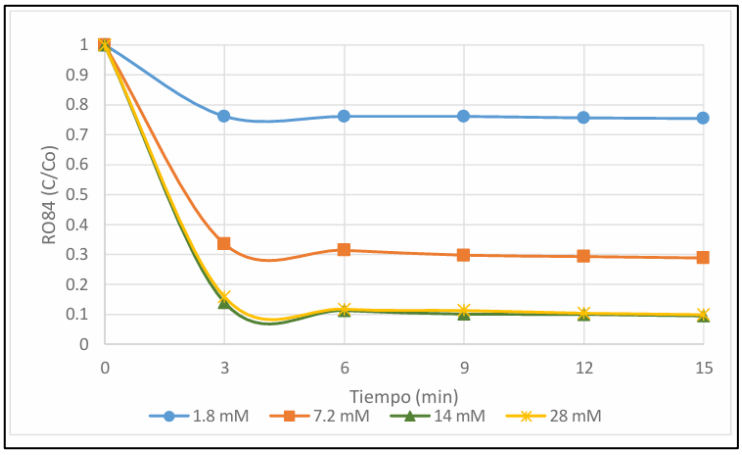


Figura 3. *C/Co de RO84 con [40 Mm] de PCS + 4 g/L de material en S2.*

El figura 4, muestra una variación de la concentración de hierro en el material, utilizando una concentración de 20 mM de PCS para todas las pruebas. La concentración de 1.8 mM tuvo una degradación del 81.8%, mientras que la concentración de 7.2 mM alcanzo una degradación del 77.3%. Sin embargo, los valores de degradación más altos fueron de 14 y 28 mM, alcanzando un 90.1 y 90.2%. Por lo tanto, haciendo una comparación entre la síntesis dos con respecto a la síntesis uno, la concentración de 1.8 mM tuvo un incremento en el porcentaje de degradación. No obstante, se encuentra retribuido al proceso de pretratamiento que se hizo a la tierra de diatomácea antes de adición de la sal de hierro.

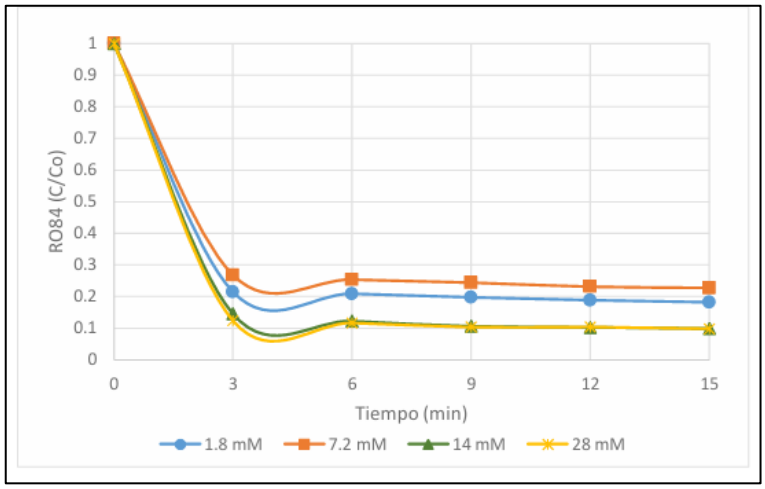


Figura 4. *C/Co de RO84 con [20 Mm] de PCS + 4 g/L de material en S2*

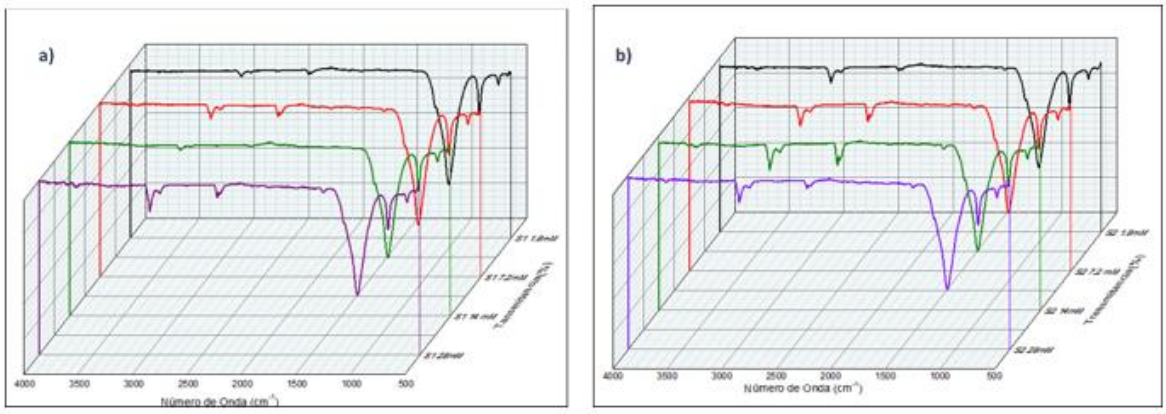


Figura 5. *Análisis de FT-IR, a) Síntesis 1 (Fe/TD), b) Síntesis 2 (Fe/TD pretratada)*

Para la parte sólida de las síntesis obtenida, se realizó la caracterización por Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR) utilizando el equipo Thermo Scientific Nicolet IS10 para la identificación de los grupos funcionales de dichos materiales, realizando una comparación de las síntesis 1 (a) y síntesis 2 (b), donde podemos ver en la figura 5 que la tierra diatomácea sin tratar (a) presenta bandas características de la sílice amorfa (SiO_2), componente principal de este material. De tal manera que la banda ancha de 3400cm^{-1} corresponde a vibraciones de estiramiento O-H de grupos hidroxilo superficiales; por otro lado, el pico a 1630cm^{-1} se asocia a la deformación angular del agua (H-O-H). También podemos observar un pico tenso en el número de onda de 1100cm^{-1} atribuido al estiramiento asimétrico Si-O-Si, típico de la estructura de sílice amorfa. Las bandas de 800cm^{-1} y 470cm^{-1} corresponden al estiramiento simétrico Si-O-Si.

Por su parte, el espectro de la muestra de la tierra diatomácea pre-tratada (b) muestra cambios significativos, donde se presenta la modificación química de la superficie de la sílice. Podemos observar que la banda en 3400cm^{-1} indica la disminución de grupos O-H libres, posiblemente debido a la adsorción de iones de Fe^{2+} en sitios hidroxilos, formando enlaces Fe-O-Si. Por otro lado, el pico de 1100cm^{-1} se atribuye al estiramiento del Si-O-Si; en el número de onda de 1600cm^{-1} es posible la presencia de grupos hidrofílicos por Fe^{2+}, y las bandas en 600cm^{-1} y 700cm^{-1} corresponden a las vibraciones de Fe-O, indicando la interacción entre Fe^{2+} y la matriz de sílice.

En este contexto, estos resultados son congruentes con la composición de la tierra diatomácea, donde el grupo sílice domina la estructura, y los grupos hidroxilos superficiales facilitan interacciones químicas posteriores. Estos cambios nos dan pie a pensar que la funcionalización de la tierra diatomácea con hierro y sulfato fue exitosa, modificando su superficie para introducir sitios activos.

CONCLUSIONES

La comparación entre las reacciones Tipo Fenton a pH ácido y neutro para la degradación del RO84, muestran que a pH ácido tuvo una mayor degradación. Se determinó para ambas síntesis que al aumentar la concentración de 14 mM y al utilizar las concentraciones de PCS (20 y 40 mM) ya no incrementaba su porcentaje de degradación, alcanzando hasta un 90%. A pesar de que, en ambas síntesis en pH ácido, se obtuvieron valores similares, ambas cumplen con un alto porcentaje de degradación. Sin embargo, el problema radica en los costos de producción. Ya que la síntesis dos es preparada con más reactivos, energía y tiempo. Por lo tanto, el uso de la reacción tipo Fenton en el sistema Fe/PCS para ambas síntesis, se encontró como una alternativa viable para degradar contaminantes porque son capaces de eficiencias de eliminaciones altas en un tiempo de reacción corto y un uso bajo de concentración de reactivos y desprendimiento de hierro. Por otro lado, con base en los resultados de FT-IR, se concluye que el pre-tratamiento de la tierra diatomácea resultó en una modificación química superficial exitosa. La disminución de grupos O-H y la aparición de bandas correspondientes a vibraciones Fe-O evidencian la incorporación de iones Fe^{2+} en la matriz de sílice, lo que sugiere la funcionalización de la tierra diatomácea para la introducción de sitios activos.

BIBLIOGRAFÍA

1. INEGI y CANAINTEX (2020). Colección de estudios sectoriales y regionales. (Conociendo la industrial textil y de la confección). http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/702825195649.pdf.
2. Cortazar A., Coronel C., Escalante A. y González C., (2014). Contaminación generada por contaminantes de la industria textil. https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa4/article/download/1862/5730?inlin=1.
3. Reyes S., Flor C., Tovar A. y Para E., (2019). Propuesta de diseño de una planta de tratamiento de aguas residuales para el proceso de teñido en una planta industrial textil de Lima. Recuperado de: http://repositorio.utp.edu.pe/handle/UTP/2923
4. Rodríguez-N. O., Pérez L., Yee N., Peralta-H. J. and Bandala E., (2018). Comparison between Fenton and Fenton-like reactions for L-proline degradation. Environ Sci Technol. https://doi.org/10.1007/s13762-018-1764-1.
5. Escalante-P. V. y Bandala E., (2014). Calidad de agua y su relación con alimentos: aplicación de procesos Fenton y tipo Fenton en la eliminación de contaminantes de agua. Temas selectos de ingeniería de alimentos. Vol. 8 No. 1 pp. 34-47. de: https://docplayer.es/19005773-Calidad-del-agua-y-su-relacion-con-alimentosaplicacion-de-procesos-fenton-y-tipo-fenton-en-la-eliminacion-de-contaminantesen-agua.html
6. Li S., Li D., Su F., Ren Y. and Qin G., (2014). Uniform surface modification of diatomaceous earth with amorphous manganese oxide and its adsorption characteristics for lead ions. Applied Surface Science 317, 724-729. http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.08.184.
7. Mendez L., Medina A., Manriquez J., Navarro R., Fuentes R. and Peralta J., (2020). Synthesis of microspheral structures of bismuth oxychloride (BiOCl) towards the degradation of reactive orange 84 dye with sunlight. Materials science in semiconductor processing 114. https://doi.org/10.1016/j.mssp.2020.105086.
8. Domènech X., Jardim W. y Litter M. (2001). Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes. Cap. 1, pp. 7-8. Recuperado de:

https://www.researchgate.net/publication/237764122_Procesos_avanzados_de_oxidacion_para_la_eliminacion_de_contaminantes.

9. Kastanek, F., Spacilova, M., Krystynik, P., Dlaskova, M. y Solcova, O. (2023). Reacción de Fenton: única pero aún misteriosa. Procesos , 11 (2), 432. https://doi.org/10.3390/pr11020432
10. Fischbacher, A., von Sonntag, C., y Schmidt, TC (2017). Rendimiento de radicales hidroxilo en el proceso Fenton bajo diversos pH, concentraciones de ligando y relaciones peróxido de hidrógeno/Fe(II). Chemosphere, 182, 738–744. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.05.039 10.101
11. Zhang S., Hu X., Li L., Huangfu X., Xu Y. and Qin Y., (2017). Activation of sodium percarbonate with ferreous ions for degradation of chlorobenzene in aqueous solution: mechanism, pathway and comparison with hydrogen peroxide. Environ. Chem. 14, 486-494. https://doi.org/10.1071/EN17137.6/j.chemosphere.2017.05.039
12. Miao Z., Gu X., Lu S., Dionysiou D., Al-Abed S., Zang X., Wu X., Qiu Z., Sui Q. and Danish M., (2015). Mechanism of PCE oxidation by percarbonate in a chelated Fe (II)-based catalyzed system. Chemical Engineering Journal 275, 53-62. htpp://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.04.014.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA CÁSCARA DE LIMA DULCE (*Citrus Limetta* R.)

Jesús Nicodemo González Gallegos[1], Evelia Martínez Cano[2], Rosario Guzmán García[3], Gabriela Camarillo Martínez[4].

Centro Universitario de los Lagos. Universidad de Guadalajara. Enrique Díaz de León 1144, Col. Paseos de la Montaña, C. P. 47463 Lagos de Moreno Jalisco, México.
nicodemo.gonzalez@alumnos.udg.mx

RESUMEN

Citrus limetta R., comúnmente conocida como lima dulce, pertenece a la familia Rutaceae[1]. En México, se consume por sus propiedades nutricias y organolépticas, principalmente. En la medicina tradicional mexicana se le atribuyen diversas propiedades terapéuticas, entre las que destacan la actividad antiespasmódica, diurética, humectante, antibiótica, antihipertensiva, antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante generalmente[2]. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales, así como evaluar la actividad antioxidante en el extracto metanólico de la cáscara de lima dulce. Para la obtención del extracto se pesaron 0.2 g de cáscara fresca y se adicionaron 1.4 mL de metanol, se centrifugó a 4000 rpm por 15 minutos a 4 °C. A partir del extracto, se cuantificó el contenido de fenoles y flavonoides totales, se utilizaron ácido gálico y quercetina como reactivos de referencia. Mientras que para la evaluación de la actividad antioxidante se emplearon los radicales DPPH•, ABTS•$^{+}$ y FRAP; utilizando trolox y ácido ascórbico como estándares[3, 4, 5, 6, 7]. En la cuantificación de fenoles y flavonoides totales se obtuvieron los valores de 3.93 ± 0.45 mg EAG/g y 3.24 ± 0.24 mg EQ/g de muestra fresca, respectivamente. Por otro lado, en la evaluación de la actividad antioxidante los valores obtenidos fueron 36.27 ± 3.00, 28.53 ± 0.24 µM ET/g y 0.25 ± 0.02 mg EAA/g de muestra fresca para DPPH•, ABTS•$^{+}$ y FRAP, en el orden dado. Existe una correlación positiva alta entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante del radical FRAP (R^2 = 0.5458), seguida de la actividad de DPPH• (R^2 = 0.1807). Sin embargo, entre el contenido de fenoles totales y el de flavonoides totales, así como con el radical ABTS•$^{+}$ se observó una correlación baja entre los extractos, R^2 = 0.0536 y R^2 = 0.0002, respectivamente. Lo que nos indica dicha correlación positiva alta es, que los compuestos fenólicos son los principales contribuyentes en potenciar la actividad antioxidante, inclusive en mayor medida que el ácido ascórbico[8, 9]. En base a lo anterior, se confirmó que en los extractos metanólicos de cáscara están presentes compuestos fenólicos a los que se les puede asociar con las propiedades terapéuticas que en la medicina tradicional mexicana le son atribuidas a la lima dulce. Por lo que, el empleo de la cáscara de este cítrico, es viable como una fuente natural de compuestos bioactivos por su potencial antioxidante.

INTRODUCCIÓN

Las especies vegetales que poseen propiedades curativas, han sido empleadas desde la antigüedad por las culturas ancestrales y constituido lo que hoy en día se conoce como herbolaria. Los conocimientos empíricos que fueron adquiridos por éstas a través de la experiencia y la razón posteriormente, han brindado a la sociedad actual una gama diversa de alternativas en la prevención y el tratamiento para contrarrestar los efectos causados por las enfermedades crónico-degenerativas. Esto trae consigo un cumulo de información, que da cimiento a la medicina tradicional en México y el mundo. En las últimas décadas el interés por identificar las propiedades que se les atribuyen a algunas especies ha incrementado. Siendo una de estas especies *Citrus limetta* R., originaria de las zonas tropicales y subtropicales del planeta[10, 11]. A esta especie le han sido conferidas diversidad de propiedades terapéuticas tales como antiespasmódica, diurética, por su alto contenido en vitamina C es ideal para mantener hidratada y saludable la piel, al igual que provee de protección al sistema inmunológico, siendo un excelente aliado en la prevención de enfermedades respiratorias, reumatismo y gota. Además, es coadyuvante en la regulación de afecciones que atacan el sistema cardíaco y el sistema nervioso central, ya que ésta reduce la

presión arterial y mejora la circulación, así como, modular los trastornos del sueño y regular la ansiedad, respectivamente. Estas cualidades son el resultado inequívoco de una gama de compuestos bioactivos que la constituyen químicamente, como el ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, flavonoides, ácidos fenólicos, minerales, entre otros[2, 12, 13, 14]. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue abonar al conocimiento de las propiedades antioxidantes que están presentes en los extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R., a través de la determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales, así como evaluar su actividad antioxidante.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal y obtención de extractos

Los frutos de la especie *Citrus limetta* R., fueron recolectados en la huerta "Los Mojica" ubicada en la ciudad de Lagos de Moreno, Jalisco. Se lavaron con agua del grifo, para después pasar por un segundo lavado con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente. Luego fue removida la cáscara y se cortó en trozos pequeños. Se pesaron 0.2 g de muestra y se depositaron en un tubo Eppendorf de plástico negro y se le añadió una alícuota de 0.7 mL de metanol. Posteriormente, se depositaron en una centrifuga y se procesaron a 4000 rpm a 4 °C durante 15 minutos[15]. Transcurrido el tiempo, se extrajo con ayuda de una micropipeta el sobrenadante y se depositó en otro tubo. Se repitió el procedimiento de centrifugación con la finalidad de recuperar la mayor cantidad posible de extracto metanólico, ver Figura 1; éste fue empleado para llevar a cabo las técnicas de la evaluación de la actividad antioxidante.

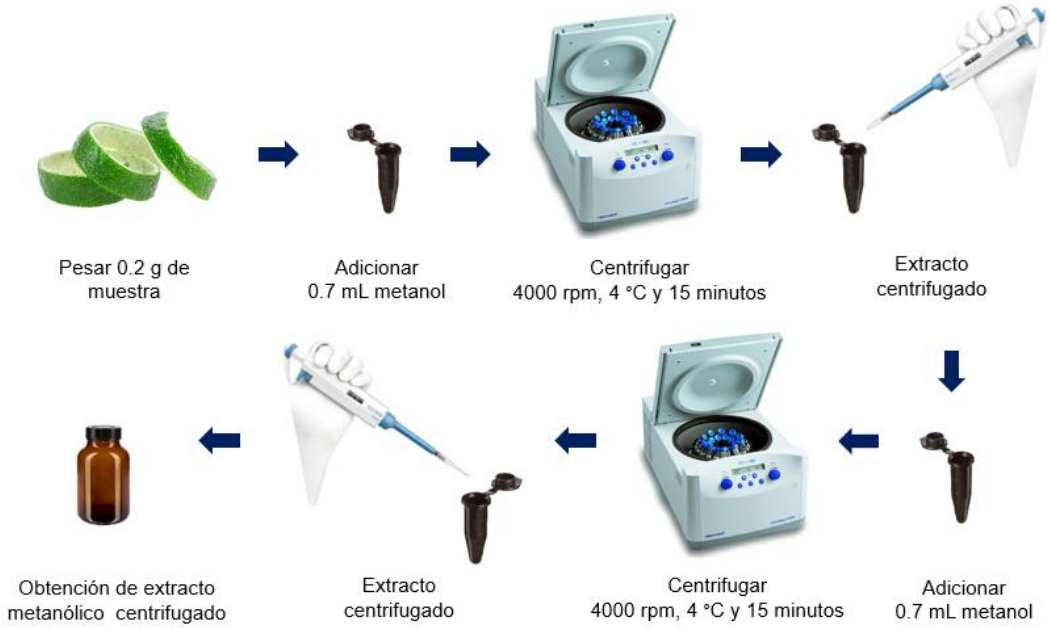


Figura 1. Obtención de extracto metanólico de cáscara de *Citrus limetta* R. por centrifugación.

Evaluación de la actividad antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante se llevó a cabo a través de la determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales, y se evaluó la actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS• y FRAP.

Determinación del contenido de fenoles totales

Para la determinación de fenoles totales, se utilizó el método de Folin-Ciocalteu[3]. El cual tiene como fundamento reducir los ácidos fosfotúngstico y fosfomolíbdico a óxidos de tungsteno y molibdeno, que visualmente ocurre como un vire de color de amarillo a azul, ver Figura 2. Momentáneamente, se tomaron 0.1 mL del extracto metanólico de cáscara y se agregaron 0.4 mL de agua destilada, 0.2 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, 1 mL de carbonato de sodio al 7% y 1.2 mL de agua destilada. Se dejo reposar la mezcla en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos y se determinó la absorbancia a 765 nm. Se construyó una curva de calibración de ácido gálico y los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra fresca (mg EAG/g m.f.). Se realizaron tres experimentos por triplicado.

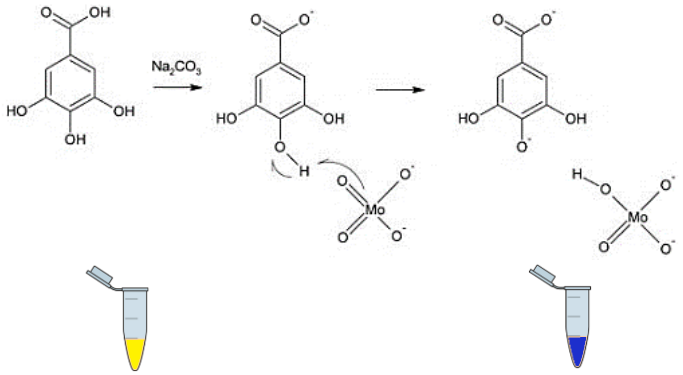


Figura 2. Mecanismo de reacción del método de Folin-Ciocalteu.

Determinación del contenido de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales, se realizó mediante el ensayo colorimétrico del cloruro de aluminio descrito por Liu *et. al*. (2002)[4], empleando como solución patrón quercetina, donde los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de quercetina por gramo de muestra fresca (mg EQ/g m.f.), ver Figura 3. A una alícuota de 0.1 mL de extracto metanólico de cáscara se le adicionaron 0.4 mL de agua destilada, 0.15 mL de nitrito de sodio al 5%, 0.3 mL de cloruro de aluminio al 10%, 0.5 mL de hidróxido de sodio 1 M y 1.5 mL de agua destilada. Pasado el tiempo de la reacción, se midió la absorbancia a 510 nm. Se realizaron tres experimentos por triplicado.

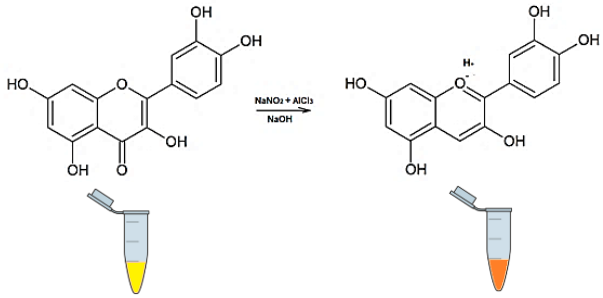


Figura 3. Mecanismo de reacción del ensayo colorimétrico del cloruro de aluminio.

Evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH

La capacidad de capturar radicales presentes en un medio químico, se basa en una característica principal, el radical DPPH• es una molécula estable, cuando el radical está ante un compuesto antioxidante que dona uno de sus átomos de hidrógeno, resultará en la reducción del radical DPPH•

y por ende en un cambio de color de violeta a amarillo que absorbe a 517 nm[5], ver Figura 4. Se tomó una alícuota del extracto metanólico de la cáscara de 0.1 mL, 0.05 mL de metanol y se le adicionaron 2.85 mL de la solución del radical DPPH• 150 µM, se dejó reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos en la oscuridad y se midió la absorbancia a la longitud de onda antes mencionada. Se realizaron tres experimentos por triplicado. Los resultados fueron expresados como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra fresca (µM ET/g m.f.).

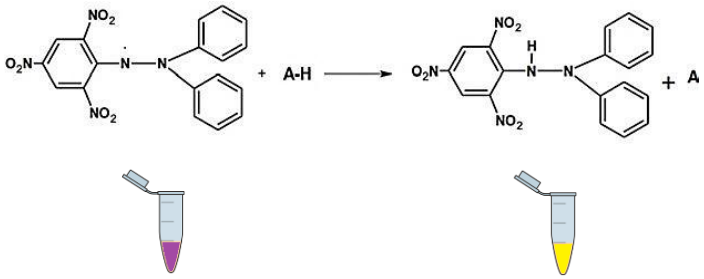


Figura 4. Mecanismo de reacción del método DPPH.

Evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS•

La habilidad de capturar radicales en un medio químico, se presenta cuando al mezclar un compuesto antioxidante este done un átomo de hidrógeno para estabilizar el radical libre en su forma catiónica, por ejemplo, al hacer interaccionar el ABTS con una solución de persulfato de potasio se reduce a su radical catiónico ABTS•$^{+}$, este suceso es visualmente percibido como un vire en la coloración a verde azulado, siendo este una molécula estable y soluble en solventes como el metanol[6], ver Figura 5. Se tomó una alícuota del extracto metanólico de la cáscara de 0.05 mL, 0.45 mL de metanol al 80% y 2.4 mL de la solución del radical ABTS•$^{+}$ 7500 µM, la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos y se midió la absorbancia a 734 nm. Se realizaron tres experimentos por triplicado. Los resultados fueron expresados como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra fresca (µM ET/g m.f.).

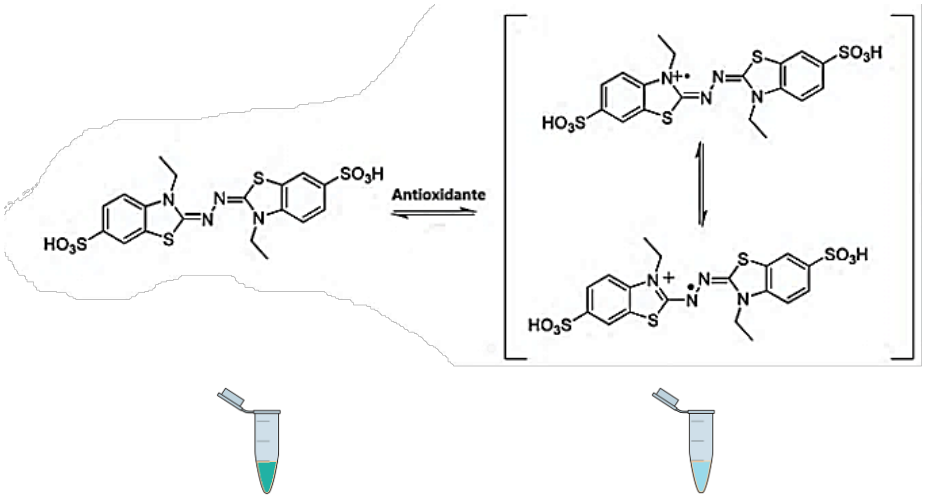


Figura 5. Mecanismo de reacción del método ABTS•.

Evaluación de la actividad antioxidante por el método FRAP

El poder reductor está relacionado con el grado de hidroxilación y conjugación en compuestos fenólicos. Por esta razón, la capacidad de reducir el ion férrico (Fe^{3+}) presente en el complejo con TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) hasta su forma ferrosa (Fe^{2+}) deja de manifiesto el potencial

antioxidante, formando un complejo de color azul que tiene un máximo de absorbancia a 700 nm[7], ver Figura 6. Se tomó una alícuota del extracto metanólico de la cáscara de 0.1 mL, 0.2 mL de agua destilada y 2.7 mL de la solución del radical FRAP. Pasado el tiempo de la reacción, se midió la absorbancia a la longitud de onda antes mencionada. Se construyó una curva de calibración de ácido ascórbico y los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por gramo de muestra fresca (mg EAA/g m.f.). Se realizaron tres experimentos por triplicado.

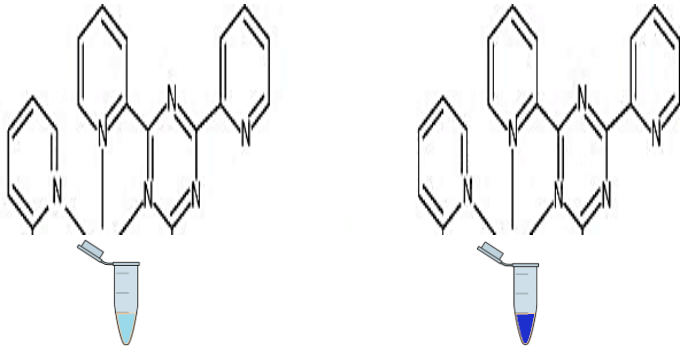


Figura 6. Mecanismo de reacción del método FRAP.

RESULTADOS

En el Cuadro 1, se presentan los resultados de la determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales, así como la evaluación de la actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS• y FRAP de los extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R.

Cuadro 1. Resultados obtenidos en los extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R.

Extracto metanólico	Fenoles totales (mg EAG/g m.f.)	Flavonoides totales (mg EQ/g m.f.)	Método DPPH (µM ET/g m.f.)	Método ABTS• (µM ET/g m.f.)	Método FRAP (mg EAA/g m.f.)
Cáscara	3.93 ± 0.45	3.24 ± 0.24	36.27 ± 3.00	28.53 ± 0.24	0.25 ± 0.02
Nota: Los valores están representados como media ± desviación estándar con n=3, por triplicado.					

Fenoles y flavonoides totales

El contenido de fenoles totales respecto al de flavonoides totales, resultó ser mayor, ya que se obtuvo un valor de 3.93 ± 0.45 mg EAG/g m.f. en comparación con los 3.24 ± 0.24 mg EQ/g m.f. del contenido de flavonoides totales en los extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R., lo cual podría atribuirse a que en el extracto estén presentes más fenoles que flavonoides; y haya mayor diversidad de compuestos fenólicos, más allá de los flavonoides, que pueden contribuir al potencial antioxidante total del extracto[16, 17, 18].

En un estudio realizado por Pérez-Nájera *et al*. (2013), reportaron que el contenido de fenoles totales fue de 8.79 mg EAG/g ms en extractos metanólicos de harina de cáscara[19]. Mientras que Kuljarachanan *et al*. (2009), reportaron un valor de 8.11 mg EAG/g ms mediante extracción con agua-acetona (1:1 v/v)[20]. Por otro lado, Escobar-Blanco (2010), reportó un valor de 6.62 g EAG/g ms en extractos etanólicos al 80%[21]. En comparación con los datos obtenidos en esta investigación, los valores reportados por los autores antes mencionados fueron superiores respecto al contenido de fenoles totales.

Respecto al contenido de flavonoides totales, Pérez-Nájera *et al*. (2013), reportaron un valor de 14.32 mg EQ/g ms[19], que en comparación al obtenido en este estudio resultó ser muy superior. No obstante, Escobar-Blanco (2010), analizó de manera individual dos tipos de flavonoides diferentes

en extractos etanólicos, donde reportó los valores de 0.17 mg de quercetina/g para hesperidina y 1.32 mg de quercetina/g para naringina[21], ambos valores están por debajo del resultado obtenido en este estudio.

Actividad antioxidante

En la cuantificación de la capacidad captadora de los radicales DPPH• y ABTS•$^{+}$ se obtuvieron los valores de 36.27 ± 3.00 y 28.53 ± 0.24 µM ET/g m.f., respectivamente. En contraste con Ordoñez-Gómez *et al*. (2018) por el método DPPH, reportaron para muestras de cáscara de lima dulce un valor de 3.06 ± 0.94 mg/mL con IC_{50}, el cual resultó ser casi tres veces menor al obtenido en este estudio. En lo que respecta al dato obtenido por el método ABTS•, reportaron un valor de 336 ± 15 µg/mL[22] con IC_{50}, el cual resultó ser muy inferior al obtenido en este estudio. Mientras que Muthiah *et al*. (2012), reportaron un valor de 70.08 ± 0.93 µg/mL[23] con IC_{50}, que comparado al obtenido en este estudio resultó ser mayor.

En lo que al resultado obtenido del radical FRAP se refiere, en un estudio de Muthiah *et al*. (2012), reportaron un valor de 445.08 ±1.08 µg/ml a través de extracción con etanol-agua (6:4 v/v)[23], que comparado con el valor obtenido en este trabajo resulto ser casi dos veces mayor.

Por último, con los valores obtenidos en esta investigación, se realizó una correlación entre el contenido de fenoles y flavonoides totales, y la actividad antioxidante en los extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R., ver Figura 7.

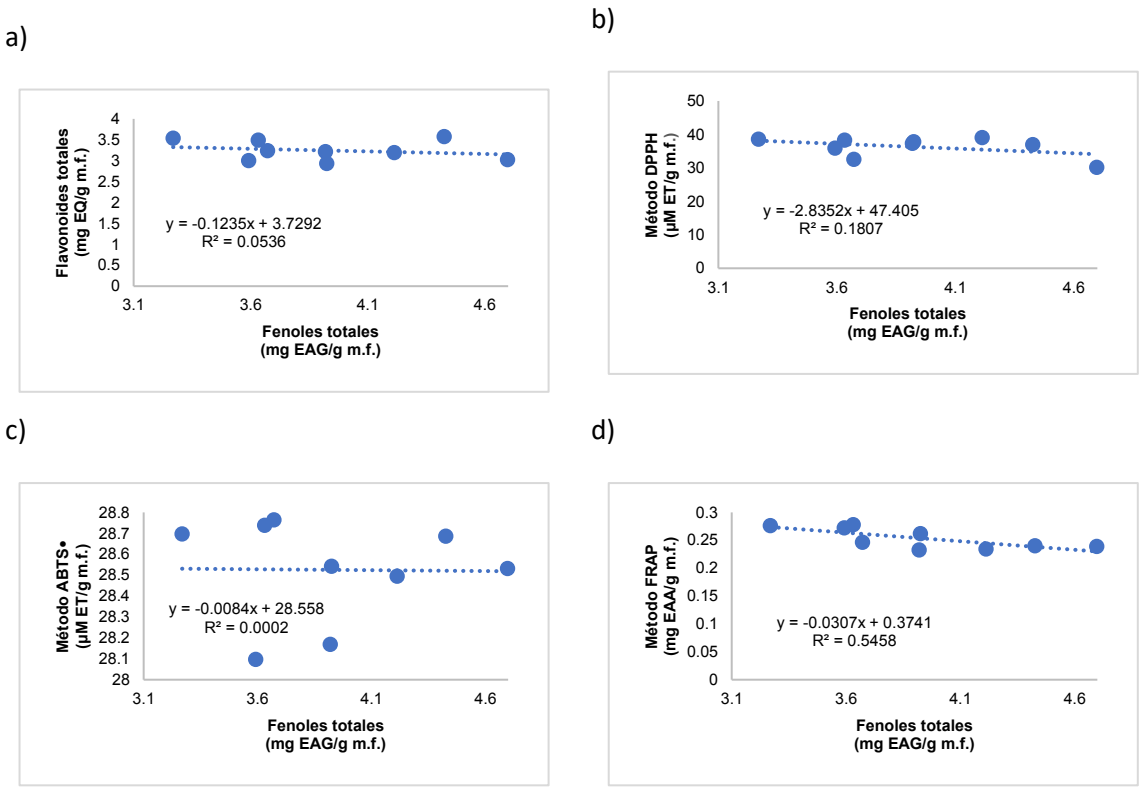


Figura 7. Correlación entre el contenido de fenoles y flavonoides totales, y evaluación de la actividad antioxidante en extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R.: a) fenoles totales vs flavonoides totales, b) fenoles totales vs método DPPH, c) fenoles totales vs método ABTS•, d) fenoles totales vs método FRAP.

En el cuadro 2, se muestra como prevalece una correlación positivamente más alta entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante del radical FRAP (R^2 = 0.5458), seguida de la correlación del radical DPPH• (R^2 = 0.1807), el contenido de flavonoides totales y por último con la del radical ABTS•$^+$, R^2 = 0.0536 y R^2 = 0.0002, respectivamente.

Cuadro 2. Correlación entre el contenido de fenoles y flavonoides totales, y la actividad antioxidante en los extractos metanólicos de cáscara de *Citrus limetta* R.

Extractos metanólicos	Coeficiente de correlación (R^2)			
	Fenoles totales vs Flavonoides totales	Fenoles totales vs DPPH•	Fenoles totales vs ABTS•$^+$	Fenoles totales vs FRAP
Cáscara	0.0536	0.1807	0.0002	0.5458

La correlación positiva entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante, está relacionada con la capacidad que presentan estos compuestos bioactivos de dirigir la acción antioxidante incluso más que el ácido ascórbico. Esto se debe a la capacidad que presentan estos compuestos de neutralizar los radicales libres y así proteger a las células de daños oxidativos en el organismo y prevenir el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas[8, 9].

CONCLUSIONES

La cáscara de la lima dulce, es una fuente rica en compuestos bioactivos, a los que le son atribuidos en la medicina tradicional mexicana una amplia diversidad de propiedades terapéuticas, como lo es su acción antioxidante. Sin embargo, es necesario que se lleven a cabo más investigaciones en las que se profundicen temas relacionados a su composición química, extracción y caracterización de metabolitos presentes en la cáscara de *Citrus limetta* R., mediante las cuales sea posible evidenciar las propiedades medicinales con las que se le asocia, y a su vez esto permita que sean ampliamente utilizadas en diversos campos como la industria alimentaria, la investigación y formulación farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. K. Kubitzki, J. A. Kallunki, M. Duretto, P. G. Wilson, “Rutaceae. The families and genera of vascular plants. X. Flowering plants”, Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Berlin: Springer, 2011, pp. 276-356.
2. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. 2009. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Lima. Disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=citrus-limetta Accesado el 24/04/2025.
3. V. L. Singleton, J. A. Rossi, “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents”, A. M. J. Enol. Vitic., Vol. 16, 1965, pp. 144-58.
4. J. X. Liu, J. Yao, B. J. Yan, Z. Q. Shi, X. Q. Wang, J. Q. Yu, “Mulberry leaf supplement for sheep fed ammoniated rice straw”, FAO Animal Production and Health Paper, Vol. 147, 2002, pp. 189-201.
5. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset, “Use of free radical method to evaluate antioxidant activity”, Lebensmittel Wissenschaft und Thecnologie, Vol. 28, 1995, pp. 25-30.
6. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, Free Radic. Biol. Med., Vol. 26, 1999, pp. 1231-1237.
7. I. F. F. Benzie, J. J. Strain, “The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay”, J. Anal. Biochem., Vol. 239, 1996, pp. 70-76.

8. G. A. Manganaris, V. Goulas, A. R. Vicente, L. A. Terry, “Berry antioxidants: Small fruits providing large benefits”, Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 94, 2013, pp. 825-833.
9. F. G. D. Silva, Y. O’Callagahan, N. M. O’Brien, F. M. Netto, “Antioxidant capacity of flaxseed products: The effect of in vitro digestion”, Plant Foods for Human Nutrition, Vol. 68, 2013, pp. 24-30.
10. P. L. Muthiah, “In vitro xanthine oxidase inhibitory activity of leaves, fruits and peel extracts of *Citrus aurantium*, *Citrus limetta* and *Citrus limon*”, International Journal of Phytopharmacy, Vol. 2, 3, 2012, pp.77-80.
11. V. A. Argueta, “*Citrus limetta*” in *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana* (Instituto Nacional Indigenista, A. L. Cano, M. E. Rodarte, Eds. Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana, México, 1994), pp. 902-903.
12. S. Rafiq, R. Kaul, S. A. Sofi, N. Bashir, F. Nazir, G. A. Nayik, “Citrus peel as a source of functional ingredient: a review”, Journal of the Saudi Society of Agriculture Sciences, Vol. 17, 2018, pp. 351-358.
13. K. A. Elkhatim, R. A. A. Elagib, A. B. Hassan, “Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese citrus fruits”, Food Science & Nutrition, Vol. 6, 2018, pp. 1214-1219.
14. A. Czech, E. Zarycka, Z. Yanovych, Z. Zasadna, I. Grzegorczyk, S. Klys, “Mineral content of the pulp and peel of various citrus fruit cultivars”, Biological Trace Element Research, Vol. 193, 2, 2020, pp. 555-563.
15. C. L. Del Toro-Sánchez, A. Lara-Rodríguez, L. F. Jave-Suárez, L. Ramos-Zavala, M. Gutiérrez-Lomelí, A. Rodríguez-Sahagún, O. A. Castellanos-Hernández, P. J. Guerrero-Medina, J. A. Morales-Del Río, “Extractos de *Anemopsis califórnica* contra líneas celulares cancerosas”, VIII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. León, Guanajuato, México, 2011, pp.1-5.
16. M. Bahmani, K. Saki, S. Shahsavari, M. Rafieian-Kopaei, R. Sepahvand, A. Adineh, “Identification of medicinal plants effective in infectious diseases in Urmia, northwest of Iran”, Asian Pacific J. Tropical Biomedicine, Vol. 5, 10, 2015, pp. 858-864.
17. D. A. Martín, “Los compuestos fenólicos: Un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica”, Revista de Investigación Agraria y Ambiental, Vol. 9, 1, 2018, pp. 81-104.
18. M. G. Retuerto-Figueroa, E. Ramos-Lica, A. R. Gorriti-Gutiérrez, T. Gallardo-Jugo, E. Ortega-Romero, M. Calixto-Cotos, M. Cosquillo-Rafael, C. Fuertes-Ruiton, F. Quispe-Jacobo, U. Villafuerte-Montes, “Estudio farmacognóstico, antioxidante y citotóxico de *Sinningia warmingii* (papa madre)”, Revista de Toxicología, Vol. 37, 1, 2020, pp. 6-10.
19. V. C. Pérez-Nájera, E. C. Lugo-Cervantes, M. Gutiérrez-Lomelí, C. L. Del Toro-Sánchez, “Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima (*Citrus limetta* Risso) y determinación de su actividad antioxidante”, Biotecnia, Vol. 15, 3, 2013, pp. 18-22.
20. T. Kuljarachanan, S. Devahastin, N. Chiewchan, “Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying”, Food Chemistry, Vol. 113, 2009, pp. 944-949.
21. M. Escobar-Blanco, “Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México”, (Instituto Politécnico Nacional, México, 2010), Tesis pp. 42.
22. E. S. Ordoñez-Gómez, D. Reátegui-Díaz, J. E. Villanueva-Tiburcio, “Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos”, Scientia Agropecuaria, Vol. 9, 1, 2018, pp. 113-121.
23. P. L. Muthiah, M. Umamaheswari, K. Asokkumar, “*In vitro* antioxidant activities of leaves, fruits and peel extracts of citrus”, International Journal of Phytopharmacy, Vol. 2, 1, 2012, pp. 13-20.

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE BACTERIAS RESISTENTES A METALES PESADOS Y ANTIBIOTICOS

José Luis Ortiz Rivera[1], Rubén Octavio Méndez Márquez[1], Jesús Frausto Rojas[1]

[1]Programa Académico de Químico Farmacéutico Biólogo, Unidad Académica de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Zacatecas, Campus UAZ S. XXI, Carretera Zac.-Gdl., Km 6. s/n, Ejido La Escondida.
20202354@uaz.edu.mx

RESUMEN

La exposición de microorganismos a agentes tóxicos en el ambiente ha permitido la aparición y la selección de bacterias que han desarrollado genes de resistencia a antibióticos y metales pesados para tolerar los efectos nocivos de dichos compuestos.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias han desarrollado diferentes mecanismos de resistencia como método de supervivencia al encontrarse en medios contaminados. Existe presencia de bacterias incluso en lugares donde las concentraciones de agentes tóxicos son elevadas. Diversos estudios han reportado que en jales mineros existen cantidades alarmantes y persistencia de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT) dejando como resultado suelos contaminados, donde más tarde la mancha urbana se extenderá y las personas quedarán expuestas directa o indirectamente a estos agentes dañinos. El estado de Zacatecas está constituido con más de 15 distritos mineros y otras tantas zonas mineras potencialmente explotables (SGM, 2016). Históricamente, las actividades mineras han generado residuos de granulometría fina. El residuo sólido no consolidado se deposita en el suelo en grandes extensiones de terreno y queda recubierto por capas sucesivas de este material y se denomina “presa de jales” (Arredondo-Solórzano R, 2016). En la actualidad el jale minero en Zacatecas se ha dispersado a distintas zonas de la ciudad, entre ellas la denominada "Vialidad Manuel Felguérez".

TEORÍA

Antibióticos

Los antibióticos son compuestos químicos, producidos naturalmente por el metabolismo de ciertos organismos vivos, como hongos y bacterias, o sintetizados artificialmente, que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o eliminar microorganismos patógenos. Estos compuestos son esenciales en el tratamiento de infecciones bacterianas, pero su uso inadecuado ha contribuido al creciente problema de la resistencia antimicrobiana. Según la Organización Mundial de la Salud (2024), algunas bacterias resistentes a los antibióticos incluyen *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae*, las cuales representan un desafío significativo para la salud pública mundial debido a su capacidad de evadir tratamientos convencionales. Según su origen, los antibióticos pueden ser:

- Biológicos (naturales): sintetizados por organismos vivos, ej. Penicilina, Cloranfenicol.
- Semisintéticos: obtenidos por modificación química de antibióticos naturales, ej. Ampicilina.
- Sintéticos: generados mediante síntesis química, ej. sulfas (Centrón, 2018).

Metales pesados

Los metales pesados son elementos persistentes, imperceptibles y potencialmente tóxicos para el ser humano, aun en concentraciones pequeñas. Se deben dar a conocer las características y efectos de estos contaminantes para combatir la desinformación y regular su presencia en el ambiente

(Mayra Ramírez Cota, 2023). A la fecha, se han descrito géneros bacterianos capaces de tolerar, bioacumular y biotransformar metales pesados: de los que sobresalen *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Enterobacter* sp., *Rhodobacter* sp., *Agrobacterium* sp., entre otros (Amairani Santana-Flores, 2020).

La contaminación por metales pesados se ha extendido ampliamente por todo el mundo, cualquier especie de metal (o metaloide) puede considerarse un ‘‘contaminante’’ si se encuentra donde no es deseado, en forma o concentración que perturbe el medio ambiente u ocasione graves riesgos para la salud de los seres humanos. Estos pueden ingresar al entorno naturalmente (erosión del suelo, la meteorización natural), ya que están presentes en la corteza terrestre, pero las actividades como; minería, efluentes industriales, escorrentías urbanas, descargas de aguas residuales, agentes de control de insectos o enfermedades, han provocado cambios drásticos en sus ciclos geoquímicos. Desde la revolución industrial y la globalización económica, la diversidad de contaminantes ambientales ha aumentado exponencialmente, con innumerables fuentes antropogénicas, estos metales pesados entonces se acumulan en diferentes partes de las plantas, causando diversos efectos nocivos para la salud humana (Rai, Epub 2019 Feb 8).

Resistencia bacteriana

La unión del metal a la parte extracelular inmoviliza los metales y así evita la entrada a la célula. Los metales se unen a la superficie celular a través de mecanismos que incluyen interacciones electrostáticas, fuerzas de Van de Waals, unión covalente, interacciones redox, precipitación extracelular o la combinación de esos procesos.

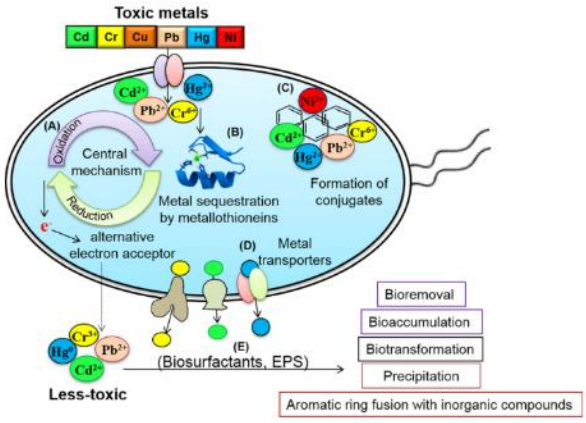


Figura. 1. Mecanismos bacterianos extracelulares e intracelulares para el manejo de metales pesados. (Das, 2016)

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron muestreos de tipo aleatorio por conveniencia en diversos puntos con cercanía a relaves mineros con presencia de flora nativa, con la finalidad de obtener aislados bacterianos que pudieran presentar el fenómeno de corresistencia. Se recolecto material en condiciones de esterilidad y se transportó en refrigeración para su posterior análisis. Se realizaron primo aislamientos en medios de proliferación, descripción macroscópica y microscópica mediante tinción Gram. Se utilizaron medios selectivos como agar sal y manitol, agar MacConkey y agar cetrimida. Conforme a los tipos de colonias obtenidas y su reacción a la tinción Gram se procedió a su identificación por medio del algoritmo de la plataforma electrónica ABIS online. Se seleccionaron las pruebas de identificación metabólica a realizar para su posterior identificación taxonómica. Los géneros bacterianos identificados se sometieron a pruebas de susceptibilidad a fármacos y a metales pesados para confirmar su corresistencia.



Figura 2. Recolecta de muestra. (LABISER, 2024)



Figura 3. Toma de Muestra.

MUESTRA	COORDENADAS	TEMPERATURA	HORA	FECHA
Muestra 1	22.77806° N, 102.59526° W	26°C	16:55	14/02/2025
Muestra 2	22.77870° N, 102.59567° W	26°C	17:00	14/02/2025
Muestra 3	22.77867° N, 102.59571° W	26°C	17:08	14/02/2025
Muestra 4	22.77915° N, 102.59539° W	26°C	17:16	14/02/2025
Muestra 5	22.77931° N, 102.59538° W	26°C	17:28	14/02/2025
Muestra 6	22.77945° N, 102.59568° W	26°C	17:33	14/02/2025

Tabla 1. Condiciones, hora y fecha del primer muestreo de investigación.

MUESTRA	COORDENADAS	TEMPERATURA	HORA	FECHA
Muestra 1	22,78637° N, 102,60961° O	30°C	17:29	30/05/2025
Muestra 2	22,78591° N, 102,60897° O	30°C	17:34	30/05/2025
Muestra 3	22,78585° N, 102,60861° O	30°C	17:38	30/05/2025
Muestra 4	22,78579° N, 102,60830° O	30°C	17:44	30/05/2025
Muestra 5	22,78584° N, 102,60877° O	30°C	17:50	30/05/2025
Muestra 6	22,78595° N, 102,60919° O	30°C	17:53	30/05/2025

Tabla 2. Condiciones, hora y fecha del segundo muestreo de investigación.



Figura 4. Flujograma de la metodología implementada (fuente propia).

RESULTADOS

Los resultados del primer muestreo revelaron la capacidad de las bacterias aisladas para tolerar metales pesados en condiciones controladas. En el agar nutritivo suplementado con $HgCl_2$, se observó un crecimiento significativo de colonias bacterianas (Figura 5). De manera similar, en el agar suplementado con $ZnSO_4$, se detectaron colonias viables, lo que indica resistencia a este compuesto (Figura 6). Asimismo, en el agar nutritivo suplementado con $Pb(NO_3)_2$, las bacterias mostraron crecimiento y resistencia, como se evidencia en la Figura 7. Estos hallazgos sugieren una

notable adaptabilidad de las cepas bacterianas a ambientes contaminados con metales pesados, lo que respalda los objetivos iniciales de la investigación.



Figura 5. Agar nutritivo suplementado con $HgCl_2$. Primer muestreo.

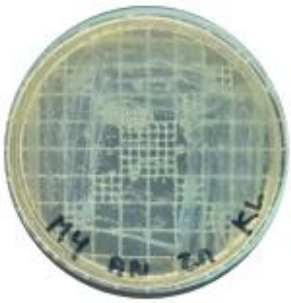


Figura 6. Agar nutritivo suplementado con $ZnSO_4$. Primer muestreo.

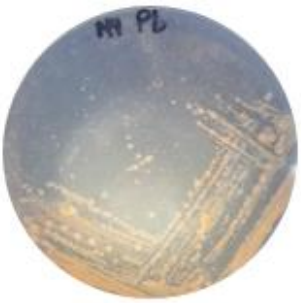


Figura 7. Agar nutritivo suplementado con $Pb(NO_3)_2$. Primer muestreo.

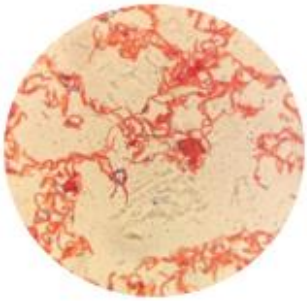


Figura 8. Bacilo gramnegativo de posible *Serratia spp.* Primer muestreo.



Figura 9. Bacilo gramnegativo de posible *Pseudomonas spp.* Primer muestreo.

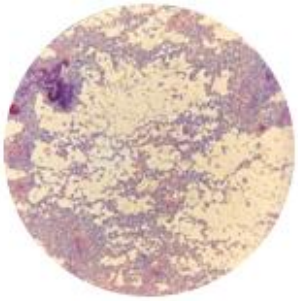


Figura 10. Cocos grampositivos. Primer muestreo.



Figura 11. Pruebas Bioquímicas manuales.



Figura 12. Interfaz de la plataforma ABIS.[4]

Las tinciones de Gram revelaron la presencia de bacilos gramnegativos y cocos grampositivos en las muestras analizadas (Figuras 8, 9 y 10). Posteriormente, se realizaron pruebas bioquímicas manuales para caracterizar las cepas bacterianas, incluyendo ensayos de motilidad, oxidasa, catalasa, ADNasa, reducción de nitratos, producción de indol, utilización de citrato, desaminación de fenilalanina, y fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y manitol, entre otros. Los resultados, analizados mediante la plataforma ABIS, indicaron una probabilidad del 58.9% de identificar Serratia spp., mientras que otras de las cepas mostraron una probabilidad del 93% de corresponder a Citrobacter rodentium o Shigella sonnei (Figura 12). Estos hallazgos sugieren una diversidad de

perfiles bioquímicos en las bacterias aisladas, lo que respalda la caracterización fenotípica realizada en el estudio.

Pruebas	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Orritina descarboxilasa	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Fenilamina	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Catalasa	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Manitol	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
VP	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Glucosa	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Lactosa	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
H_2S	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Lisina descarboxilasa	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Triple azúcar	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Motilidad	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Indol	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Sulfato de hierro	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Oxidasa	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hidrolisis de gelatina	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Tabla 3. Resultados de las pruebas bioquímicas manuales realizadas en el primer muestreo.

El segundo muestreo se realizó en la vialidad “el bote”, en la que se recolectaron 6 muestras. Después de procesarlas por diluciones 1:10 en serie por triplicado, se sembró 1 mL de la muestra en agar nutritivo.

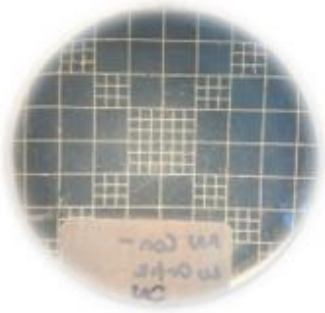


Figura 13. Control negativo, agar nutritivo segundo muestreo.

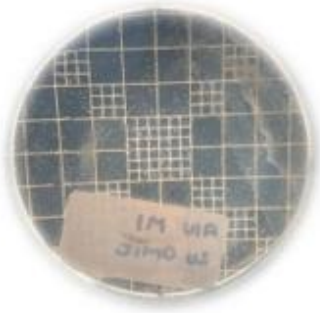


Figura 14. Muestra 1, agar nutritivo segundo muestreo.

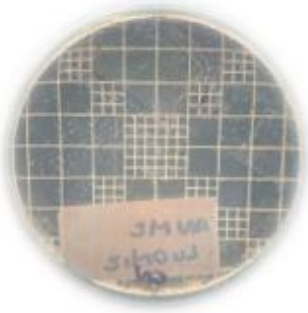


Figura 15. Muestra 3, agar nutritivo segundo muestreo.

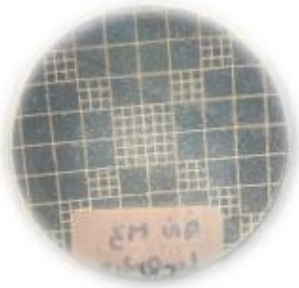


Figura 16. Muestra 3, agar nutritivo segundo muestreo.

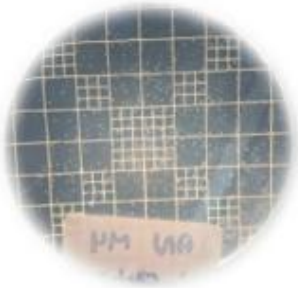


Figura 17. Muestra 4, agar nutritivo segundo muestreo.

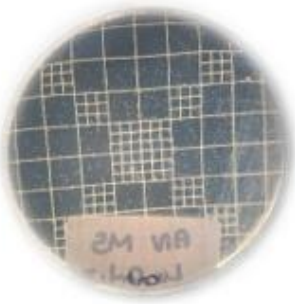


Figura 18. Muestra 5, agar nutritivo segundo muestreo.

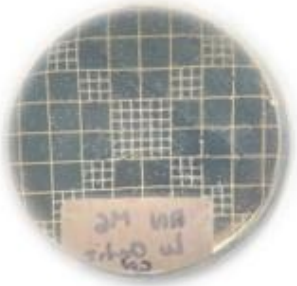


Figura 19. Muestra 6, agar nutritivo segundo muestreo.

CONCLUSIONES

La exposición de microorganismos a agentes tóxicos, como metales pesados en jales mineros, ha favorecido la selección de bacterias con genes de resistencia a estos compuestos, así como a antibióticos, evidenciando el fenómeno de corresistencia. Este estudio identificó cepas bacterianas resistentes a $HgCl_2$, $ZnSO_4$ y $Pb(NO_3)_2$, con perfiles bioquímicos que sugieren la presencia de Serratia spp., Citrobacter rodentium y Shigella sonnei, entre otras, en muestras de suelos contaminados de Zacatecas, un estado clave en la actividad minera nacional e internacional. Estos hallazgos destacan el impacto de la contaminación minera en la salud ambiental y humana, al contribuir al desarrollo de bacterias multirresistentes que podrían exacerbar las infecciones polifarmacorresistentes. La caracterización de estas bacterias abre la posibilidad de explorar su uso en procesos de biorremediación, ofreciendo una alternativa sostenible para mitigar la contaminación por metales pesados en regiones mineras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arredondo-Solórzano, R. J., Aguilar-Méndez, M. J., & Noriega-Luna, B. (2016). Aislamiento y caracterización de microorganismos nativos de muestras de suelos contaminados con residuos mineros. Divulgación Científica, 2(1), 522–526.

2. Centrón, D. (2018). Antibióticos. CONICET.

3. Das, S., Dash, H. R., & Chakraborty, J. (2016). Genetic basis and importance of metal resistant genes in bacteria for bioremediation of contaminated environments with toxic metal pollutants. Applied Microbiology and Biotechnology, 100(7), 2967–2984. https://doi.org/10.1007/s00253-016-7365-2

4. LABISER. (2024). Metodología de toma de muestras de suelo. https://labiser.es/metodologia-de-toma-de-muestras-de-suelo/

5. Online, A. (2025). ABIS. https://www.tgw1916.net/bacteria_logare_desktop.html

6. Organización Mundial de la Salud. (2024). Organización Mundial de la Salud. https://www.who.int/es

7. Rai, P. L. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. Environment International, 125, 365–385. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067

8. Ramírez Cota, M., Escobar Sánchez, O., & Betancourt Lozano, M. (2023). Metales pesados: Antagonistas de la salud en México. Ciencia, 4–5.

9. Santana-Flores, A., Sánchez-Ayala, A., Romero-Ramírez, Y., Toledo-Hernández, E., Ángel Ortega, S.-A., & Toribio-Jiménez, J. (2020). Aislamiento e identificación de bacterias tolerantes y bioacumuladoras de metales pesados, obtenidas de los jales mineros El Fraile, México. Terra Latinoamericana, 67–75.

10. Servicios Geológico Mexicano. (2016). Metales pesados de la presa Pedernalillo, en la región La Zacatecana, Guadalupe, ZAC. http://www.sgm.gob.mx/pdfs/26-_2%20MET_PES_PEDER_GEOL_MED_FEB_16.pdf

OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO SECO DE HOJA DE PIRUL (*Schinus Molle* L.) MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN

Maria Mariana González Urrieta[1], Marco Antonio Gutiérrez García[1], Maria del Cisne Guamán-Balcázar[2], Violeta Carpintero-Tepole[3], Lucio Abel Vázquez-León[3], José Arturo Olguín-Rojas[1]

[1]Ingeniería en Procesos Bioalimentarios, Universidad Tecnológica de Tecamachalco. Avenida Universidad Tecnológica 1, Col. La Villita, CP. 75483 Tecamachalco, Puebla, México. [2]Departamento de Química, Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto sn, AP 1101608, Loja, Ecuador. [3]Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tehuacán. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Libramiento Tecnológico SN. C.P. 75770. Tehuacán, Puebla, México.

j.a.olguin.rojas@personal.uttecam.edu.mx

RESUMEN

Los extractos de hojas de pirul (*Schinus molle* L.) contienen compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana. Sin embargo, para mejorar la estabilidad y vida útil de estos compuestos bioactivos, es necesario utilizar técnicas de transformación como el secado por aspersión. Este método facilita el almacenamiento y transporte, además de proteger los compuestos sensibles de la degradación y mejorar su estabilidad térmica. El objetivo del presente estudio fue establecer las condiciones de extracción asistida por ultrasonido para obtener un extracto de hojas de pirul con contenido significante de flavonoides totales (FT), y evaluar su retención después del secado por aspersión. Primeramente, la maceración asistida por ultrasonido se realizó a 40 °C y 30 min para evaluar el efecto de diferentes proporciones de etanol:agua (100:0, 80:20, 60:40, 20:80 y 0:100) sobre el contenido de FT. Una vez seleccionado el disolvente, se evaluó el efecto del tiempo. Para la obtención del extracto seco, se utilizó un secador por aspersión a 120 y 60°C de temperatura del aire de entrada y salida, respectivamente. Se evaluó el efecto de dos materiales encapsulantes, maltodextrina y almidón de malanga, sobre la retención de FT y las propiedades fisicoquímicas del polvo resultante. La cuantificación de FT se llevó a cabo mediante el método de $AlCl_3$. Los resultados mostraron que el disolvente más eficiente para la extracción de FT fue etanol al 40%, con un tiempo óptimo de extracción de 10 min. En cuanto a la retención de FT en el proceso de secado por aspersión, se obtuvieron valores de 25.54 ± 0.87 mg equivalentes de quercetina (EQ)/g utilizando maltodextrina como encapsulante, mientras que con almidón de malanga se logró una retención superior de 44.63 ± 1.05 mg EQ/g. Asimismo, se determinaron los contenidos de humedad de las partículas encapsuladas, obteniendo valores de 3.9 ± 0.15% y 3.3 ± 0.04% para maltodextrina y almidón de malanga, respectivamente. Con los resultados obtenidos se puede concluir que la extracción asistida por ultrasonido es un método eficiente para la recuperación de FT a partir de hojas de pirul. El almidón de malanga es un material encapsulante más efectivo que la maltodextrina, ya que permitió una mayor retención de flavonoides.

INTRODUCCIÓN

El pirul (*Schinus molle* L.) es una planta ornamental perenne con diversas propiedades biológicas y usos en medicina popular (Martins et al., 2014). Diversas investigaciones han abordado aspectos como la composición química de las hojas y la actividad citotóxica de los extractos (Garzoli et al., 2019; Santos Cavalcanti et al., 2015). El extracto de pirul ha demostrado tener actividad antioxidante y antimicrobiana, entre otros beneficios (Da Silva et al., 2023). Por lo tanto, resulta crucial para los agricultores y la comunidad en general explorar y aprovechar el potencial económico que ofrecen los extractos a partir del pirul. En el Estado de Puebla, el pirul se encuentra ampliamente distribuido y se utiliza principalmente como “cerca viva” en zonas agrícolas, lo que indica que su aprovechamiento actual es limitado. En este contexto, la Estrategia de Bioeconomía Circular y Social 2023 del Estado de Puebla propone reducir y valorizar residuos agrícolas, e identificar recursos biológicos con potencial de uso sostenible en los ámbitos ambiental, social y económico. Esta

estrategia promueve nuevos modelos productivos orientados a la fabricación de bioinsumos y productos sustitutos de derivados petroquímicos, tales como biofármacos y biocosméticos (Zenil et al., 2023). Una alternativa tecnológica para la valorización de compuestos bioactivos contenidos en matrices vegetales es la obtención de extractos secos mediante procesos de extracción y encapsulación. El secado por aspersión es una técnica de encapsulación ampliamente utilizada para convertir extractos líquidos de hojas en polvos estables y fáciles de manipular. Este proceso mejora la estabilidad, el transporte y el almacenamiento de los extractos secos de plantas, a la vez que preserva compuestos frente a factores como oxígeno, pH, temperatura y humedad, que podrían afectar su estabilidad para su uso en aplicaciones alimentarias, farmacéuticas y nutracéuticas (Vázquez-León et al., 2020). Además, facilita su dosificación y aplicación en productos funcionales (Ezhilarasi et al., 2013). La elección del material encapsulante es una etapa crítica en el diseño de sistemas de encapsulación para extractos vegetales (Aparicio-Saguilán et al., 2024). En este sentido, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar las condiciones de obtención de un extracto de hojas de pirul, y el efecto de distintos materiales de soporte (maltodextrina y almidón de malanga) sobre las propiedades fisicoquímicas de extractos secos encapsulados por secado por aspersión.

TEORÍA

Los extractos de hojas de pirul han sido ampliamente estudiados por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias e insecticidas (Davicino et al., 2010). Esta actividad se atribuye principalmente al contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, como el kaempferol-3-O-rutinósido, la quercetina-3-O-galactósido y el ácido 3-O-cafeoilquínico (Rebolledo et al., 2020). Para la recuperación de estos compuestos, se utiliza comúnmente la extracción sólido-líquido, utilizando disolventes orgánicos como etanol, metanol o acetona. Las mezclas de etanol y agua son frecuentemente utilizadas debido a su eficacia para extraer una amplia variedad de compuestos fenólicos (Rodríguez-Pérez et al., 2015). Aunque este método permite recuperar cantidades considerables de fenoles, los rendimientos suelen ser inferiores a los obtenidos con otras técnicas, como la extracción asistida por ultrasonido o microondas (Osorio-Tobón, 2020). La extracción asistida por ultrasonido es considerada una técnica de extracción verde, debido a que permite reducir el consumo de disolventes y energía, siendo especialmente adecuada para la recuperación de compuestos bioactivos termosensibles (Celaya et al., 2016; Medina-Torres et al., 2017). Esta técnica utiliza ondas ultrasónicas que generan cavitación, facilitando la ruptura de las paredes celulares y mejorando así la liberación y solubilidad de los compuestos fenólicos. Además, ofrece mayores rendimientos en tiempos de extracción significativamente menores que los métodos convencionales (Yusoff et al., 2022). La eficiencia del proceso puede optimizarse ajustando parámetros como la frecuencia ultrasónica, el tiempo de exposición y la relación sólido-líquido.

Una vez obtenidos los extractos, su conservación y estabilidad pueden mejorarse mediante técnicas de encapsulación, siendo el secado por aspersión una de las más utilizadas. Esta técnica permite obtener un polvo fluido y estable, protegiendo los compuestos activos frente a factores como oxígeno, humedad, luz o temperatura. Para ello, se emplean agentes encapsulantes o coadyuvantes que facilitan la protección de los compuestos durante el procesamiento y mejoran su estabilidad durante el almacenamiento (Gharsallaoui et al., 2007). El secado por aspersión ha demostrado preservar una alta proporción de compuestos fenólicos y mantener su actividad antioxidante, además de mejorar su bioaccesibilidad y potencial biodisponibilidad (González et al., 2019; Dobroslavić et al., 2023). Entre las variables críticas del proceso destacan la temperatura del aire de entrada y salida, así como el tipo de material encapsulante, los cuales afectan directamente la calidad del producto final. Los agentes encapsulantes más utilizados incluyen maltodextrina, almidón, goma arábiga, alginato de sodio, β-ciclodextrina y sus combinaciones. La selección y concentración de estos materiales influyen de forma significativa en el rendimiento del extracto seco, su contenido de humedad, solubilidad y la retención de compuestos bioactivos (Toprakçı et al., 2023). El almidón es un polisacárido de reserva común en diversas plantas; sin embargo, la producción a partir de fuentes tradicionales puede ser insuficiente para cubrir la demanda industrial. Por esta razón, se han explorado fuentes no convencionales, como la malanga (*Colocasia esculenta* Schott), la cual ha demostrado ser una alternativa viable para la obtención de almidón (Torres-Becerril et al., 2015). En este sentido, el almidón de malanga representa una opción prometedora

como agente encapsulante para conservar compuestos bioactivos presentes en extractos de hojas de pirul.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

Se recolectaron hojas frescas de árboles de pirul (*S. molle* L.) ubicados en la Universidad Tecnológica de Tecamachalco (18°51'51"N, 97°43'15"W; Tecamachalco, Puebla). Las hojas fueron seleccionadas manualmente y lavadas con agua corriente para eliminar impurezas. Posteriormente, se deshidrataron en un secador de bandejas (Hidrosam, Didactic) a 30 °C, con una velocidad de aire de 1 m s^{-1}. El proceso de secado continuó hasta alcanzar una humedad inferior al 5%. Las hojas deshidratadas se almacenaron en bolsas de polipropileno y se conservaron en refrigeración hasta su uso en el proceso de extracción.

Extracción asistida por ultrasonido

La extracción de compuestos fenólicos se realizó mediante maceración asistida por ultrasonido, utilizando una relación hoja entera:disolvente de 1:20 (p:p). El proceso se efectuó en un baño ultrasónico (Westprime Systems, Cat. No. B90-055H, Chino, CA, EE. UU.), operado a una frecuencia de 45 kHz, potencia de 100 W y temperatura de 40 °C, durante 30 minutos. Se evaluaron mezclas hidroalcohólicas de etanol en agua en concentraciones de 0, 40, 80 y 100% para determinar la mayor recuperación de flavonoides totales. Posteriormente, se estableció el tiempo óptimo de extracción mediante un estudio cinético, que abarcó desde uno hasta treinta minutos.

Encapsulación mediante secado por aspersión

Para la obtención del extracto seco de hojas de pirul, se evaluó el efecto del material encapsulante (almidón de malanga y maltodextrina). Al extracto obtenido se removió el contenido de etanol mediante evaporación a presión reducida, posteriormente el extracto acuoso fue mezclado con el material encapsulante en una proporción 4:1 respecto a los sólidos del extracto, y se mantuvo en agitación durante todo el proceso de secado con ayuda de un agitador magnético. La mezcla se sometió a secado por aspersión utilizando un equipo BÜCHI B-290 (Flawil, Suiza), el cual opera bajo el principio de atomización en flujo a co-corriente, donde tanto el producto atomizado como el aire caliente de secado fluyen en la misma dirección. Se establecieron temperaturas de entrada y salida de 120 y 60 °C, respectivamente. El producto obtenido fue recuperado y almacenado en bolsas e aluminio y selladas al vacío, hasta la evaluación de sus propiedades fisicoquímicas.

Análisis fisicoquímicos

Las micropartículas obtenidas del proceso de encapsulación fueron caracterizadas considerando las siguientes propiedades: contenido de humedad, actividad de agua (aw), color y contenido de flavonoides totales. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

Determinación del contenido de humedad y actividad de agua

El contenido de humedad se determinó mediante el método oficial AOAC 32.1.03 (2006), expresado como porcentaje en base húmeda (% bh). La actividad de agua se evaluó con un higrómetro AquaLab Series 3 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, EE. UU.) a 25 °C.

Determinación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales (FT) en los extractos fluidos y secos se determinó mediante el método colorimétrico con cloruro de aluminio ($AlCl_3$). Para el análisis de las micropartículas, se realizó una extracción previa colocando 0.25 g de muestra en 25 mL de etanol al 80%. La mezcla se sometió a ultrasonido a 40 °C durante 10 minutos y luego se filtró usando papel Whatman No. 4. Del extracto, se tomaron 0.5 mL y se mezclaron con 1 mL de etanol al 80%. Posteriormente, se tomaron 0.5 mL de esta mezcla y se adicionaron 1.5 mL de etanol al 80% y 1 mL de cloruro de aluminio al 20%. La absorbancia se midió a 420 nm utilizando un espectrofotómetro Halo Vis-10 (Dynamica Scientific Ltd., Newport Pagnell, Buckinghamshire, Reino Unido). La cuantificación se realizó

mediante una curva de calibración construida con quercetina, expresando los resultados como miligramos equivalentes de quercetina (mg EQ).

Determinación de color

El color de las microcápsulas obtenidas se evaluó mediante un colorímetro CR-400 (Minolta, Osaka, Japón). Las mediciones se interpretaron utilizando el sistema de color CIE Lab*, donde el parámetro a indica la variación en el eje rojo-verde (positivo para rojo y negativo para verde), y el parámetro b refleja la variación en el eje amarillo-azul (positivo para amarillo y negativo para azul). El parámetro L representa la luminosidad o claridad del color donde 0 significa negro absoluto (sin luz reflejada) y
100 significa blanco (máxima reflexión de luz).

Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados con el software Minitab 16 mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de una prueba post hoc de Tukey HSD para determinar diferencias significativas entre medias. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$. Los resultados se reportaron como media ± desviación estándar, a partir de al menos dos experimentos independientes.

RESULTADOS

Extracción asistida por ultrasonido de hojas de pirul

La elección del disolvente y su concentración resulta crucial, debido a que la polaridad influye significativamente en la recuperación de compuestos fenólicos. En la Figura 1 se muestra el rendimiento de flavonoides totales (FT) a partir de hojas de pirul, empleando diferentes proporciones de etanol en agua.

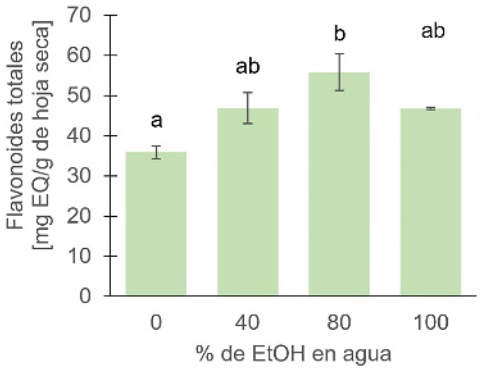


Figura 1. Extracción de flavonoides totales de hojas de pirul mediante maceración asistida por ultrasonido, usando distintas mezclas hidroalcohólicas. Barras que comparten la misma letra son estadísticamente iguales (n=2, p>0.05).

Como se observa, las mezclas hidroalcohólicas permitieron una mayor recuperación de FT en comparación con el uso exclusivo de agua o etanol como disolvente. Resultados similares fueron reportados por Rebolledo et al. (2020) en extractos de hojas de *Schinus areira* L. en Chile. Las mezclas con 40 % y 80 % de etanol mostraron los mayores rendimientos, sin diferencias significativas entre ellas (p>0.05). Por lo tanto, se seleccionó la mezcla con 40 % de etanol para estudios posteriores, considerando las implicaciones técnicas tales como, un menor costo de disolvente, menor toxicidad e inflamabilidad y la posible aplicación a escala piloto. Posteriormente se determinó el contenido de FT en función del tiempo de extracción (Figura 2).

Como se observa en la Figura 2, entre los 2 y 10 min de extracción se registró un incremento en la recuperación de flavonoides totales, mientras que entre los 10 y 30 min no se observaron diferencias en el contenido de FT. Por lo tanto, se estableció un tiempo óptimo de extracción de 10 min,

buscando maximizar el rendimiento y reducir los costos en una eventual etapa de escalamiento. El contenido de sólidos totales en el extracto obtenido fue de 0.86 ± 0.02 %.

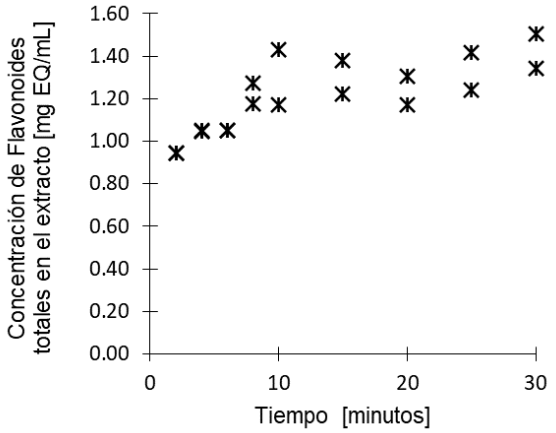


Figura 2. Evolución del contenido de flavonoides totales durante la extracción de hojas de pirul mediante maceración asistida por ultrasonido.

Resultados similares fueron reportados por Celaya et al. (2016) durante la extracción de hojas de *Schinus areira* utilizando etanol al 70 % (v/v), donde el incremento del tiempo de sonicación mejoró la concentración y rendimiento del extracto; sin embargo, se observó una disminución en la actividad antioxidante a partir de los 30–40 min, probablemente debido a la degradación oxidativa de compuestos bioactivos inducida por tiempos prolongados de sonicación. En dicho estudio, un tiempo de 15 min y una relación sólido-disolvente de 5 g/100 mL fueron considerados óptimos.

De manera concordante, Yerena-Prieto et al. (2022) reportaron que en hojas de moringa el tiempo óptimo de sonicación fue de 15 minutos, sin que periodos mayores incrementaran significativamente el rendimiento. Por su parte, Rout et al. (2021) encontraron que un tiempo de 10 minutos fue adecuado para maximizar el contenido total de flavonoides en extractos de hojas de orégano.

Propiedades fisicoquímicas del extracto seco de hojas de pirul

En el proceso de encapsulación por secado por aspersión, la selección del material encapsulante y las condiciones operativas, especialmente la temperatura de entrada y salida del aire de secado, son determinantes para la estabilidad y calidad del producto. En la Tabla 1 se presentan los resultados fisicoquímicos del extracto seco encapsulado con maltodextrina o almidón de malanga.

Tabla 1. Análisis fisicoquímicos del extracto seco de hojas de pirul obtenido con distintos materiales encapsulantes.

	Material encapsulante	
Propiedad	**Maltodextrina**	**Almidón de malanga**
Humedad (%)	3.9 ± 0.15[a]	3.29 ± 0.19[a]
a_w	0.30 ± 0.01[a]	0.31 ± 0.04[a]
Color		
L	85.37 ± 0.45[a]	80.99 ± 1.33[b]
a	0.59 ± 0.13[a]	1.17 ± 0.34 [b]
b	16.16 ± 0.52[a]	18.4 ± 0.22 [b]
Flavonoides totales (mg EQ/g)	25.54 ± 0.87[a]	44.63 ± 1.05 [b]

Letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Para garantizar la calidad, estabilidad y aceptabilidad de extractos vegetales secos, es esencial caracterizar propiedades fisicoquímicas como contenido de humedad, actividad de agua (aw) y color, ya que estos parámetros influyen en la estabilidad química y la vida útil del producto. Ambos materiales encapsulantes mostraron valores similares en humedad y aw ($p > 0.05$), lo cual es atribuible al uso de las mismas condiciones de secado. Tchabo et al. (2018) reportaron resultados comparables para extractos secos de hojas de *Morus alba* bajo condiciones similares.

Debido a la relación extracto: material encapsulante empleada (1:4), se observó una influencia marcada del material encapsulante en el color del producto final. Zanoni et al. (2020) observaron resultados semejantes en productos encapsulados con almidón modificado. En este estudio, el almidón de malanga produjo polvos con menor luminosidad (L) y mayor intensidad en los parámetros a* y b*, lo que indica un color más saturado y menos blanquecino en comparación con la maltodextrina.

En cuanto al contenido de flavonoides, el almidón de malanga mostró una retención significativamente mayor ($p<0.05$). Este comportamiento puede explicarse por sus propiedades termodinámicas, que favorecen la formación de agregados esféricos durante el secado, lo cual mejora la eficiencia de encapsulación sin necesidad de aditivos aglutinantes. Los agregados esféricos de almidón se forman cuando pequeños gránulos de almidón (de 1 a 3 µm) se agrupan en presencia de agentes de unión, como proteínas, permitiendo que los gránulos se adhieran entre sí y creando estructuras compactas con capacidad de encapsulación (Hoyos-Leyva et al., 2018). Estas características hacen del almidón de malanga un material prometedor para la encapsulación de compuestos bioactivos, al ofrecer mayor estabilidad y protección durante el procesamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca posdoctoral No. 3725918.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que el uso de mezclas hidroalcohólicas tiene un efecto positivo en la recuperación de flavonoides totales a partir de hojas de pirul. Las condiciones óptimas de extracción se establecieron en una mezcla de etanol al 40 % en agua y un tiempo de sonicación de 10 minutos mediante extracción asistida por ultrasonido. En el proceso de secado por aspersión, el almidón de malanga mostró una mayor eficiencia en la retención de flavonoides totales en comparación con la maltodextrina, debido a la capacidad de formación de agregados esféricos. El aprovechamiento de extractos secos de hojas de pirul en el estado de Puebla representa una alternativa prometedora para el desarrollo de productos de valor agregado en las industrias farmacéutica, alimentaria y agrícola. Además, puede contribuir a prácticas más sostenibles, al reducir el uso de compuestos sintéticos en el control de plagas y fomentar el uso integral de la biomasa vegetal subutilizada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aparicio-Saguilán, A., Vázquez-León, L. A., Martínez-Cigarroa, A. S., Carpintero-Tepole, V., Fernández Barbero, G., Acosta-Osorio, A. A., & Páramo-Calderón, D. E. (2024). Characterization of starch from jinicuil (*Inga jinicuil*) seeds and its evaluation as wall material in spray drying. *Agronomy*, 14(2), 272. https://doi.org/10.3390/agronomy14020272
2. Celaya, L. S., Viturro, C. I., Silva, R. R., & Moreno, S. (2016). Natural antioxidants isolated from *Schinus areira* leaves by ultrasound-assisted extraction. *International Journal of Food Studies*, 5(2), 167–179. https://doi.org/10.7455/ijfs/5.2.2016.a5
3. Da Silva, I. R. R., Fernandes, C. C., Gonçalves, D. S., Martins, C. H. G., & Miranda, M. L. D. (2023). Chemical composition and anti-*Xanthomonas citri* activities of essential oils from *Schinus molle* L. fresh and dry leaves and of its major constituent spathulenol. Natural Product Research, 38(19), 3476–3480. https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2249584

4. Davicino, R., Mattar, A., Casali, Y., Anesini, C., & Micalizzi, B. (2010). Different activities of Schinus areira L.: Anti-inflammatory or pro-inflammatory effect. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 32, 620–627. https://doi.org/10.3109/08923971003657305
5. Dobroslavić, E., Garofulić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Roje, M., & Dragović-Uzelac, V. (2023). Physicochemical properties, antioxidant capacity, and bioavailability of *Laurus nobilis* L. leaf polyphenolic extracts microencapsulated by spray drying. *Foods*, 12(9), 1923. https://doi.org/10.3390/foods12091923
6. González, E., Gómez-Caravaca, A., Giménez, B., Cebrián, R., Maqueda, M., Martínez-Férez, A., Segura‐Carretero, A., & Robert, P. (2019). Evolution of the phenolic compounds profile of olive leaf extract encapsulated by spray-drying during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 279, 40–48. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.127
7. Hoyos-Leyva, J. D., Bello-Pérez, L. A., Álvarez-Ramírez, J., & García, H. S. (2018). Microencapsulation using starch as wall material: A review. *Food Reviews International*, 34(2), 148–161. https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1261298
8. Martins, M., Arantes, S., Candeias, F., Tinoco, M., & Cruz-Morais, J. (2014). Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 485–492. https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.063
9. Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa‐Andrews, H., Sánchez-Contreras, Á., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47. https://doi.org/10.3390/agronomy7030047
10. Osorio-Tobón, J. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 4299–4315. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2
11. Rebolledo, V., Otero, M., Delgado, J., Torres, F., Herrera, M., Rios, M., Cabañas, M., Martínez, J., & Rodríguez-Díaz, M. (2020). Phytochemical profile and antioxidant activity of extracts of the Peruvian peppertree *Schinus areira* L. from Chile. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 1052–1062. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.043
12. Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Fernandez-Gutiérrez, A., & Segura‐Carretero, A. (2015). Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, 66, 246‐254. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.002
13. Rout, R., Kumar, A., & Rao, P. (2021). A multivariate optimization of bioactive compounds extracted from oregano (*Origanum vulgare*) leaves using pulsed mode sonication. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 3111–3122. https://doi.org/10.1007/s11694-021-00902-0
14. Tchabo, W., Ma, Y., Kuate Kaptso, G., Kwaw, E., Wafo Cheno, R., Xiao, L., Osae, R., Wu, M., & Farooq, M. (2018). Process analysis of mulberry (*Morus alba*) leaf extract encapsulation: Effects of spray drying conditions on bioactive encapsulated powder quality. *Food and Bioprocess Technology*, 11(1), 122–146. https://doi.org/10.1007/s11947-018-2194-2
15. Toprakçı, İ., Cosgun, G., Balci-Torun, F., Torun, M., & Şahin, S. (2023). Preservation of active components in olive leaf extract by spray drying method in biodegradable polymers: Optimization, in vitro gastrointestinal digestion and application. *Phytochemical Analysis*, 34(6), 909–919. https://doi.org/10.1002/pca.3222
16. Torres Becerril, M., Carmona García, R., & Aguirre Cruz, A. (2015). Obtaining and structural characterization and functional of acetylated starch of taro (*Colocasia esculenta* Schott). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(4), 905–912. https://doi.org/10.29312/remexca.v6i4.629
17. Yerena-Prieto, B., González-González, M., Vázquez-Espinosa, M., González-De-Peredo, A., García-Alvarado, M., Palma, M., Rodríguez-Jimenes, G., & Barbero, G. (2022). Optimization of an ultrasound-assisted extraction method applied to the extraction of flavonoids from Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.). *Agronomy*, 12(2), 261. https://doi.org/10.3390/agronomy12020261
18. Yusoff, I., Taher, Z., Rahmat, Z., & Chua, L. (2022). A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and

proteins. *Food Research International*, 157, 111268. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111268

19. Zanoni, F., Primiterra, M., Angeli, N., & Zoccatelli, G. (2020). Microencapsulation by spray-drying of polyphenols extracted from red chicory and red cabbage: Effects on stability and color properties. *Food Chemistry*, 307, 125535. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125535

EL MICROBIOMA COMO FACTOR DESENCADENTANTE DE LA INMUNORREGULACIÓN

Mariana Lizeth Carrillo Hernández, Teresa Arcelia García Cobían, Araceli Castillo Romero, Rafaél Cortés Zarate, Leonardo Hernández Hernández, Cynthia Areli Temblador Domínguez y Susan Andrea Gutierrez Rubio

Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias de la Salud
Mariana.carrillo5275@alumnos.udg.mx

RESUMEN

La inmunoregulación es el proceso que mantiene el equilibrio entre la defensa del sistema inmunológico y la prevención de respuestas autoinmunes, regulado por linfocitos T, citocinas y el microbioma. El microbioma, compuesto por microorganismos, sus interacciones, sustratos y metabolitos, juega un papel crucial en la inmunidad. Una disbiosis, puede desencadenar respuestas inmunes exageradas, aumentando la permeabilidad intestinal y produciendo metabolitos inflamatorios. Esto contribuye al desarrollo de diversas patologías, incluidas enfermedades metabólicas, neurodegenerativas y autoinmunes. En este trabajo de divulgación tiene como objetivo dar a conocer los beneficios de la actividad simbiótica del microbiota con el sistema inmune, como lo es inmunoregulación o la tolerancia inmunológica. El sistema inmune (SI) realiza actividades como la vigilancia, defensa y reparación del cuerpo frente a daños o infecciones. Estas acciones las lleva a cabo mediante células especializadas, moléculas llamadas citocinas, el microbioma, hormonas, vitaminas, entre otros. El microbioma es el conjunto de comunidades de microorganismos benéficos (microbiota) que se encuentran en un sitio específico del cuerpo, y sus productos (metabolitos), que tienen alguna función directa mejorando la salud humana en general. La microbiota puede variar entre las personas y en cada etapa de la vida, así como entre órganos y sistemas en el cuerpo, siendo entonces una forma de identificación similar a la de una huella digital. Algunos de los componentes o productos de la microbiota, tienen interacción con las células inmunológicas y pueden modificar la actividad del SI, controlando la intensidad de la respuesta inmune, que se traduce como la inmunoregulación. Otra de sus funciones es generar la tolerancia inmunológica, la cual consiste en evitar que el sistema inmune genera una respuesta frente a la propia persona (antígenos propios) o la microbiota benéfica, impidiendo enfermedades autoinmunes. Las moléculas que produce el microbiota como los ácidos grasos de cadena corta o algunos componentes de sus estructuras celulares como el polisacárido A permiten que el SI sea educado frente a compuestos que pueden ser tolerados ya que están generando un beneficio en general en todos los sistemas, e incluso mejorar la capacidad del propio SI para reconocer, defender y reparar. Se generará un diagrama explicando estos mecanismos con imágenes representativas y sencillas que se mostrará en el cartel. Finalmente, el microbioma juega un papel crucial para entrenar al SI mediante el uso de sus metabolitos o componentes. Esto define como actuará es decir su eficiencia, la potencia y el desenlace de la respuesta en la defensa frente a microorganismos dañinos, infecciones virales o alguna amenaza. Sin embargo, la disbiosis, puede alterar estas funciones, llevando a una respuesta inmune descontrolada y aumentando la vulnerabilidad a enfermedades. Por lo tanto, mantener un microbiota saludable es fundamental para asegurar una adecuada inmunorregulación y, en consecuencia, proteger al organismo de infecciones y otros problemas de salud.

INTRODUCCIÓN

El sistema inmune (SI) es aquel que neutraliza, identifica o reconoce y hace memoria del agente infeccioso. El SI mantiene una vigilancia absoluta del organismo y cuando se encuentra frente a un desafío infeccioso o daño en los tejidos, responde con un ataque para resolverlo, evitando dañar al cuerpo, y en caso de que este se manifieste, participa en la promoción de su reparación. De acuerdo con la rapidez y capacitación dentro de la defensa se dividen en SI innato y SI adaptativo

TEORÍA

El SI innato (SII) es la primera línea de defensa. El SII se parece a un guardia de seguridad en la entrada a un edificio, que vigila, registra los accesos, y solicita credenciales para permitir el acceso; su tipo de capacitación es básico en el reconocimiento, sin embargo, a nivel táctico son muy rápidos y efectivos. Se manifiesta modificando la acidez de los sistemas u órganos, mejorando la producción de moco, produciendo sustancias que pueden destruir algunas bacterias invasoras (bactericidas), y se pueden entrenar a ciertos tipos de células para destruir células dañadas o infectadas (asesinas naturales) reconociendo, detectar, identificar y neutralizar (neutrófilos y macrófagos) y ayudar a establecer memoria del invasor (células dendríticas), para responder a futuras exposiciones mediante el SI adaptativo (SIA) (1).

El SIA se va configurando y ajustando a lo largo de la vida. Así se pueden entrenar células altamente especializadas como los linfocitos T y B provenientes de fábricas expertas en desarrollarlos como timo y bazo respectivamente. Las células T pueden especializarse en ser cooperadoras o asesinas, mientras que las B se aseguran de producir anticuerpos, todos en conjunto protegen de aquellos invasores de los que se hizo memoria. La memoria puede ser de corto o largo plazo (1) .

En los procesos de reconocimiento, defensa y una vez que la amenaza y los posibles daños fueron resueltos, el SI es regulado para detener el ataque y regresar a su estado de vigilancia lo que se conoce como inmunorregulación (IR). El SI debe ser capaz de reconocer células sanas y funcionales (antígenos propios) y a microorganismos benéficos por medio de los patrones moleculares asociados a microbiota (PMAM) en nuestros sistemas para evitar destruirlos o dañarlos lo que se denomina tolerancia imnunológica. La tolerancia inmunológica impide que haya una respuesta exagerada e inflamación generalizada contra las células propias del organismo, con lo que se pudieran prevenir enfermedades autoinmunes como Lupus, Artritis, Esclerosis o Diabetes tipo 1 (1). Las células subespecialistas de linfocitos T y B más importantes para la inmunorregulación son los llamados reguladores. Los linfocitos T reguladores trabajan para evitar que otros tipos de células de este SI actúen exageradamente, ya que suprimen su activación no requerida o modulan la respuesta inmune de un modo eficiente.

En la inmunorregulación también, moléculas llamadas citocinas, el microbioma, hormonas, vitaminas, entre otros. El microbioma es el conjunto de comunidades de microorganismos (microbiota) y sus productos (metabolitos) que se encuentran en un sitio específico del cuerpo y generan un beneficio directo en la salud; este beneficio es conocido como eubiosis. Son abundantes ya que se ha estimado que contamos con 3 microorganismos benéficos por cada célula humana. La microbiota de una persona está definida por el SI, por medio de la tolerancia inmunológica, pero también por condiciones como alimentación, estrés, contaminación, consumo de medicamentos especialmente antibióticos y presencia de organismos patógenos. Para tener un microbioma benéfico se requiere llevar una alimentación saludable, variada y equilibrada, con suficiente fibra, actividad física, e hidratación. El microbioma, formado por microorganismos benéficos y sus productos, pueden optimizar la inmunorregulación y suele ser especifico de cada órgano o sistema, lo que permite entrenar a los componentes del SI de modo específico, para tener una respuesta eficiente y controlada frente a infecciones o daño en los tejidos. Un microbioma alterado o desequilibrado puede ser perjudicial y modificar la respuesta inmune, con lo que se pueden presentar reacciones exageradas y descontroladas del SI, también conocidas como reacciones de hipersensibilidad o alergias , y conducir a una intolerancia de sustancias, enfermedades autoinmunes o perder la capacidad de responder adecuadamente y no poder defender al cuerpo. (1, 2)

La microbiota varía entre personas, la edad, entre órganos y sistemas del cuerpo, es única, similar a la huella digital (2). La microbiota se alimenta de la fibra que comemos y que no podemos digerir además de otros productos de la dieta y se conoce como prebióticos (1). Algunas de las sustancias que actúan como prebióticos son la inulina, fructooligosacáridos y almidones. La microbiota que se alimenta de estos prebióticos son principalmente bacterias benéficas de los tipos Bifidobacterium y

Lactobacillus. Las bacterias de mayor relevancia son los Lactobacillus rhamnosus GG, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, y Saccharomyces boulardii. La microbiota consume los prebióticos y mediante la fermentación produce sustancias denominadas “posbioticos”.

Los posbióticos son específicos de cada órgano o sistema y funcionan como mensajes para mejorar el metabolismo de los sistemas, la función e integridad de la barrera del intestino y optimizar la función del SI (1). Unos de los posbióticos de gran relevancia para el SI son los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) de los cuales destacan el acetato, propionato y butirato. Los AGCC ayudan a las células inmunológicas a desarrollar propiedades antiinflamatorias, que se traduce en la inmunorregulación. (1)

En conjunto la microbiota y sus posbióticos son como un gran gimnasio (Fig 1) para entrenar la forma en la que el organismo responde frente a infecciones por bacteria, virus, parásitos, hongos de la forma más efectiva y rápida posible, para minimizar un daño mínimo a nuestro cuerpo (1).

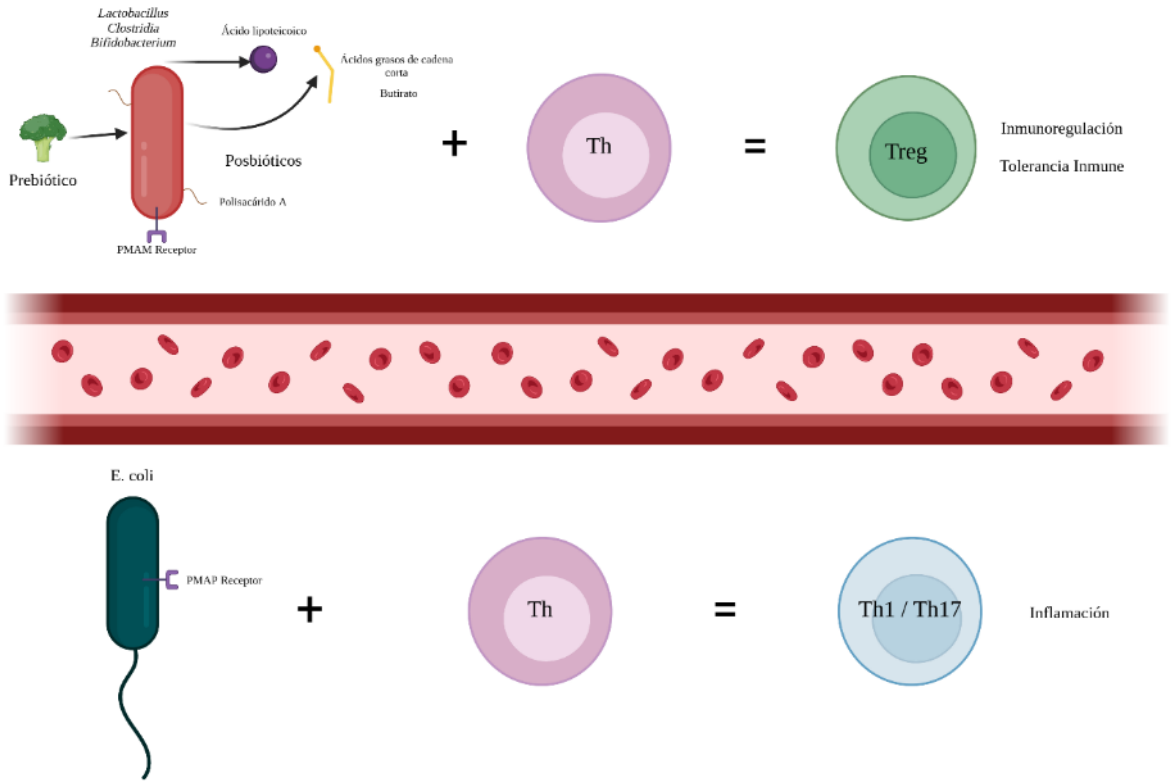


Figura 1.Representación de algunas moléculas capaces de influir en la respuesta inmune. En la parte superior se muestran algunos ejemplos de poblaciones de microbiota. Los Bifidobacterias participan con su componente llamado polipeptido A, los Lactobacilos contribuyen con la producción de ácido lipoteicoico y las especies de Clostridium y Bifidobacterias con la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el butirato. Estos compuestos y los patrones moleculares asociados a microbiota (PMAM) entrenan a las células T cooperadoras (Th) y conducen al desarrollo de células T reguladoras que participarán en la inmunorregulación o en la tolerancia inmune. En la parte inferior, una bacteria como Escherichia coli puede ser reconocida como dañina a través de los patrones moleculares asociados a patógenos (PMAP). Este reconocimiento conduce a que el

sistema inmune encienda sus alarmas y active a las células que se producen de la inflamación como Th1 y Th17 para la defensa.

La modificación de la microbiota benéfica que conduce a un desequilibrio o alteración de la cantidad (poco crecimiento microbiano) o calidad (poca variedad de especies) en las poblaciones microbianas, se conoce como disbiosis.

La disbiosis conduce a un desequilibrio pues modifica el crecimiento de otros microorganismos. La disbiosis en intestino muy frecuente y puede ocurrir por la dieta desequilibrada (baja en fibra y grasas de baja calidad), consumo excesivo de azúcar refinada, carnes rojas, estrés, bebidas alcohólicas, entre otros. La disbiosis incrementa, la probabilidad de enfermarnos ya sea por bacterias dañinas o por la modificación en la capacidad de seleccionar lo que el intestino puede y debe absorber; la barrera intestinal se modifica, dejando pasar materiales y componentes que normalmente no se absorben y deben ser desechados, a esto se le conoce como aumento de permeabilidad intestinal (3). La consecuencia de la permeabilidad aumentada es que podemos tener compuestos tóxicos como los productos de las bacterias dañinas circulando en sangre por todo el cuerpo (Fig 2).

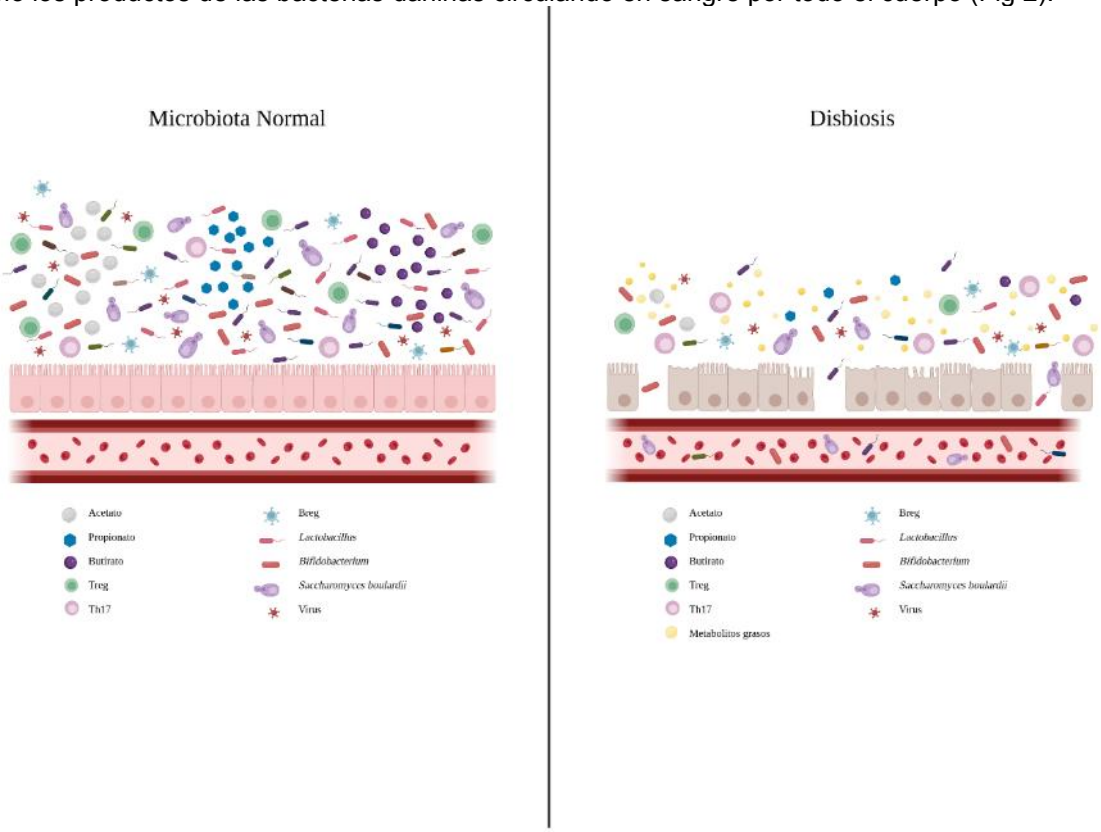


Figura 2. Representación de la participación del microbioma más abundate en el cuerpo, el microbioma intestinal. De lado izquierdo se muestra el estado saludable del microbioma que conduce a un estado de eubiosis. Hay gran diversidad de microbiota benéfica y cada una esta contribuyendo con la producción de posbióticos que serán de utilidad para el entrenamiento del sistema inmune, y además para otras funciones biológicas y del metabolismo. El tipo de células que supervisa este estado principalmente T reguladoras para generar tolerancia y hay algunas células Th17 en alerta y limitando el crecimiento de las poblaciones microbianas, principalmente las invasoras además se conserva la mucosa intestinal estrecha y funcional. Del lado derecho se puede observar un estado de disbiosis. Las poblaciones microbianas son escasas y de poca diversidad, por lo que hay una reducida producción de posbióticos protectores. Lo anterior conduce a que las células T reguladoras tengan una presencia limitada y las células Th17 sean abundantes, lo que conduce a un estado de inflamación, manteniendo alerta sin ser regulado al sistema inmune y

conduciendo a un estado de disbiosis. En la disbiosis hay un aumento de la permeabilidad en la mucosa del intestino perdiendo sus contactos estrechos y permitiendo el paso de sustancias y organismos nocivos a la circulación.

La disbiosis o el aumento de la permeabilidad intestinal puede llevar al SI a activarse, con una respuesta inmune coordinada principalmente por células conocidas como células cooperadoras de tipo 1 (Th1) y 17 (Th17). Estas células son capaces de producir sustancias para defender al intestino de infecciones mediante el reconocimiento de moléculas llamadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y modificar la disbiosis (Fig 1).

Si el problema se resuelve las células T reguladoras mitigan a las Th1/Th17. Sin embargo, sino se actúa, la activación de las células Th1/Th17 se mantiene constante, “pensando¨ que todas las bacterias en nuestro cuerpo son “malas” considerándolas como una amenaza, manteniéndose en una inflamación de largo plazo (Fig 1). Este tipo de inflamación se genera al encender al SI, sin poder diferenciar si la situación es realmente de peligro o no. El SI reacciona para reclutar y activar células que maten a estas bacterias, pero destruyen tanto bacterias benéficas como patógenas, generando daño en los tejidos y las células encargadas de detener estas reacciones.

Como se menciona anteriormente, al haber una disbiosis se tendrá entonces una menor producción de sustancias benéficas para el cuerpo lo que conduciría a una respuesta inmune deficiente haciendo que el cuerpo se vuelva reactivo e ineficiente frente a un desafío infeccioso o daño de las células.

CONCLUSIONES

En conclusión, el microbioma principalmente intestinal, juega un papel crucial en la inmunorregulación y la tolerancia inmune al influir en la respuesta del SI frente a agentes infecciosos o daños. La microbiota no solo ayuda a entrenar y regular las defensas del cuerpo, sino que también produce sustancias capaces de modular la inflamación y mejor la efectividad de la respuesta inmune. Sin embargo, la disbiosis, puede alterar estas funciones, llevando a una respuesta inmune descontrolada, aumentar la vulnerabilidad a enfermedades o desarrollar hipersensibilidad. Por lo tanto, mantener un microbiota saludable es un factor fundamental para asegurar una adecuada respuesta inmune y, en consecuencia, proteger al organismo de infecciones y otros problemas de salud.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yoo J, Groer M, Dutra S, Sarkar A, McSkimming D. Gut Microbiota and immune system interactions. Microorganisms [Internet]. 2020 [citado el 1 de octubre de 2024];8(10):1587. Disponible en: https://www.mdpi.com/2076-2607/8/10/1587
2. Shanahan F, Ghosh TS, O’Toole PW. Human microbiome variance is underestimated. Curr Opin Microbiol [Internet]. 2023;73(102288):102288. Disponible en: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369527423000255
3. Hou K, Wu Z-X, Chen X-Y, Wang J-Q, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. Signal Transduct Target Ther [Internet]. 2022 [citado el 1 de octubre de 2024];7(1):1–28. Disponible en: https://www.nature.com/articles/s41392-022-00974-4

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN UN MODELO MURINO DE PIE DIABÉTICO DE LA CEPA CD-1

Celic Anayansi Cedillo Gómez, Paola Trinidad Villalobos Gutiérrez, Oscar Gutiérrez Coronado, Rita Judit Patakfalvi, María Isabel Pérez Vega, María de la Luz Miranda Beltrán, José Antonio Pérez Tavares e Irma Lizeth Rivera Martínez.

Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de los Lagos.
celic.cedillo2974@alumnos.udg.mx

RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica y progresiva con un impacto significativo en la salud pública. Su prevalencia ha aumentado de manera alarmante en los últimos años, afectando a millones de personas en todo el mundo. En México, se estima que más de 14.6 millones de personas padecen diabetes, de las cuales un alto porcentaje desconoce su diagnóstico (1). Una de sus principales complicaciones es el pie diabético, una afección caracterizada por la formación de úlceras crónicas con alta tasa de recurrencia y riesgo de amputación (2). La hiperglucemia prolongada provoca alteraciones en la microcirculación, disminución de la respuesta inmunitaria y alteraciones en la proliferación celular, lo que retrasa significativamente la cicatrización de heridas y aumenta la susceptibilidad a infecciones (3). Se utilizaron ratones de la cepa CD-1 para inducir un modelo murino de pie diabético mediante la administración de estreptozotocina (STZ). Se emplearon ratones CD-1, a los cuales se les administro una dosis única de STZ , seguida de monitoreo del peso corporal y niveles de glucosa para confirmar el desarrollo de la enfermedad. Posteriormente, se realizaron heridas excisionales de grosor completo en la zona dorsal de los ratones anestesiados. La recuperación de las lesiones se evaluó mediante mediciones seriadas del área de la herida, utilizando la siguiente fórmula (4):

$$\%\ \boldsymbol{de\ retracción\ de\ la\ herida} = \frac{\text{Área inicial de la lesión} - \text{Área final de la lesión}}{\text{Área inicial de la lesión}} \qquad (1)$$

Además, se realizaron observaciones macroscópicas del tejido de granulación para complementar la evaluación del proceso de cicatrización. Los ratones sanos lograron un cierre casi completo de la herida en una semana, con una rápida formación de tejido de granulación y una inflamación mínima. En contraste, los ratones diabéticos mostraron un proceso de cicatrización más lento, con escasa retracción de la herida, inflamación persistente y menor desarrollo de tejido regenerativo tras 10 días de observación. En algunos casos, también se detectó tejido necrótico, lo que sugiere un entorno poco favorable para la regeneración. Al finalizar el periodo de evaluación, el grupo sano presentó un 98.00% de retracción en el área de la herida, mientras que en el grupo diabético se observó una expansión del 4.88%, evidenciando una cicatrización deficiente. Estos resultados nos hablan de como la diabetes afecta negativamente la reparación de heridas, lo que explica la complejidad del manejo clínico del pie diabético. La cicatrización deficiente en estos pacientes incrementa el riesgo de infecciones y complicaciones severas, lo que resalta la necesidad de desarrollar modelos de investigación murinos que emulen el pie diabético de los humanos que permitan poder desarrollar tratamientos más efectivos para mejorar la regeneración tisular y reducir la incidencia de amputaciones.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónico-degenerativa que comprende diferentes alteraciones metabólicas, donde la principal es la hiperglucemia, entendida como un aumento anormal en los niveles de glucosa en la sangre cuando no se recibe tratamiento. Actualmente, se reconoce como un problema de salud pública a nivel mundial, ya que tanto su prevalencia como sus complicaciones han aumentado de forma constante en los últimos años (5, 6).

La diabetes se presenta cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el cuerpo no puede utilizarla de manera eficiente. La insulina es la hormona responsable de permitir que la glucosa ingrese a las células para ser utilizada como energía. En los pacientes diabéticos, la glucosa permanece en la sangre en lugar de llegar a las células, lo que genera hiperglucemia (7). Si no se controla, esta condición puede ocasionar con el tiempo daños graves en los ojos, los vasos sanguíneos, los riñones y los nervios, además de aumentar el riesgo de enfermedades cardíacas y accidentes cerebrovasculares (8).

La reducción del flujo sanguíneo, combinada con la neuropatía en los pies, favorece el desarrollo de úlceras e infecciones, lo que puede desencadenar el “pie diabético” (9). Aunque no todas las úlceras en pie diabético se infectan, cuando ocurre, no solo se ve comprometida la extremidad afectada, sino que también pone en riesgo la vida del paciente (3).

Con el fin de comprender de manera más precisa los mecanismos implicados en el proceso de reparación tisular deficiente en pacientes diabéticos, se han desarrollado diversos modelos experimentales de "pie diabético" que reproducen las condiciones patológicas observadas en humanos. El uso de modelos animales constituye una herramienta esencial para el estudio de la fisiopatología de las heridas diabéticas y la evaluación de nuevas estrategias terapéuticas. En este contexto, los ratones se destacan como un modelo valioso debido a su similitud genética con los humanos, su facilidad de manejo y su tamaño reducido (10, 11).

En este contexto, el presente proyecto tiene como objetivo evaluar el proceso de cicatrización en un modelo de heridas diabéticas, utilizando ratones CD-1 a los cuales se indujo un fenotipo hiperglucémico persistente mediante la administración de estreptozotocina (STZ), simulando los principales aspectos fisiopatológicos de la diabetes tipo 1. El desarrollo de la enfermedad se confirmó mediante el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre y el peso corporal de los animales. Posteriormente, se generaron heridas excisionales de grosor completo en la región dorsal de los ratones y se evaluó su recuperación mediante mediciones seriadas del área de la herida.

La necesidad de estandarizar un modelo murino de pie diabético en ratones CD-1 es crucial para asegurar la reproducibilidad de los resultados experimentales y facilitar el desarrollo de terapias innovadoras que mejoren regeneración tisular y reduzcan riesgo de amputaciones en pacientes con diabetes.

TEORÍA

El pie diabético es una complicación crónica de la diabetes mellitus, caracterizada por infección, ulceración y destrucción de tejidos del pie, afectando nervios periféricos y arterias, lo que deteriora la circulación en la extremidad inferior. Las lesiones suelen localizarse debajo de los maléolos (12). Estas úlceras pueden ser asintomáticas en etapas tempranas, lo que favorece su progresión y aumenta el riesgo de amputación en un porcentaje considerable casos (13, 14). La falta de curación incrementa la morbilidad severa y la pérdida de función (15), actuando las heridas abiertas como puerta de entrada para infecciones, las cuales afectan más del 50% de los casos y complican la recuperación natural, especialmente cuando se infiltran en tejidos profundos o hueso (16).

El tratamiento de las heridas diabéticas representa un reto debido a su fisiopatología compleja y multifactorial. Por restricciones éticas y prácticas, es inviable estudiar directamente en humanos, por lo que el uso de modelos animales resulta esencial para investigar los mecanismos de cicatrización y evaluar nuevas terapias (11). Entre los modelos más utilizados se encuentran ratones y ratas, debido a su similitud genética con los humanos, bajo costo, fácil manejo y disponibilidad de herramientas moleculares (10, 11).

En la diabetes, las fases de cicatrización no ocurren de manera ordenada debido a las complicaciones de la enfermedad. Aunque la fisiopatología de los problemas de cicatrización no está completamente entendida, los modelos animales han aportado información valiosa sobre la patogénesis de la diabetes y de las heridas crónicas (12). Particularmente, los modelos quirúrgicos

de lesiones cutáneas en roedores han sido esenciales para comprender la reparación de la piel y su arquitectura celular (15). En este contexto, se utilizan estrategias como la inducción de diabetes en ratones mediante la administración de estreptozotocina (STZ), que genera un fenotipo de diabetes tipo 1 con hiperglucemia persistente (17).

La cicatrización de heridas requiere de una precisa coordinación de múltiples eventos celulares, proceso que se ve alterado en la diabetes, resultando en heridas crónicas mal cicatrizadas (18). En condiciones normales, la reparación es guiada por señales como citocinas y quimiocinas liberadas por queratinocitos, fibroblastos, células endoteliales, macrófagos y plaquetas. Durante la hipoxia de la herida, el VEGF activa la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) en médula ósea, aumentando el óxido nítrico (NO) y promoviendo la movilización de células progenitoras endoteliales (EPCs) hacia la lesión mediante la acción de la quimiocina SDF-1α (12). La estructura de la piel también participa activamente en el proceso de curación. La epidermis, rica en glándulas y folículos, protege contra agresiones externas; la dermis, abundante en matriz extracelular y vasos, provee soporte y nutrición; y el tejido subcutáneo actúa como reserva energética y fuente de factores de crecimiento. Cada capa contiene células inmunes residentes que detectan daños. Cuando ocurre una herida, las células de estas capas se coordinan en pasos secuenciales de hemostasia, inflamación, angiogénesis, crecimiento, reepitelización y remodelación, que, aunque se presentan de forma ordenada, pueden superponerse (15). La respuesta inicial a una herida incluye vasoconstricción y formación de un coágulo de fibrina, que detiene el sangrado y sirve como andamiaje para células inflamatorias. Neutrófilos son reclutados de inmediato para defensa bacteriana, seguidos de monocitos que se transforman en macrófagos, mientras el sistema inmunitario adaptativo se activa para eliminar restos y combatir infecciones (15). Posteriormente, durante la angiogénesis, células endoteliales proliferan y migran para formar nuevos vasos sanguíneos. Fibroblastos invaden el coágulo formando tejido de granulación, diferenciándose en miofibroblastos que contraen los bordes de la herida. Simultáneamente ocurre la reepitelización, impulsada por células madre epidérmicas y células diferenciadas que restauran la epidermis y los apéndices cutáneos (15).

En pacientes diabéticos, este proceso se ve gravemente afectado. La fosforilación de eNOS en la médula ósea está alterada, disminuyendo la movilización de EPCs. Además, la expresión reducida de SDF-1α impide el reclutamiento adecuado de estas células hacia la herida, lo que resulta en una cicatrización deficiente (12). La hiperglucemia también altera el microambiente, células locales y circulantes, afectando la respuesta a hipoxia, la neovascularización y la regeneración tisular (15, 18).

En aspectos celulares, la diabetes deteriora el reclutamiento y proliferación de células progenitoras y retrasa la producción de citocinas como MCP-1 y MIP-2, afectando la llegada de monocitos y la activación de macrófagos (15). El retraso en la eferocitosis permite la acumulación de restos celulares, perpetuando la inflamación y degradando el microambiente de la herida, lo que impide su resolución (15). La hiperglucemia crónica también provoca disfunción endotelial, caracterizada por una reducción de la producción de óxido nítrico, aumento de ROS, alteración de factores de crecimiento y mayor riesgo de coagulación. Esta disfunción impide la vasodilatación inducida por presión, esencial para la protección cutánea (19).

Por otro lado, fibroblastos y queratinocitos en heridas diabéticas muestran alteraciones en su capacidad de migración, proliferación y producción de matriz extracelular. Fibroblastos reducen su respuesta a la hipoxia, disminuyen la producción de VEGF y aumentan la expresión de metaloproteinasas (MMPs), mientras que los queratinocitos sufren disfunciones en su unión celular y en su capacidad migratoria (15).

El microbioma cutáneo también desempeña un rol importante. Aunque muchos microorganismos de la piel son inofensivos o incluso beneficiosos, en condiciones de inmunocompromiso como la diabetes, estos pueden colonizar heridas crónicas y perjudicar su cicatrización (15).

Finalmente, la hiperglucemia inhibe la producción de péptidos antimicrobianos, aumenta el estrés oxidativo y afecta la síntesis de proteínas, migración y proliferación celular. Esto provoca contracción lenta de los bordes de la herida, mala formación de tejido de granulación, angiogénesis deficiente, reepitelización tardía y formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), perpetuando así la cronicidad de las heridas (18, 19, 20, 21, 22).

PARTE EXPERIMENTAL

La manipulación de los ratones se realizó conforme a los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Se utilizaron ratones macho de la cepa CD1, con un peso promedio de 25 gramos. Los animales se mantuvieron en un ambiente controlado a una temperatura de 25 ± 1 °C, con ciclos alternos de luz y oscuridad de 12 horas, y se les proporcionó libre acceso a alimento durante todo el estudio. Los ratones fueron inicialmente pesados y se midieron sus niveles de glucosa. Se organizaron en dos grupos de estudio:

- Grupo Sano: Ratones sanos a los que se les realizó una herida de 0.6 mm de diámetro (n=8)
- Grupo Diabético: Ratones diabéticos a los que también se les realizó una herida de 0.6 mm de diámetro (n=8).

*Para inducir diabetes en el grupo diabético, se administró una dosis única de 200 mg/kg de estreptozotocina (STZ) disuelta en un vehículo de buffer de fosfato, mediante inyección intraperitoneal. Dos semanas después de la administración de STZ, se midieron los niveles de glucosa en los ratones, considerando como diabéticos únicamente a aquellos que presentaron niveles de glucosa superiores a 250 mg/dL, condición requerida antes de realizar la herida.

Antes de la intervención, los animales fueron anestesiados mediante inyección intramuscular de lidocaína a una dosis de 3 mg/kg. Posteriormente, se rasuró la región dorsal de los ratones para facilitar el acceso al área de interés. La herida excisional de grosor completo se generó utilizando un punzón de anclaje dérmico para biopsia de 6 mm de diámetro. Tras la realización de la herida, los ratones fueron colocados en condiciones de recuperación adecuadas. (4).

La recuperación de las heridas se monitorizó midiendo su tamaño con un vernier en los días 2, 4, 5, 7, 9, 11 y 12 posteriores a la lesión. Asimismo, se procesaron imágenes de las heridas utilizando el software ImageJ para calcular el área de la herida en cada uno de los días evaluados. El porcentaje de retracción de la herida se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$\%\ \boldsymbol{de\ retracción\ de\ la\ herida} = \frac{\boldsymbol{Área\ inicial\ de\ la\ lesión - Área\ final\ de\ la\ lesión}}{\boldsymbol{Área\ inicial\ de\ la\ lesión}} \qquad (1)$$

Adicionalmente, se evaluó la formación de tejido de granulación observando macroscópicamente el aspecto de la herida. Se registraron cambios en el tamaño, coloración y cantidad de tejido de granulación presente en cada grupo. (18).
Finalmente, se evaluaron nuevamente los niveles de glucosa de los grupos en los días 8 y 12 posteriores a la realización de la lesión.

RESULTADOS



Figura 1. Evolución macroscópica de la herida en ratones sanos durante un periodo de 12 días.

En el grupo sano, se observó una evolución favorable de las heridas, estando caracterizada por una rápida contracción y reducción progresiva del área de la lesión. Desde el día 2 al día 5, se aprecia la formación de tejido de granulación, seguido de un avance claro hacia la reepitelización a partir del día 7. Para los días 11 y 12, las heridas están prácticamente cerradas. Este patrón es consistente con los mecanismos de cicatrización normales donde las fases de hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación se desarrollan de manera eficiente y secuencial



Figura 2. Evolución macroscópica de la herida en ratones diabéticas durante un periodo de 12 días.

El grupo diabético, por su parte, muestra alteraciones visibles en el proceso de cicatrización. Las heridas permanecen abiertas, con signos de necrosis persistente, lo que podría indicar una inflamación crónica y una disfunción en la fase de proliferación celular.

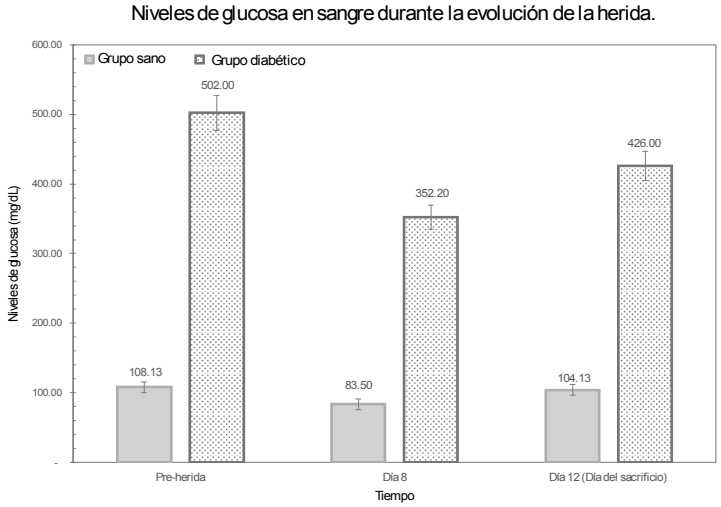


Figura 3. Comparación de los niveles de glucosa en sangre entre los grupos sano y diabético durante la evolución de la herida (pre-herida, día 8 y día 12 [día del sacrificio]).

Los datos obtenidos muestran que los niveles de glucosa en el grupo sano se mantuvieron dentro de los valores fisiológicos considerados como normales a lo largo del estudio, con un promedio de 108.13 mg/dL antes de la inducción de la herida, 83.50 mg/dL en el día 8 y 104.13 mg/dL en el día 12 pos-herida. En contraste, el grupo diabético mostró niveles de glucosa considerablemente elevados, con un promedio de 502.00 mg/dL antes de la inducción de la herida, 352.20 mg/dL en el día 8 y 426.00 mg/dL en el día 12 como se muestra en la *figura 3*.

La hiperglucemia crónica característica de la diabetes es un factor conocido por alterar múltiples procesos celulares y moleculares que son esenciales para la cicatrización, como lo son la angiogénesis, la actividad de fibroblastos y la función inmunológica. Estos niveles elevados podrían interferir en la capacidad del cuerpo para responder adecuadamente a la herida, lo que puede contribuir al retraso en la cicatrización observada en el grupo diabético.

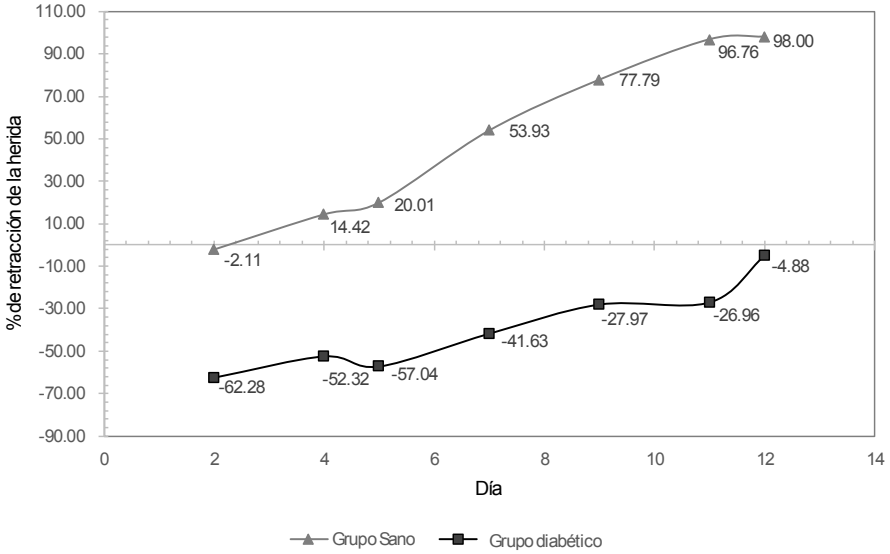


Figura 4. Comparación del área de la herida en mm^2 entre los grupos sano y diabético durante la evolución

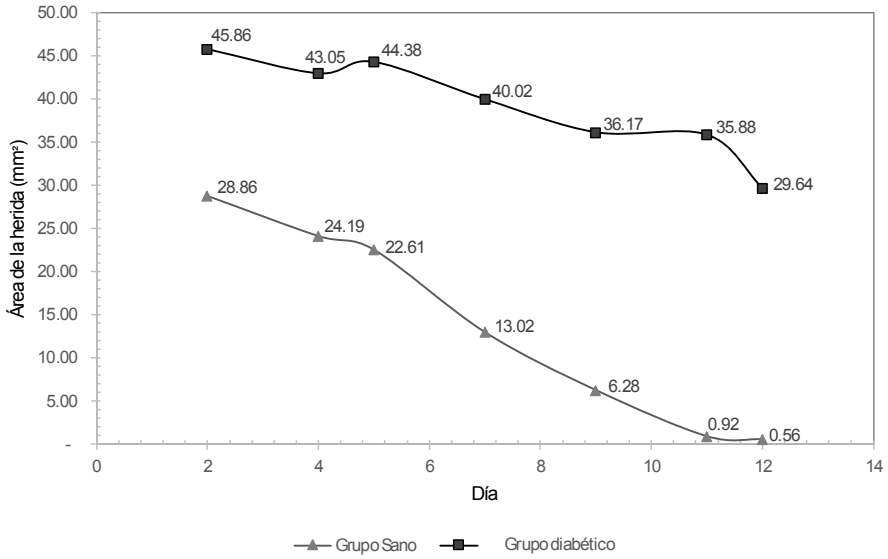


Figura 5. Comparación del porcentaje de retracción de la herida entre los grupos sano y diabético durante la evolución de la herida en los días 2,4,5,7,9,11,12.

En el grupo sano, la herida mostró una tendencia positiva continua, pasando de una expansión del 2.11% el día 2 a una retracción del 98% para el día 12, indicando una cicatrización progresiva y eficiente. Paralelamente, el área de la herida disminuyó de 28.26 mm² iniciales a 0.56 mm², reflejando una adecuada regeneración tisular.

En contraste, el grupo diabético mostró un porcentaje de retracción negativo en la mayor parte del seguimiento, con valores de -62.28 % al día 2 teniendo una expansión de más del doble del área inicial, y apenas alcanzando -4.88 % al día 12. Asimismo, el área de la herida se redujo solo de 45.86 mm² a 29.64 mm² entre el segundo y el último día de evaluación, lo que refleja un proceso de cicatrización lento y deficiente.

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que, en comparación con los ratones sanos, los diabéticos presentaron una cicatrización significativamente más lenta, con menor retracción de la herida, inflamación persistente, y poca formación de tejido de granulación, lo que refleja las dificultades en la reparación de tejidos en este tipo de pacientes.

Estos hallazgos evidencian el impacto negativo de la diabetes en la cicatrización de heridas y subrayan la complejidad del tratamiento del pie diabético. La deficiencia en la cicatrización incrementa el riesgo de infecciones graves y amputaciones, lo que resalta la necesidad de desarrollar modelos experimentales más precisos que permitan evaluar nuevas estrategias terapéuticas orientadas a mejorar la regeneración tisular y reducir la morbilidad asociada a esta complicación.

En este contexto, el presente trabajo busca establecer un modelo reproducible de cicatrización en ratones diabéticos, que permitirá a diferentes investigadores realizar la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento para esta enfermedad, facilitando así la identificación de terapias potenciales que podrían ser trasladadas al tratamiento del pie diabético en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Basto-Abreu A, López-Olmedo N, Rojas-Martínez R, Aguilar-Salinas CA, Moreno-Banda GL, Carnalla M, et al. Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. Salud Pública de México [Internet]. 13 de junio de 2023;65:s163-8. Disponible en: https://doi.org/10.21149/14832
2. Díaz R, Luna D, Lezana-Fernández MÁ, Meneses-González F. Pie diabético en el primer nivel de atención, recomendaciones y algoritmo de tamizaje. Reporte de caso. Revista CONAMED [Internet]. 1 de enero de 2022;27(4):185-92. Disponible en: https://doi.org/10.35366/108485
3. Mansilha A. Tratamiento y gestión del pie diabético. Angiología [Internet]. 10 de octubre de 2016;69(1):1-3. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.angio.2016.08.012
4. Soto LFL, Plata CC, Márquez VR, Damián JA, Pineda ALM, Hernández GÁ, et al. Modelos murinos de diabetes para el estudio de compuestos bioactivos. TECNOCIENCIA CHIHUAHUA [Internet]. 20 de febrero de 2024;18(1):e1402. Disponible en: https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1402
5. López IAA, Gómez MAC, López MLP, Villavicencio ASZ, Aguirre BAR, Hernández LM. La diabetes mellitus como problema de salud pública y su epidemiología. Medicina E Investigación Universidad Autónoma del Estado de México [Internet]. 17 de junio de 2022;10(1):85. Disponible en: https://doi.org/10.36677/medicinainvestigacion.v10i1.18780
6. World Health Organization. Classification of diabetes mellitus [Internet]. 2019 [citado 8 sep 2024]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325182/9789241515702-eng.pdf
7. World Health Organization. Diabetes [Internet]. 2023 [citado 8 sep 2024]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes
8. Organización Panamericana de la Salud. Diabetes [Internet]. 2024 [citado 10 sep 2024]. Disponible en: https://www.paho.org/es/temas/diabetes
9. Díaz-Rodríguez JJ. Aspectos clínicos y fisiopatológicos del pie diabético. Med Int Méx [Internet]. 2021;37(4):540-50. Disponible en: https://doi.org/10.24245/mim.v37i4.3298 (9)
10. Rai V, Moellmer R, Agrawal DK. Clinically relevant experimental rodent models of diabetic foot ulcer. Molecular And Cellular Biochemistry [Internet]. 28 de enero de 2022;477(4):1239-47. Disponible en: https://doi.org/10.1007/s11010-022-04372-w
11. Sanapalli BKR, Yele V, Singh MK, Krishnamurthy PT, Karri VVSR. Preclinical models of diabetic wound healing: A critical review. Biomedicine & Pharmacotherapy [Internet]. 30 de julio de 2021;142:111946. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111946

12. Goonoo N, Bhaw-Luximon A. Analyzing polymeric nanofibrous scaffold performances in diabetic animal models for translational chronic wound healing research. Nanotechnology Reviews [Internet]. 13 de septiembre de 2017;6(6):583-600. Disponible en: https://doi.org/10.1515/ntrev-2017-0162
13. International Working Group on the Diabetic Foot. Guías del IWGDF para la prevención y el manejo de la enfermedad del pie relacionada con la diabetes. En: IWGDF Guidelines [Internet]. 2023 [citado 28 sep 2024]. Disponible en: https://iwgdfguidelines.org/wp-content/uploads/2024/09/Guia-Espanol-IWGDF-2023.pdf
14. Mendoza-Martínez P, Almeda-Valdés P, Janka-Zires M, Gómez-Pérez FJ. Características clínicas y microbiológicas de pacientes con pie diabético. Med Int Méx [Internet]. 2021;37(2):196-211. Disponible en: https://doi.org/10.24245/mim.v37i2.4563
15. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: a Cellular perspective. Physiological Reviews [Internet]. 26 de noviembre de 2018;99(1):665-706. Disponible en: https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017
16. Federación Mexicana de Diabetes, A.C. ¿Qué es el pie diabético? [Internet]. 2021 [citado 27 sep 2024]. Disponible en: https://fmdiabetes.org/que-es-el-pie-diabetico/
17. Couturier A, Calissi C, Cracowski JL, Sigaudo-Roussel D, Khouri C, Roustit M. Mouse models of diabetes-related ulcers: a systematic review and network meta-analysis. EBioMedicine [Internet]. 31 de octubre de 2023;98:104856. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104856
18. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. Open Biology [Internet]. 1 de septiembre de 2020;10(9). Disponible en: https://doi.org/10.1098/rsob.200223
19. Burgess JL, Wyant WA, Abujamra BA, Kirsner RS, Jozic I. Diabetic Wound-Healing Science. Medicina [Internet]. 8 de octubre de 2021;57(10):1072. Disponible en: https://doi.org/10.3390/medicina57101072
20. Deng L, Du C, Song P, Chen T, Rui S, Armstrong DG, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. Oxidative Medicine And Cellular Longevity [Internet]. 1 de enero de 2021;2021(1). Disponible en: https://doi.org/10.1155/2021/8852759
21. Rodríguez-Rodríguez N, Martínez-Jiménez I, García-Ojalvo A, Mendoza-Mari Y, Guillén-Nieto G, Armstrong DG, et al. Wound Chronicity, Impaired Immunity and Infection in Diabetic Patients. MEDICC Review [Internet]. 17 de septiembre de 2021;24(1):44. Disponible en: https://doi.org/10.37757/mr2021.v23.n3.8 21
22. Stable García Y. Cicatrización de heridas en la Diabetes Mellitus. Arch Med [Internet]. 2023;19(1):1581. Disponible en: https://doi.org/10.36648/1698-9465.23.19.1581

EFECTOS DEL CONSUMO CRÓNICO DE FLÚOR SOBRE LAS NEURONAS PIRAMIDALES DE LA CAPA V DE LA CORTEZA MOTORA

Ricardo Josue Reyes Cuellar [1], Fernanda Marlen Enríquez Sánchez [1], Liliana Valdez Jiménez [2], María de la Luz Miranda Beltrán[1], María Isabel Pérez Vega [1,2].

[1]Laboratorio de Ciencias Biomédicas, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, [2]Laboratorio de Neuropsicología, Departamento de Humanidades, Artes y Culturas Extranjeras, Centro Universitario de los Lagos (CULagos), Universidad de Guadalajara, Lagos de Moreno, Jalisco, México.
ricardo.rcuellar@alumnos.udg.mx.

RESUMEN

Las altas concentraciones de flúor (F-) en el agua de diversas regiones del norte y occidente de México se han relacionado con diversos problemas de salud, donde las poblaciones expuestas de manera crónica a altos niveles de este elemento muestran fluorosis dental y afectaciones en el sistema nervioso debido a una mayor liberación de radicales libres, resultado del estrés oxidativo[1]. Asimismo, se ha reportado que la exposición a F- provoca cambios a nivel neuronal en diversas estructuras del sistema nervioso, tales como el hipocampo y la corteza frontal, provocando alteraciones en las funciones asociadas a estas estructuras[2]. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del consumo crónico de altas concentraciones de F- a través del agua sobre las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora. Para ello, se utilizaron ratas de la cepa *Wistar,* provenientes de madres a las que se les administró agua fluorada a 150 ppm F- durante todo el periodo de gestación y lactancia. Después del destete, se separaron a los machos y estos continuaron con la exposición hasta los 130 días de edad. Asimismo, se incluyó un grupo testigo al que se le administró agua desionizada durante todo el tratamiento. Al finalizar el experimento, se sacrificó a las ratas y se extrajo el cerebro para el procesamiento histológico. Se analizaron al microscopio 10 cortes de 10 µm por rata, teñidos con la tinción de violeta de cresilo. Se tomaron microfotografías de la corteza motora primaria y con el software ImageJ, se realizó el conteo neuronal en campos de 62,500 µm² dentro de la capa V para determinar la densidad celular total. Asimismo, se cuantificaron las neuronas con alteraciones y se calculó la proporción de neuronas anormales con respecto a las neuronas totales por campo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de densidad neuronal entre los grupos analizados ($p > 0.05$), sin embargo, en la evaluación de la integridad celular, el grupo expuesto a F- presentó una proporción estadísticamente mayor de neuronas anormales con respecto al grupo control ($p<0.001$). Estos hallazgos muestran que la exposición a altas concentraciones de F- desde la gestación y hasta los 130 días de edad tuvo un impacto negativo en las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora de las ratas, lo que podría comprometer su función y contribuir a deficiencias en las tareas motoras.

INTRODUCCIÓN

Diversas investigaciones en el campo de las neurociencias giran en torno al comportamiento de los individuos y los procesos que subyacen a ellos, los cuales van de la mano con las vivencias del día al día de las personas, y tienen su origen biológico en el cerebro siendo este el órgano que desempeña distintas funciones como adquirir aprendizajes, almacenar experiencias y reconocer nuestro entorno. Dicho de otra manera, la importancia de este órgano es el de regular y generar conductas que favorezcan la adaptación y funcionalidad de los individuos de acuerdo a las necesidades del contexto inmediato.

Cuando se habla de aprendizaje y adaptación se hace referencia a cambios en las respuestas motoras y conductas, que anatómicamente a nivel microscópico pueden observarse como

modificaciones de las redes neuronales. Sin embargo, cabe resaltar que desde el momento de la concepción y durante todo el ciclo vital del humano, tanto individualmente, como socialmente las personas se ven envueltas por factores que pueden influir en el desarrollo cerebral y afectar su funcionalidad. En este sentido el medio ambiente juega un papel importante en la salud, a través de variables como el cambio climático, la economía y las políticas públicas de cada país destinadas a preservar la calidad de vida de la población. Sin embargo, cuando estas no son correctamente planteadas e implementadas pueden originar la desatención de diversos padecimientos y perpetuar su desarrollo y transmisión. Algunos ejemplos de estas consecuencias son el aumento de desechos, el uso de químicos como plaguicidas, así como la falta de calidad del agua que se usa para el consumo humano, en la industria agrícola y ganadera, lo que puede alterar la calidad de vida de los individuos[3].

Alrededor del mundo se ha reportado un problema común en mantos acuíferos que son fuente de consumo humano en diversas poblaciones, debido a la presencia de contaminantes químicos y biológicos que propician efectos nocivos en las comunidades que la consumen. Uno de los contaminantes de origen químico más comunes en el agua es el flúor (F-)[4]. La presencia en particular de este elemento es bastante amplia en toda la corteza terrestre y aguas subterráneas, donde se encuentra de forma natural. Sin embargo, el consumo de altos niveles de F- se ha relacionado con diversos efectos nocivos en la salud. Hasta el momento se han registrado 25 países cuyos niveles de F- se encuentran por encima de lo que marcan las normas internacionales en el agua consumo humano, entre ellos se encuentran la India, China, Zonas centrales de África, Sudamérica, y varios estados de la república Méxicana[5]. Por otra parte, cabe aclarar que este mismo elemento ha sido ampliamente utilizado por décadas para la prevención de caries y salud bucal debido a las propiedades de este elemento en el proceso de mineralización del tejido óseo y de su rentabilidad que lo hacen un método viable sobre todo en regiones vulnerables y de acceso limitado a servicios de salud bucal. No obstante, estos productos representan otra fuente de exposición importante a este elemento si no son utilizados de forma adecuada, dada la evidencia de que la ingesta de determinadas dosis de F- llega a ser nociva para la salud[6]. Esta problemática lleva a resaltar la importancia de su vigilancia y regulación a través de la implementación de normas públicas, como la NOM-127-SSA1-1994[7] donde se determinan los tratamientos y niveles que debe tener el agua para su potabilización, en donde se establece un nivel máximo permisible de 1.5 mg/L de F- en el agua destinada para el consumo humano. Así mismo, la OMS recomienda de 1,000 a 1,500 partes por millón (ppm) en productos fluorados para el cuidado bucal[6].

TEORÍA

Se ha demostrado que el F- tiene una fuerte presencia en los mantos acuíferos de diversos países que forman parte del consumo humano cotidiano, lo que hizo que la OMS[8] reconociera dicho fenómeno como un foco de atención para la salud. A esto se suman todos aquellos alimentos y productos en los que se han encontrado cierto nivel de F-, siendo las pastas de dientes y enjuagues bucales algunos de los más importantes, lo que ha incrementado la incidencia de fluorosis[9]. La severidad de los daños que puede ocasionar, se relaciona con la dosis, la duración y el tiempo de exposición. La combinación de estos factores aumenta los riesgos de desarrollar afecciones tales como la fluorosis dental, la cual es el primer síntoma de exposición crónica a altos niveles de F- que en casos graves se ha llegado a encontrar la pérdida del esmalte y la presencia de pequeños hoyuelos en las piezas dentales[10].

Aunado a los efectos del F- en piezas dentales, algunas líneas de investigación que incluyen el sistema nervioso central han encontrado correlación entre niveles altos de F- y una liberación mayor de radicales libres, producto del estrés oxidativo[11,12,13], situación que se ha relacionado con una mayor probabilidad de desarrollar trastornos neurodegenerativos en población adulta en donde el deterioro del sistema motor es un síntoma generalmente asociado como el Párkinson, y esclerosis múltiple[2]. Mientras que, durante la gestación y en la población infantil, se ha encontrado evidencia de que la exposición al F- por encima de 1 ppm, sobre todo en periodos críticos (de 21 a 30 meses

en niñas y de 15 a 24 meses en niños), puede afectar el rendimiento de funciones cognitivas, e incluso puede llevar al desarrollo de discapacidad intelectual [14,15].

Por otro lado, son escasas las investigaciones que abordan los efectos que ocasiona este elemento en la corteza motora, región localizada en el giro precentral, en la región posterior del lóbulo frontal y anterior al surco central, también llamado cisura de Ronaldo que divide este lóbulo del parietal, y es designada como el área 4 de Brodmann[16]. Como su nombre lo indica esta región se encarga del movimiento voluntario, en esta, las células de la capa V (piramidal externa), denominadas células de gigantes de Betz son las que presentan mayor protagonismo. Los axones de estas neuronas descienden desde la corteza motora hasta la zona medial del mesencéfalo entrando a los pedúnculos cerebrales y pasando al bulbo raquídeo formando las vías piramidales. Además, descienden a través de la médula espinal, formando el tracto corticoespinal ventral y lateral, el primero juega un papel importante en la capacidad de agarre y manipulación de objetos, pues el impulso nervioso llega a los grupos musculares de los dedos, manos, y brazo; el segundo por su parte se encarga de la locomoción y postura por medio de grupos musculares de la mano, parte inferior de los brazos y pies, y parte inferior de las piernas. Otra vía que tiene su origen en la corteza motora es el tracto corticobulbar que tiene la función del control de la cabeza, cuello, la cara, y lengua por medio de los nervios craneales: 5, 7, 9, 10, 11 y 12[17,18,19,20]. Por lo anterior resulta de particular interés conocer los efectos del consumo crónico de F- sobre las neuronas piramidales de la V capa de la corteza motora.

PARTE EXPERIMENTAL

Para el presente trabajo de investigación se utilizaron cerebros provenientes de un proyecto de investigación preexistente[21], donde se emplearon ratas *Wistar* para evaluar los efectos tóxicos del consumo crónico de F- a partir de la gestación y hasta los 130 días de edad. Para este estudio se analizaron los cerebros del grupo expuesto a 150 ppm de F- y el grupo testigo (5 cerebros por grupo).

Histología

Se disectó la corteza motora del hemisferio derecho de acuerdo con el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (1997), para realizar cortes de 10 micras en la zona de interés. Se analizaron 10 cortes por animal en cada grupo dando un total de 50 cortes por grupo y 100 en total. Los cortes se tiñeron utilizando la técnica de violeta de cresilo[22].

Posteriormente, se tomaron microfotografías de la zona correspondiente a la corteza motora con un microscopio Leica DM1000 acoplado a una cámara Hayear HY-500M, con el objetivo de 4X. Una vez obtenidas las fotografías, y con la ayuda de la aplicación ImageJ, se midieron 700 micras desde la superficie pial hacia el interior de la corteza para ubicar la capa V. Luego, se seleccionaron dos áreas de 62,500 µm² en las cuales se realizó el conteo celular para determinar la densidad neuronal total, obteniendo 100 conteos por grupo para realizar el análisis estadístico. Posterior a ello, con el objetivo de 10X se tomaron fotografías de los primeros 5 cortes de cada sujeto para analizar a detalle las características particulares de las neuronas en la región donde se llevó a cabo el conteo y se cuantificó el número de neuronas con alteraciones o daño presente. A partir de estos datos se determinó la proporción dividiendo el número de neuronas anormales entre el número total de neuronas por campo (62,500 µm²).

Análisis estadístico

Se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianzas con la prueba de Kolmogorov- Smirnov (para la densidad neuronal), Shapiro-Wilk (para las proporciones de anormalidad en las neuronas) y el test de Bartlett, respectivamente. Una vez comprobados los supuestos, los datos se analizaron mediante la prueba T de Student, considerando una $p \leq 0.05$. Todas las pruebas se realizaron utilizando el software estadístico R versión 4.3.1.

RESULTADOS

Determinación de densidad neuronal

En el análisis de densidad neuronal se registró un promedio de 41.0 ± 0.917 neuronas/62,500 µm² en el grupo T y de 42.6±0-871 neuronas/62,500 µm² en el grupo, G150 (Figura 1). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (*p>0.05*).

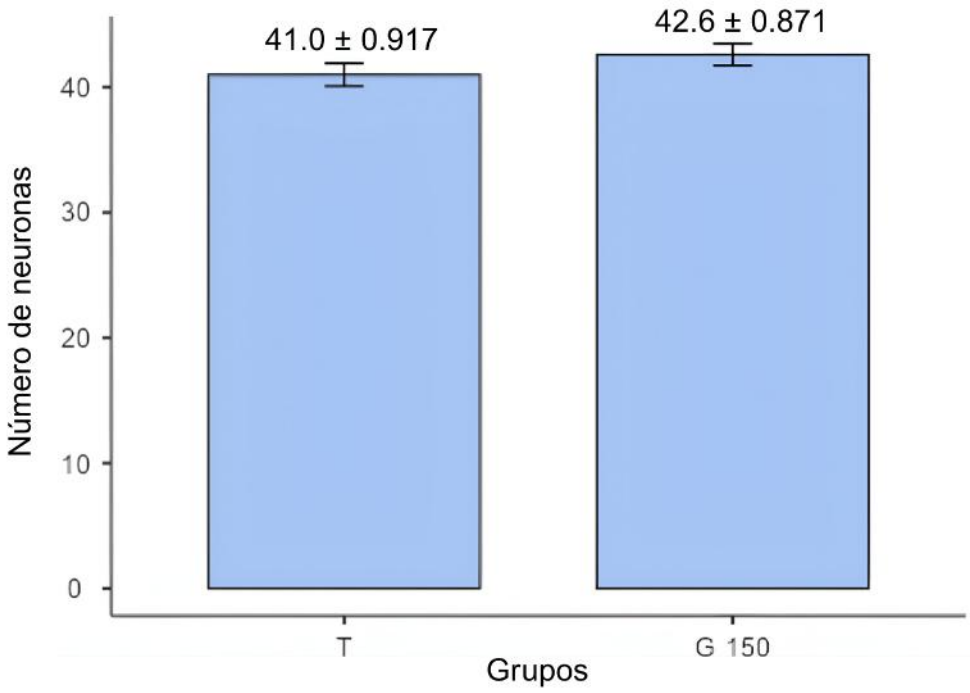


Figura 1. Comparación integrupal del número de neuronas de la capa V de la corteza motora. Promedio ± EEM de $p \leq 0.05$

Evaluación de integridad celular

En la evaluación de la integridad celular se registró que el grupo expuesto a F- presentó una proporción mayor de neuronas anormales (0.478 ± 0.0371) la cual presentó diferencias estadísticamente significativas ($p<0.001$) con respecto al grupo T (0.205 ± 0.0316) (Figura 2). En el grupo G150 se observó que una mayor proporción de neuronas presentaron cambios indicativos de muerte celular, tales como reducción de tamaño, pérdida de la forma normal y fragmentación en comparación con el grupo T donde la mayoría de las neuronas analizadas presentaron una morfología normal.

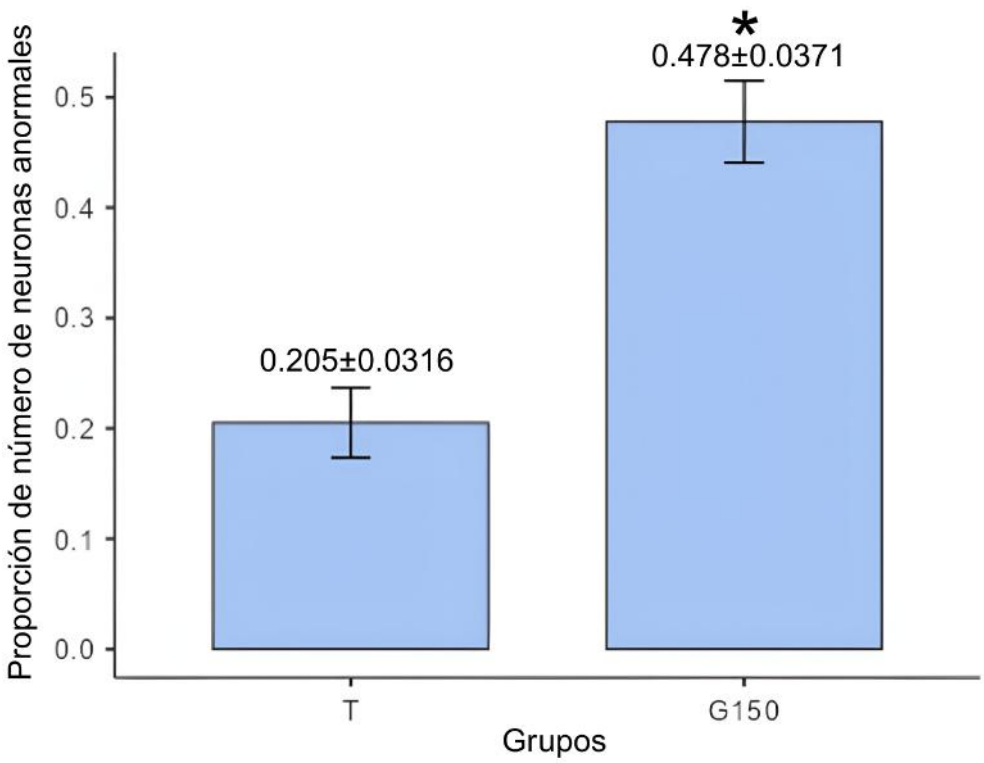


Figura 2. Comparación intergrupal del número de neuronas anormales de la capa V de la corteza motora. Promedio ± EEM de $p \leq 0.05$*

CONCLUSIONES

Discusión

En la presente investigación se encontró que no hubo diferencias significativas en cuanto a la densidad neuronal entre los dos grupos de estudio, mientras que, con relación a la integridad celular se evidenció que las ratas expuestas a 150 ppm de F- en el agua desde la gestación hasta los 130 días de edad mostraron un mayor número de neuronas oscurecidas, o encogidas, siendo signo de cambios neurodegenerativos. Estos resultados pueden contrastarse con estudios previos como el realizado por Shivarajashankara, et al.[23] en el que se analizó la exposición de ratas albinas *Wistar* gestantes a 0.5 ppm (control), 30 ppm, y 100 ppm de fluoruro (como NaF) durante la última semana de gestación, el periodo de lactancia y hasta las 10 semanas de edad para las crías. Estos autores reportaron que las neuronas en el grupo al que se le administró 100 ppm de NaF estaban encogidas y oscurecidas con núcleos pequeños y una disminución en el número de células con signos de cromatólisis y gliosis en regiones como el hipocampo, la amígdala y la corteza motora. Así mismo, en el cerebelo las células de Purkinje se vieron afectadas, con una disminución en su número.

Por otro lado, Hamid, et al. [24] estudiaron la exposición a F- en ratas albinas que fueron expuestas a concentraciones de 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm y agua de grifo sin F-, por un periodo de 90 días. En este estudio en los animales expuestos se evidenció una pérdida de peso y debilidad en comparación con el grupo control, la pérdida de peso fue proporcional a la concentración de F- en el agua y al tiempo de exposición. Asimismo, en los grupos que fueron expuestos a 100 ppm y 500 ppm de F- se observó hinchazón neuronal, signos de cromatólisis, vacuolación, cambios picnóticos, disminución de la densidad neuronal y gliosis, especialmente después de 60 y 90 días de exposición. Por su parte, Jetti, et al.[25] realizaron un estudio empleando ratas *Wistar* macho donde evaluaron los efectos de la exposición a F- y la capacidad protectora de goma acacia, ácido ascórbico y extracto de *Ginkgo biloba* (Grupo I (control): 0.5 ppm de F- en agua potable; Grupo II: 100 ppm de NaF en

agua potable por 30 días; Grupo III: 100 mg/kg de goma acacia por 30 días, seguido de 100 ppm de fluoruro por 30 días; Grupo IV: 100 mg/kg de ácido ascórbico por 15 días, seguido de 100 ppm de fluoruro por 30 días y Grupo V: 100 mg/kg de extracto de Ginkgo biloba por 15 días, seguido de 100 ppm de fluoruro por 30 días). En esta investigación se encontró que en los grupos expuestos a F- mostraron reducción en el número de neuronas viables dentro de la corteza motora. Sin embargo, los grupos que recibieron *Ginkgo biloba* y ácido ascórbico mostraron un mayor número de neuronas viables, lo que muestra que los efectos tóxicos del F- pueden ser mitigados.

Por último, Shashi, y Jatinder[26] realizaron un estudio en donde asignaron ratas albinas *Wistar* jóvenes a 4 grupos: al grupo I se le administró 1 ml de agua bidestilada/kg mientras que los grupos II a IV se les administró 100, 200 y 300 ppm de fluoruro de sodio por kg de peso corporal por día, durante 45 días. En sus resultados muestran que en la corteza motora del grupo II las células granulares se agruparon en forma de cúmulos, algunas se mostraban hinchadas en forma y tamaño, además algunas neuronas piramidales presentaron cromatólisis, estaban encogidas y mostraron núcleos excéntricos o necrosis. En el grupo III se observaron núcleos atrofiados en algunas células gliales, neuronas piramidales mostrando necrosis, núcleos hipercrómicos y signos de degeneración neuronal significativa. Así mismo, en el Grupo IV las células gliales aparecieron pequeñas, intensamente teñidas, rodeadas de áreas vacuoladas, además se observó una degeneración en el neuropilo y neuronas eosinofílicas, con núcleos hinchados y halos claros alrededor de algunas neuronas.

Los resultados obtenidos muestran que no hubo cambios significativos con relación al número de neuronas entre los grupos analizados, lo que sugiere que la exposición a F- durante etapas tempranas del desarrollo cerebral podría desencadenar la expresión de mecanismos adaptativos y/o plasticidad celular provocando una resistencia al efecto nocivo del F-. Sin embargo, al realizar el análisis sobre la integridad neuronal se puede apreciar que existe una relación entre los efectos que puede ocasionar el F- a altas dosis sobre la morfología e integridad de las neuronas, lo cual podría ser un indicativo del daño celular ocasionado por la presencia de radicales libres que inducen estrés oxidativo en la célula que puede degenerar en procesos de apoptosis celular (REF), y eventualmente a comprometer la función de esta estructura cerebral.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que la exposición a altas concentraciones de F- desde la gestación y hasta los 130 días de edad tuvo un impacto negativo sobre las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora de las ratas, lo que podría comprometer su función y contribuir a deficiencias en las tareas motoras.

Estos hallazgos demuestran una correlación entre la exposición al F- y un mayor deterioro neuronal, lo que puede tener repercusiones en la calidad de vida de los individuos que están expuestos a este elemento de forma continua.

BIBLIOGRAFÍA

1. Krechniak J. & Inkielewicz I. Correlaciones entre las concentraciones de fluoruro y los parámetros de radicales libres en tejidos blandos de ratas. *Fluoride.* 2005;38(4):293-296. doi:2-s2.0-33645347291.
2. Valdez L., Márquez E.N., Castellanos E.A., Soria C. & Pérez M.I. Alteraciones neurocognitivas: efecto del consumo de agua con altas concentraciones de flúor. En: *De la actividad neuronal a la conducta.* Lagos de Moreno, Jal: Universidad de Guadalajara; 2018. p. 127-146.
3. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Determinantes ambientales de la salud [Internet]. Washington D. C.: OPS; [citado 21 May 2025]. Disponible en: https://www.paho.org/es/temas/determinantes-ambientales-salud

4. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Agua y saneamiento [Internet]. Washington D. C.: OPS; [citado 21 May 2025]. Disponible en: https://www.paho.org/es/temas/agua-saneamiento
5. Organización Mundial de la Salud. Directrices para la calidad del agua potable: cuarta edición que incorpora el primer y segundo addenda [Internet]. Ginebra: OMS; 2022 [citado 21 May 2025]. 614 p. Disponible en: https://www.who.int/publications/i/item/9789240045064
6. Organización Mundial de la Salud. Ingesta inadecuada o excesiva de flúor: un importante problema de salud pública [Internet]. Ginebra: OMS; 2019 [citado 21 May 2025]. Disponible en: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-EPE-19.4.5
7. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano [Internet]. 22 Nov 2000 [citado 21 May 2025]. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2063863
8. Organización Mundial de la Salud. Guías para la calidad del agua de consumo humano [Internet]. 4ª ed. Ginebra: OMS; 2018 [citado 21 May 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241549950
9. Whelton H.P., Spencer A.J., Do L.G. & Rugg-Gunn A.J. La revolución del fluoruro y caries dental. *J Dent Res.* 2019;98(8):837-846. doi:10.1177/0022034519843495
10. Martínez C.N.Y., Pereyra Y.M., Catacora L.A.C., Torres E.R.M., Laura A.A. & Nina M.S.C. Flúor y fluorosis dental. *Rev Odontol Basadrina.* 2021;5(1):75-83. doi:10.33326/26644649.2021.5.1.1090
11. Krechniak J. & Inkielewicz I. Correlaciones entre fluoruro y parámetros de radicales libres en ratas. *Fluoride.* 2005;38(4):293-296. Disponible en: https://fluoridealert.org/wp-content/uploads/krechniak-20051.pdf
12. Yamaguti P.M., Simões A., Ganzerla E., Souza D.N., Nogueira F.N. & Nicolau J. Efectos del fluoruro de sodio en glándulas salivales de ratas. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:674593. doi:10.1155/2013/674593
13. Delgado F.J.J. Efecto de *Physalis peruviana* sobre la lipoperoxidación en células hepáticas de *Rattus norvegicus* [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2014. Disponible en: https://dspace.unitru.edu.pe/items/065f558b-b696-4af3-b6cc-7f88d9120997
14. Vilcarino Z.V.E. Grado de fluorosis dental en niños de 3-5 años [Tesis]. Lima: Universidad Alas Peruanas; 2023. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12990/11606
15. Lara R.K.I. & Calderón H.J. Vulnerabilidad y resiliencia de los territorios ante riesgos ambientales y sociales. Evaluación y propuestas: UNAM; 2023. p.43-63. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/378869458
16. Sampieri C.R. & Zavala R.L. Control del movimiento por motoneuronas. En: Morales S.J.L., editor. *Alexanderson Fisiología celular y neurofisiología.* México: Manual Moderno; 2022. p.89-112. Disponible en: https://books.google.es/books?id=G3R8EAAAQBAJ
17. Buenaño S.A.T. & Villafuerte P.A.D. Desarrollo psicomotor y su influencia en la lectoescritura. *Cienc Saberes* [Internet]. 2023 [citado 21 May 2025];1(3):13-26. Disponible en: https://ojs.rimanaeditorial.com/index.php/cys/article/view/15
18. Carlson N.R. *Fisiología de la conducta.* 11ª ed. Madrid: Pearson; 2014.
19. González B.I., González T.D. & Vásquez H.N. Actividad motora: una aproximación integral. En: *Vulnerabilidad y resiliencia de los territorios ante riesgos ambientales y sociales.* México: UNAM; 2021. p.43.
20. Laureani F.A., Lara A.S.Y., Morgado C., Beltrán L., García L. & Hernández M.E. Trastornos de las neuronas motoras. *Rev eNeurobiol* [Internet]. 2022 [citado 21 May 2025];13(31):1-23. Disponible en: https://eneurobiologia.uv.mx/index.php/eneurobiologia/article/view/2599
21. Enríquez S.F.M., Valdez J.L., López V.M.A., Olvera C.M.E., Villalobos G.P.T. & Pérez V.M.I. Impacto de la exposición crónica al fluoruro en la integridad dental y crecimiento de ratas Wistar. *Fluoride.* 2024;57(8):1-9. Disponible en: https://www.fluorideresearch.online/epub/files/274.pdf
22. Paxinos G. & Watson C. *El cerebro de la rata en coordenadas estereotáxicas.* 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 1997.

23. Shivarajashankara Y.M., Shivashankara A.R., Bhat P.G., Rao S.M. & Rao S.H. Cambios histológicos en el cerebro de ratas jóvenes intoxicadas con fluoruro. *Fluoride.* 2002;35(1):12-21. Disponible en: https://fluoridealert.org/wp-content/uploads/shivarajashankara-2002.pdf
24. Hamid S., Kawoosa Z., Hamid S., Mir M.A., Hafiz A., Jan I. & Yaqoob F. Efectos histopatológicos del fluoruro en el cerebro de ratas albinas. *J Interdiscip Histopathol.* 2012;1(1):30-34. doi:10.5455/jihp.20121105123701
25. Jetti R., Raghuveer C.V., Mallikarjuna R.C., Somayaji S.N. & Prakash B.B. Efecto neuroprotector de ácido ascórbico y *Ginkgo biloba* contra neurotoxicidad por fluoruro. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol.* 2014;8(1):30-36. Disponible en: https://fluoridealert.org/wp-content/uploads/jetti-20141.pdf
26. Shashi A. & Kumar J. Neurotoxicidad por fluoruro en la corteza cerebral de ratas. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2016;5(10):938-951. doi:10.20546/ijcmas.2016.510.101

EVALUACIÓN BROMATOLÓGICA DE FRUTOS Y HOJAS DE PERESKIA ACULEATA MILL.: UNA CACTÁCEA FUNCIONAL

Roxana Jazmin Ambriz Martinez, Juan Pablo Amaya Torres, Jenny Arratia-Quijada, Beatriz Adriana Andrade Espinoza*

Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Tonalá, Departamento de Ciencias Biomédicas, Av. Nuevo Periférico No.555 Ejido San José Tateposco, C.P. 45425, Tonalá, Jalisco, México.

beatriz.andrade@academicos.udg.mx

RESUMEN

El arbusto *Pereskia Aculeata Mill* o *Grosella espinosa de Barbados*, es una especie perteneciente a la familia Cactácea, es originario de regiones tropicales de América, destacando su presencia especialmente en la Mata Atlántica brasileña y otras regiones de Sudamérica. Este arbusto trepador espinoso, ha ganado relevancia debido a su nivel nutricional y propiedades funcionales. Sus hojas y frutos son ricos en vitaminas, minerales (calcio, hierro) y microelementos, β-carotenos, ácido fólico y ascórbico, compuestos bioactivos con actividad antioxidante, antimicrobiana, anticonceptiva, antiinflamatoria, cicatrizante, neuro protectora y antiproliferativa. Sus frutos se han utilizado como ingrediente principal en la elaboración de mermeladas, salsas y otros alimentos.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la composición bromatológica de *Pereskia Aculeata Mill* cultivada en el occidente de México mediante métodos estandarizados. Se analizaron 100 g de *Pereskia Aculeata Mill*, evaluando su contenido de humedad, cenizas, grasas, proteínas y azúcares reductores.

Los estudios bromatológicos mostraron que por cada 100 g de muestra hay 89.1% de humedad, 8.11% de cenizas, 18% de grasas, 11.12% de proteínas y 34.81% de azúcares reductores. Estos datos confirman el alto valor nutritivo de *Pereskia Aculeata,* lo cual es comparable al análisis bromatológico reportado para arbustos cultivados en regiones de Sudamérica, destacando su aporte proteico y energético. Su perfil nutricional sugiere su potencial como fuente de nutrientes y compuestos bioactivos, con gran posibilidad de aplicaciones en el sector salud y la industria alimentaria. Este estudio contribuye a la valorización de especies subutilizadas.

INTRODUCCIÓN

El arbusto *Pereskia Aculeata Mill* (ora-pro-nobis) o Grosella espinosa de Barbados, es una especie perteneciente a la familia Cactácea[1,2], la cual incluye más de 100 géneros y 1500 especies[3], es originario de regiones tropicales de América, destacando su presencia especialmente en la Malta Atlántica brasileña y otras regiones de Sudamérica[1,2]. Es descrita como una enredadera leñosa perenne que crece de foma arbustiva, llega a alcanzar más de 4 metros de altura, tiene ramas alargadas con espinas, hojas de forma elíptica de entre 3 a 8 cm de largo, sus flores son amarillo cremoso con centro rojo que se desarrollan en primavera y verano[3]. Los frutos son similares a una baya rodeados de gloquidios o espinas con tonalidades amarillas que cambian a naranja cuando están maduros, sus semillas son de color negro inmersas en una masa gelatinosa[4]. Su fácil propagación se debe a que es una especie rústica, con alta resistencia a condiciones áridas, no requiere un suelo altamente fértil y presenta crecimiento vegetativo durante todo el año[5]. Se ha observado qué también puede crecer en climas húmedos y semihúmedos, y tiene una alta capacidad de adaptación a diferentes tipos de suelos dentro de los que se incluyen, zonas rocosas con pH de entre 6 a 7.5, suelos de arena fina, franco arenoso, piedra caliza y granito[4]. Este arbusto trepador espinoso, ha ganado relevancia debido a su nivel nutricional y propiedades funcionales. Sus hojas y frutos son ricos en vitaminas, minerales (calcio, hierro) y microelementos, β-carotenos, ácido fólico y ascórbico, compuestos bioactivos con actividad antioxidante, antimicrobiana, anticonceptiva, antiinflamatoria[6]. Además, se ha evaluado su efecto cicatrizante[1], y su actividad neuroprotectora y

antiproliferativa[7]. Entre los compuestos que más destacan en su composición están los hidratos de carbono, presentes en forma de polisacáridos estructurados y altamente ramificados, mejor conocidos como mucílagos[3]. El mucílago se caracteriza por presentar una elevada capacidad de absorción de agua, lo cual permite que se use como hidrocoloide o gelificante en la industria alimentaria[8]. Sus frutos se han utilizado como ingrediente principal en la elaboración de mermeladas, salsas y otros alimentos[1]. Es por ello que el objetivo de esta investigación fue evaluar la composición bromatológica de *Pereskia Aculeata Mill* cultivada en el occidente de México mediante métodos estandarizados.

PARTE EXPERIMENTAL

La *Pereskia aculeata Mill* (Figura 1) fue recolectada en la comunidad de El Platanar, Zapotlán del Rey, Jalisco, México (coordenadas 20°26'27.6"N 103°02'57.6"W). Las muestras de hojas y frutos fueron limpiadas utilizando papel seco, evitando el uso de líquidos o detergente para prevenir alteraciones en los análisis bromatológicos.

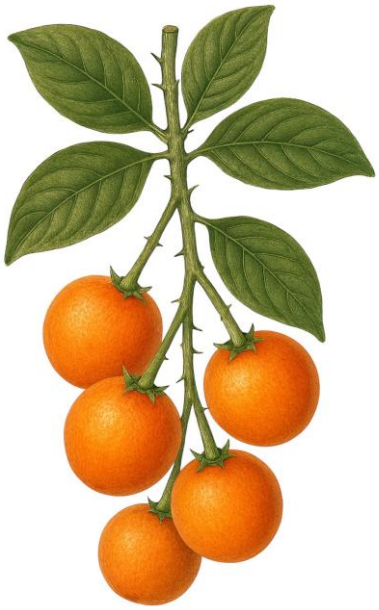


Figura 1. Frutos y hojas de *Pereskia Aculeata Mill*. Imagen elaborada mediante BioRender.com.

Determinación de humedad

Para cuantificar el contenido de cenizas (Figura 2), se utilizó una cantidad representativa de la muestra, colocándola en una cápsula llevada a peso constante. Se introdujo la muestra en un horno de convección (Binder, modelo ED 53-UL) a una temperatura de 105°C durante varias horas.

Transcurrido ese tiempo, la cápsula se trasladó a un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se registraron los pesos.
La muestra se sometió nuevamente a temperatura en horno y enfriamiento en desecador hasta llegar a un peso menor o igual a 2 mg, y para finalizar se realizaron los cálculos correspondientes.

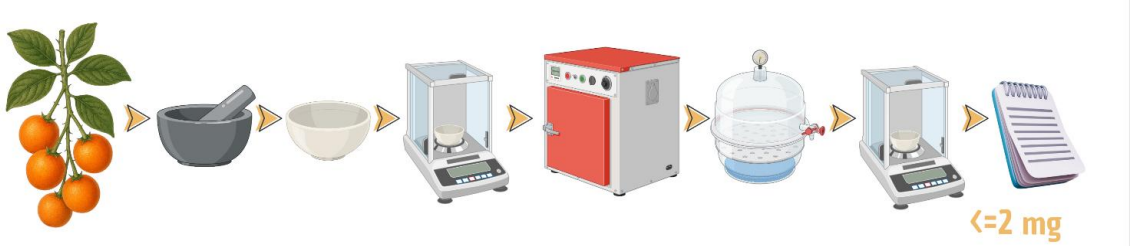


Figura 2. Determinación de humedad. Imagen elaborada mediante BioRender.com.

Determinación de cenizas
El contenido de cenizas se determinó (Figura 3) pesando muestra en crisoles a peso constante y colocándolos en una mufla (modelo LEF-205P-O) a 550°C por cinco horas.
Una vez obtenidas las cenizas, se colocan en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente. Posteriormente, se pesan y se procede a realizar los cálculos correspondientes.



Figura 3. Determinación de cenizas. Imagen elaborada mediante BioRender.com.

Determinación de grasas (método Soxhlet)
Para cuantificar el contenido de grasas se utilizó el método Soxhlet (Figura 4). Se pesó una cantidad de 4 g de muestra sobre papel filtro, el cual se colocó en un dedal de celulosa para insertarlo en la cámara de extracción Soxhlet.

Se utilizó el disolvente en un matraz a peso constante, el cual fue calentado y colocado en una placa de calentamiento logrando la ebullición. El reflujo se mantuvo por varios ciclos con un goteo constante.

Finalizado el proceso, se retiró el dedal y se secó en el horno para conservarlo en un desecador. El disolvente del matraz se evaporó hasta sequedad, el residuo fue pesado al enfriarse y se realizaron los cálculos correspondientes.

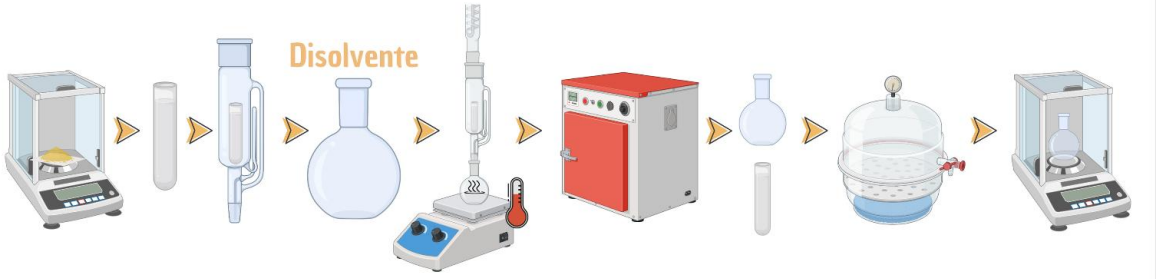


Figura 4. Determinación de grasas. Imagen elaborada mediante BioRender.com.

Determinación de proteínas (método Kjeldahl)
El análisis de proteínas se llevó a cabo mediante el método Kjeldahl (Figura 5), el cual se divide en 3 etapas: digestión, destilación y valoración. Una porción de muestra desgrasada se transfirió a un matraz Kjeldahl, junto a un catalizador y ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4).

La digestión se realizó mediante calentamiento progresivo hasta llegar a la ebullición y la solución se tornó clara. Una vez a temperatura ambiente, se procedió a realizar la destilación, se transfirió la muestra al destilador y mediante la adición de una solución alcalina por goteo se llevo a cabo el procedimiento, observando el cambio de color del indicador en el vao recolector. Finalmente, se realizó la valoración mediante la titulación con solución ácida hasta obtener un color rojo brillante y se realizaron los cálculos.

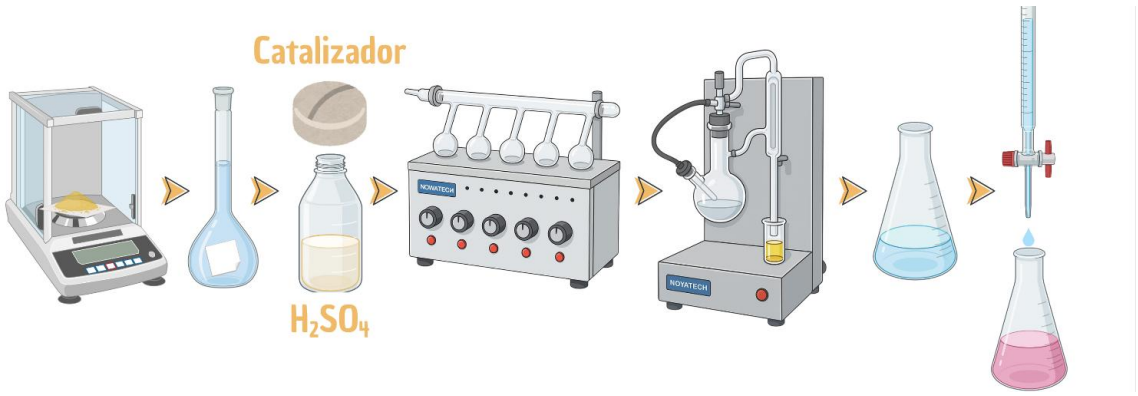


Figura 5. Determinación de proteínas. Imagen elaborada mediante BioRender.com.

Determinación de azúcares reductores.
Para la determinación de azúcares reductores (Figura 6) se pesó muestra desgrasada y se sometió a hidrólisis ácida por calentamiento. Luego, la solución se dejó enfriar y se neutralizó hasta alcanzar un pH neutro.

El líquido se filtró y clarificó con solución Carrez, y se aforó. Al sedimentar la muestra, el sobrenadante claro se utilizó para realizar el método de Lane Eynon, titulando con soluciones Fehling A y B, a temperatura ambiente. Cuando el color azul desapareció, se añadió azul de metileno y se continuó la titulación hasta obtener un color rojizo.

Para normalizar la solución de Fehling, se utilizó una solución de patrón de glucosa, repitiendo el mismo procedimiento de titulación, con agitación y temperatura controlada, hasta observar un precipitado rojizo con líquido sobrenadante claro. Para finalizar se realizaron los cálculos correspondientes.



Figura 6. Determinación de azúcares reductores. Imagen elaborada mediante BioRender.com.

RESULTADOS

Los análisis bromatológicos realizados de las hojas de *Pereskia Aculeata Mill* (Tabla 1) y sus frutos (Tabla 2) muestran diferencias significativas respecto a estudios encontrados en la literatura. Los resultados de este estudio indican que las hojas presentan un contenido de humedad de 87.6%, valor similar al reportado por Nogueira (88.1%)[3] y Barreira (91.1%)[1]. El contenido de cenizas determinado fue de 1.8%, siendo superior al reportado por Barreira (0.96%)[1], mientras que Nogueira no reportó ese dato[3]. El contenido proteico encontrado fue de 22.6%, el cúal se aproximó al informado por Nogueira (23.3%)[3], y fue notablemente más alto que el encontrado por Barreira (1.27%)[3]. Con respecto a las grasas, se determinó un valor de 13.3%, lo cual supera los registros previos: 8.5%[3] y 1.45%[1]. Esta variación puede deberse a que los resultados del presente estudio están reportados en base seca, mientras que los reportados por los autores se encuentran en base húmeda. Además, en este trabajo se determinó la cantidad de azúcares reductores (11.97%), parámetro no reportado en los estudios comparados.

Referencia	Humedad	Cenizas	Proteínas	Grasas	Azúcares reductores
Este trabajo	87.6%	1.8%	22.6%	13.3%	11.97%
Nogueira (2023)	88.1%	—	23.3%	8.5%	—
Barreira (2021)	91.10%	0.96%	1.27%	1.45%	—

Tabla 1. Comparativos de los resultados bromatológicos de la hoja de *Pereskia Aculeata Mill* por cada 100 g.

En relación con los frutos, se encontró un contenido alto de humedad (89.1%), valor congruente con lo informado con Nogueira (87.4%)[3] y Hoff (91%)[7]. El contenido de cenizas en este estudio fue de 8.11%, muy superior al 0.9% reportado por Nogueira[3]. El contenido proteico fue de 11.12%, considerablemente más alto que los valores encontrados por Nogueira (0.5%)[3] y Hoff (1.04%)[7]. A pesar de emplear el mismo método de extracción hay factores a considerar para la obtención de los resultados, como el tiempo de extracción, tipo de disolvente, digestión más eficiente o condiciones de secado, determinación en base húmeda o base seca[3,7]. El contenido de grasa determinado (18%) también supera ampliamente los valores encontrados por Hoff (0.4%)[7] y Nogueira (0.5%)[3], lo que resalta al fruto como fuente lipídica, haciéndolo una fuente de alto valor energético. El porcentaje de azúcares reductores (34.81%) determinado sin antecedentes comparables en otros estudios previamente, este valor se correlaciona con el sabor dulce del fruto, sugiriendo una alta disponibilidad energética y funcional, especialmente para aplicaciones alimentarias.

Referencia	Humedad	Cenizas	Proteínas	Grasas	Azúcares reductores
Este documento	89.1%	8.11%	11.12%	18%	34.81%
Nogueira (2023)	87.4%	0.9%	0.5%	0.5%	—
Hoff (2022)	91%	—	1.04%	0.04%	—

Tabla 2. Comparativos de los resultados bromatológicos del fruto de *Pereskia Aculeata Mill* por cada 100 g.

CONCLUSIONES

El análisis bromatológico de esta especie de cactácea destaca su potencial como fuente de nutrientes y compuestos bioactivos, con aplicaciones prometedoras en el sector salud y la industria alimentaria. Este estudio, por tanto, contribuye a la valorización de especies subutilizadas, promoviendo su integración en sistemas alimentarios más diversificados y sostenibles, e incluso integrarse al Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (SMAE).

BIBLIOGRAFÍA

1. T. F. Barreira, G. X. de Paula, S. E. Priore, R. H. Silva, H. M. Pinheiro, “Nutrient content in ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill.): unconventional vegetable of the Brazilian Atlantic Forest”, Food Science and Technology., 47-51, 2021. https://doi.org/10.1590/fst.07920
2. L. Costa, M. Soares, S. L. Ferreira, L. F. Rolim, Sershen, M. C. Lima, “Physiological and biochemical changes associated with the induction of facultative CAM in Pereskia aculeata under drought stress and recovery”, *Plant physiology and biochemistry: PPB* vol. 222, 2025. doi:10.1016/j.plaphy.2025.109681
3. N. F. Nogueira, S. H. Silva, D. Baron, I. C. Oliveira, F. Casanova, “*Pereskia aculeata* Miller as a Novel Food Source: A Review”, Foods MDPI., Vol. 12, 2023 https://doi.org/10.3390/foods12112092
4. V. M. Costa, A. de Oliveira, E. Backes, C. G. Marques, R. Castoldi, A. B. de Sá-Nakanishi, L. Bracht, J. F. Comar, R. C. Gomes, F. V. Leimann, A. Bracht, R. M. Peralta, “A Critical Appraisal of the Most Recent Investigations on Ora-Pro-Nobis (*Pereskia* sp.): Economical, Botanical, Phytochemical, Nutritional, and Ethnopharmacological Aspects”, *Plants (Basel, Switzerland).,* Vol. 12,22 3874, 2023. doi:10.3390/plants12223874
5. N. Venter, B. W. Cowie, I. D. Paterson, Ed. T. F. Witkowski, M. J. Byrne, “The interactive effects of CO2 and water on the growth and physiology of the invasive alien vine *Pereskia aculeata*(Cactaceae): Implications for its future invasion and management”, Environmental and Experimental Botany., Vol. 194, 2022. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104737
6. T. M. Cruz, J. Sousa, M. A. Vieira, J. Hallström, J. M. Pihlava, L. Azevedo, D. Granato, M. Boscacci, “Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (Pereskia aculeata Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities”, Food Chem., Vol. 361, 2021. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130078
7. R. Hoff, H. Daguer, C. T. Pasini, A. P. Zapelini, J. Durigon, “Phenolic compounds profile and main nutrients parameters of two underestimated non-conventional edible plants: Pereskia aculeata Mill. (ora-pro-nóbis) and Vitex megapotamica (Spreng.) Moldenke (tarumã) fruits.” *Food research international (Ottawa, Ont.)* vol. 162, Pt A, 2022. doi:10.1016/j.foodres.2022.112042
8. S. H. Silva, I. C. Oliveira, N. L. Oliveira, A. C. Freitas, A. M. Teixeira, T. M. de Oliveira, J. V. de Resende, “Extraction processes and characterization of the mucilage obtained from green fruits of *Pereskia aculeata* Miller”. Industrial Crops and Products., Vol. 140, 2019. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111716
9. A. M. Fioroto, T. Toniazzo, E. Bistriche, P. V. Oliveira, E. Purgatto, “Mineral nutrients and protein composition of non-conventional food plants (Pereskia aculeata Miller, Sonchus oleraceus L. and Xanthosoma sagittifolium (L.) Schott)”. Journal of Food Composition and Analysis., Vol. 136, 2024. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106825

DESARROLLO DE UNA GOMITA DULCE USANDO ESTEVIA COMO EDULCORANTE FORTIFICADA CON HARINA DE NOPAL (*Opuntia Ficus-Indica*) Y SU EFECTO SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE

Mario Lenin Molinero Cárdenas, José Octavio Rodiles López, Rafael Zamora Vega, Héctor Eduardo Martínez Flores, Aarón Hernández Huerta

Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
2000337h@umich.mx.

RESUMEN

La glucosa es un carbohidrato simple e indispensable para la vida, ya que es una de las moléculas que utilizan las células para obtener energía a través de la glucólisis. Se encuentra en alimentos, tanto en forma libre, disacáridos como sacarosa o lactosa, o formando carbohidratos complejos, como almidón y glucógeno, que deberán digerirse para liberar glucosa. Esta es esencial para el cerebro y los músculos, ya que ambos requieren un suministro constante para mantener sus funciones. La concentración de glucosa en el organismo está regulada por dos hormonas, insulina y glucagón, que mantienen los niveles de glucosa en sangre dentro de un rango óptimo. Sin embargo, cuando este equilibrio se altera, pueden surgir trastornos metabólicos como la diabetes. En la diabetes tipo 1, el sistema inmunitario destruye las células β pancreáticas, encargadas de producir insulina, lo que resulta en una producción insuficiente o nula de esta hormona. En la diabetes tipo 2, las células desarrollan resistencia a la insulina, impidiendo su función adecuada. Ambos tipos de diabetes causan alteraciones en los niveles de glucosa, y si no se controla, puede llevar a complicaciones graves. Alimentos altos en glucosa, principalmente por su contenido de sacarosa, aumentan los niveles de glucosa sanguínea. Por ello, es importante moderar el consumo de estos alimentos.

Las gomitas dulces son botanas altamente consumidas por niños, y con una muy alta concentración de sacarosa. México ocupa el primer lugar de diabetes infantil a nivel mundial. En este contexto, se propone el desarrollo de una gomita más saludable, sustituyendo el azúcar con estevia, un edulcorante natural no calórico apto para personas con diabetes, y fortificada con harina de nopal, una fuente rica en fibra dietética que ayuda a regular los picos de azúcar en sangre. Se realizaron varias formulaciones con diferentes porcentajes de harina de nopal (2%, 4%, 6%, 8%, 12% y 16%, base seca), y 3.5% de estevia; y evaluadas sensorialmente mediante jueces no entrenados. Los resultados mostraron que no hay diferencia estadística entre los diferentes atributos sensoriales (color, olor, textura y sabor), hasta un 12% de harina de nopal, y manteniendo una buena aceptación general. Además, se realizó un estudio de glucosa sanguínea a lo largo del tiempo, 0-90 min, comparando tres productos: solución de sacarosa, gomita comercial formulada con sacarosa como edulcorante, y nuestra formulación con estevia y harina de nopal. Se observó una reducción significativa en los niveles de glucosa usando la gomita con estevia y harina de nopal con respecto a los otros productos; 31% con relación a la sacarosa y 22% contra la gomita comercial. Esto sugiere que este nuevo producto podría ser una alternativa viable para personas con diabetes.

INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica no transmisible caracterizada por alteraciones en la producción o acción de la insulina, lo que afecta directamente el metabolismo de la glucosa. Esta condición puede manifestarse mediante una deficiencia absoluta de insulina o por una resistencia a su acción combinada con una producción insuficiente. El consumo excesivo de alimentos ricos en carbohidratos simples, particularmente azúcares refinados, está asociado con incrementos abruptos en las concentraciones sanguíneas de glucosa. En personas con diabetes, esto adquiere especial relevancia debido a la incapacidad del organismo para regular eficientemente estos niveles, lo que puede conducir a estados de hiperglucemia o hipoglucemia crónica con graves implicaciones para la salud (Rigalleau *et al,* 2021). Esto ha motivado que en la actualidad se empleen una gran diversidad de edulcorantes no calóricos y sin glucosa, es decir, que no tengan efecto directo sobre

el índice glucémico, además, en su mayoría se caracterizan por presentar una mayor capacidad edulcorante. Estos pueden ser de origen natural o de origen artificial (García *et al*., 2013).

La *Stevia rebaudiana Bertoni*, comúnmente conocida como estevia, es una especie vegetal originaria de las regiones subtropicales de Brasil y Paraguay. Históricamente, los pueblos indígenas guaraníes empleaban sus hojas para endulzar sus infusiones, especialmente el mate. En la actualidad, esta planta ha adquirido relevancia global como edulcorante natural no calórico, y con un poder endulzante muy superior al de la sacarosa (200-300 veces más dulce), lo que la posiciona como uno de los sustitutos más efectivos del azúcar común. Esta cualidad, sumada a su nulo aporte calórico, la convierte en una alternativa particularmente valiosa en la industria de los alimentos (Ayadi *et al.,* 2009).

El nopal, *Opuntia spp*., es una planta perteneciente a la familia *Cactaceae*, las cuales se caracterizan por su capacidad para almacenar agua, esto debido al tipo de fotosíntesis que llevan a cabo llamado metabolismo ácido de las crasuláceas, lo que les aporta la capacidad de sobrevivir en condiciones desérticas. Esta familia es originaria de América y se distribuye desde el norte de Canadá hasta la Patagonia en Argentina. A nivel mundial, se conocen entre 110 y 122 géneros y entre 1500 y 1600 especies. En México, existen alrededor de 669 especies, de las cuales 518 son endémicas. Estas se encuentran en prácticamente en todos el territorio mexicano, y la mayor diversidad se da en los desiertos de Chihuahua y Sonora, valles de Hidalgo y Querétaro, y en la región entre Puebla, Oaxaca, y San Luis Potosí. El perfil nutricional del nopal varía de una especie a otra, sin embargo suelen tener valores bajos de materia seca y un elevado porcentaje de humedad, además de presentar un bajo aporte calórico y poseer un gran contenido de fibra dietética (Santiago-Lorenzo *et al.,* 2016). En un estudio realizado por Berigúete y colaboradores, 2012, reportaron que añadir harina de nopal en la elaboración de panes proporcionó una mejora en los aspectos sensoriales y nutricionales, además de ayudar a la reducción de costos de elaboración, incorporando un 20% de harina de nopal y un 80% de harina de trigo, y con una fuente importante de fibra dietética.

TEORÍA

Gomitas Dulces

Cuando hablamos de gomitas dulces nos referimos a aquellos caramelos blandos que son elaborados utilizando agentes gelificantes, los cuales les proporcionan una textura gomosa y elástica, la cual es característica de estos productos. Estos son productos muy populares dentro de la confitería, gracias a la gran variedad de formas, colores y sabores, y también conocidos como gominolas, caramelos blandos o caramelos de grenetina. Normalmente el agente gelificante es la grenetina y formulados con azúcar, además, se pueden emplear otras materias primas como frutas o jugo de frutas, y unas serie de aditivos químicos que actúan como estabilizantes, colorantes, saborizantes, espesantes, entre otros como glicerina y ácidos orgánicos (Madrigal *et al.,* 2014; Báez *et al.,* 2016).

En el *Codex Alimentarius* son definidas como caramelos blandos y se refiere a productos blandos masticables a base de azúcar que presentan jarabes de azúcar, grasas, colorantes y aromatizantes, los cuales pueden ser elaborados a partir de gelatina (OMS, 1995).

La elaboración de gomitas depende en gran medida de los agentes gelificantes que se emplean, los cuales pueden ser de origen vegetal o animal, como lo son la pectina, almidón, agar-agar, gelatina, entre otros. Los agentes gelificantes se pueden definir como hidrocoloides de elevado peso molecular que presentan un comportamiento hidrofílico y que gracias a su característica coloidal presentan la capacidad de formar geles al mezclarse con los solventes adecuados (Alquicira *et al.,* 2012; Guambuguete *et al.,* 2023).

Edulcorantes

El término edulcorante hace referencia a aquellas especies químicas que presentan la capacidad de emular el efecto de dulzura del azúcar, y con la principal diferencia de que estos presentan un

menor aporte calórico. Estos pueden ser de origen natural, obtenidos mediante extracciones, o de origen sintético, llamados edulcorantes artificiales (García-Almeida *et al.,* 2013).

Se considera a la sacarosa como el edulcorante más antiguo del que se tiene registro. Esta es extraída de la caña de azúcar, la cual ha sido cultivada desde hace más de 3,000 años y su refinamiento comenzó durante el siglo XVI. Algunos de los edulcorantes sintéticos más utilizados en la actualidad son sacarina, ciclamato y aspartamo; mientras que los edulcorantes sintéticos más empleados son principalmente péptidos, como taumatina, monelina, miraculina, esteviósidos y sucralosa (Giannuzzi *et al.,* 1995).

Azúcar

La sacarosa o azúcar de mesa es un disacárido constituido por glucosa y fructosa, siendo químicamente el α-D-glucopiranosil-(1-2)-β-fructofuranósido. El punto de fusión de los cristales es de 184°C, además se caracteriza por ser altamente soluble en agua, etanol, éter y cloroformo. Esta es obtenida industrialmente a partir de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum)* o de la remolacha azucarera (*Beta vulgaris*). Este es el edulcorante más utilizado en alimentos y parte principal en la elaboración de productos de confitería, representando hasta el 80% del total de materias primas (Madrid *et al.,* 1999).

Estevia

La estevia, *Stevia rebaudiana Bertoni*, es una especie vegetal originaria de Paraguay, perteneciente a la familia *Asteraceae*. Conocida comúnmente como "hoja dulce", se caracteriza por ser un arbusto perenne que en su estado silvestre alcanza alturas entre 65 y 80 centímetros, aunque bajo condiciones de cultivo puede superar el metro de altura. Presenta hojas lanceoladas de aproximadamente 5 cm de longitud por 2 cm de ancho, con una disposición alterna y opuesta en el tallo. Desde el punto de vista agronómico, esta especie destaca por su capacidad productiva comercial durante periodos superiores a cinco años, permitiendo múltiples cosechas anuales, obtenidas de la parte aérea de la planta. Su hábitat natural corresponde a suelos arenosos cercanos a cursos de agua en la región selvática subtropical del Alto Paraná. Su importancia nutricional radica en su nulo aporte calórico y mínima cantidad para funcionar como endulzante; y cuyos extractos contienen glucósidos de sabor muy dulce, principalmente esteviósidos y rebaudiósidos Particularmente, el esteviósido presenta una potencia edulcorante entre 250 y 300 veces superior a la sacarosa común, aunque con un ligero sabor amargo característico. Estas propiedades la hacen especialmente útil como alternativa en regímenes dietéticos para personas con diabetes (Duran *et al.,* 2012).

Nopal

El nopal, género Opuntia, es una planta cactácea endémica de América, y México ocupa el primer lugar a nivel mundial en diversidad genética y consumo per cápita. Las variedades de mayor importancia agrícola incluyen *O. ficus-indica*, *O. xoconoxtle, O. megacantha y O. streptacantha*. Por otro lado, otras especies como *O. robusta, O. leucotricha, O. hyptiacantha y O. chaveña* se obtienen mediante recolección de ejemplares silvestres que prosperan en regiones áridas con suelos poco fértiles, ocupando aproximadamente tres millones de hectáreas en una amplia zona que comprende desde Sonora y las dos Bajas Californias en el noroeste, hasta Querétaro e Hidalgo en la región central del país, pasando por estados como Chihuahua, Coahuila, San Luis Potosí y Jalisco, entre otros (Inglese *et al.,* 2018).

Como cactácea arbustiva, el nopal exhibe una notable resistencia a condiciones ambientales extremas, lo que le permite desarrollarse con requerimientos mínimos de cuidado. Esta especie presenta una morfología característica, tronco leñoso del cual se originan ramas modificadas estructuralmente, llamados cladodios. Durante su fase de crecimiento inicial estas estructuras se denominan "nopalitos", mientras que al alcanzar la madurez reciben el nombre de "pencas". Las pencas maduras desarrollan una compleja red de tejido celulósico que experimenta un proceso progresivo de lignificación, mecanismo que les confiere su notable rigidez estructural. Desde el punto de vista fenotípico, presentan una considerable variabilidad en dimensiones y coloración,

desde tonalidades verde intenso hasta matices grisáceos. Estas variaciones morfológicas han sido asociadas a factores como la edad fisiológica de la planta y las condiciones nutricionales durante su desarrollo (Guzmán *et al.,* 2007).

Fibra Alimentaria.

El término "Fibra Alimentaria" fue acuñado en 1953 por el médico británico Hipsley, quien originalmente la conceptualizó como el material proveniente de las paredes celulares vegetales presentes en los alimentos. A medida que avanzó la investigación nutricional, esta definición experimentó sucesivas reformulaciones, manifestadas en diversas denominaciones como "fibra no nutritiva", "residuo vegetal indigerible" o "carbohidratos no disponibles", cada una de las cuales representó una etapa en la comprensión de sus características fisiológicas. Estudios posteriores permitieron establecer una definición más rigurosa, “Aquellos componentes alimentarios que, por su naturaleza química, resisten la hidrólisis por parte de las enzimas digestivas humanas”. Desde la perspectiva de la anatomía vegetal, la fibra constituye un elemento estructural esencial de la pared celular, compuesta por un complejo entramado molecular donde predominan la lignina, celulosa y hemicelulosa como principales componentes estructurales (García *et al.,* 2008).

El consumo en cantidades adecuadas de fibra dietética produce efectos metabólicos y gastrointestinales significativos. Entre sus principales acciones se encuentra la regulación de los procesos digestivos, manifestada a través de un enlentecimiento del vaciado gástrico, la reducción de las concentraciones plasmáticas de glucosa y colesterol, y la aceleración del tránsito intestinal. Paralelamente, ejerce una influencia determinante en la ecología microbiana intestinal, favoreciendo el aumento de la diversidad bacteriana y potenciando la capacidad de metabolización de polisacáridos complejos. Estos efectos se explican por el papel regulador que ejercen los nutrientes derivados de la fibra sobre la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal. En particular, la fibra soluble experimenta procesos de fermentación microbiana que generan ácidos grasos de cadena corta, siendo los más relevantes el acetato, propionato y butirato. Estos metabolitos cumplen una doble función, por un lado, constituyen la principal fuente de energía para las células epiteliales intestinales, y por otro, median efectos fisiológicos beneficiosos que se extienden más allá del tracto gastrointestinal, ejerciendo influencia sistémica en el organismo (Clemente, 2024).

Estudios controlados en pruebas de tolerancia a la glucosa han mostrado que la administración conjunta de fibra dietética de nopal y glucosa produce una menor respuesta hipoglucémica tardía en comparación con la ingesta de glucosa sin fibra, que sustenta el potencial terapéutico del nopal en el manejo de alteraciones metabólicas. (Báez *et al.,* 2016).

Enfermedades Crónicas No Transmisibles

Las enfermedades crónicas no transmisibles se originan a partir de una compleja interacción entre factores genéticos, alteraciones metabólicas, exposiciones ambientales y hábitos de vida. Entre las más relevantes destacan las enfermedades cardiovasculares, diversos tipos de cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes mellitus, las cuales en conjunto constituyen las principales causas de mortalidad a escala global. Estas patologías representan uno de los mayores desafíos para los sistemas de salud contemporáneos debido a su alta prevalencia, su carácter crónico y el significativo impacto que ejercen tanto en la calidad de vida de los pacientes como en la sostenibilidad de los servicios médicos. Su naturaleza progresiva requiere enfoques integrales que combinen medidas preventivas, estrategias de diagnóstico precoz y tratamientos paliativos continuos, generando una demanda sostenida de recursos sanitarios especializados (Escamilla-Núñez *et al.,* 2023).

Las enfermedades no transmisibles constituyen uno de los desafíos más significativos para los sistemas sanitarios contemporáneos. A pesar del progreso médico alcanzado, estas condiciones carecen actualmente de tratamientos curativos, lo que obliga a implementar abordajes paliativos basados en la administración continua de fármacos para preservar la funcionalidad de los pacientes. Estas patologías han adquirido especial relevancia epidemiológica al posicionarse como la principal causa de mortalidad y deterioro de la calidad de vida, con mayor incidencia en la población geriátrica.

La magnitud de este problema de salud global fue cuantificada por la OMS en su informe de 2014, el cual determinó que las afecciones cardiovasculares representaban la primera causa de mortalidad anual a escala mundial. Estos hallazgos resaltan la urgencia de desarrollar políticas públicas que prioricen la prevención primaria y el manejo multidisciplinario de estas enfermedades crónicas (Carranza *et al.,* 2023).

Diabetes

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica no transmisible de origen metabólico que se caracteriza por presentar problemas al momento de secretar la insulina o por tener resistencia a la misma, lo que ocasiona que los pacientes tengan un estado de hipo o hiperglucemia.
Existen diversos tipos de diabetes.

A) Diabetes mellitus Tipo 1 (DM1). Esta se caracteriza por un proceso autoinmune específico que conduce a la destrucción progresiva de las células β pancreáticas donde se sintetiza la insulina. Este mecanismo patogénico genera una deficiencia absoluta de insulina, condición que predispone al desarrollo de cetoacidosis como complicación metabólica aguda característica. La naturaleza autoinmune del proceso puede ser evidenciada mediante la identificación de anticuerpos circulantes, entre los que destacan los anticuerpos anti-glutamato descarboxilasa, antiinsulina y aquellos dirigidos contra los antígenos de los islotes pancreáticos. Desde el punto de vista inmunogénico, la DM1 muestra una asociación significativa con variantes alélicas específicas del sistema HLA (complejo mayor de histocompatibilidad), particularmente con los alelos DQ-A y DQ-B. Cabe señalar que existe una variante idiopática de la enfermedad, en la cual, a pesar de presentar el cuadro clínico característico de deficiencia insulínica, no se detectan los marcadores autoinmunes convencionales mediante las técnicas diagnósticas actuales. Esta particularidad sugiere la existencia de mecanismos patogénicos alternativos que aún requieren mayor investigación.

B) Diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Representa la forma más prevalente de diabetes, encontrándose frecuentemente asociada con cuadros de obesidad y aumento de grasa visceral. Su espectro fisiopatológico abarca desde la resistencia a la insulina hasta un deterioro progresivo en la capacidad secretora de las células β pancreáticas.

C) Diabetes mellitus Gestacional (DMG). Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se identifica por primera vez durante el embarazo. Cabe mencionar que cuando se detecta hiperglucemia antes de las 24 semanas de gestación, debe considerarse como diabetes preexistente que no había sido diagnosticada previamente, más que como DMG propiamente dicha. Esta distinción tiene implicaciones importantes para el manejo clínico y el pronóstico materno-fetal. (Molina *et al.,* 2021).

Datos de la Secretaría de Salud de 2021 revelaron que 14.1 millones de personas padecen diabetes en México, lo que representó cerca del 20% de la población total. Entre los principales factores que contribuyen a estos valores destacan la falta de ejercicio, malos hábitos alimenticios, ya que la dieta actual se caracteriza por un alto consumo de carbohidratos, especialmente azúcares refinados, provenientes de granos refinados (harinas), golosinas y refrescos, además de un gran aporte calórico, lo que promueve la acumulación de grasa alrededor de los órganos internos, aumento de peso, y con el tiempo aumentar el riesgo de diabetes y enfermedades cardiovasculares.

Índice Glucémico

El índice glucémico es un parámetro que permite cuantificar la capacidad de un carbohidrato específico para elevar los niveles de glucosa en sangre, tomando en consideración su composición dentro de un alimento en particular. Desde el punto de vista cuantitativo, los alimentos se clasifican en tres categorías fundamentales según su valor numérico: aquellos con índice glucémico alto, con valores iguales o superiores a 70; medio, con valores comprendidos entre 55 y 70; y bajo, cuando los valores son iguales o inferiores a 55. No obstante, cabe señalar que el índice glucémico de un alimento no constituye un valor invariable, pues está sujeto a modificaciones por diversos factores; tales como particularidades inherentes al alimento, como el grado de madurez en el caso de frutas

y vegetales, así como características individuales del consumidor, puesto que cada organismo presenta respuestas metabólicas diferenciadas ante un mismo alimento. Esta variabilidad resalta la necesidad de interpretar los valores del índice glucémico como referencias orientativas más que como datos de carácter absoluto (Manuzza *et al.,* 2018).

En este contexto, se propone el desarrollo de una gomita más saludable, sustituyendo la azúcar con estevia, un edulcorante natural no calórico apto para personas con diabetes, y fortificada con harina de nopal, una fuente rica en fibra dietética que ayuda a regular los picos de azúcar en sangre. Este producto podría ser una buena alternativa de consumo para la población diabética, además de niños, principales consumidores de este tipo de productos, ayudando a su metabolismo, y como una solución para disminuir los altos índices de diabetes en la población mexicana.

PARTE EXPERIMENTAL

Proceso Elaboración de Gomitas

El proceso de elaboración de las nuevas gomitas endulzadas con estevia y fortificadas con harina de nopal fue similar a la elaboración de una gomita comercial. La metodología fue la siguiente:

1. Pesar materias primas y aditivos.
2. Disminuir el tamaño de partícula de la harina de nopal y tamizar.
3. Hidratar la grenetina con agua. 40 mL de agua por cada 10 g de grenetina.
4. Agregar el colorante a la solución de agua y grenetina. Homogeneizar.
5. Llevar a baño María a 60°C de 5-10 minutos, hasta total solubilidad de la grenetina.
6. Agregar la glicerina a la solución de grenetina. Homogeneizar.
7. Diluir el fosfato de potasio en agua. 10 mL de agua por gramo de fosfato.
8. Agregar la estevia, el limón en polvo y la harina de nopal en un recipiente de metal.
9. Añadir los demás aditivos químicos al recipiente, excepto ceras y vinagre.
10. Añadir al recipiente de metal la grenetina hidratada con glicerina.
11. Añadir el vinagre y el fosfato de potasio diluido. Mezclar vigorosamente.
12. Llevar a fuego directo sin dejar de mezclar para evitar la formación de grumos.
13. Fundir a fuego directo las ceras de abeja y carnauba.
14. Agregar rápidamente las ceras al recipiente de metal y agitar para su incorporación.
15. Verter la mezcla en los moldes. Refrigerar 1 hasta cuajado.
16. Empaquetar o almacenar.

Formulación

Se usaron una serie de materias primas y aditivos para la formulación de las nuevas gomitas funcionales. Se consideran materias primas al agua, grenetina, estevia en polvo, harina de nopal, limón en polvo e inulina de agave. Por otro lado, se usaron una serie de aditivos químicos para estabilizar el producto terminado. Estos aditivos se seleccionaron siguiendo como referencia la etiqueta de una gomita comercial endulzada con azúcar. Los aditivos fueron: ácido cítrico, ácido tartárico, cera de abeja, cera de carnauba, colorante color verde, fosfato de potasio, glicerina, goma xantana, isomalt, maltodextrina, sorbitol, y vinagre blanco.

Análisis Sensoriales

Se emplearon pruebas sensoriales de tipo hedónico de 5 puntos para evaluar el nivel de aceptación de las gomitas por parte de los consumidores, y se realizó un análisis estadístico mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Se evaluó separadamente la concentración de estevia, limón en polvo, y harina de nopal. Los niveles de estudio para la estevia fueron entre 1 y 5% base seca (BS), mientras que para la harina de limón de 2 a 6% BS, y de 2 a 16% BS de la harina de nopal. En todas las pruebas se utilizó una comanda para la captura de datos. Los niveles de la escala hedónica de la prueba panel fueron los siguientes:

1. No me gusta nada
2. No me gusta
3. Normal

4. Me gusta
5. Me gusta mucho



ANÁLISIS SENSORIAL. GOMITA DE NOPAL

Fecha: __/__/__ Sexo: ___

	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR	DULZURA
TRP					
GRT					
KJG					

ESCALA:

1. No me gusta nada
2. No me gusta
3. Normal
4. Me gusta
5. Me gusta mucho

Figura 1. Comanda empleada en el análisis sensorial

En cada una de las pruebas panel se utilizaron 40 panelistas no entrenados, y los panelistas no conocían la concentración de estevia, harina de nopal, y limón en polvo que estaban degustando, y haciendo su prueba de manera personal sin interactuar con los otros panelistas para evitar respuestas coaccionadas o influenciadas por las opiniones de los demás. Tras la degustación de una muestra de gomita, el panelista debía beber un poco de agua para limpiar los sabores que hayan quedado en su paladar, y poder degustar la siguiente muestra sin interferencia de sabores o sensaciones.

Índice Glucémico

Se determinó el índice glucémico sanguíneo a tres muestras: a) Muestra Patrón, solución de sacarosa al 60%, 38 g de sacarosa disuelta en 25 mL de agua; b) Gomita Comercial, contenido aproximado de 55% de sacarosa; c) Gomita Nopal, gomita desarrollada en esta investigación, 12% de harina de nopal BS, 3.3% de estevia BS, y sin azúcar. A los panelistas se les informó el contenido de cada muestra para evitar problemas de alergias y su consentimiento por escrito.

A los panelistas se les dieron 30 g de cada muestra y se procedió a determinar el índice glucémico a diferentes tiempos. La prueba se realizó empleando un Glucómetro ACCU-CHEK® y tiras reactivas de la misma marca, además, se emplearon lancetas para realizar la punción. Se evaluaron las tres muestras y se tomaron muestras de sangre a diferentes tiempos para evaluar sus niveles de glucosa. El procedimiento consistió en cinco punciones por prueba, realizadas en los tiempos establecidos: 0, 15, 30, 60 y 90 min. Asimismo, se indicó a los participantes que debían asistir al estudio en un ayuno de al menos cuatro horas y abstenerse de consumir cualquier alimento durante la duración del mismo. Cabe destacar que, para evitar someter a los voluntarios a un proceso de estrés, estas pruebas fueron realizada en días diferentes



Figura 2. Glucómetro ACCU-CHEK®. Pruebas de Índice Glucémico.

Análisis Estadístico
Los resultados de los análisis sensoriales fueron sometidos a una análisis unidireccional de varianza (ANOVA) utilizando el software JMP versión 8.0 (JMP Statistical Discovery LLC, USA.). Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey, y las diferencias se consideraron significativas cuando $p<0.05$. Se empleó el programa Microsoft Excel para otros cálculos estadísticos.

RESULTADOS

Formulación y Elaboración
En la elaboración de las nuevas gomitas se identificaron tres inconvenientes menores durante su desarrollo. El primero estuvo relacionado con el comportamiento higroscópico de algunas materias primas, las cuales tendían a endurecerse ligeramente antes de incorporar la grenetina hidratada y fundida, dificultando su completa disolución, pero esta fue resuelta mediante el ajuste de los tiempos de exposición al calor durante la agitación para lograr una adecuada homogenización de la mezcla. El segundo inconveniente fue la homogenización de las ceras, ya que en las primeras elaboraciones se observó la formación de fases separadas, lo que dio lugar a la aparición de "escamas" de cera que no se integraban correctamente; este problema fue solucionado modificando los tiempos de calentamiento para garantizar una fusión óptima de las mismas, así como ajustando el momento en que se incorporaban a la mezcla antes del moldeo. La ultima observación fue que se necesitó reducir el tamaño de partícula de la harina de nopal comercial; la harina original generaba una sensación arenosa en el producto terminado, pero se solucionó disminuyendo el tamaño de partícula usando un mortero y tamizando.

La formulación de las gomitas incluyó el uso de una serie de aditivos. El ácido cítrico, ácido tartárico, y ácido acético (vinagre) actúan como agentes acidulantes, además de saborizantes, fijadores de color y favorecer la formación de geles; el fosfato de potasio funciona como estabilizante en la formación de geles, además de agente hidratante y antioxidante; la glicerina contribuye a mantener la humedad del producto y como agente espesante y conservador; la goma xantana es un espesante, además de actuar como estabilizador. Cabe mencionar que las gomitas comerciales con azúcar usan la misma como edulcorante, pero también aporta la textura de las mismas. En esta investigación se usó isomalt y maltodextrinas para aportar textura. También se usó sorbitol como agente edulcorante, además de contribuir a la textura y tener propiedades hidratantes. Por otra parte, se utilizó inulina de agave, la cual proporciona fibra dietética, e influye en la textura final como agente espesante, cumpliendo así una doble función, nutricional y tecnológica. Asimismo, se añadió colorante verde para mejorar la apariencia del producto, eligiendo este tono en alusión al nopal y limón. Otros componentes clave fueron las ceras, que actúan como agentes abrillantadores y evitan la pérdida de humedad. Cabe señalar que no se usaron conservadores químicos.

Se usó limón en polvo como saborizante, ya que los saborizante comerciales no lograban un sabor agradable en el producto terminado. La estevia se usó como edulcorante, y finalmente, la harina de nopal, ingrediente principal, no solo enriquece el producto con fibra dietética, sino que también aporta minerales y vitaminas, reforzando así su valor nutricional.

Después de los análisis sensoriales correspondiente, la concentración de estevia quedó en 3.5%, la de inulina en 10.0%, el limón en polvo en 5.0%, y la harina de nopal en 12.0%, todos base seca, y mencionando que la humedad final de las gomitas fue de 41.0%.

Análisis Sensorial
Se utilizaron varias formulaciones en las que se estuvo variando la concentración de estevia, limón en polvo, y la harina de nopal, y avaladas por pruebas sensoriales.

En el caso de la harina de nopal se evaluaron concentraciones desde un 2% hasta un 16% en base seca con respecto a la formulación total. Se analizó color, olor, textura, sabor, y dulzura. A su vez, también se obtuvo el promedio estas características y se reportó con el término “Flavor”. Los

resultados, Tabla 1, fueron expresados en porcentaje de aceptación con escala de 0 a 100, donde 100 es la aceptación máxima. Se puede apreciar que la formulación en la que se utilizó un 16% de harina de nopal presentaba diferencias estadísticas con respecto a las otras formulaciones, por lo que se decidió descartarla como una opción para la formulación final.

Tabla 1. Análisis Sensorial. Gomita Nopal y Estevia.

% Nopal	Color	Olor	Textura	Sabor	Dulzura	Flavor
2	57 ± 16 B	66 ± 18 AB	83 ± 15 A	79 ± 17 A	78 ± 15 A	73 ± 10 A
4	55 ± 16 B	66 ± 18 AB	76 ± 17 A	78 ± 19 A	77 ± 18 A	70 ± 10 A
6	60 ± 20 B	76 ± 17 A	70 ± 21 A	55 ± 21 B	70 ± 27 A	66 ± 16 A
8	82 ± 15 A	57 ± 19 B	78 ± 15 A	66 ± 22 AB	63 ± 13 A	69 ± 10 A
12	64 ± 22 B	62 ± 21 AB	82 ± 17 A	66 ± 24 AB	68 ± 19 A	68 ± 13 A
16	30 ± 15 C	30 ± 15 C	41 ± 19 B	31 ± 20 C	31 ± 18 B	32 ± 9 B

• Letras diferentes en la misma columna representan diferencia estadística, $p<0.05$. Los diferentes valores de nopal corresponden al porcentaje de harina de nopal con respecto a la formulación total en base seca.

Se puede observar que no existe diferencia significativa entre las demás formulaciones de harina de nopal, 2-12%. Ahora bien, el objetivo principal de la adición de la harina de nopal a esta golosina es generar un aporte significativo de fibra y teniendo la libertad para elegir dicha concentración, por lo que se decidió emplear la concentración del 12%.

Índice Glucémico

Se determinó el índice glucémico de tres muestras: una solución patrón de sacarosa en agua, 60%; una gomita comercial con 55% de sacarosa; y la gomita desarrollada en este estudio, endulzada con estevia y enriquecida con harina de nopal, inulina y limón en polvo. Cada participante recibió 30 g de cada muestra, y se midieron sus niveles de glucosa en sangre en diferentes intervalos de tiempo.

Los resultados se presentan en la Tabla 2, donde se muestra la concentración de glucosa sanguínea a diferentes tiempos. También se presenta el área bajo la curva, que se obtiene de graficar los datos de la concentración de glucosa con respecto al tiempo.

Tabla 2. Análisis Glucosa Sanguínea.

Tiempo (min)	Solución Sacarosa	Gomita Comercial	Gomita Nopal
0	89.6 ± 7.5 A	89.6 ± 7.5 A	89.6 ± 7.5 A
15	128.2 ± 14.7 A	110.4 ± 11.7 B	77.6 ± 10.3 C
30	120.9 ± 15.2 A	107.4 ± 10.2 B	85.5 ± 16.7 C
60	102.3 ± 16.7 A	93.7 ± 6 A	80.6 ± 9.7 A
90	96.4 ± 15.3 A	91.3 ± 6.6 A	82.4 ± 8.6 A
Área	10,852	9,522	7,459

• Letras diferentes en la misma fila presentan diferencia estadística, $p<0.05$. Los valores de sacarosa corresponden a una solución al 60% de sacarosa en agua. La gomita de nopal corresponde a la

formulación con 12.0% de harina de nopal y 3.5% de estevia en base seca y sin sacarosa. La gomita comercial contiene 55% de sacarosa.

El estudio incluyó a 15 voluntarios sanos con edades entre 20 y 25 años, sin diabetes ni alteraciones metabólicas. Para garantizar la consistencia en las mediciones, se solicitó a los participantes mantener un ayuno de 4 horas antes de cada prueba y abstenerse de consumir alimentos durante el estudio. Las pruebas se realizaron en días distintos para evitar fatiga o estrés metabólico.

Las mediciones de glucosa sanguínea mostraron un valor basal inicial de 89.6 mg/dL en todos los casos. En la muestra de sacarosa, se observó un aumento abrupto a los 15 minutos, 128.2 mg/dL, seguido de un descenso gradual, pero que después de 90 minutos, no retornó al nivel basal, final de 96.4 mg/dL. La gomita comercial también generó un incremento significativo a los 15 minutos, 110.4 mg/dL, aunque menor que la sacarosa, y su descenso fue similar, sin alcanzar los valores iniciales al final del periodo. En contraste, la gomita con harina de nopal no solo evitó el aumento de glucosa, sino que redujo los niveles por debajo del basal a los 15 minutos, manteniéndose siempre en rangos inferiores al valor inicial.

Al calcular el área bajo la curva de glucosa, la sacarosa presentó el valor más alto, 10,852 U^2, seguida de la gomita comercial, 9,522 U^2, y finalmente la gomita de nopal con 7,459 U^2. Esto representa una reducción del 12.3% en la respuesta glucémica de la gomita comercial respecto a la sacarosa, mientras que la gomita de nopal disminuyó este efecto en un 31.3%. Además, en comparación con la gomita comercial, la versión con harina de nopal redujo la glucemia en un 21.7%. Estos resultados demuestran el potencial de la gomita enriquecida con harina de nopal como alimento funcional, capaz de modular favorablemente los niveles de glucosa en sangre en individuos no diabéticos. Su formulación, libre de sacarosa y con menor aporte calórico, no solo evita picos glucémicos, sino que promueve una disminución sostenida de la glucemia, validando así la hipótesis de esta investigación.

CONCLUSIONES

Se desarrollo un nuevo producto, golosina tipo gomita dulce sin azúcar y elaborada con estevia como agente edulcorante y harina de nopal como vehículo de fibra dietética. La incorporación de la harina de nopal al 12% en base seca demostró ser una estrategia efectiva para reducir el índice glucémico en personas no diabéticas, manteniendo una aceptabilidad sensorial comparable con una gomita comercial endulzada con azúcar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alquicira E., Calderón M. “Práctica 7. Agentes gelificantes y sinergia. Hidrocoloides”. Apuntes del Diplomado de Aditivos. Universidad Autónoma de México, Facultad de Química. México, 2012.
2. Ayadi, A., Abdelmaksoud, W., Ennouri, M., Attia, H. “Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making”. Industrial Crops and Products, 30(1), 2009, pp. 40-47.
3. Báez González, J. G., García Alanís, K. G., Bautista Villarreal, M., García Díaz, C. L., Moreno Limón, S., & García Caballero, C. A. “Control de la actividad acuosa en dulces tipo gomita adicionadas con vitamina C y fibra de nopal (*Opuntia*)”. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 1(2), 2016, pp. 818-824.
4. Carranza Prado, L. D., González-Villegas, G., Picazo-Carranza, A. R., De Jesús Ruiz-, Ma. R., González-Villegas, A. L., & Lozano-Zúñiga, M. M. “Calidad de vida en adultos mayores con enfermedades crónico degenerativas”. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, 7(1), 2023, pp. 2802–2812.
5. Clemente, A. “Prebióticos. Importancia de la fibra dietética”. Microbiota Probióticos y Prebióticos, Vol. 5, 1, 2023, pp. 45-46
6. Codex, STAN 192-1995. Norma General del Codex para los aditivos alimentarios. Codex Alimentarius, 2013.

7. Durán A, S., Rodríguez N, M. D. P., Cordón A, K., & Record C, J. “Estevia (*Stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico”. Revista Chilena de Nutrición, 39(4), 2012, pp. 203–206.
8. Escamilla-Núñez, M. C., Castro-Porras, L., Romero-Martínez, M., Zárate-Rojas, E., & Rojas-Martínez, R. (2023). “Detección, diagnóstico previo y tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles en adultos mexicanos”. ENSANUT. Salud Pública de México, 65, 2022, pp. 153-162.
9. García J. M., Casado G. M., & García J. “Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación”, Revista Nutrición Hospitalaria, Vol. 28, 4, 2013, pp. 1-12.
10. García Ochoa, Omar Eduardo, Infante, Ramón Benito, & Rivera, Carlos Julio. “Hacia una definición de fibra alimentaria”. Anales Venezolanos de Nutrición, 21(1), 2008, pp. 25-30.
11. García-Almeida, J. M., Casado Fernández, G. M., & García Alemán, J. “Una visión global y actual de los edulcorantes: aspectos de regulación”. Nutrición Hospitalaria, 28, 2013, pp. 17-31.
12. Giannuzzi, L., & Molina Ortiz, S. E. “Edulcorantes naturales y sintéticos: Aplicaciones y aspectos toxicológicos”. Acta Farmacéutica Bonaerense, 14, 1995.
13. Guambuguete Quinatoa, C. E., & Hachi López, A. L. “Obtención de gomitas masticables bajas en calorías a base de almidón de yuca, propóleo y stevia”, 2023.
14. Guzmán Loayza, D., & Chávez, J. “Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano”. Revista de la Sociedad Química del Perú, 73(1), 2007, pp. 41-45.
15. Inglese, P., Sáenz, C., Mondragón, C., Nefzaoui, A., & Louhaichi, M. “Ecología del cultivo, manejo y usos del nopal”. Capítulo 1, 2018, pp. 1-19
16. Madrid, A., & Vicente, A. M. “Confitería y pastelería: manual de formación”. Madrid, Vicente, Antonio, Editor. 1999.
17. Madrigal, P. R., Moreno, A. I., & Robles, I. G. C. “Tecnología de elaboración de gomitas de grenetina adicionadas con vitamina C”. Humanidades, Tecnología y Ciencia del Instituto Politécnico Nacional, 22, 2020, pp. 1-6.
18. Manuzza, M. A., Brito, G., Echegaray, N. S., & López, L. B. “Índice glucémico y carga glucémica: su valor en el tratamiento y la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles”. Dieta, 36(162), 2018, pp. 29-38.
19. Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Codex Alimentarius, 1995.
20. Rigalleau, V., Monlun M., Foussard N., Blanco, L., & Mohammedi, K. “Diagnóstico de diabetes” EMC - Tratado de Medicina, 25(2), 2021, pp. 1-7.
21. Santiago-Lorenzo M., López-Jiménez A., Saucedo-Veloz C., Cortés-Flores J. I., Jaén-Contreras D., & Suárez-Espinosa J. "Composición nutrimental del nopal verdura producido con fertilización mineral y orgánica." Revista fitotecnia mexicana, Vol. 39, 4, 2016, pp. 403-407.

DIVERSIDAD DE ANFIBIOS Y REPTILES EN CUATRO HÁBITATS EN UNA ZONA FORESTAL VEDADA DEL ESTADO DE PUEBLA MÉXICO

Janet Elizabeth Osnaya Becerril[1], Roberto Tenorio Mendoza[1], María del Rocío Zárate Hernández[1], Claudia Ballesteros Barrera[1], Angélica Martínez Bernal[1], Selene Ortiz Bugos[2]

[1]Universidad Autonoma Metropolitana Unidad Iztapalapa ,[2] Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

janbio8685@gmail.com

RESUMEN

La Sierra Norte del Estado de Puebla, alberga una elevada riqueza de anfibios y reptiles, sin embargo, en esta región solo está presente un área destinada a la conservación y corresponde a la Zona Forestal Vedada Cuenca Hidrográfica dl Río Necaxa (ZFV-CHRN) la cual alberga diferentes asociaciones vegetales naturales e inducidas. En esta área, se establecieron cuatro sitios de muestreo (Teopancingo, Nuevo Necaxa, Xaltepuxtla y El Infierno), cada uno presentó diferentes condiciones, asociaciones vegetales y altitud. Cada sitio fue visitado seis veces, tres en época seca y tres en la húmeda y se realizaron transectos diurnos y nocturnos para registrar la mayor cantidad de especies de anfibios y reptiles. En cada transecto se contabilizaron todas las especies de anfibios y reptiles, en su respectivo microhabitat. Además, se tomaron algunas variables ambientales. Posteriormente, se realizó un listado taxonómico y para analizar la información se utilizaron los estimadores Chao 1 y 2 para la riqueza de especies de manera general. Para cada sitio, se aplicó el índice de Shannon-Wiener para analizar la diversidad; curvas de rango de abundancia para conocer la estructura de la comunidad con base en la abundancia de las especies; el índice de complementaridad para conocer el grado de disimilitud entre sitios. Finalmente, se aplicó un análisis de correspondencia canónica (ACC) para conocer las variables ambientales, que afectan a las especies en relación a los diferentes sitios de muestreo. En total, se contabilizaron 51 especies, 19 anfibios y 32 reptiles, con lo cual se estima que la riqueza de especies de la ZFV-CHRN se registró en un 70% de acuerdo a los estimadores. El sitio con la mayor riqueza y diversidad fue Teopancingo. En general, la comunidad de anfibios y reptiles de cada sitio está dominada por una o dos especies. El índice de complementaridad, entre sitios supero el 75% de disimilitud. La información del ACC indicó que las variables que las principales variables que afectan a las especies y prevalecen en cada sitio son la temperatura y la humedad relativa. Al analiza la riqueza de anfibios y reptiles de la ZFV-CHRN, esta se compone de 51 especies y cada sitio muestreado presenta diferentes condiciones de temperatura y humedad, por lo tanto, cada uno alberga especies distintas y los valores de diversidad y abundancia son variables.

INTRODUCCIÓN

El estado de Puebla es una entidad que abarca diferentes provincias biogeográficas, lo cual provoca el establecimiento de ambientes áridos, templados y tropicales y por lo tanto, favorecen la presencia de una amplia variedad de tipos climáticos y de vegetación que albergan distintas especies de flora y fauna (Woolrich-Piña *et al*., 2017).

Parte de esta riqueza de especies y ecosistemas se encuentra resguardada en diferentes áreas protegidas, parques nacionales o reservas de la biosfera como La Malinche (Méndez de la Cruz *et al.*, 2018) y el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayen, 2006) que si bien, ayudan a la conservación de ecosistemas templados y áridos, respectivamente. Sin embargo, la zona norte del estado conocida como la Sierra Norte de Puebla (SNP) ha sido poco estudiada debido, en parte, a su intrincada topografía cuyo gradiente altitudinal ha provocado el establecimiento de zonas templado-húmedas y tropicales (Tenorio-Mendoza, 2016). En la SNP, solo está presente destinada a la conservación de recursos y corresponde a la Zona Forestal Vedada Cuenca Hidrográfica del Rio Necaxa (ZFV-CHRN).

La ZFV-CHRN, posee características fisiográficas similares a las de la Sierra Norte de Puebla (ver área de estudio), por lo que, variedad de tipos climáticos y de vegetación (natural e inducida) que hay se producen han provocado que sea una región con una elevada riqueza de especies y sobre todo endemismos pertenecientes a distintos grupos biológicos y con respecto a anfibios y reptiles no es la excepción ya que esta zona proporciona las condiciones idóneas de humedad y temperatura para albergar una elevada riqueza herpetológica. El objetivo de este estudio es conocer la diversidad y riqueza de especies en diferentes localidades de la ZFV-CHRN.

TEORÍA

Herpetofauna

La herpetofauna (anfibios y reptiles de una región determinada) está compuesta a nivel mundial por más de 20 mil especies; estando presentes en México un total de 1440 especies (425 anfibios y 1015 reptiles) siendo más de la mitad endémicas de nuestro país. Los anfibios y reptiles son ectotermos (su actividad depende de fuentes externas de calor, por ejemplo de la energía solar) por lo que están fuertemente arraigados a las condiciones de temperatura y humedad relativa y son sensibles a la variación microclimática que ocurre dentro de sus hábitats por lo que son especies de poca vagilidad, razón por la cual estas especies muestran elevadas tasas de endemicidad (Amphibianweb, 2024; Uetz y Hozek, 2025).

Los anfibios y reptiles son elementos importantes dentro de los ecosistemas que habitan, debido a que son eslabones clavede la cadena trófica, es decir, ellos son alimento de otras clases de vertebrados como serpientes, aves y mamíferos. También, debido a sus hábitos depredadores son controladores poblacionales de animales que pueden portar enfermedades como mosquitos, moscas, cucarachas y roedores; en otros casos también tienen una función como polinizadores y dispersores de semillas. Además, su presencia es un indicador de un ambiente en equilibrio y saludable (Siliceo-Cantero, 2021).

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio

La ZFV-CHRN, es un área protegida que se encuentra entre los estados de Hidalgo y Puebla (donde se llevaron a cabo los muestreos) (Figura 1).Con respecto a la parte que corresponde al estado de Puebla y donde se encuentra su mayor extensión, esta equivale a 32,630 ha que se extiende desde los 560 hasta los 2,323 m.s.n.m. intercalando planicies y valles intermontanos (INAFED, 2009). La geología del área está compuesta por diversos elementos de origen volcánico que forman extensos plegamientos compuestos por fallas regionales donde predominan materiales basálticos y rocas sedimentarias (CONANP, 2013).

El clima dominante es un Cb(fm)(e)g, que corresponde al tipo templado húmedo con lluvias todo el año, verano fresco y largo (García, 1975). Las lluvias ocurren a lo largo del año debido a los vientos cargados de humedad que provienen del Golfo de México y a medida que ascienden por la ladera oriental de la Sierra Madre Oriental descargan toda la humedad en forma de precipitación (FIR, 2007). En consecuencia, en la zona existen numerosos cuerpos de agua permanentes o temporales, entre los que destacan el Río Necaxa y Texcapa que atraviesan los municipios del área los cuales en varios casos abastecen a las presas existentes como la de Necaxa, Tenango de las Flores y Nexapa y que finalmente, desembocan en el Golfo de México. Además, estas presas sirven en la generación de energía eléctrica (INAFED, 2009).

Debido a la franja altitudinal que ocupa, en la ZFV se desarrollan diversos tipos de vegetación como la selva mediana, diversos tipos de bosques: de encino, pino-encino, pino, mesófilo de montaña, pastizales, así como cultivos de café, maíz, frutales y plantas de ornato (Cerón-Carpio *et al*., 2012).

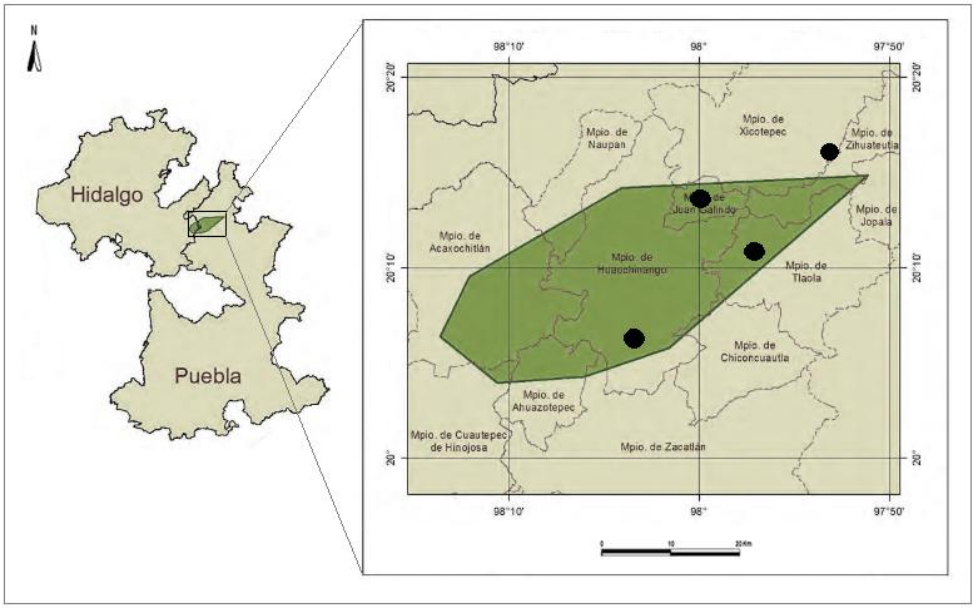


Figura 1.- Ubicación de la Zona Forestal Vedada Cuenca Hidrográfica del Río Necaxa.

Método

En la ZFV-CHRN, se realizaron muestreos sistemáticos en cuatro localidades: Teopancingo, Nuevo Necaxa, Xaltepuxtla y El Infierno, las cuales se encontraron a diferente altitud y cada una presento diferentes tipos de vegetación. En cada localidad, Los muestreos se llevaron a cabo bimestralmente entre abril de 2017 y marzo de 2019 en cada uno de los cuatro sitios de muestreo. Cada sitio se visitó seis veces, tres durante la época seca y tres en la de lluvias, el muestreo en cada sitio fue de dos días consecutivos. También se tomaron diferentes variables ambientales como: temperatura, humedad relativa, velocidad del viento y la descripción de la estructura de la vegetación.

Dentro de cada localidad, en cada tipo de vegetación se establecieron transectos lineales de longitud variable y tiempo fijo, con una duración de cinco horas para cada caso. Para detectar organismos diurnos los recorridos se llevaron a cabo entre las 10:00 y las15:00 hrs. y para los de hábitos nocturnos entre las 20:00 y las 01:00 hrs. Como los transectos se realizaron a diferente horario se consideran dobles y se multiplicaron por el número de visitas por sitio, dando un total de 48 muestreos, 12 por sitio. Para el registro de las especies, se usó el método de observación directa (Hayek, 1994) y todas las especies e individuos de anfibios y reptiles visualizados fueron contabilizados. La colecta de anuros, caudados, algunas lagartijas y serpientes no venenosas (permiso de colecta científica SEMARNAT/DGVS 11743/13 a nombre de Roberto Tenorio Mendoza) se realizó manualmente, para otras lagartijas se utilizaron ligas y para las serpientes venenosas se utilizó el gancho herpetológico (Jiménez-Velázquez *et al*., 2012).

Cada transecto fue recorrido por dos personas, quienes revisaron todos los microhábitats que potencialmente pudieran usar los organismos y se clasificaron de la siguiente manera:: terrestre (en el suelo, sobre troncos y rocas); arborícola (sobre ramas y troncos de arbustos y árboles y dentro de epifitas); ripario (dentro y a la orilla de cuerpos de agua); fosorial (debajo de troncos y rocas, dentro de madrigueras); saxícola (entre acumulación de rocas y dentro de grietas) y antropogénico (sobre paredes de casas y dentro de habitaciones) (Solano-Zavaleta, 2008).

De cada especie se registró: nombre, número de individuo consecutivo, localidad, hábitat (tipo de vegetación), microhábitat, ubicación geográfica y medidas corporales. Algunos individuos fueron determinados *in situ* mediante guías de campo y libros de consulta especializados (Dixon y Lemos,

2010; Guzmán-Guzmán, 2011 y Ramírez-Bautista *et al*., 2014). Para aquellos organismos cuya determinación taxonómica fue dudosa, se obtuvo una muestra de dos machos y dos hembras para su posterior determinación en el laboratorio. Todos los ejemplares recolectados se encuentran depositados en la Colección de Anfibios y Reptiles de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (CAR-I).

Recopilación y análisis de datos

El listado taxonómico del inventario se realizó de acuerdo con Flores-Villela *et al*. (1995) y actualizado con la información obtenida de AmphibiaWeb (2025), Ramírez-Bautista *et al*. (2014) y Uetz y Hozek (2025). Para determinar la eficiencia del esfuerzo de muestreo, se realizó una curva de acumulación de especies (Escalante-Espinosa, 2003) y se contrastó con el estimador no paramétrico Chao 1 y 2 que se basa en datos de presencia-ausencia y la abundancia de las especies (Jiménez-Valverde y Hortal, 2003) realizado con el programa Estimates ver 9.0 (Collwell y Coddinton, 1994).

Para analizar la riqueza de especies y diversidad por localidad, se aplicó el índice de Shannon-Wiener (H') para analizar la diversidad; curvas de rango abundancia para conocer la estructura de la comunidad con base en la abundancia de la especies; el índice de complementaridad para conocer el grado de disimilitud entre sitios. Finalmente se aplicó un análisis de correspondencia canónica (ACC) para conocer como las variables ambientales, que afectan a las especies en relación a los diferentes sitios de muestreo (Escalante-Espinosa, 2003).

RESULTADOS

Con base en 1350 registros, la herpetofauna de la parte Poblana de la ZFV-CHRN, está compuesta por 51, pertenecientes a 37 géneros y 18 familias, de las cuales 19 fueron anfibios y 32 reptiles. Dentro de los anfibios, los anuros tuvieron el mayor número de especies (14) y para los reptiles, lagartijas y serpientes tuvieron la misma riqueza (Tabla I). La mitad de las especies registradas son endémicas de México.

La herpetofauna registrada en la ZFV-CHRN representan el 18% de las herpetofauna conocida para el Estado de Puebla (García-Vásquez *et al*., 2009) y el 46% de la que se distribuye en la SNP (Gutiérrez-Mayén *et al.*, 2006 com. pers.). La riqueza encontrada en esta cuenca hidrográfica se atribuye a la ubicación geográfica de la ZFV dentro de la SNP, que corresponde a una zona de transición entre las provincias del Eje Neovolcánico Transversal, la Sierra Madre Oriental y la Llanura Costera del Golfo (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén, 2006; Gutiérrez-Mayén y Salazar-Arenas, 2006; Solano-Zavaleta, 2008), de manera que en ella se han establecido especies de regiones templadas y tropicales.

Tabla 1.- Composición taxonómica de la herpetofauna registrada en la ZFV-CHRN.

Orden	Familias	Géneros	Especies
Salamandras	1	4	5
Ranas	5	8	14
Lagartijas	6	11	16
Serpientes	6	14	16
Total	**18**	**37**	**51**

De acuerdo con el estimador Chao 1 y 2, con un intervalo de confianza del 95%, la riqueza de total predictiva es de 69 y 72 especies respectivamente, por lo tanto la curva de acumulación de especies

alcanzo entre el 62 y 66 % de la cifras estimadas, lo que indica que hace falta un mayor esfuerzo de muestreo para completar este inventario (Figura 2).

Por localidad, hubo diferencias importantes en cuanto a la composición de especies y diversidad en cada una: en Teopancingo se registraron 19 especies, de las cuales 17 son endémicas de México; la diversidad también fue alta (H'=2.2) debido en parte a factores biogeográficos y la tolerancia de las especies a las bajas temperaturas Flores-Villela *et al.* (2010). Para Nuevo Necaxa, se registraron 16 especies, principalmente anfibios. En esta zona la diversidad también fue alta (H'=1.9) ya que es la ona de mayor humedad relativa debido a la presencia de bosque mesófilo de montaña (Cerón-Carpio, 2012) (Figura 3).

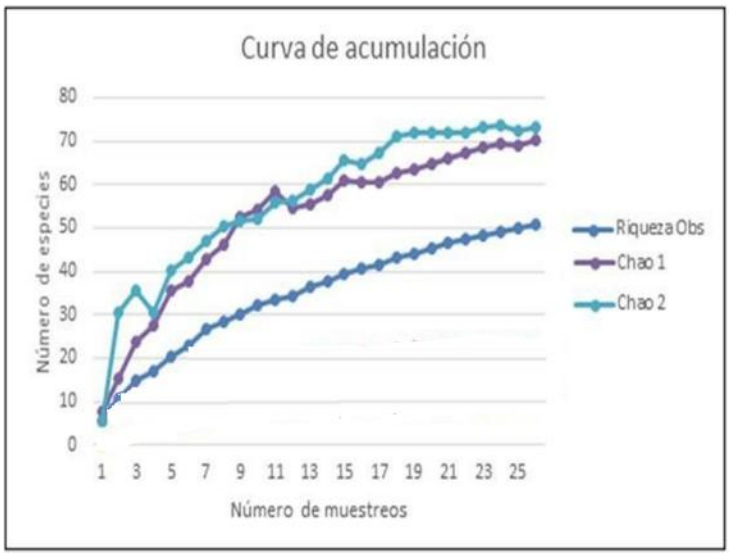


Figura 2:- Curva de acumulación de especies estimada y acumulada.

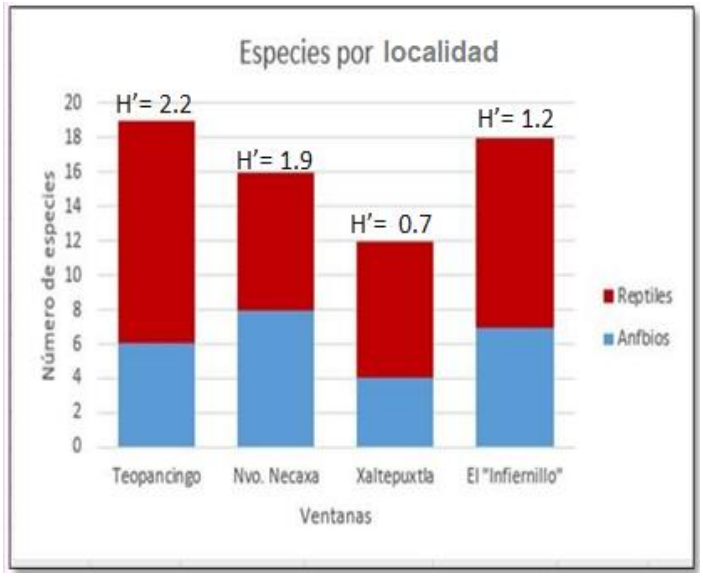


Figura 3.- Riqueza de especies y diversidad por localidad.

En el caso de las otras dos localidades, primero, Xaltepuxtla tuvo la menor riqueza de especies y diversidad (H'=0.7) mientras que El Infierno, tuvo una alta riqueza de especies pero su diversidad

fue baja también (H'= 1.2). Ambos sitios, presentan diferentes grados de perturbación, principalmente por el desarrollo de diferentes métodos agrícolas: lo que ha ocasionado que en estos sitios predomine una alta abundancia de una o dos especies que son tolerantes a los cambios en el ambiente, mientras que el resto de las especies se presentan con menor frecuencia, por lo que se consideran especies raras (Figura 3 y 4). A diferencia de las primeras dos localidades, donde la abundancia de las especies es más equilibrada.

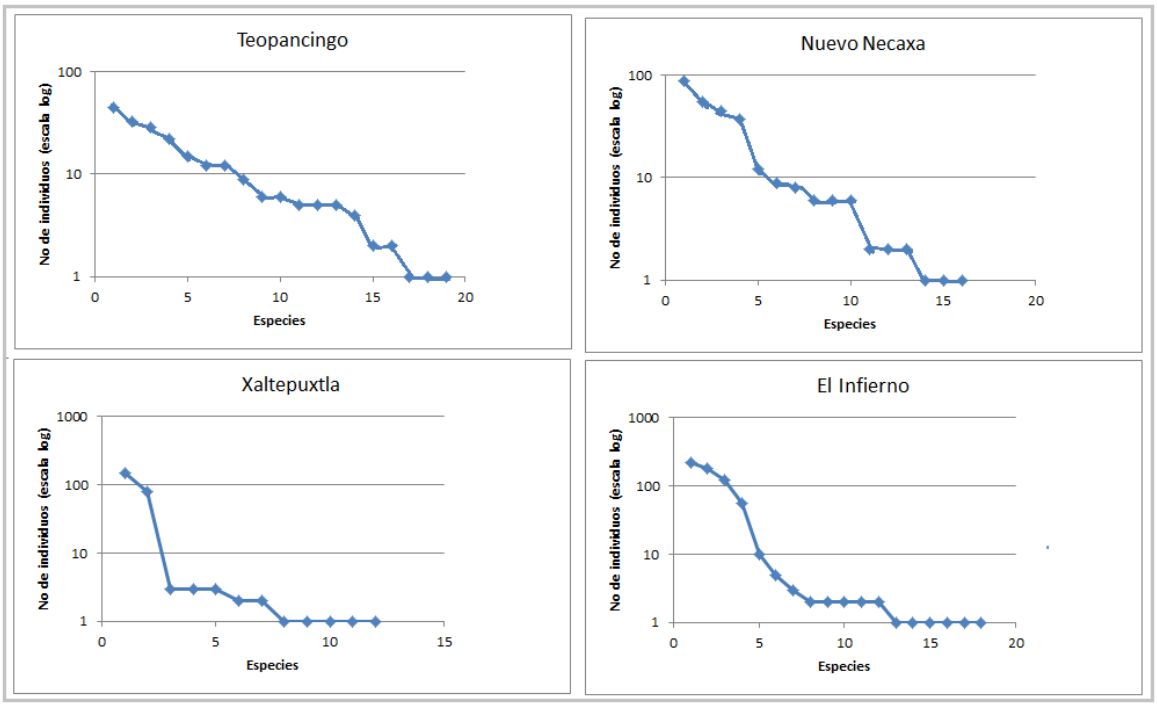


Figura 4.- Curvas de rango abundancia por localidad.

En cuanto al análisis de complementaridad (Tabla II), este mostro que los valores de disimilitud fueron altos, superiores al 75%. Este análisis puede servir para la toma de decisiones para la conservación, ya que la composición taxonómica de anfibios y reptiles de cada sitio es única y pueden formas un complejo ensamblaje y con ello, proponerse áreas prioritarias para la conservación, considerando la riqueza de especies, endemismos, especies raras o la presencia de especies en zonas de alto valor ambiental como el bosque mesófilo de montaña.

Tabla II.- Porcentaje de complementaridad y especies compartidas entre las diferentes localidades de la ZFV-CHRN.

		Complementariedad (%)			
		Teopancingo	Nvo. Necaxa	Xaltepuxtla	El Infierno
Especies compartidas	Teopancingo	—	100	100	100
	Nvo. Necaxa	0	—	76.1	82.1
	Xaltepuxtla	0	5	—	75
	El "Infiernillo"	0	5	6	—

El ACC, mostro una separación de las especies y su relación con diferentes variables ambientales (Figura 5), siendo la altitud y la temperatura las variables con mayor porcentaje de varianza

explicada (Tabla III). Por lo tanto, el ACC muestra que los ejes canónicos de mayor importancia son el de la altitud y que es el principal factor que puede determinar una distribución limitada de las especies dentro de la ZFV, mientras que el resto de las especies puede mostrar un rango más amplio hacia distintas condiciones principalmente la temperatura, por lo que pueden tener una distribución mucho más amplia que las de zonas altas o templadas (Figura 5).

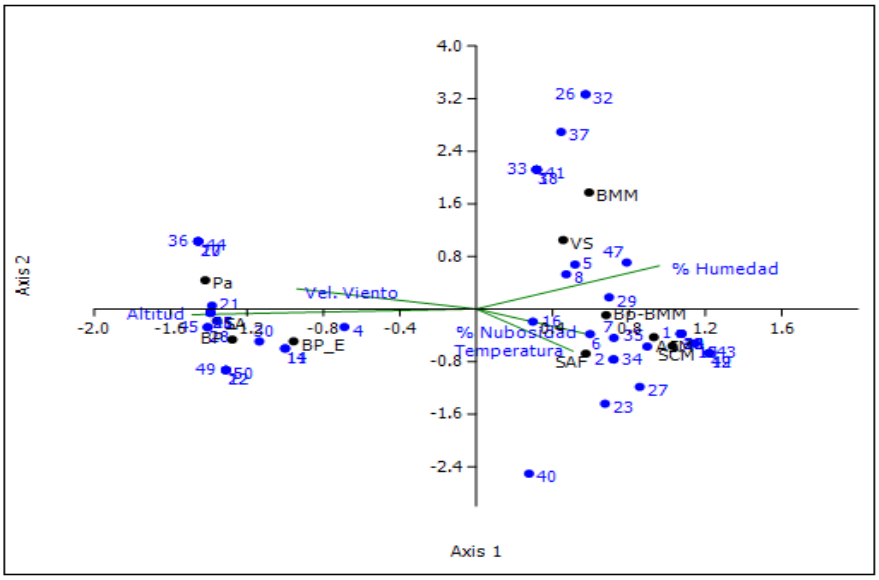


Figura 5.- ACC que considera las variables ambientales y su relación con las especies**.**
Cada punto numerado representa a una especie.

Tabla III.- Eigenvalores y porcentaje de varianza explicada para cada eje canónico. 1) Altitud,2) Temperatura, 3) Humedad relativa, 4) Nubosidad, 5) Velocidad del viento y 6) Estructura de la vegetación.

EJE	Eigenvalor	% varianza explicada
1	0.89	46.27
2	0.47	24.6
3	0.28	14.87
4	0.22	13.71
5	0.18	8.831
6	0.12	6.004

CONCLUSIONES

La ZFV-CHRN alberga 51 especies de anfibios y reptiles, sin embargo se debe aumentar el tiempo en el esfuerzo de muestro para conocer más sobre las especies presentes en esta región. Cabe mencionar que esta ZFV es una zona con una elevada complejidad ambiental en el que las diferentes localidades muestreados presentan diferente composición de especies y valores de diversidad, lo que puede a futuro, servir como una herramienta clave para establecer areas prioritarias para la conservación.

BIBLIOGRAFÍA

1. AmphibiaWeb. “AmphibiaWeb”: Information on Amphibia biology and conservation. Consultado: 22-02-2025. En: http://amphibiaweb.org.

2. Canseco-Márquez, L. y M.G. Gutiérrez-Mayén. “Herpetofauna del municipio de Cuetzalan del Progreso, Puebla”. pp. 180-196. En: Ramírez-Bautista A., L. Canseco-Márquez y L. Mendoza-Quijano (Eds.). Inventarios herpetofaunísticos de México: Avances en el conocimiento de su biodiversidad, Publicaciones Especiales de la Sociedad Herpetológica Mexicana No. 3. Distrito Federal, México, 2006, pp. 345.

3. Cerón-Carpio, A.B., J.L. Contreras-Jiménez y V.H. De Gante-Cabrera. “Inventario pteridoflorístico del Área de Protección de Recursos Naturales Cuenca Hidrográfica del Río Necaxa porción Puebla, México”. Polibotánica 33, 2012, pp. 41-55.

4. Colwell, R.K. y J.A. Coddington. “Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation”. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 345, 1994, pp. 101-118.

5. CONANP “Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas”. Estudio previo justificativo para la modificación de la declaratoria del Área de Protección de Recursos Naturales “Zona Protectora Forestal Vedada Cuenca Hidrográfica del Rio Necaxa” *ubicada en los estados de Hidalgo y Puebla*. Distrito Federal, México, 2013, pp. 118.

6. Dixon, J.R. y J.A. Lemos-Espinal. “Anfibios y reptiles del Estado de Querétaro, México”. Texas A. y M. University. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Distrito Federal, México, 2010, pp. 428.

7. Escalante-Espinosa, T. “¿Cuántas especies hay? *Los estimadores no paramétricos de Chao”*. Elementos: Ciencia y Cultura 52, 2003, pp. 53-56.

8. FIR “Ficha Informativa de los Humedales Ramsar versión 2006-2007”. Sistema de represas y corredores biológicos de la Cuenca Hidrográfica del Río Necaxa. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Distrito Federal, México, 2007, pp. 31.

9. Flores-Villela, O., P. Mendoza y G. Gonzales. “Recopilación de claves para la determinación de anfibios y reptiles de México”. Publicaciones Especiales Museo de Zoología. Distrito Federal, México, 1995, pp. 280.

10. Flores-Villela, O., L. Canseco-Márquez y L. Ochoa-Ochoa. “Geographic, distribution and conservation of the mexican central highlands herpetofáuna”, 2010, pp. 303-320.

11. García, E. “Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)”. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México, 1975, pp. 98.

12. García-Vásquez, U.O., L. Canseco-Márquez, M.G. Gutiérrez-Mayén y O.M. Trujano-Ortega. “Actualización del conocimiento de la fauna herpetológica del Estado de Puebla, México”. Boletín de la Sociedad Herpetológica de México 17, 2009, pp.12-36.

13. Gutiérrez-Mayén, M.G., L. Canseco-Márquez, U.O. García-Vásquez y C. Hernández-Jiménez. 2011. “Diversidad de especies: Anfibios y reptiles*”*. pp. 152-158. En: López, R.L. y M.M.G Carcaño. (Eds.). La biodiversidad en Puebla estudio de estado, Puebla, México., 2011, pp. 440.

14. Gutiérrez-Mayén, M.G. y J.A. Salazar-Arenas. “Herpetofauna de los Municipios de Camocuautla, Zapotitlán de Méndez y Huitzilan de Serdán, de la Sierra Norte de Puebla”.

pp. 197-223. En: Ramírez-Bautista, A., L. Canseco-Márquez y F. Mendoza-Quijano (Eds.). Inventarios herpetofaunísticos de México: Avances en el conocimiento de su biodiversidad. Puebla, México, 2006, pp. 345.

15. Guzmán-Guzmán, S. 2011. “Anfibios y reptiles de Veracruz guía ilustrada”. Universidad Veracruzana. Consejo Veracruzano de Ciencia y Tecnología. Gobierno del Estado de Veracruz. Veracruz, México, 2011, pp. 232.

16. Hayek, L. Transect sampling. pp. 103-107. En: Heyer, W.R., M.A Donnelly, R.W. McDiarmid, L.A. Hayek y M.S. Foster (Eds.). Measuring and monitoring biological Diversity, standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington DC, Estados Unidos, 1994, pp. 323.

17. INAFED “Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal” 2009. Enciclopedia de los municipios de México, Estado de Puebla. Consultado: 15-06-2018. En: http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_Puebla.

18. Jiménez-Valverde, A. y J. Hortal. “Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos”. Revista Ibérica de Aracnología 8, 2003, pp. 151-161.

19. Jiménez-Velázquez, G., J.A. Sandoval-Quintero y N. Trigo-Boix. “Guía teórica y metodológica para el conocimiento y manejo de la herpetofauna”. Manual No. 35. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Distrito Federal, México. 2012, pp. 103.

20. Méndez de la Cruz, F.R., A. H. Díaz de la Vega Pérez, E. Centenero-Alcalá y V.H. Jiménez-Arcos. “Anfibios y reptiles del Parque Nacional La Malinche”. Universidad Autónoma de Tlaxcala, México, 2018, pp.

21. Ramírez-Bautista, A., U. Hernández-Salinas, R. Cruz-Elizalde, C. Berriozabal-Islas, D. Lara-Tufiño, I.G. Mayer-Goyenechea y J.M. Castillo-Cerón. “Los anfibios y reptiles de Hidalgo, México: diversidad, biogeografía y conservación”. Sociedad Herpetológica Mexicana. Pachuca, Hidalgo, México, 2014, pp. 387.

22. SEMARNAT. “Norma Oficial Mexicana NOM-05-ECOL-2001”. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Distrito Federal, México, 2010, pp. 110.

23. Siliceo-Cantero, H. Fauna en el antropoceno: el caso de los anfibios y reptiles. Boletín de la SCME, 2021, 1(7).

24. Solano-Zavaleta, I. “Estudio herpetofaunístico del Municipio de Tlatlauquitepec, Sierra Norte de Puebla”. Tesis de Licenciatura Universidad Nacional Autónoma de México. México, 2008, pp.112.

25. Tenorio-Mendoza, R. “Diversidad herpetofaunística del Área Natural Protegida Cuenca Hidrográfica del Río Necaxa, Puebla”. Tesis de Maestría en Biología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México, 2016, pp. 110.

26. Uetz, P. y J. Hosek (Eds.). “The Reptile database”. Consultado: 22-02-2025. En: http://www.reptile-database.org.

27. Woolrich-Piña ,G., E. García-Padilla, D. L. De Santis, J. Johnson, V. Mata-Silva y L. David-Wilson. “The herpetofauna of Puebla, México: composition, distribution and conservation status”. Mesoamerican Herptology, 2017, pp. 790-884.

EL LACTOSUERO Y SU IMPACTO AMBIENTAL EN LAGOS DE MORENO, JALISCO

Lesli Daniela Bayardo Alvarez, J. Elizabeth Alba-Cuevas y Virginia Villa-Cruz.

CULagos-Universidad de Guadalajara, Lagos de Moreno, Jalisco, México.

RESUMEN

La producción y venta de leche es altamente significativo para el desarrollo económico y para la generación de empleos en comunidades. La leche al ser una bebida rica en nutrientes esenciales se comercializa en fresco o se procesa (1). En el proceso se generan varios derivados lácteos, siendo uno de los principales el queso. Por lo que este producto lácteo al tener alta demanda tiene alta producción. Es importante mencionar que durante la producción de queso se genera el co-producto lactosuero, el cual es generado en mayor volumen debido a que para producir 1 kg de queso se producen 9 litros de lactosuero. Se generan aproximadamente por parte de la industria 200 millones de toneladas de suero de leche por año (2) como consecuencia de la fabricación de queso, desafortunadamente, no siempre este residuo se trata antes de ser vertido al ambiente, lo que provoca serios problemas de contaminación ambiental. Lagos de Moreno, Jalisco, puede presentar la misma problemática debido a que se caracteriza por ser una cuenca lechera y a su vez por contar con empresas lácteas industriales y familiares, donde una de sus principales actividades es la producción de queso. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad del lactosuero generado por empresas queseras en Lagos de Moreno. Por lo que se recolectaron muestras de lactosuero de empresas queseras ubicadas en Lagos de Moreno a las cuales se les aplico una encuesta previa para elegir o descartar las muestras según nivel de producción y tipo de cuajo usado para la elaboración del queso fresco. Las muestras se transportaron al laboratorio en condiciones ambientales, donde se determinó por triplicado: porcentaje de proteína, grasa, lactosa y sólidos totales (Milkoscan FT-1), pH y acidez (Medidor de acidez titulable HI84529 HANNA); previos análisis se homogeneizaron las muestras a 25°C. Los resultados muestran en promedio para el lactosuero de proteína fue 1.03%, de grasa 0.70%, lactosa 4.46%, sólidos totales 7.03%, pH 7.36 y acidez 0.12%. Se concluye que el lactosuero generado en la región tiene una alta carga orgánica, el vertido de aguas residuales con estas características sin previo tratamiento puede influir en el ambiente donde es desechado al disminuir el oxígeno disuelto, aumentar la proliferación de microorganismos y desequilibrar las características del ecosistema, desplazando, a su vez, a la vida acuática (flora y fauna) endémica de las zonas.

INTRODUCCIÓN

El lactosuero es un subproducto proveniente de la elaboración de queso, es un residuo con una alta carga orgánica, entre lípidos, lactosa y proteínas el cual se genera en grandes proporciones (9 litros de lactosuero por 1 kilo de queso elaborado) es importante realizar este tipo de estudios debido a que como efluente es altamente contaminante ya que puede dañar el suelo, los cuerpos de agua, disminuir el oxígeno disuelto y con ello repercutir en flora, fauna y en los seres humanos que puedan llegar a consumir o entrar en contacto de manera directa o indirecta con el efluente. El propósito del trabajo es evaluar las características fisicoquímicas del lactosuero y con ello dar un preámbulo para sugerir tratamientos o formas de uso a este residuo. Debido a lo anterior el presente estudio determino la concentración de grasa, proteína, lactosa como materia orgánica de mayor composición, así como pH y acidez en lactosuero de queserías ubicadas en Lagos de Moreno, Jalisco.

TEORÍA

El lactosuero es un subproducto resultante del proceso de elaboración del queso generado durante la precipitación de la caseína. Este proceso involucra el uso de leche, ya sea pasteurizada o bronca, a la cual se le adiciona un cuajo, generalmente enzimático. En el caso de la leche pasteurizada, es necesario añadir cloruro de calcio para reponer el calcio perdido durante la pasteurización,

favoreciendo así la precipitación de la caseína. A una temperatura específica, usualmente 36 °C, se incorpora el cuajo, uno de los más usados es la quimosina, una enzima que actúa sobre las cadenas proteicas, promoviendo la formación de un gel uniforme con una textura similar a un flan y el color característico de la leche. Posteriormente, este gel se corta y se somete al proceso de desuerado y con ello tenemos la formación de 2 productos, una parte solida (queso) y otra liquida (lactosuero) (5,6)

Una de las más destacadas es la producción de proteína de suero en polvo, conocida como "Whey". Asimismo, se han desarrollado bebidas a base de suero de queso, y se ha incorporado en productos lácteos como ingrediente funcional. En el sector agropecuario, se utiliza como complemento alimenticio para la ganadería debido a su valor nutricional (1, 7, 8).

En 2005, la distribución global de la producción de suero de queso se concentró principalmente en Europa, que representó el 53% del total, seguida por América del Norte y Central con un 28%. Otros aportes provinieron de Asia (6%), África (5%), Oceanía (4%) y América del Sur (4%). Anualmente, estos porcentajes equivalen a una producción global estimada de 110-115 millones de toneladas de suero de queso. Sin embargo, aproximadamente el 45% de esta cantidad se desecha directamente en ríos, lagos, plantas de tratamiento de aguas residuales y suelos, generando un impacto ambiental significativo a nivel mundial (1, 9). Según un informe emitido por el USDA-FAS, la producción de queso en México para 2024 se estima en 474,000 toneladas métricas (TM), lo que representa un incremento del 2% en comparación con 2023. Considerando la relación de 1:10, es decir, que para producir un kilogramo de queso se generan 10 litros de lactosuero, esto equivaldría a aproximadamente 4,266,000 TM de lactosuero a nivel nacional. Al cierre de 2023, México produjo un total de 13,333 millones de litros de leche. En este contexto, el estado de Jalisco se posicionó como el principal productor, con un aporte de 2,799 millones de litros, lo que representa el 21.0% de la producción nacional (3, 4). A nivel local, Lagos de Moreno es considerado una cuenca lechera, una de las principales actividades económicas de la región es la ganadería y con ello la producción de leche. Dentro de los derivados lácteos que se elaboran en la región, uno de los más importantes es el queso, este es elaborado mayormente por pequeñas empresas familiares queseras. Sin embargo, esta dinámica económica suele generar un manejo inadecuado de los subproductos del proceso, como lo es el lactosuero, el cual a menudo es descargado al sistema de drenaje sin recibir un tratamiento previo adecuado (3).

Debido a las características del lactosuero y eliminación como efluente, se fomenta la proliferación de microorganismos que incrementan considerablemente la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) con valores entre 40,000 y 60,000 mg/L, así como la Demanda Química de Oxígeno (DQO), que puede alcanzar entre 50,000 y 80,000 mg/L. Además, presenta altos niveles de Sólidos Suspendidos Totales (SST). Estas condiciones generan un impacto ambiental significativo si las aguas residuales no reciben un tratamiento adecuado, ya que agotan el oxígeno disuelto en los cuerpos de agua, lo que ocasiona un desequilibrio ecológico que reduce, e incluso elimina, la flora y fauna acuáticas (7,8). Además, el cambio de pH y acidez en un medio acuático puede contribuir a generar efectos nocivos en el ecosistema, entre ellos, se ha podido observar impedimentos en reproducción por la eclosión de huevas, deformación en peces, dificultad de crecimiento de flora e inclusive la extinción de especies. Cabe recalcar que si el agua no entra dentro de los valores de pH regulados por las normativas mexicanas tampoco se encontrará apta para consumo humano (12). Por su parte, los sólidos totales en el agua indican que existe materia orgánica o inorgánica suspendida en el cuerpo de agua o disuelta en la misma como sales, minerales, entre otros. Niveles altos pueden alterar el sabor de agua, su potabilidad, conductividad eléctrica y afectar a la vida acuática presente en el cuerpo de agua (13). La presencia de materia orgánica como grasa, proteína y carbohidratos presentes en el lactosuero pueden generar en el agua cambios en el color, olor y sabor, así como una proliferación de microorganismos patógenos que impidan un desarrollo adecuado de flora y fauna existente (14).

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó una revisión documental para encontrar las ubicaciones de las queserías familiares de Lagos de moreno, consultando fuentes como COFEPRIS, Desarrollo económico Lagos y encuestas a los pobladores. Por lo que se encontraron 21 queserías con las siguientes características: micro o pequeña empresa, elaboración de queso fresco con leche bronca, uso de cuajo biológico y que se encontrará en Lagos de Moreno, de estas, 19 aceptaron entrar en el estudio. Algunos de los datos encontrados más importantes de la aplicación de las encuestas fueron que la mayoría de las empresas con estas características se encuentran en zonas ganaderas del municipio, además ninguna da tratamiento a las aguas residuales descargadas, aunque se mencionan segundos usos como alimento para ganado o descremado para elaboración de crema o requesón a base del lactosuero. Al menos por semana, por parte de estas queserías se generan 15,080 kilogramos de queso fresco por semana, lo que equivale a 135,720 litros de lactosuero.

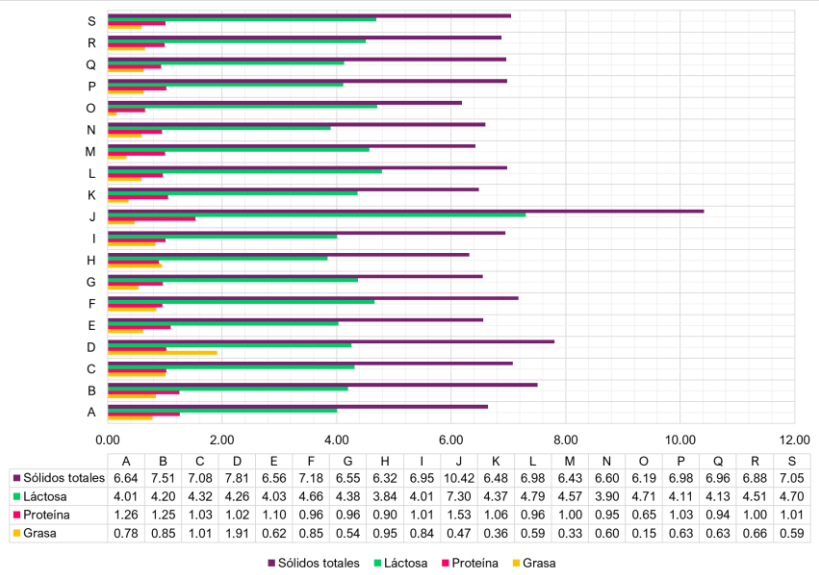
Las muestras obtenidas de lactosuero de cada una de las empresas (1 litro), fueron transportadas al laboratorio en recipientes de vidrio estériles, para ser analizadas en fresco.

Los valores de porcentaje de proteína, grasa, lactosa y sólidos totales fueron obtenidos mediante tecnología de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) con el uso del equipo MilkoScan™ FT1 y ~~su~~ software ProcesScan™Milkoscan FT-1. Los valores de pH y acidez fueron determinados con un medidor de acidez titulable HI84529 marca HANNA. Antes de las mediciones, la temperatura de las muestras se ajusto a 25°C, para un análisis homogéneo en las muestras. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

Para el análisis de resultados se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) a un α 0.05 y comparación de medias por TUKEY mediante el Programa estadístico SPSS IBM, versión 29.

RESULTADOS

En la Gráfica 1 se presentan los valores promedio de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales del lactosuero generado por 19 queserías de la región de Lagos de Moreno, determinados mediante espectroscopía infrarroja con el equipo Milkoscan FT1. Los resultados evidencian una notable heterogeneidad entre las muestras analizadas, destacando particularmente la quesería “J”, la cual exhibe valores significativamente distintos en comparación con el resto de los establecimientos.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S
Sólidos totales	6.64	7.51	7.08	7.81	6.56	7.18	6.55	6.32	6.95	10.42	6.48	6.98	6.43	6.60	6.19	6.98	6.96	6.88	7.05
Láctosa	4.01	4.20	4.32	4.26	4.03	4.66	4.38	3.84	4.01	7.30	4.37	4.79	4.57	3.90	4.71	4.11	4.13	4.51	4.70
Proteína	1.26	1.25	1.03	1.02	1.10	0.96	0.96	0.90	1.01	1.53	1.06	0.96	1.00	0.95	0.65	1.03	0.94	1.00	1.01
Grasa	0.78	0.85	1.01	1.91	0.62	0.85	0.54	0.95	0.84	0.47	0.36	0.59	0.33	0.60	0.15	0.63	0.63	0.66	0.59

Grafica 1. Valores de lactosa, proteína, grasa y sólidos totales en lactosuero de Lagos de Moreno, Jalisco.

La Tabla 1 resume los promedios globales de las principales variables fisicoquímicas evaluadas: grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, pH y acidez titulable. Estos valores representan la composición media del lactosuero generado en las queserías de la región.

Proteína

El contenido promedio de proteína en el lactosuero de las queserías evaluadas varió entre 0.6% y 1.3%, lo cual es superior al valor promedio de 0.85% reportado por diversos autores en estudios previos. El análisis de varianza (ANOVA) reveló diferencias estadísticamente significativas entre los contenidos de proteína de las distintas queserías ($p < 0.05$). Posteriormente, se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey, la cual confirmó la existencia de diferencias significativas entre la mayoría de las muestras (ver Gráfica 7).

Lactosa

Los valores promedio de lactosa oscilaron entre 3.8% y 5.0%, con una muestra destacada (quesería "J") que alcanzó un valor superior al 7%. El ANOVA indicó diferencias significativas entre las queserías en cuanto a la concentración de este azúcar ($p < 0.05$), las cuales fueron corroboradas mediante la prueba de Tukey. El valor promedio general de lactosa fue de 4.46%, ligeramente inferior al valor de referencia de 4.94% reportado en la literatura especializada.

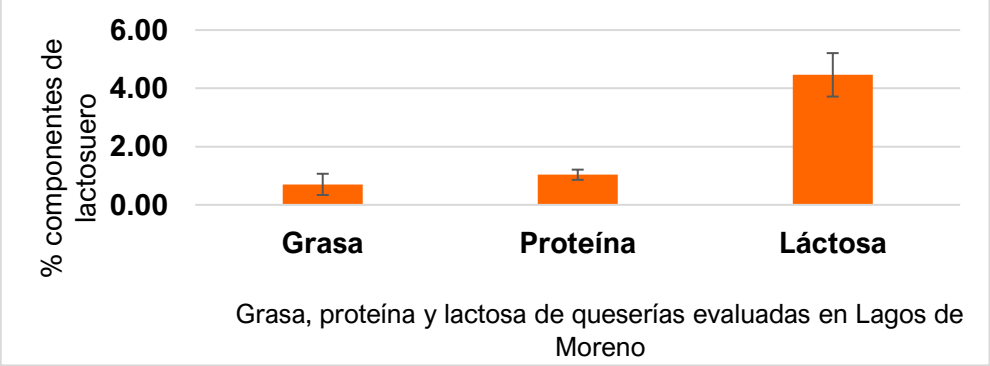
Grasa

La concentración de grasa en el lactosuero presentó una variación entre 0.3% y 1.0%, con valores atípicos observados en las muestras de las queserías "D" (1.91%) y "O" (0.15%). El ANOVA mostró diferencias estadísticamente significativas entre las queserías ($p < 0.05$), lo cual fue confirmado por la prueba de Tukey. El promedio general de grasa fue de 0.70%, ligeramente superior al reportado por otros estudios (~0.49%).

Sólidos totales

En cuanto al contenido de sólidos totales, los valores promedio se encontraron en un rango de 6% a 8%, destacando nuevamente la quesería "J" con un valor superior al 10%. El análisis estadístico confirmó variaciones significativas entre las queserías (ANOVA, $p < 0.05$), respaldadas por la prueba de Tukey. El promedio general fue de 7%, lo cual supera ligeramente el valor de referencia de 6.5% citado en estudios previos.

Cabe destacar que una mayor concentración de sólidos totales, relacionada directamente con una mayor carga orgánica, puede tener implicaciones ambientales relevantes. Entre ellas se incluyen el incremento en la producción de biomasa, la proliferación de algas, el consumo excesivo de oxígeno disuelto y la consecuente disminución de la biodiversidad acuática en cuerpos receptores.



Grafica 2. Promedio materia orgánica en lactosuero de Lagos de Moreno.

CONCLUSIONES

El estudio del lactosuero generado por queserías de Lagos de Moreno evidenció similitudes composicionales con las reportadas en otras regiones, pero también reveló diferencias estadísticas entre empresas en cuanto a sus contenidos de grasa, proteína y lactosa. Estas variaciones podrían indicar por un lado diferencias por la materia prima y por otro lado diferencias por los procesos de manufactura como usos secundarios del lactosuero en la producción de requesón y crema. En conjunto, estos hallazgos subrayan la urgencia de una gestión responsable del lactosuero y su valorización mediante tecnologías sostenibles, principalmente en las micro queserías locales.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. A. Parra Huertas, “Lactosuero: importancia en la industria de alimentos”, en Revista Facultad Nacional Agronomía., Vol. 62, 2009, pp. 4967-4982.
2. A.I. Rodríguez Basantes, et al “Elaboración de una bebida a base de suero lácteo y pulpa de Theobroma grandiflorum”, en Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial., Vol.18, 2, 2020, pp. 166-175.
3. Secretaría de economía, Dirección general de industrias básicas, marzo, 2012. Disponible en: https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf Accesado: 23/05/2024.
4. AIN Report USDA-FAS, 20 de mayo del 2024. https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Dairy%20and%20Products%20Semiannual_Mexico%20City_Mexico_MX2024-0026.pdf consultado el 06 de agosto del 2024
5. M. Galván, “Proceso básico de la leche y el queso”, Revista Digital Universitaria., Vol. 6, 9, 2005, pp. 2-17.
6. O. Sbodio, G. Revelli, “Coagulación de la leche. Desarrollo de un dispositivo para el “monitoreo” online del proceso Avances en la Argentina”, Revista de Investigaciones Agropecuarias., Vol. 38, 3, 2012, pp. 236-246.
7. G. V. Hernández, A. de la Cruz, M. Sánchez, R. Delgado, A. Borras, A. Valencia, “Aprovechamiento del suero lácteo para la elaboración de microcápsulas probióticas”, Revista Acta ciencia en salud., Vol. 20, 7, 2023, pp. 01-05.
8. D. Tirado, L. Gallo, D. Acevedo, J. Mouthon, “Biotratamientos de aguas residuales en la industria láctea”, Revista Producción + Limpia., Vol.11, 1, 2016, pp. 171-184.
9. M.C. Imécija, “Obtención de la lactoferrina bovina mediante ultrafiltración de lactosuero”, Tesis de Doctorado en Tecnología y Calidad de los Alimentos. Facultad de Química., Universidad de Granada, España, 2007.
10. SEMARNAT, Compendio de estadísticas ambientales, 2002. Disponible en: https://paot.org.mx/centro/inesemarnat/informe02/estadisticas_2000/informe_2000/04_Agua/4.6_Calidad/index.htm. Accesado: 23/05/2024.
11. Comisión Nacional del Agua, Gerencia de Calidad del Agua, junio, 2020. Disponible en: https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/compendio_2020/dgeiawf.semarnat.gob.mx_8080/approot/dgeia_mce/html/RECUADROS_INT_GLOS/D3_AGUA/D3_AGUA04/D3_R_AGUA05_01.htm. Accesado: 13/mayo/2024.
12. G. M. Valverde, J. C. Torres, W. Harrinson, “Variación del pH en Aguas Superficiales Debido a Drenajes Ácidos de Roca en la Subcuenca Quillcay, Huaraz, Ancash”, Revista de Glaciares y Ecosistemas de Montaña., Vol. 5, 2018, pp. 57-68.
13. E. Y. Chavarría, M. L. Cusiche, J. M. Angeles, L. L. Huamani, W. Sáez, C. M. Basurto “Sólidos totales disueltos en agua superficial para consumo humano en San Juan de Pillo, Perú”, ALFA. Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias., Vol. 8, 24, 2024, pp. 870 – 881.
14. R, Fuentes, “Caracterización de la materia orgánica disuelta en agua subterránea del valle de Toluca mediante espectrofotometría de fluorescencia 3d”, Rev. Int. Contam. Ambie., Vol. 31, 3, 2015, pp. 253-264.

15. L, Velázquez, I, Ortiz, J, Chávez, G, Pámanes, A, Carrillo, M, Pereda, “Influencia de la contaminación del agua y el suelo en el desarrollo agrícola nacional e internacional”, Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas., Vol. 25, 2022, pp. 1-13.
16. D, Revelo, N, Hurtado, J, Ruiz, “Celdas de combustible microbianas (CCMS): un reto para la remoción de materia orgánica y la generación de energía eléctrica”, Revista Información Tecnológica., Vol. 24, 6, 2013, pp. 17-28.

TEXTURA Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD Y POROSIDAD EN UN SUELO DEGRADADO

María Guadalupe Acosta Bárcenas, María Alcalá De Jesús, Mariela Casillas Corona, Juan Carlos González Cortés

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
1609753e@umich.mx

RESUMEN

La degradación en los suelos ha ido en aumento en los últimos años, entre las principales causas se encuentra el cambio de uso del suelo, lo que afecta a sus propiedades físicas, químicas y biológicas, siendo estas, indicadoras de su degradación. Entre las propiedades físicas, la textura, definida como la proporción de partículas de arena, limo y arcilla, es de gran importancia debido a que afecta a otras propiedades como la estructura, consistencia, permeabilidad, aireación, densidad y porosidad. La porosidad es afectada directamente por el tamaño de las partículas, un menor tamaño de estas disminuye el tamaño de los poros. La porosidad del suelo se relaciona con la densidad real y la densidad aparente. En la localidad El Escobal municipio de Morelia, Michoacán, se encuentra un área con evidente degradación que impacta en la cubierta vegetal del suelo afectando sus funciones como la retención de nutrientes que a su vez disminuye la fertilidad. El objetivo de este trabajo fue determinar la relación entre la textura, densidad y porosidad en un suelo degradado en el sitio antes mencionado. Se colectaron muestras de suelo por transectos y se trasladaron al laboratorio; la determinación de propiedades físicas se realizó de acuerdo con los métodos establecidos en la norma oficial de suelos. La clase textural se obtuvo mediante la clasificación del triángulo textural de la USDA. Los resultados obtenidos muestran texturas arcillosas con porcentajes de arena que varían de 11.48% a 45.12%, limo entre 7% a 25% y arcilla de 43.88% a 71.88%. Los valores de densidad aparente oscilaron entre 0.53 a 1.63 g cm^{-3}, la densidad real varió de 2.20 a 2.47 g cm^{-3}, el promedio de la porosidad fue de clase alta con 56.87% y sus rangos fueron de 33.17% a 77.20%. Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre la densidad aparente y la porosidad; se obtuvo como resultado una correlación inversa significativa ($p<0.05$), también se realizó un modelo de regresión lineal simple que mostró una relación inversa con un valor de $p<0.05$ y un R^2=-0.99, lo que indica que, a mayor densidad aparente, menor porcentaje de porosidad en el suelo y viceversa. La textura del suelo influye directamente en la densidad y porosidad, en la zona de estudio predominan las texturas arcillosas debido a las partículas finas, lo que favorece la compactación del suelo y por lo tanto una mayor densidad, poros más pequeños, pero en mayor porcentaje. Los suelos fueron de clase textural arcillosa; la densidad aparente aumentó y la porosidad disminuyó. El modelo de regresión lineal y el análisis de correlación fueron estadísticamente significativos. Se corroboró que la textura tiene gran influencia en la densidad y porosidad del suelo.

INTRODUCCIÓN

La FAO define a la degradación como un cambio en la salud del suelo, provocando una disminución en la capacidad del ecosistema para producir bienes o servicios. La textura está relacionada con el cambio climático, condiciones geomorfológicas y con las características del suelo, pero principalmente con la deforestación y el cambio de uso de suelo (Ramírez *et al.,* 2011). La degradación provoca cambios en las propiedades del suelo, reduciendo su habilidad para llevar a cabo sus funciones, por lo que afecta su calidad (Lal, 1998a).

La textura es una propiedad física definida como la proporción de arena, limo y arcilla del suelo. La textura influye en otras propiedades físicas y químicas (Ortiz, 2010). La estructura, consistencia, permeabilidad, retención de agua, aireación, densidad y porosidad del suelo están condicionadas por la textura. La densidad real involucra a la fase sólida y la densidad aparente incluye tanto a la fase sólida como a la fase gaseosa del suelo; la porosidad influye en la regulación de la aireación y en la dinámica del agua en el suelo (Jordán, 2005). En la localidad El Escobal del municipio de

Morelia, Mich, la textura del suelo es arcillosa, pero se desconoce la relación que esta tiene con otras propiedades físicas. El objetivo fue determinar la relación entre la textura con la densidad y porosidad de un suelo degradado en la localidad El Escobal.

PARTE EXPERIMENTAL

La investigación se realizó en el Ejido El Escobal, municipio de Morelia, Michoacán; localizado al sureste de la presa de Cointzio y al sur de la parte alta de la cuenca del Lago de Cuitzeo; entre las coordenadas 19° 33' 58'' N, 101° 15' 00'' W altitud de 2144 m (Figura 1)

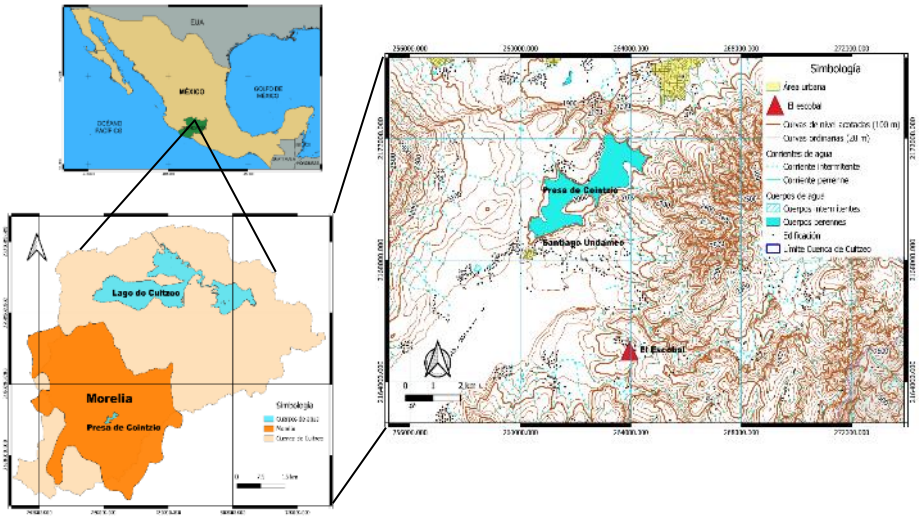


Figura 1. Localización del área de estudio.

El clima de acuerdo con el sistema de clasificación climática de Köppen modificado por García es templado subhúmedo C (w) (w_1) (i') g (García 1981), con régimen de lluvias de verano, temperatura media anual de 17.6 °C con variación de 14.2 a 20.7 °C y precipitación media anual de 790.1 mm con oscilación de 7.4 a 176.2 mm.

El suelo es Acrisol ortico (Ao/3), con clase textural fina en los primeros 30 cm superficiales (INEGI, 1979). El tipo de roca es ígnea extrusiva ácida (Igea) (INEGI, 1978). Se reporta la presencia de Bosque de pino-encino (INEGI, 2019).

Colecta y preparación de las muestras

Se obtuvieron muestras de suelo de 0 a 30 cm de profundidad de 44 sitios ubicados por transectos; las muestras se trasladaron al laboratorio en donde se secaron y se tamizaron con un tamiz de 2 mm de diámetro para obtener la fracción de tierra fina con la que se obtuvieron las propiedades físicas de interés.

Análisis de las propiedades físicas

La textura se determinó con el método de Bouyoucos; densidad aparente mediante el método de la parafina; densidad real con el método del picnómetro sustituido por un matraz aforado, todos indicados en el manual de procedimientos de la SEMARNAT (2001) y la porosidad se obtuvo mediante la relación de la densidad aparente y la densidad real (Muños *et al.,* 2013).

Análisis estadísticos

Se realizó una correlación de Pearson y un modelo de regresión lineal simple entre la densidad aparente y la porosidad del suelo utilizando el ambiente de programación del software R versión 4.3.1.

RESULTADOS

La clase textural arcillosa se presentó en la mayoría de las muestras del suelo (Figura 2) y únicamente dos muestras fueron de clase arcillo-arenosa.

El promedio de la densidad aparente fue de clase media (1.03 g cm^{-3}) con rangos de 0.53 a 1.63 g cm^{-3} variando de clase muy baja a muy alta; el promedio de la densidad real fue de clase baja de 2.38 g cm^{-3} con rangos de 2.20 a 2.47 g cm^{-3}; la porosidad en promedio fue de clase alta (56.87%) con rangos de 33.17% a 77.20%, clase baja a muy alta, respectivamente

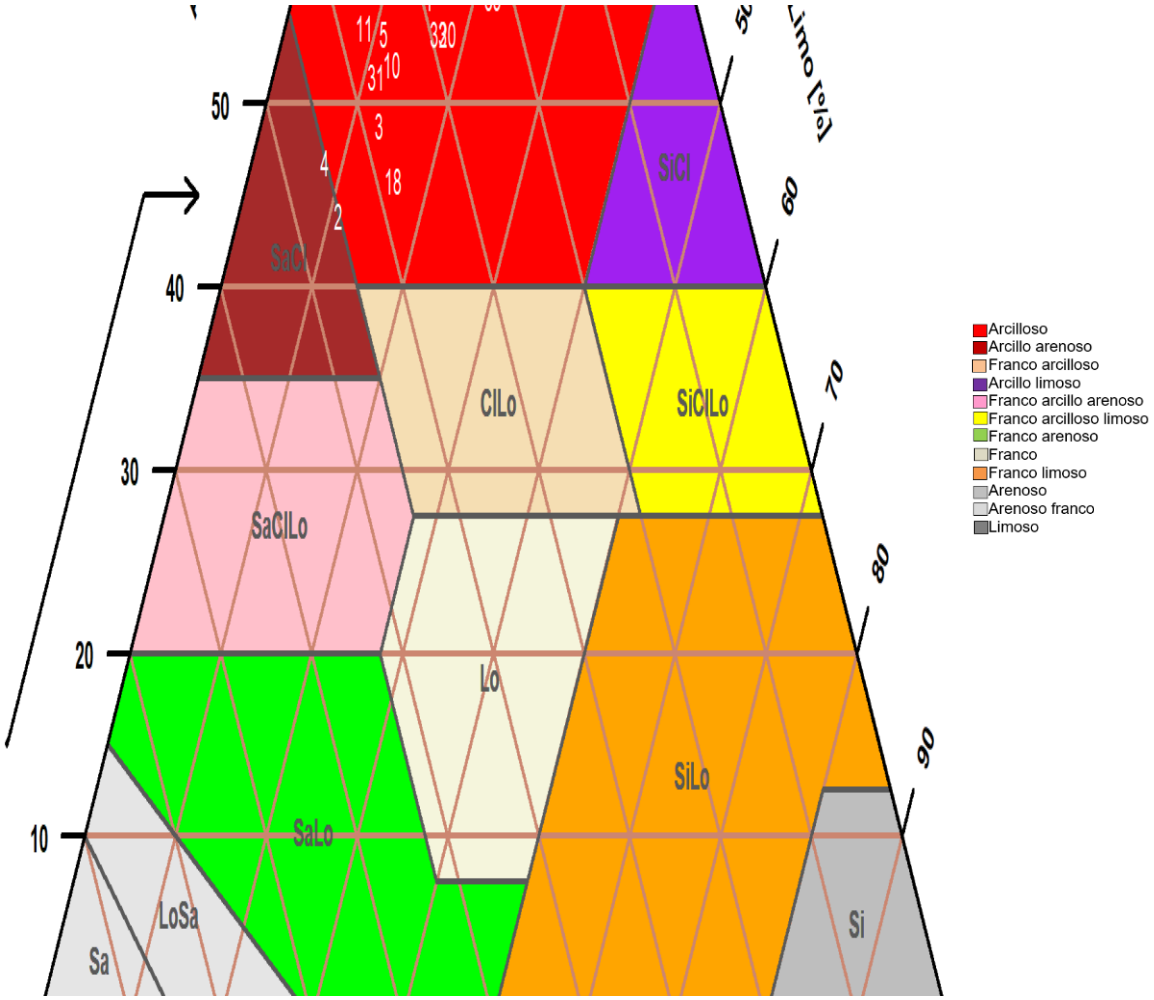


Figura 2. Triángulo y clase de textura del suelo (USDA). En el área roja de la figura, los números representan las muestras del suelo.

Algunas muestras analizadas, a pesar ser de clase textural arcillosa, presentaron valores de densidad aparente de clase muy baja, lo cual podría deberse a la degradación actual del suelo. Los suelos de clase textural arcillosa, favorecen su compactación, aumentan los valores de densidad aparente y disminuyen la porosidad del suelo.

El análisis de Correlación de Pearson entre la densidad aparente y la porosidad del suelo, presentó un coeficiente de correlación de -0.99 y un valor de p menor a 0.05 (Cuadro 1), esto representa una

correlación inversa altamente significativa, es decir, a valores más bajos de densidad aparente se presentan mayores porcentajes de porosidad y viceversa.

Cuadro 1. Resultados de la Correlación de Pearson

Variables correlacionadas	Grados de libertad	Coeficiente de correlación	Valor de p
Densidad aparente y porosidad	44	-0.99	$p < 2.2e^{-16}$

El modelo de regresión lineal simple fue altamente significativo con valores de p menor a 0.05 y un R^2 ajustado de 0.99; la ecuación del modelo fue *y = -39.51x + 97.50*; al aumentar la densidad aparente disminuye la porosidad (Cuadro 2 y Figura 3).

Cuadro 2. Resultados del modelo de regresión lineal simple.

	Estimación	Error estándar	Valor de p
Intercepto	97.50	0.6001	$<2e^{-16}$ ***
Pendiente	-39.51	0.5628	$<2e^{-16}$ ***

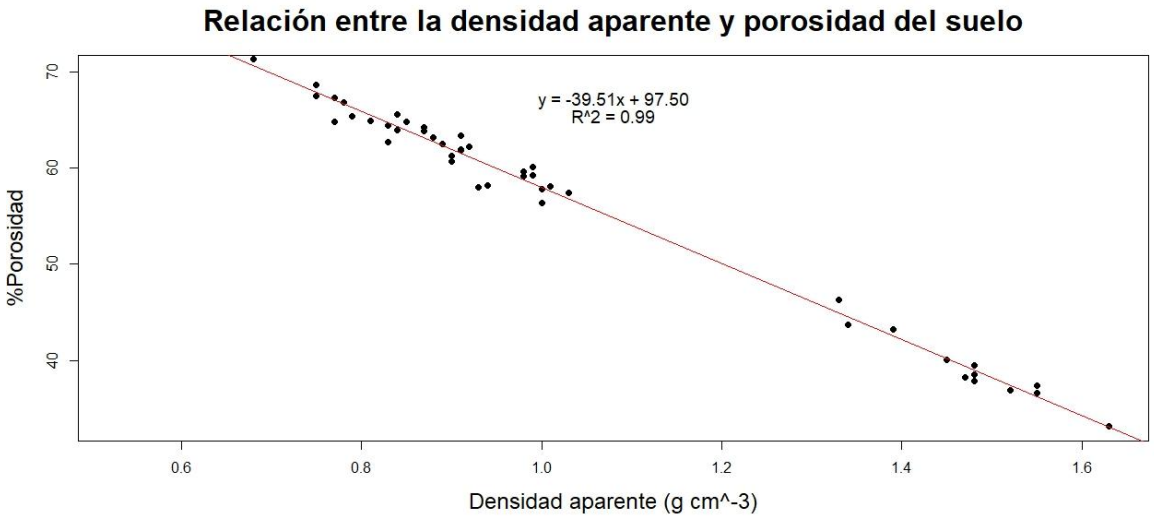


Figura 3. Modelo de regresión lineal simple entre la densidad aparente y la porosidad del suelo.

CONCLUSIONES

-Los suelos fueron de clase textural arcillosa; la densidad aparente aumentó y la porosidad disminuyó.

-El modelo de regresión lineal y el análisis de correlación fueron estadísticamente significativos, lo que corroboró el incremento de la densidad aparente y disminución del porcentaje de porosidad.
-Se corroboró que la textura tiene gran influencia en la densidad y porosidad del suelo.

BIBLIOGRAFÍA

1. García, E. (1981). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía. Universidad Autónoma de México.
2. INEGI (1978). Carta geológica Morelia, E14A23, escala 1:50 000.
3. INEGI (1979). Carta edafológica Morelia, E14A23, escala 1:50 000.
4. INEGI (2019). Carta de uso de suelo y vegetación serie IV Morelia, E-14, escala 1:250 000.
5. Jordán, A. (2005). Manual de edafología. Universidad de Sevilla. Departamento de cristalografía, mineralogía y química agrícola. pp. 55-93.
6. Lal, R. (1998a). Agronomic impact of soil degradation. pp. 459-473. *In*: R. Lal *et al.* (eds.) Methods for Assessment of soil Degradation. Advances in Soil Science. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
7. Muñoz I., D. J., A. Soler A., López, F., Hernández, M. M. (2013). Edafología. Manual de métodos de análisis de suelos. FES Iztacala. Facultad de estudios superiores. U. N. A. M.
8. Ortiz, C. A. (2010). Edafología. Universidad Autónoma de Chapingo, Departamento de suelos. 8ª ed. pp. 63.
9. Ramírez, M. E., Limas, E. A., Ortiz, P. R., & Díaz, A. R. (2011). Degradación de suelos por actividades antrópicas en el norte de Tamaulipas, México. https://doaj.org/article/a6703cfe4b134e2f98c6a42fcf06b1d9
10. SEMARNAT (2001). Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis (NOM-021-RECNAT-2000). Diario Oficial de la Nación. México, D.F.

EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA, CONSISTENCIA Y TEXTURA AL TACTO EN UN SUELO DEGRADADO

Norma Lizeth Rivera López, María Alcalá De Jesús, Mariela Casillas Corona

Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

[1]2110600e@umich.mx

RESUMEN

La degradación del suelo se origina por distintos mecanismos en los que se ven afectadas las propiedades físicas del suelo e incluso algunas funcionan como indicadoras de degradación. La estabilidad de los agregados por su relación con la infiltración, retención de agua y a la penetración de las raíces funciona como indicador de degradación. En la subcuenca de Cointzio la localidad de El Escobal se encuentra en estado de erosión al grado de cárcavas, este suelo, al estar expuesto a fenómenos físicos, químicos y climáticos es susceptible a cambiar algunas de las propiedades que caracterizan su estructura, consistencia y textura; por lo que el objetivo de este trabajo es caracterizar las propiedades físicas: estructura, consistencia y textura de la localidad antes mencionada. La colecta de las muestras se realizó mediante microperfiles de 30cm de profundidad donde cada muestra fue guardada y transportada al laboratorio. De las muestras secas se seleccionaron y se separaron agregados para sus correspondientes análisis de acuerdo a la norma oficial de suelos. Los resultados obtenidos muestran que de las 70 muestras en su mayoría son agregados gruesos (>2.0-5.0cm) y en menor proporción los muy gruesos (>5.0 cm), la forma de la estructura fue de bloques subangulares (99%) y granular (1%), con un grado de desarrollo de fuertemente desarrollados (96%) y débilmente desarrollados (1%); la clase textural con mayor porcentaje fue la arcillosa (33%) y en menor porcentaje migajón limo arcilloso (7%). La consistencia en húmedo es muy friable (46%) y en su mayoría adherente (51%) y plásticas (56%). Los resultados muestran que la textura condiciona a la estructura y a la consistencia y se puede observar en la adherencia y plasticidad debido a su alto contenido de arcillas. Las condiciones antes mencionadas tienen un efecto significativo en el comportamiento de las partículas que componen al suelo en condiciones de erosión, las texturas arcillosas al ser muy plásticas son susceptibles a un alto grado de compactación, lo que dificulta un adecuado crecimiento de las raíces además, de que al tratarse de partículas muy finas los poros que infiltran el agua son muy pequeños, por lo que aumenta la recepción de agua pero también reduce su velocidad de filtrado y provoca un mayor arrastre de las partículas superficiales del suelo, lo que lo hace más susceptible a la degradación.

INTRODUCCIÓN

La degradación del suelo a aumentado en los últimos años, lo cual ocasiona cambios en las propiedades edáficas y el deterioro en la calidad o salud del suelo; está degradación se puede cuantificar a partir de índices o propiedades indicadoras de los cambios en el suelo dentro de los primeros 20 cm (Sánchez *et al*., 1997). De acuerdo con García *et al*., (2012) las propiedades físicas que proponen como indicadores son la estructura, la densidad aparente, la estabilidad de los agregados, la infiltración, la profundidad del suelo superficial, etc. Estas características proporcionan información para la evaluación de la calidad de un suelo y condiciones en las que se encuentra al determinar la resistencia de un suelo a la deformación, la adherencia entre sus partículas, su capacidad de retención de agua y su estabilidad (Ortiz, C. 2010).

En el Ejido de Santa Rosalía al sureste de la cuenca de Cointzio en el municipio de Morelia se han observado procesos de degradación al grado de cárcavas que ha ido aumentando por la falta de cobertura vegetal, las actividades humanas y al arrastre del agua pluvial; por lo que se hace necesario evaluar las propiedades físicas de los suelos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las propiedades físicas: estructura, consistencia y textura de la localidad El Escobal.

PARTE EXPERIMENTAL

La zona de estudio pertenece a la localidad del Escobal dentro del Ejido de Santa al sureste de la subcuenca de Cointzio en Morelia, Mich. (Fig.1). El área se encuentra en la parte sur de la Altiplanicie Mexicana dentro de la provincia fisiográfica del Eje Neovolcánico Transversal (INEGI, 2002) y dentro de la subprovincia de Mil cumbres. Se encuentra en las coordenadas 19°33'36.6" norte y 101°14'47.8" oeste a una altitud de 2,163 metros sobre el nivel del mar. De acuerdo a la clasificación de Köppen modificada por García (1988) el clima registrado en el área es templado subhúmedo C (w) (w_1) (i') g con una precipitación media al año de 599mm, la temperatura anual varía entre los 12° a 18°C (Cram *et al*., 2010). La geología pertenece a derrames basálticos y andesíticos originados de lavas, brechas y tobas de composición basáltica, basalto-andesita, andesita-basáltica y andesítica (CONAGUA, 2024). El tipo de vegetación es de tipo bosque templado con vegetación nativa de pinos, fresnos, encinos y líquenes. El suelo es Acrisol ortico, con clase textural fina en los primeros 30 cm superficiales (INEGI, 1979).

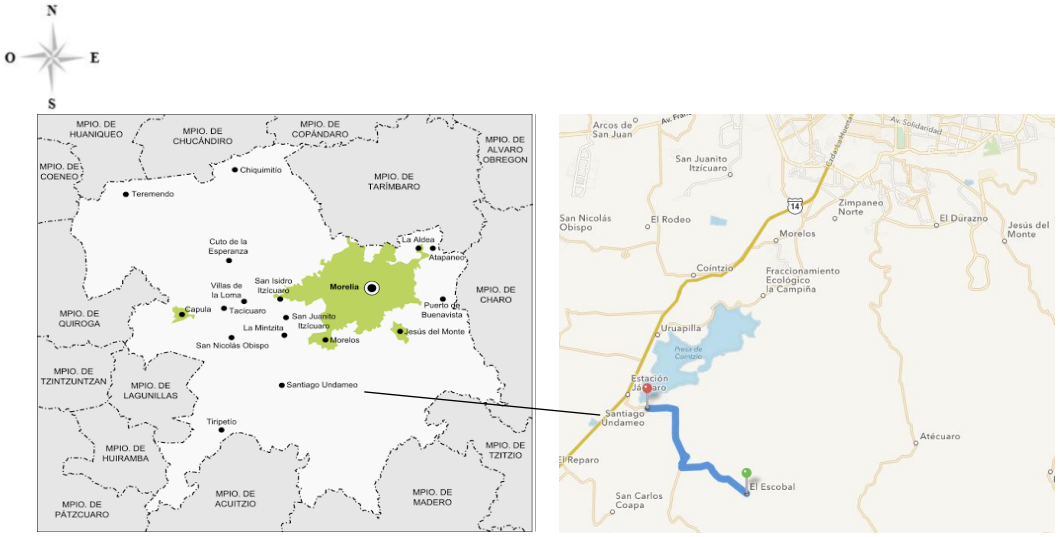


Figura 1. Área de estudio el Escobal Ejido Santa Rosalía, Mpio. de Morelia, Mich. Obtenidos de Google maps.

METODOLOGÍA

Para obtener las muestras de suelo se realizaron perfiles exploratorios de 30 cm de profundidad en 18 transectos previamente seleccionados. En total se obtuvieron 70 muestras de suelo (Figura 2 y Figura 3).

Las muestras se etiquetaron y trasladaron al laboratorio donde se secaron, trituraron y tamizaron por un tamiz con diámetro de 2.0mm.



Figura 2. Microperfil de 30cm



Figura 3. Secado de muestras

Los análisis físicos se realizaron de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial de Suelos (SEMARNAT, 2002) y se clasificaron de acuerdo al manual de edafología (Ortiz, 2010).
Los resultados fueron analizados en el programa excel

RESULTADOS

Los resultados se muestran que la estructura: la mayoría de las muestras presentaron estructura de bloques subangulares a excepción de una de forma granular. El tamaño de agregados con mayor número de muestras fue grueso (53 muestras), finas (9 muestras), medio (7 muestras) una muestra de tamaño muy grueso. El grado de desarrollo fue de tres clases de mayor a menor fuertemente desarrollado, seguido de un desarrollo moderado con 2 muestras y débilmente desarrollado con 1 muestra) (Fig.4).

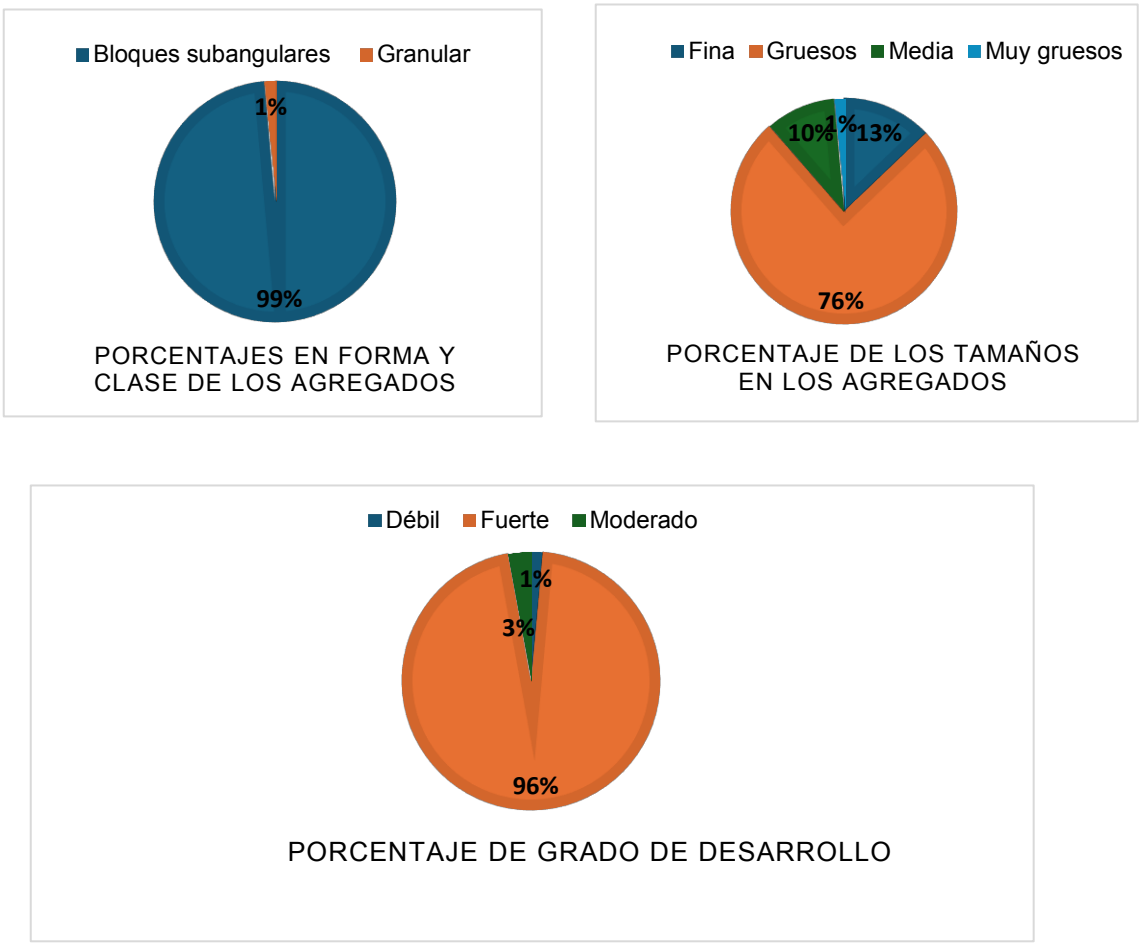


Figura 4. Estructura de muestras de los suelos del Escobal

Al observarse que la gran mayoría de los agregados presentaron un grado de desarrollo muy fuerte, esto nos puede indicar que la vegetación que crecer sobre su superficie, presenta complicaciones en sus raíces, debido a la poca facilidad de rompimiento de los agregados que conforman al suelo.

Consistencia: En condición húmeda se obtuvo que 32 de las muestras presentaban una consistencia muy friable, seguido de 18 muestras muy firmes, 9 firmes, 8 friables y 3 extremadamente firme. Para suelo mojado la clase con mayor número fue de muy adherente con 36 muestras, adherentes con 20 muestras y ligeramente adherentes con 14 muestras. Mientras que, en los resultados de plasticidad, la clase más común fue plástica con 39 muestras, seguida de muy plástico con 27 muestras y ligeramente plástico con 4 muestras. Así mismo se muestran las diferencias porcentajes de cada clase de adherencia (Fig. 5).

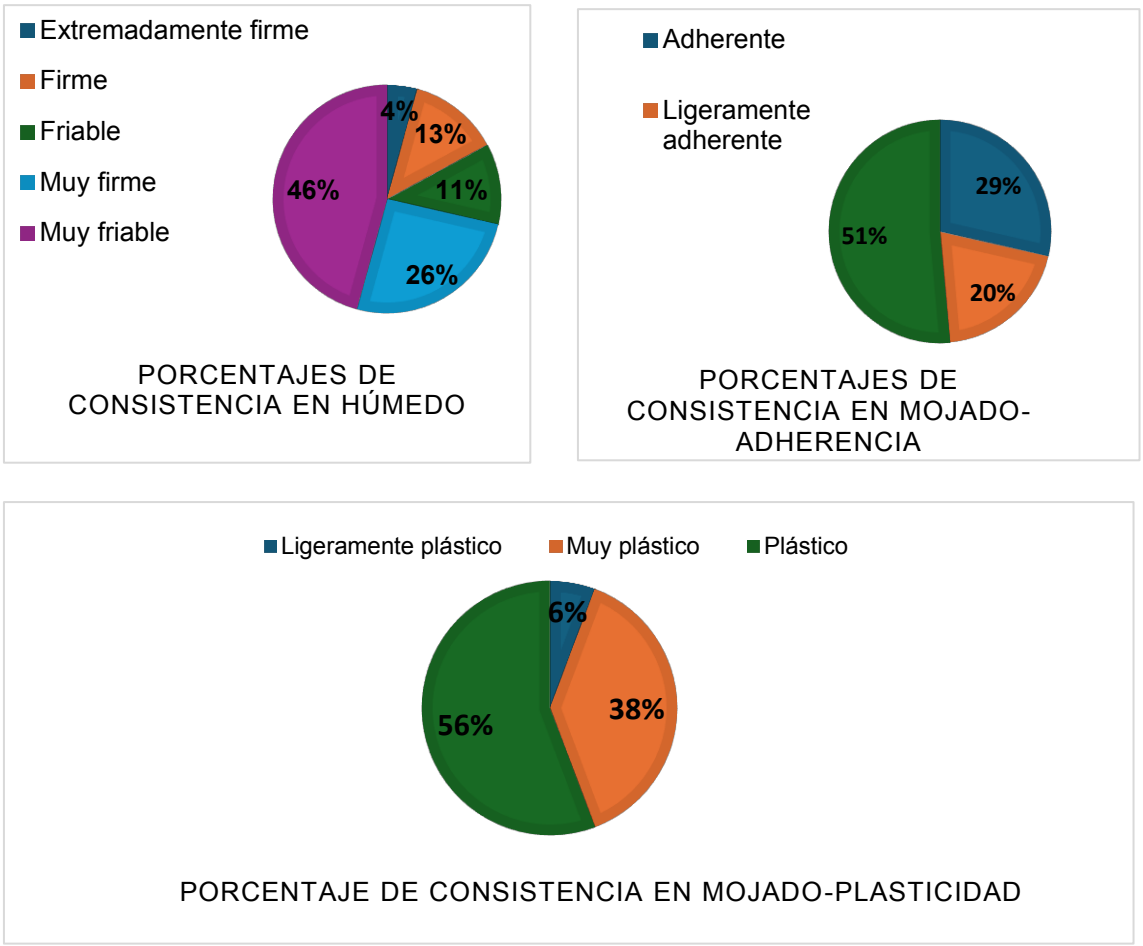


Figura 5. Consistencia de las muestras de suelos del Escobal

Textura al tacto : se determinaron cinco clases texturales, arcillosa con 23 muestras, arcillo limosa 18 muestras, migajón arcilloso 15 muestras, franco arcilloso 9 muestras y finalmente la clase con menor número de la de migajón limo arcilloso con 5 muestras. (Figura.6).

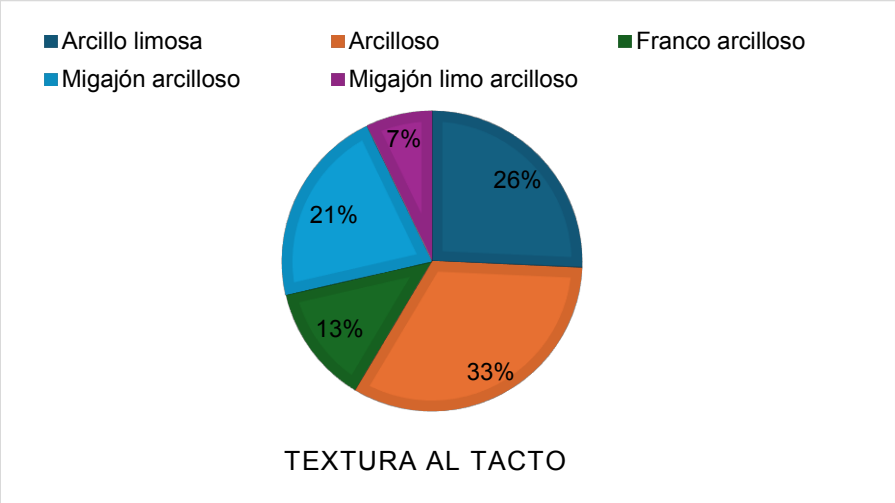


Figura 6. Porcentajes de clases texturales de los suelos del Escobal

La alta plasticidad y adherencia en los suelos se relaciona con el alto contenido de arcillas, esto coincide con lo reportado por Jordan, (2005) y Alcalá *et al*. (2007). Estas propiedades se convierten en un factor importante para la susceptibilidad del suelo a la erosión hídrica debido a que por su alto contenido de arcillas el agua tiende a escurrir antes de infiltrarse y el arrastre del agua se lleva las partículas de los suelos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que la textura es una característica física que condiciona a la estructura y la consistencia del suelo, las clases texturales son arcillosas. Como se observó en los resultados de consistencia y plasticidad, la mayoría de las muestras presenta una consistencia muy firme, muy adherente y plástica a muy plástica, estas características muestran la susceptibilidad del suelo a la erosión por el alto grado de compactación, dificulta el crecimiento de las raíces y disminuye la infiltración y provoca un mayor arrastre de las partículas superficiales del suelo, lo que lo hace más susceptible a la degradación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalá de Jesús M., Prat Christian, Ramos Ramírez, A., Hidalgo C., Cabrera González A., Garduño Monroy V.H. Caracterización edafológica al sureste de la cuenca de Cointzio Michoacán. Congreso latinoamericano de la ciencia del suelo. León: SLCS, 2007, 4 p. Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, 17., León (MEX), 2007/09/17-21.

2. Brunel, N. y Seguel, O. (2011) Efectos de la erosión en las propiedades del suelo. Agro Sur Vol. 39 (1) 1-12 2011.

3. Cram, S., Galicia, L. & Israde, I. 2010. Atlas de la Cuenca del Lago de Cuitzeo: Análisis de su Geografía y Entorno Socioambiental. Universidad Nacional Autónoma de México. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

4. DOF (Diario Oficial de la Federación). 2002. Norma Oficial Mexicana de suelos NOM021-RECNAT-2000con fines de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos,

muestreo y análisis de suelos.

5. García, Y., Ramírez, W. & Sánchez, S. Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. Pastos y Forrajes, Vol.35, No. 2, abril-junio. 125-138,2012. XVIII Congreso Científico Internacional del INCA.

6. Jordán, A. Manual de edafología. (Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola de la Universidad de Sevilla, 2006)

7. S/N. (2008). Erosión hídrica del suelo: factores. PDF. Universidad de Granada. http://www.edafologia.net/erosion/tema3_factores/3_factores2008.pdf.

8. Ortiz, C. "Arquitectura del suelo". Edafología. (Universidad Autónoma de Chapingo, México, 2010) 8ª edición, Capítulo 4, pp. 63-90.

9. Sánchez, J., R. Boluda, C. Morell, J. C. Colomer, A. Artiago, and J. I. Tébar. 1997. Assessment of soil degradation in desertification threatened areas: A case study in Castilla-La Mancha (Spain). In: F. M. de Santa Olalla M. (ed.). EFEDA-II Subgrup II: vegetation, soil physics, inventory and impacts. Final report: Desertification processes in the mediterranean area and their interlinks with the global climate. Toledo, Spain.

ANÁLISIS DE LA SINERGIA ENTRE CIPROFLOXACINO Y UN EXTRACTO DE C*innamomum Verum* EN LA INHIBICIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS

Erendira Yatlenezy Villalobos Cervantes[1], Rubén Octavio Méndez Márquez[1], Rosalinda Gutiérrez Hernández[2], Blanca Patricia Lazalde Ramos[1]

[1]Programa Académico de Químico Farmacéutico Biólogo, Unidad Académica de Ciencias Químicas, [2]Programa Académico de Nutrición, Unidad Académica de Enfermería. Universidad Autónoma de Zacatecas, Campus UAZ S. XXI, Carretera Zacatecas-Guadalajara, Km 6. s/n. Ejido La Escondida.
20202386@uaz.edu.mx

RESUMEN

La resistencia y multirresitencia microbiana es un problema creciente de salud pública, diversos investigadores se han dado a la tarea de desarrollar nuevos fármacos, sin embargo, es un proceso tardado y complicado, es por esta razón que también se está en búsqueda de estrategias que puedan erradicar este problema; la posible sinergia entre extractos de origen natural con propiedades antimicrobianas y antibióticos como el ciprofloxacino puede ser una solución.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un problema de interés mundial que amenaza la salud desde años atrás: la resistencia microbiana. “La resistencia a los antimicrobianos es la capacidad de un microorganismo de resistir la acción de diferentes antimicrobianos” (Parmanik et al., 2022). Es por esta razón que se está en busca del desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos o en su defecto, estrategias para disminuir dicha resistencia a fármacos ya existentes y en uso.

Si bien, los antibióticos llegaron para realizar una revolución en la medicina salvando millones de vidas y disminuyendo la tasa de mortalidad debido a infecciones, el uso desmedido e inadecuado de los mismo está provocando su ineficacia, generando un problema de salud mundial. Los microorganismos bacterianos crean resistencia farmacéutica y esto se ve reflejado en los fallidos tratamientos contra infecciones bacterianas; esto es un problema crítico, porque cada vez es más difícil tratar enfermedades mortales, por lo que ha llevado a los investigadores de la salud a intentar desarrollar antibióticos más potentes y eficaces o encontrar alguna alternativa que pueda ayudar a erradicar el problema.

Una de las estrategias propuestas es la combinación de antibióticos con extractos de origen vegetal. Se sabe que los extractos vegetales se han utilizado durante la historia de la humanidad para aliviar distintos tipos de patologías humanas.

TEORÍA

La canela se ha utilizado a lo largo de los años para la preparación de alimentos, sin embargo, su uso no se limita solo a eso, debido a sus propiedades también es utilizada en incienso, perfumes y productos farmacéuticos (Ribeiro-Santos et al., 2017).

Se han identificado alrededor de 250 especies de canela, de las cuales solo cuatro son utilizadas para la obtención de la canela para el consumo humano, entre ellas encontramos la Canela verdadera, canela de Ceilán o canela mexicana (*Cinnamomum zeylanicum Blume* o *Cinnamomum verum* J. Presl) (Ribeiro-Santos et al., 2017). La altura del árbol de canela puede variar entre 10 y 15 m, sin embargo, generalmente se cultiva como arbusto sin superar la altura de 3 m. Las hojas son de color verde oscuro, tienen forma ovalada-oblonga y miden entre 7 y 18 cm de largo, por su parte las flores son pequeñas de color blanco amarillento, dispuestas en panículas, con un olor distinto. El fruto es púrpura, una baya de 1 cm de largo que contiene únicamente una semilla (**Figura 6**) (Ribeiro-Santos et al., 2017).



Figura 6. Morfología de la canela (Ribeiro-Santos et al., 2017).

La canela (*Cinnamomum verum*) ha demostrado tener propiedades antimicrobianas. “Esta fuerte actividad antimicrobiana se basa en la presencia de cinamaldehído (**¡Error! No se encuentra el o rigen de la referencia.**) y eugenol (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) en el aceite esencial de canela” (Parham et al., 2020). Debido a su naturaleza hidrofóbica el extracto de *Cinnamomum verum* induce el aumento de la permeabilidad de la membrana bacteriana lo que lleva a la expulsión de los orgánulos importantes de la célula y por ende la muerte bacteriana. Esto convierte al extracto de *Cinnamomum verum* un foco de investigación para poner a prueba su grado de inhibición sobre diferentes bacterias patológicas.

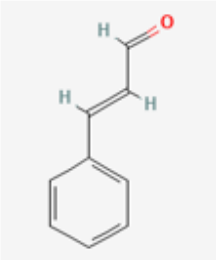


Figura 2. Estructura química del cinamaldehído (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2025).

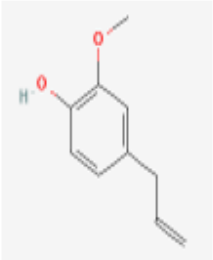


Figura 3. Estructura química del eugenol (National Center for Biotechnology Information, 2025).

Al hablar de fármacos, el ciprofloxacino es un antibiótico perteneciente a la familia de las quinolonas, este fármaco se encarga de la inhibición de la ADN girasa y la topoisomerasa, cuya función es necesaria para separar el ADN que se ha replicado; al inhibir a la topoisomerasa impide que se lleve a cabo la transcripción y replicación bacteriana (AlAhadeb, 2021). El ciprofloxacino es un antibiótico bactericida de amplio espectro, es utilizado como tratamiento de una gran variedad de infecciones, las cuales pueden ser del tracto gastrointestinal, del tracto genitourinario y del tracto respiratorio.

Se han encontrado dos mecanismos posibles que están relacionados a la resistencia a quinolonas, puede ser por genes ubicados en plásmidos o también puede ser por mutaciones, ya sea cromosómica en genes que codifican los objetivos proteicos o mutaciones que ocasionan una menor acumulación del fármaco, esto puede ser por una menor captación o por un mayor eflujo (Fàbrega et al., 2009).

En cuanto a las bacterias, las diversas mutaciones en el genoma bacteriano pueden lograr que se desarrollen los mecanismos generales de resistencia adquirida a los antimicrobianos. Dichas mutaciones pueden tener origen cromosómico y extra cromosómico. Las mutaciones cromosómicas pueden ser por: 1) por la adición de una base extra que no existía en la célula madre; 2) la deleción (omisión) de una base que sí estaba presente en la célula madre; 3) por la transición de una purina por otra purina o la transversión de una purina por una pirimidina (o viceversa); 4) inversión de la secuencia en una o más bases; 5) al fracturarse un pequeño fragmento e insertarse otro diferente

(Romero Cabello, 2018). Las mutaciones extra cromosómicas pueden deberse por: 1) conjugación, al crearse un vínculo de la bacteria donadora a la bacteria receptora para compartir información génica por medio de plásmidos (contacto directo); 2) transformación, la bacteria receptora genera canales o poros y toma fragmentos de ADN de la lisis de otras bacterias para insertarlos en su genoma; 3) transducción, mediada por bacteriófagos que llevan información génica de una bacteria a otra (Romero Cabello, 2018).

Generalmente las bacterias tienen cuatro mecanismos generales de resistencia a los antimicrobianos: 1) inactivación del fármaco por enzimas; 2) reducción de la permeabilidad de la membrana celular, lo que ocasiona una menor penetración del fármaco dentro de la bacteria; 3) alteración estructural del blanco farmacológico u objetivo; 4) sobreexpresión de bombas de eflujo que expulsan el fármaco de la bacteria (Figura) (Parmanik et al., 2022).

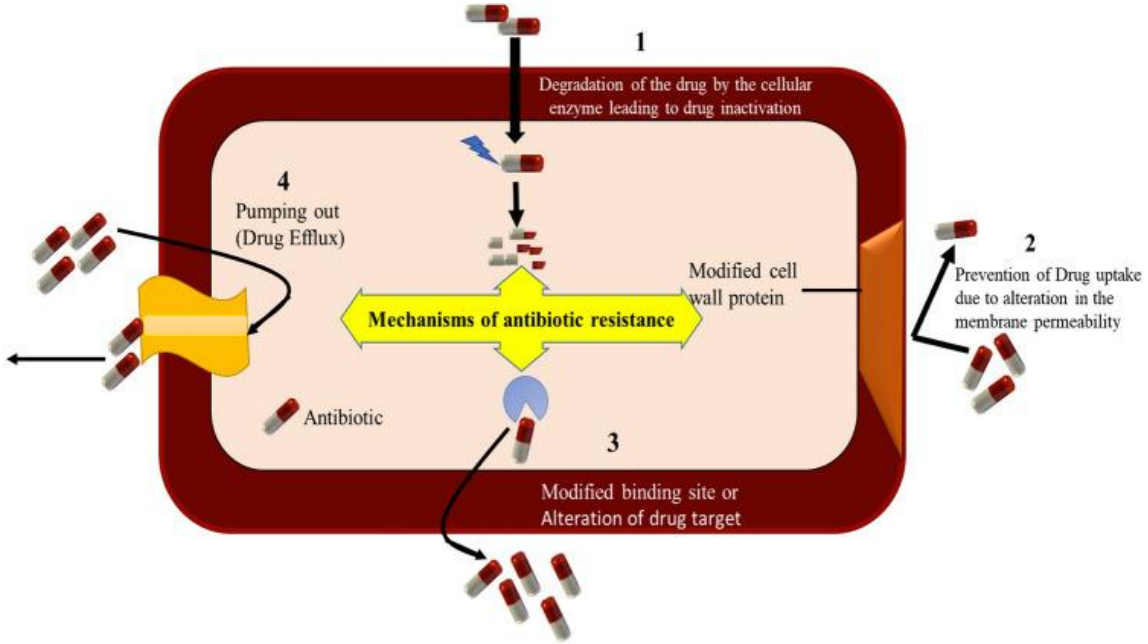


Figura 4. Mecanismos generales de resistencia bacteriana (Parmanik et al., 2022).

Las bacterias *Sthaphylococcus* son cocos grampositivos dispuestos en racimos, la especie de mayor importancia médica es *Sthaphylococcus aureus* ya que produce coagulasa lo cual promueve, como su nombre lo indica, la formación de coágulos que puede afectar diferentes tipos de órganos y tejidos hasta causar incluso la muerte, además libera toxinas que producen cuadros clínicos manifestados de diferentes formas; *Sthaphylococcus aureus* tiene la capacidad de crear resistencia a diferentes antimicrobianos, lo que la hace aún más peligrosa para la salud humana (Romero Cabello, 2018).

Otra bacteria perteneciente al grupo de grampositivos y de interés médico es *Enterococcus faecalis,* estos cocos se caracterizan por su capacidad de evitar el sistema inmunológico, la capacidad de unirse a células huésped a EM (matriz extracelular) y objetos inertes (dispositivos médicos), también poseen la capacidad de crear biopelículas, lo cual provoca la resistencia a antimicrobianos y a la fagocitosis, por estas razones su supervivencia y presencia en entornos hospitalarios, generando así una fuente de infecciones (García-Solache y Rice, 2019).

La *Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo que normalmente se encuentra en la microbiota intestinal del humano, sin embargo, algunas cepas llegan a ser virulentas y causar cuadros clínicos como infección en vías urinarias, diarrea y sepsis, esta última es muy común dentro de los hospitales, llegando a afectar diferentes órganos y tejidos; ya sea que cause cualquiera de las

infecciones antes mencionadas, representa un peligro para la salud humana (Romero Cabello, 2018).

Por otro lado, la bacteria *Klebsiella pneumoniae* la cual pertenece al grupo de gramnegativos, ha ido en aumento, provocando infecciones en pacientes hospitalarios prolongando sus estancias, esta especie a menudo se ve relacionada en infecciones del tracto urinario, bacteriemia, neumonía y abscesos hepáticos, esto la convierte en interés clínico, en humanos. *K. pneumoniae* se localiza en el tracto gastrointestinal y en la nasofaringe, a su vez, las bacterias pueden ingresar a la circulación sanguínea y otros tejidos para luego causar infección (Wang et al., 2020).

PARTE EXPERIMENTAL

Etapa I

Caracterización de las bacterias. Con el fin de garantizar la autenticidad y pureza de las cepas bacterianas utilizadas, se realizaron pruebas bioquímicas de identificación y caracterización, a fin de confirmar su correspondencia con la especie y cepa registrada, para lo cual se hizo uso de la plataforma “ABIS online”; esta herramienta que funciona como un algoritmo de identificación permite determinar el porcentaje de coincidencia de la bacteria con la cepa registrada, lo que facilita la confirmación de su identidad metabólica.

Cada una de estas pruebas se realizaron por duplicado y se contó con un control negativo para cada una de ellas.

Después de obtener el porcentaje de concordancia de cada bacteria y aceptando como valor mínimo el 60%, se puede confirmar que la bacteria que se está utilizando es realmente la cepa registrada.

Cultivo de cepas registradas. Teniendo la certeza de que las bacterias corresponden a las cepas registradas, se realizan cultivos en agar nutritivo dispuesto en cajas Petri. Para las siguientes pruebas y cultivos de conservación se siembran las cepas previamente identificadas en tubos de agar Muller-Hinton.

Etapa II

Extracto *Cinnamomum verum* (recolección de la muestra). La muestra utilizada para realizar la obtención de un extracto natural es la especie de *Cinnamomum verum* o *Cinnamomum zeylanicum* (canela), esta fue adquirida a través de una compra en línea. Se seleccionó minuciosamente la tienda que contara con certificados oficiales para garantizar la tipificación de la especie de canela. Se sometió a revisión macroscópica para determinar que estuviera fresca, sin evidente contaminación por hongos, insectos o algún otro factor que pudiera intervenir en su calidad. Enseguida se realizó una búsqueda para obtener la mayor información sobre el cultivo de la canela.

Una vez realizada la recolección, la muestra de canela se mantuvo en condiciones adecuadas (temperatura y hermeticidad) para el transporte al laboratorio de Etnofarmacología en el Campus UAZ Siglo XXI ¨*Francisco García Salinas*¨ de la Universidad Autónoma de Zacatecas para su debido procesamiento.

Obtención del extracto de *Cinnamomum verum* por el método de Extracción por Reflujo. Para la obtención del extracto crudo a partir de corteza seca de *Cinnamomum verum*, se realiza el proceso de extracción por reflujo, utilizando como solvente: etanol al 96%, utilizando una proporción de 1:8 (un gramo de planta por cada 8 mL de solvente). *Molienda y triturado de la corteza*: Se tomó 1 kg de corteza de canela y se molió en trozos más pequeños para posteriormente triturar y obtener pequeñas partículas uniformes. Luego, se tamizaron a través de una criba metálica para tener seguridad de la uniformidad de las partículas. *Proceso de la extracción*: Se tomaron 100 gr de corteza triturada en un matraz de 1000 mL, luego se añadieron 800 mL de metanol. Se calienta de 65 - 70°C durante 6 horas acoplando el matraz en el sistema de reflujo con condensador previamente armado. Transcurrido este tiempo, la mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente, y

se filtra por gravedad utilizando papel filtro, el extracto metanólico se almacena en condiciones adecuadas hasta su concentración.

Concentración del extracto. El extracto fue concentrado mediante un evaporador rotatorio (Rotavapor®) a presión reducida. La temperatura del baño de agua se mantuvo constante y en condiciones adecuadas para el extracto, con el fin de evitar la degradación térmica de los compuestos bioactivos. El extracto concentrado fue almacenado en frascos herméticamente cerrados y conservados en condiciones adecuadas hasta su análisis fitoquímico y microbiológico.

Marcha fitoquímica. Para identificar de manera cualitativa los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto obtenido, se llevó a cabo una marcha fitoquímica preliminar. Esta serie de ensayos se realizó siguiendo protocolos clásicos descritos en la literatura especializada, con algunas adaptaciones de acuerdo con la naturaleza del extracto y disponibilidad de reactivos en el laboratorio. Todas las pruebas se realizan por duplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados. Las observaciones de color, precipitados o espuma se comparan con blancos (controles negativos sin extracto) para confirmar la especificidad de cada reacción.

Etapa III

Pruebas de inhibición. Efecto inhibidor de *Cinnamomum verum* contra las cepas patógenas estudiadas utilizando el método de difusión en discos. Efecto inhibidor del ciprofloxacino contra las cepas patógenas estudiadas utilizando el método de difusión en discos. Efectos sinérgicos del ciprofloxacino y extracto de *Cinnamomum verum* contra las cepas seleccionadas utilizando un diseño de mezcla de RSM (metodología de superficies de respuesta).

RESULTADOS

Etapa I

Caracterización de las bacterias. Antes de realizar las pruebas de inhibición bacteriana y evaluar la posible sinergia del extracto de *Cinnamomum verum* y el ciprofloxacino, se realizaron cultivos de cada una de las cepas obtenidas del cepario del laboratorio de microbiología (Figura 5), las cuales se sometieron a tinciones Gram para observar sus características microscópicas (Figura 6).

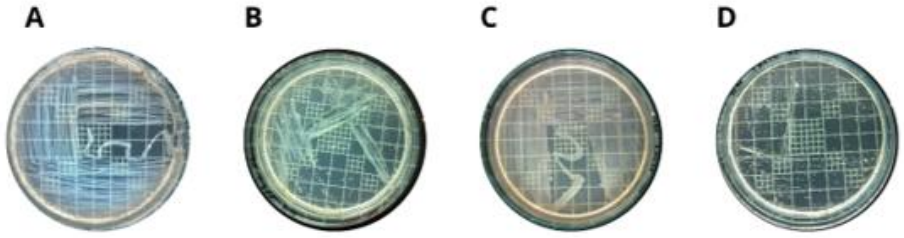


Figura 5. Cultivos de las cepas tomadas del laboratorio de microbiología. **A**. *Staphylococcus aureus*. **B**. *Klebsiella pneumoniae*. **C.** *Escherichia coli*. **D.** *Enterococcus faecalis* (Elaboración propia)

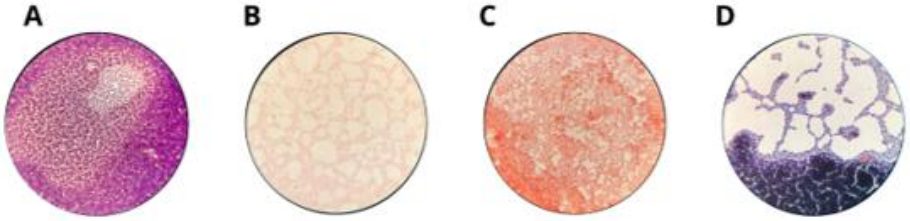


Figura 6. Tinción de Gram de cada una de las cepas. **A.** *Staphylococcus aureus*. **B.** *Klebsiella pneumoniae*. **C.** *Escherichia coli*. **D.** *Enterococcus faecalis* (Elaboración propia).

Así mismo, se procedió a la caracterización de las cepas utilizadas, con el fin de confirmar su identidad metabólica y pureza. Las pruebas se realizaron conforme a los protocolos convencionales para bacterias gram negativas y gram positivas, utilizando medios diferenciales.

Prueba	Gram +		Gram -	
	Staphylococcus aureus	*Enterococcus faecalis*	*Klebsiella pneumoniae*	*Escherichia coli*
Motilidad	-	Positivo	Negativo	Positivo
Pigmento	-	-	Negativo	Positivo
Catalasa	Positivo	-	Negativo	Positivo
Oxidasa	Negativo	-	Negativo	Positivo
Lisina descarboxilasa	-	-	Negativo	Positivo
Ornitina descarboxilasa	-	-	Negativo	Positivo
Nitratos	Negativo	-	Positivo	Positivo
Indol	-	-	Negativo	Positivo
H_2S	-	-	Negativo	Negativo
Citrato	-	-	Positivo	Negativo
Hidrolisis de gelatina	Negativo	-	Negativo	Negativo

Fenilalanina	-		Negativo	Negativo
Glucosa	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Lactosa	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Manitol	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Sacarosa	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Rojo de metilo	-	-	Negativo	Positivo
VP	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Ureasa	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
Diametro de colonia	Positivo	-	-	-
Colonias pigmentadas	Positivo	-	-	-
Crecimiento aerobico	Positivo	Positivo	-	-
Crecimiento anaerobico	Positivo	Positivo	-	-
15°C	Positivo	-	-	-
45°C	Positivo	Positivo	-	-
10°C	-	Positivo	-	-
Hemolisis	Positivo	-	-	-
Cloruro de sodio	Positivo	Positivo	-	-
Coagulasa	Positivo	-	-	-
Aglutinación	Positivo	-	-	-
Nucleasa termoestable	Positivo	-	-	-
Alfa-hemolisis	-	Negativo	-	-
CO_2 al 5%	-	Positivo	-	-
Beta-hemolisis	-	Negativo	-	-

Tabla 2. Resultados de las pruebas bioqímicas de cada una de las bacterias evaluadas (Elaboración propia).

Al obtener los resultados de las pruebas bioquímicas y vaciarlos en el algoritmo de identificación de la plataforma de ABIS online (Tabla 1), se pudo confirmar la identidad metabólica de cada una de las bacterias; los resultados obtenidos fueron: *E. coli* con una similitud de 93.8%, *E. faecalis* con una similitud de 80.2%, *S. aureus* con una similitud de 86.1% y *K. pneumoniae* con una similitud de 83.5% (Figura 7).

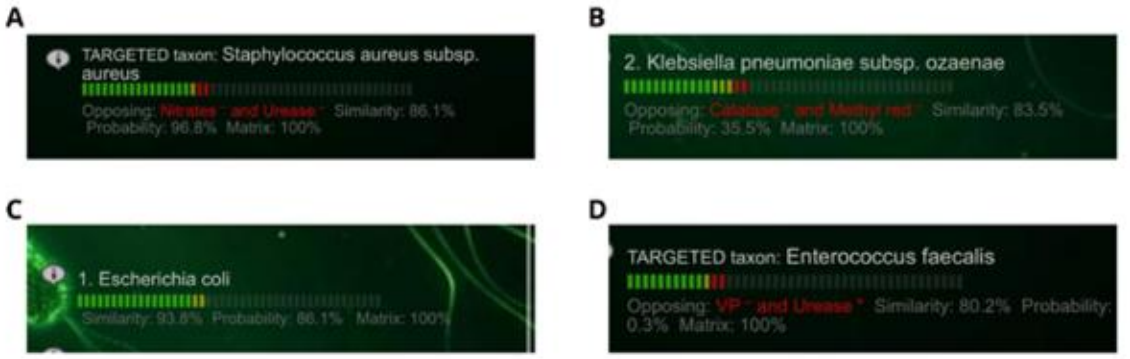


Figura 7. Resultados del algoritmo de identificación metabólica, obtenidos de la plataforma ABIS online. **A.** *Staphylococcus aureus*. **B.** *Klebsiella pneumoniae*. **C**. *Escherichia coli*. **D.** *Enterococcus faecalis* (Elaboración propia).

***faecalis* (Elaboración propia).**

Cultivo de cepas registradas. Concluida la identificación metabólica de las cepas, se realiza un cultivo para preservar las bacterias para las etapas posteriores, dicho cultivo se realiza en tubos con 5 ml de medio MHA y se refrigeran hasta su futuro uso.

Etapa II

Recolección de la muestra. La muestra utilizada en el presente estudio consistió en canela Ceylán (*Cinnamomum zeylanicum*) de grado C5 Extra Especial, adquirida a través de una plataforma de comercio electrónico, en la tienda en línea denominada Nueves Aries, la cual comercializa productos orgánicos.

Según la descripción del proveedor, la canela es proveniente de Sri Lanka, país históricamente conocido como Ceylán, reconocido como la principal región productora de esta variedad. La designación "C5 Extra Especial" corresponde a un sistema de clasificación específico para la canela Ceylán, en el cual esta categoría representa un nivel premium, caracterizado por una selección minuciosa, alta calidad, textura fina y aroma complejo.

Para la obtención del extracto, luego de retirar el plástico protector, se realizó una revisión exaustiva de la muestra, con el objetivo de asegurar que no esté contaminada y se encuentre en buenas condiciones, debido al tamaño largo de cada vara (50 cm) se trituró en pequeños trozos para llevar a la licuadora de la marca Oster y moler, de tal manera que se obtuvo un polvo fino, el cual fue tamizado para asegurar la uniformidad de las partículas (Figura 8).



Figura 8. Obtención del extracto. **A.** Compra de la muestra. **B.** Trituración de la canela **C.** Molienda en licuadora **D.** Tamizado de las partículas de canela (Elaboración propia).

Teniendo ya las partículas de canela, se vierten a un matraz Erlenmeyer de 1000 mL, donde, además, se añade 800 mL del solvente a usar (metanol o etanol), esto se lleva a un sistema de

reflujo previamente armado, donde permaneció durante 6 horas, luego utilizando un embudo con papel filtro, el extracto se filtra por gravedad (Figura 9).



Figura 9. Obtención del extracto. **A.** Muestra en matraz. **B.** Adición del solvente. **C.** Muestra en sistema de reflujo para obtención del extracto. **D.** Filtración del extracto (Elaboración propia).

PERSPECTIVAS

-Concentración y secado del extracto obtenido.

-Pruebas de marcha fitoquímica al extracto.

-Pruebas de inhibición al extracto y al antibiótico en conjunto y por separado.

CONCLUSIONES

El presente estudio demostró una sinergia significativa entre el ciprofloxacino y el extracto de *Cinnamomum verum* en la inhibición de bacterias patógenas, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*, evidenciada por la reducción de la concentración inhibitoria mínima en ensayos *in vitro*. Las pruebas bioquímicas confirmaron la identidad metabólica de las cepas bacterianas analizadas, mientras que la caracterización morfológica de *Cinnamomum verum* corroboró su autenticidad como fuente del extracto utilizado. Estos hallazgos destacan el potencial de combinar antimicrobianos sintéticos y naturales para enfrentar la resistencia bacteriana, un problema de salud pública global. Se recomienda profundizar en la evaluación de esta sinergia mediante ensayos a mayor escala y estudios moleculares para identificar los mecanismos subyacentes, con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas contra infecciones multirresistentes.

REFERENCIAS

1. AlAhadeb, J. I. (2021). New combination of drugs to combat *Escherichia coli* DSM1103. Journal of Infection and Public Health, 14(12), 1780–1781. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.029
2. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 637511, cinamaldehído. Recuperado el 5 de junio de 2025 de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cinnamaldehyde
3. García-Solache, M., & Rice, L. (2019). The Enterococcus: A model of adaptability to its environment. Clinical Microbiology Reviews, 32(2), Article e00058-18. https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18
4. National Center for Biotechnology Information (2025). PubChem Compound Summary for CID 3314, Eugenol. Retrieved June 5, 2025 from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eugenol

5. Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., & Berto, F. (2020). Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials. Antioxidants, 9(12), Article 1309. https://doi.org/10.3390/antiox9121309

6. Parmanik, A., Das, S., Kar, B., Bose, A., Dwivedi, G. R., & Pandey, M. M. (2022). Current treatment strategies against multidrug-resistant bacteria. Current Microbiology, 79(12), Article 388. https://doi.org/10.1007/s00284-022-03061-7

7. Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Madella, D., Martinazzo, A., de Aquino Garcia Moura, L., Ramos de Melo, N., & Sanches-Silva, A. (2017). Revisiting an ancient spice with medicinal purposes: Cinnamon. Trends in Food Science & Technology, 62, 154–169. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.011

8. Romero Cabello, R. (2018). Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias (4th ed.). Editorial Médica Panamericana.

9. Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(17), Article 6278. https://doi.org/10.3390/ijerph17176278

SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE COORDINACIÓN DE COBRE BASADOS EN B-DICETONAS Y SU INTERACCIÓN CON EL ADN

Juan José Maldonado Ríos, José Antonio Pérez Tavares, Rita Judit Patakfalvi, Brenda Mata Ortega, María de los Ángeles Sotelo Olague, Daniel Ramírez de Alba

Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de los Lagos
juan.maldonado6972@alumnos.udg.mx

RESUMEN

Los compuestos de coordinación de cobre basados en β-dicetonas han despertado un gran interés en la química bioinorgánica debido a sus diversas aplicaciones, específicamente en la interacción con biomoléculas como el ADN[1]. Estos complejos, que suelen presentar geometrías octaédricas, tetraédricas o cuadrado-planas, exhiben una notable capacidad para unirse al ADN. El cobre, un metal esencial en procesos biológicos, muestra una gran afinidad por los ácidos nucleicos, facilitando la generación de especies reactivas de oxigeno (ROS) capaces de inducir daño al ADN. Esta propiedad ha impulsado el estudio de los complejos de cobre con b-dicetonas en el desarrollo de agentes terapéuticos[2]. En el presente trabajo aborda la síntesis, caracterización y evaluación de la interacción de estos compuestos con el ADN, explorando su potencial en aplicaciones biomédicas y su mecanismo de acción a nivel molecular.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la interacción de compuestos con el ADN es de vital importancia en la investigación biomédica y farmacológica. Las biomoléculas como el ADN representan un objetivo terapéutico clave, especialmente en el desarrollo de agentes antitumorales y antimicrobianos[3]. Los compuestos de coordinación de metales de transición, y en particular aquellos basados en cobre, han mostrado un prometedor potencial en este campo debido a su capacidad para formar interacciones estables con el ADN a través de distintos modos de unión como intercalación, inserción en surcos o enlaces electrostáticos[4,5].

El cobre, como elemento central en estos complejos, posee propiedades redox y de coordinación versátiles que le permiten actuar como catalizador en reacciones biológicas y contribuir a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual puede inducir daño selectivo en el ADN[6]. Por otro lado, la incorporación de β-dicetonas como ligandos permite mejorar la estabilidad y la solubilidad de los complejos, facilitando su interacción con el ADN y aumentando su selectividad y eficacia biológica[7,8].

A través de la caracterización estructural y estudios de interacción con el ADN, se pretende comprender los mecanismos moleculares que subyacen a esta interacción[9]. El entendimiento detallado de estas interacciones no solo aportará al campo de la química bioinorgánica, sino que también sentará las bases para el diseño racional de nuevos agentes terapéuticos más selectivos, menos tóxicos y de mayor eficacia clínica[10].

TEORÍA

Interacción con ADN

La interacción de compuestos químicos con el ADN es un tema central en biología, química medicinal y farmacología debido a su relevancia tanto para el entendimiento de procesos celulares como para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos[11].

Punto de Fusión con ADN

El punto de fusión (Tm) del ADN corresponde a la temperatura a la cual el 50% de la doble hélice del ADN se desnaturaliza, es decir, cuando las cadenas complementarias se separan debido a la ruptura de los enlaces de hidrógeno que estabilizan las bases. Este fenómeno se monitorea

midiendo la absorbancia a 260 nm mientras se eleva la temperatura, ya que la desnaturalización del ADN provoca un aumento característico de absorbancia conocido como efecto hipercrómico. La presencia de compuestos que interaccionan con el ADN puede modificar el Tm, proporcionando información sobre la naturaleza y la fuerza de la interacción[12]. En un experimento típico, se realiza un incremento controlado de temperatura y se registra la absorbancia del ADN (solo y en presencia del compuesto). Al comparar los Tm, se pueden inferir distintos modos de interacción y estabilidad del complejo ADN-compuesto.

Titulación con ADN

La titulación de compuestos con ADN es una técnica ampliamente utilizada para estudiar las interacciones moleculares entre complejos metálicos, fármacos u otras moléculas bioactivas con el ADN. En esta técnica, se mantiene una concentración constante del compuesto de interés, mientras que la concentración de ADN se incrementa gradualmente. Durante el proceso, se registran los espectros de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis) y se monitorean los cambios en la absorbancia y en las longitudes de onda características. Estos cambios permiten deducir información crucial sobre la forma en que el compuesto interacciona con el ADN, como el tipo de unión (intercalación, unión en surco mayor/menor o interacción electrostática) y la fuerza de dicha interacción[12,13].

PARTE EXPERIMENTAL

La síntesis de los compuestos Hbpca (bis(2-piridilcarbonil)amina), $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3 \cdot 2H_2O$ y $Cu(bpca)_2 \cdot H_2O$ fue realizada de acuerdo a métodos previamente descritos.

Síntesis de Hbpca (bis(2-piridilcarbonil)amina)

El Hbpca se sintetizo siguiendo la metodología de Kamiyama y col[14]. A una solución acuosa (20 mL) de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (8mmol, 1.9974 g), se le adiciono 1,3,5-Tris(2-piridil)triazina (4 mmol, 1.2493 g), esta solución se colocó en agitación constante durante 30 min y montado en el equipo de recirculación. Se formó un precipitado el cual pasado el tiempo de reacción fue filtrado al vacío y secado al aire libre, obteniendo monocristales azules de $[Cu(bpca)(H_2O)_2][Cu(bpca)(SO_4)(H_2O)]H_2O$. Al complejo de Cu(II) (7.2 mmol, 2.1265 g) y EDTA (13 mmol, 4.0021 g) se agitaron vigorosamente en una solución de cloroformo (100 mL, relación 1:1) sin temperatura. La mezcla se colocó en un embudo de decantación, a la fase orgánica de color verde/azul se le añadió sulfato de sodio anhídrido (Na_2SO_4) en exceso provocando la precipitación del agua restante. La solución bpca-cloroformo se montó en el rotavapor en agitación constante y con temperatura (50°C), formándose una corona de color verde en el matraz la cual fue disuelto con dioxano (40 mL). La solución se mantuvo en refrigeración para propiciar la formación de cristales en forma de aguja de color blanco, posteriormente filtrada al vacío obteniendo 0.7705 g.

Síntesis de $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3 \cdot 2H_2O$

Para el compuesto $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3 \cdot 2H_2O$ se sintetizo de acuerdo a la metodología de Castro y col[15]. Se preparo una solución acuosa (20 mL) de $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ (8.1 mmol, 1.9569 g) y se añadió 2,4,6-tris(2-piridil)1,3.5-triazine (tptz) (4 mmol, 1.2493 g), se montó en el equipo de recirculación en baño maría (80°C) en agitación constante durante 30 min produciendo una solución azul/verde donde se formó un precipitado color azul. La solución fue filtrada al vacío y lavada con agua y etanol obteniendo 1.5755 g.

Síntesis de $Cu(bpca)_2 \cdot H_2O$

La síntesis de $Cu(bpca)_2 \cdot H_2O$ se llevo a cobo de acuerdo a Marcos y col[16]. Se preparo una solución acuosa (50 mL) de $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ (0.5 mmol, 0.1208 g) y se añadió Hbpca (bis(2-piridilcarbonil)amina) (1mmol, 0.228 g) disuelto en acetona (10 mL), la solución se puso de color azul. Se ajusto el pH a 7.9 utilizando una solución de NaOH (1N) cambiando a color verde donde se formo un precipitado color verde. La solución fue filtrada al vacío obteniendo 0.2267 g.

Caracterización Espectroscopia Infrarroja

Los compuestos sintetizados fueron caracterizados mediante espectroscopia infrarroja en la región de 4000 a 400 cm^{-1}. Como se muestra en la figura 1 y se destacan los grupos funcionales mostrando la correcta síntesis de los compuestos de acuerdo a las metodologías reportadas.

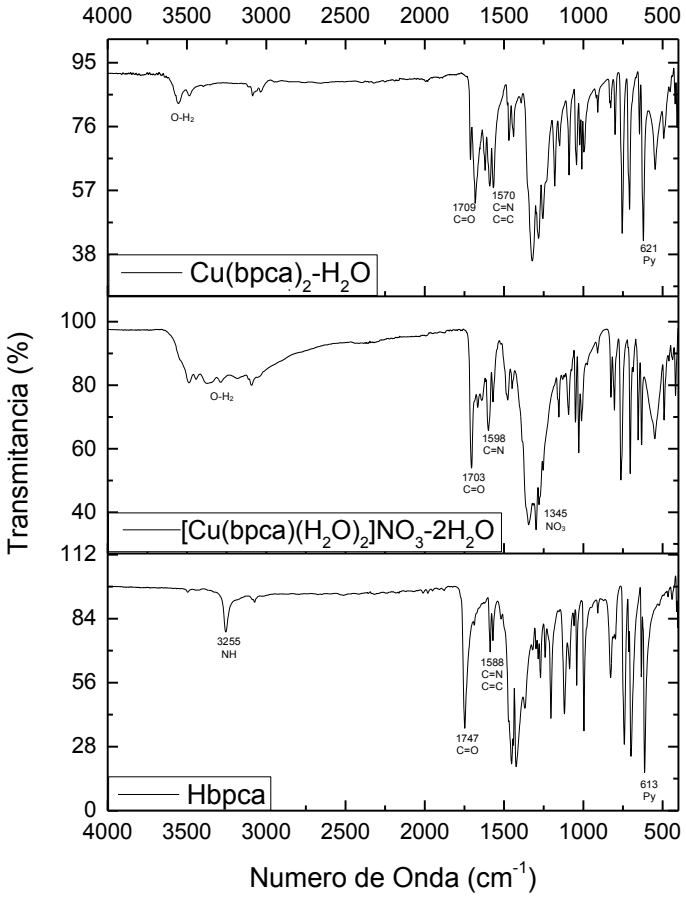


Fig. 1. Espectros Infrarrojo de los compuestos sintetizados Hbpca, $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3$-$2H_2O$ Y $Cu(bpca)_2$-H_2O.

Titulación de los compuestos con ADN

Para las pruebas de titulación del compuesto con ADN se realizó manteniendo la concentración del compuesto (Hbpca (bis(2-piridilcarbonil)amina), $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3$-$2H_2O$ y $Cu(bpca)_2 \cdot H_2O$) a 10µM, mientras que la concentración de ADN fue aumentando contantemente de 10µL-160 µL, la adición de ADN se hizo gradualmente con una incubación de 5 min y temperatura contante de 25°C utilizando un sistema Peltier manteniendo un ambiente controlado. Se utilizo un buffer Tris-NaCl para realizar las pruebas.

Con los valores obtenidos se observa cambios tanto en absorbancia como en longitud de onda lo cual nos da información sobre el modo de interacción del compuesto con el ADN (Fig. 2).

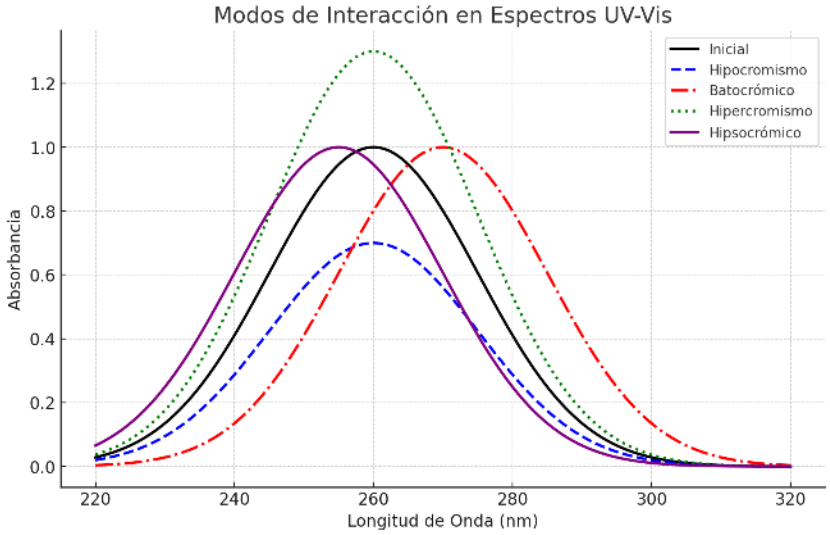


Fig. 2. Ejemplo de modos de interacción del compuesto con ADN-Titulación.

Punto de Fusión con ADN

Las pruebas de punto de fusión se realizaron en un rango de temperatura de 40-90°C aumentando constantemente 2°C, midiendo la absorbancia en 260nm (Fig. 3.).

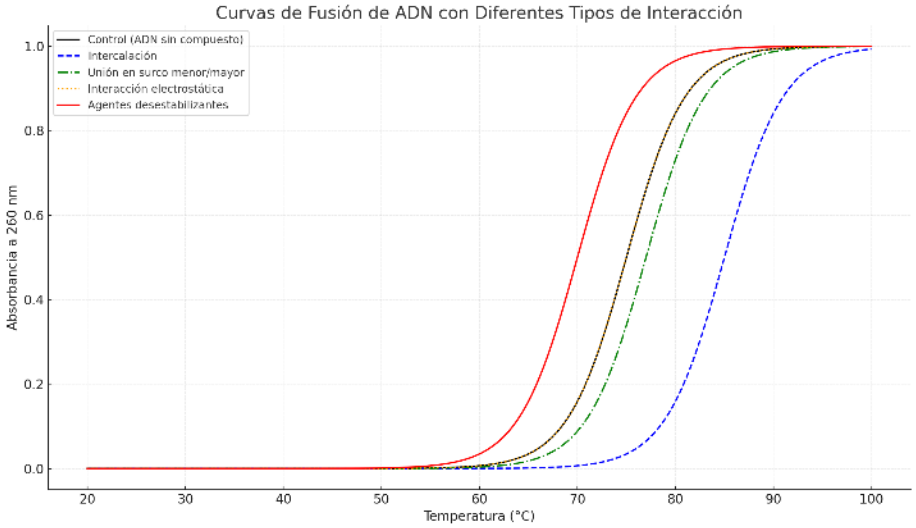


Fig. 3. Ejemplo de modos de interacción del compuesto con ADN-Punto de fusión.

RESULTADOS

A los compuestos obtenidos se les realizaron pruebas de interacción con ADN (Titulación y Punto de fusión).

Titilación del compuesto con ADN

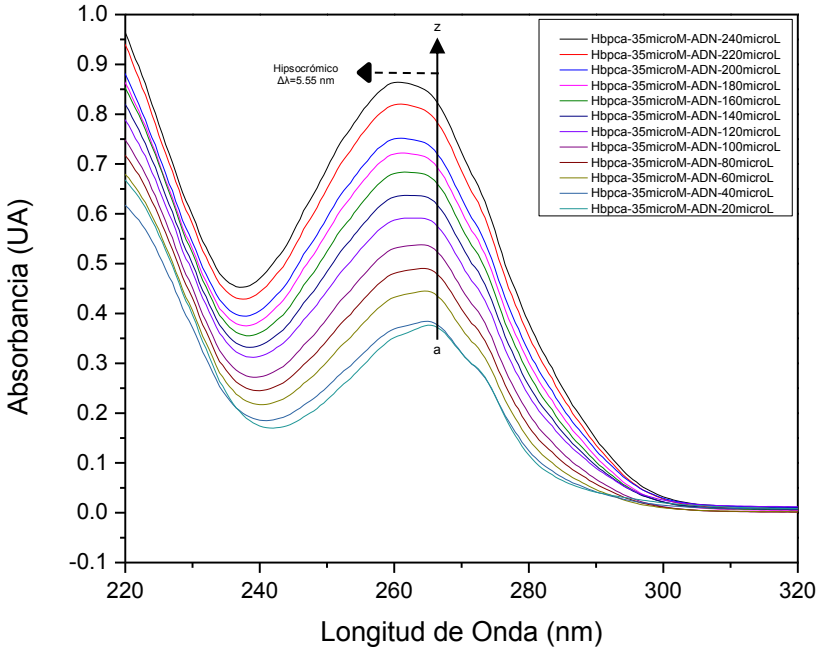


Fig. 4. Espectro UV del compuesto Hbpca (bis(2-piridilcarbonil)amina) a distintas concentraciones de ADN.

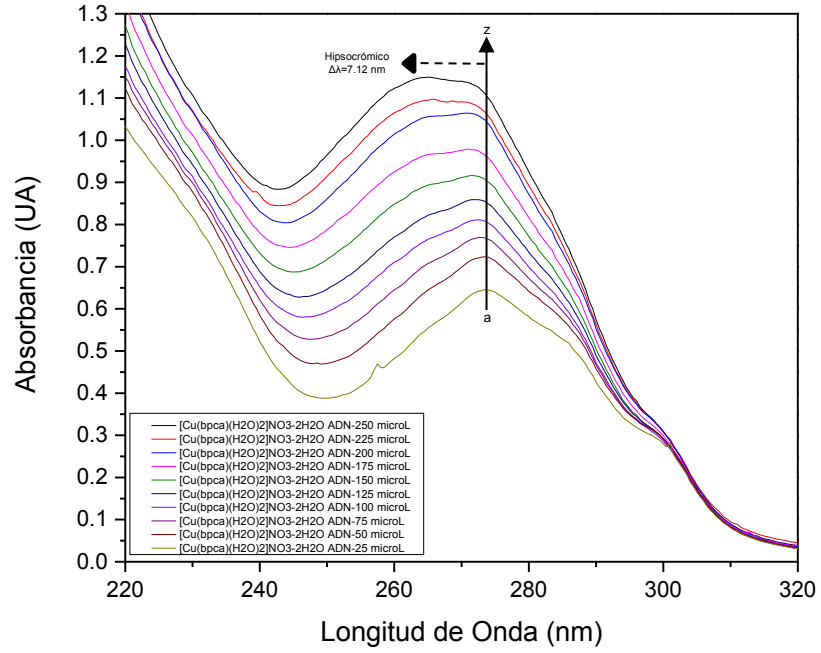


Fig. 5. Espectro UV del compuesto $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3\text{-}2H_2O$ a distintas concentraciones de ADN.

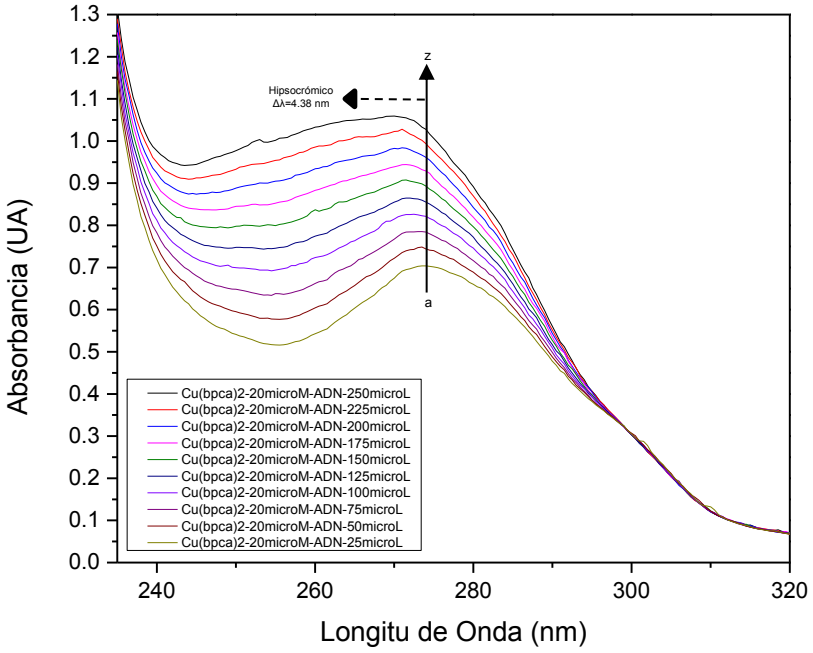


Fig. 6. Espectro UV del compuesto $Cu(bpca)_2$-H_2O a distintas concentraciones de ADN.

Punto de Fusión del compuesto con ADN

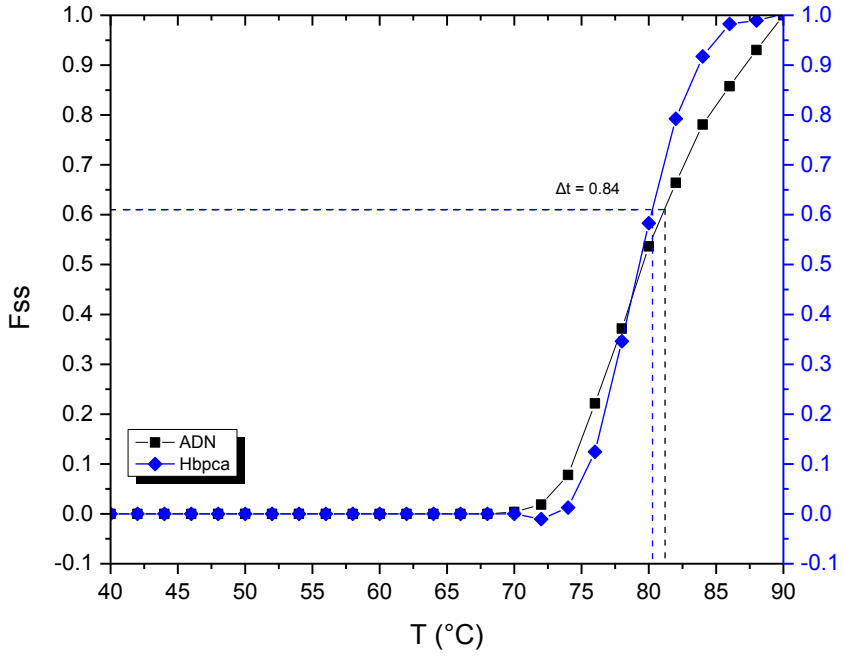


Fig. 7. Curvas de desnaturalización térmica del ADN solo y del ADN en presencia del compuesto Hbpca.

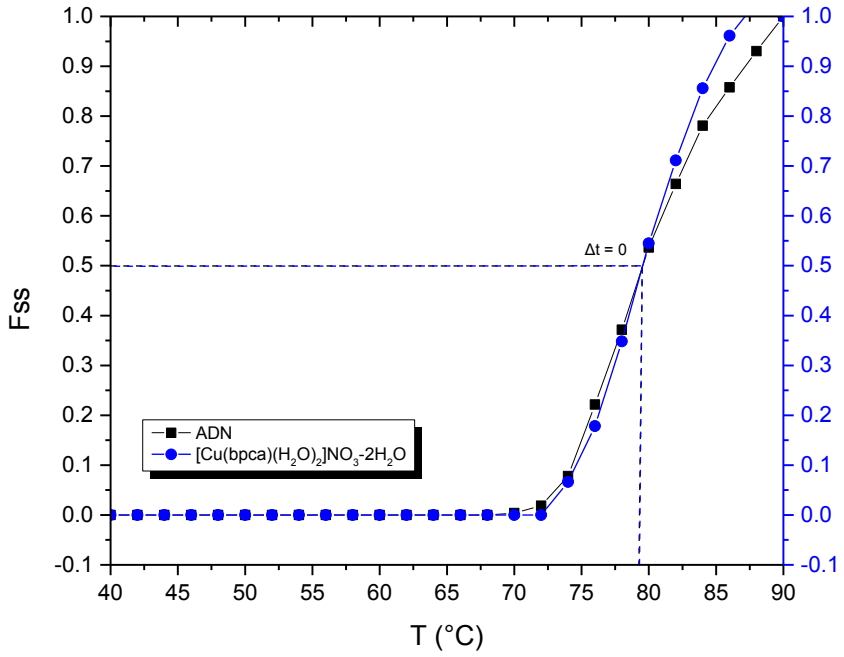


Fig. 8. Curvas de desnaturalización térmica del ADN solo y del ADN en presencia del compuesto $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3\text{-}2H_2O$.

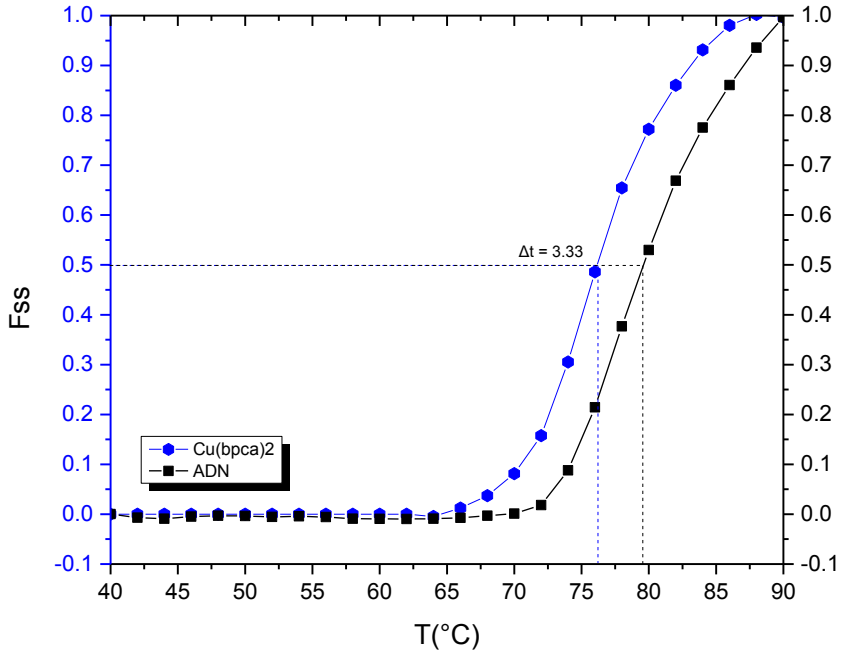


Fig. 9. Curvas de desnaturalización térmica del ADN solo y del ADN en presencia del compuesto $Cu(bpca)_2\text{-}H_2O$.

Los resultados obtenidos de las pruebas de interacción (titulación y punto de fusión) mostraron información importante sobre el modo de interacción de los tres compuestos, donde para los tres casos se determino que interaccionan de forma electrostática.

CONCLUSIONES

En el presente estudio, se sintetizaron y caracterizaron los compuestos Hbpca (bis(2-piridilcarbonil)amina), $[Cu(bpca)(H_2O)_2]NO_3 \cdot 2H_2O$, y $Cu(bpca)_2 \cdot H_2O$, evaluando su interacción con el ADN mediante técnicas de punto de fusión y titulación espectrofotométrica. Los resultados obtenidos evidenciaron que los tres compuestos interactúan principalmente a través de interacciones electrostáticas, lo cual se corroboró por dos observaciones clave. Por un lado, las pruebas de punto de fusión mostraron un desplazamiento mínimo en la temperatura de desnaturalización del ADN, indicando que las interacciones no afectan significativamente la estabilidad de la doble hélice, como lo haría una intercalación profunda. Por otro lado, en los ensayos de titulación con ADN, se observó un incremento en la absorbancia acompañado de un desplazamiento hipsocrómico, lo que sugiere un fortalecimiento de las interacciones electrostáticas y posibles cambios conformacionales menores en el ADN sin ruptura significativa de la estructura secundaria. Estos hallazgos permiten concluir que los compuestos de coordinación de cobre basados en bpca inducen modificaciones leves en la interacción con el ADN, principalmente de naturaleza electrostática, lo cual abre nuevas perspectivas para su evaluación como agentes bioactivos con potencial selectividad y baja toxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. García, J. G. (2013). Química de coordinación catiónica y aniónica de nuevos poliazareceptores politópicos (Doctoral dissertation, Universitat de València).
2. Rodríguez, A. R. M. (2016). Efectos de la interacción de compuestos de cobre (II) y rutenio (II) con fibronectina y tubulina: proteínas relacionadas con los procesos químicos del cáncer.
3. Wang, Y., et al. (2014). Metal-based anticancer agents: Copper(II) complexes as promising alternatives. Dalton Transactions, 43(29), 10716-10732.
4. Marzano, C., Pellei, M., Tisato, F., & Santini, C. (2009). Copper complexes as anticancer agents. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 9(2), 185-211.
5. Nair, M. S., et al. (2015). DNA binding, cleavage and cytotoxic studies of copper(II) complexes. Polyhedron, 85, 754-765
6. Tisato, F., Marzano, C., Porchia, M., Pellei, M., & Santini, C. (2010). Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. Medicinal Research Reviews, 30(4), 708-749.
7. Chaviara, A. T., et al. (2004). Synthesis, characterization and DNA interaction of copper(II) complexes with β-diketones. Polyhedron, 23(5), 693-703.
8. Sharoyko, V. V., et al. (2024). Synthesis and biological evaluation of copper(II)-β-diketonate complexes. Journal of Molecular Liquids, 401, 124702.
9. Kostova, I. (2006). Platinum and other metal complexes as anticancer agents. Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery, 1(1), 1-22
10. Santini, C., Pellei, M., Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F., & Marzano, C. (2014). Advances in copper complexes as anticancer agents. Chemical Reviews, 114(1), 815-862.
11. Reichmann, M. E., Rice, S. A., Thomas, C. A., & Doty, P. (1954). A further examination of the molecular weight and size of deoxypolynucleotides by light scattering. Journal of the American Chemical Society, 76(11), 3047–3053.
12. Barton, J. K., Raphael, A. L., & Olmon, E. D. (1984). Molecular recognition in nucleic acids: The chemical probe approach. Accounts of Chemical Research, 17(4), 121–128.
13. Fox, K. R. (Ed.). (1997). Drug-DNA interaction protocols (Vol. 90). NJ:: Humana Press.
14. Kamiyama, A., Noguchi, T., Kajiwara, T., & Ito, T. (2002). Syntheses, Structures, and Properties of Trinuclear Complexes [M (bpca) 2 {M '(hfac) 2} 2], Constructed with the Complexed Bridging Ligand [M (bpca) 2][M, M '= Ni (II), Mn (II); Cu (II), Mn (II); Fe (II), Mn

(II); Ni (II), Fe (II); and Fe (II), Fe (II); Hbpca= Bis (2-pyridylcarbonyl) amine, Hhfac=Hexafluoroacetylacetone]. Inorganic chemistry, 41(3), 507-512.
15. Castro, I., Faus, J., Julve, M., Amigó, J. M., Sletten, J., & Debaerdemaeker, T. (1990). Copper (II)-assisted hydrolysis of 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-triazine. Part 3. Crystal structures of diaqua [bis (2-pyridylcarbonyl) amido] copper (II) nitrate dihydrate and aquabis (pyridine-2-carboxamide) copper (II) nitrate monohydrate. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, (3), 891-897.
16. Marcos, D., Martinez-Mañez, R., Folgado, J. V., Beltran-Porter, A., Beltran-Porter, D., & Fuertes, A. (1989). Crystal structure and spectroscopic studies of bis (N-2-pyridinylcarbonyl-2-pyridinecarboximidato) copper (II) monohydrate. Local bonding effects. Inorganica chimica acta, 159(1), 11-18.

MICOSÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DEL HONGO *Phytophthora Infestans* CON POSIBLES APLICACIONES EN EL SECTOR AGROINDUSTRIAL

Lesly Alabel Del Ángel Francisco[1], Hugo Yuriel Vergara Reyes[1], Karelia Liliana Ruíz Rangel[1], Jorge Alberto Granados Olvera[1,2].

[1]Universidad Politécnica de Cuautitlán Izcalli, [2]Universidad Tecnológica Fidel Velázquez.
jorgealberto.go@upci.edu.mx

RESUMEN

Actualmente el cultivo del jitomate (tomate rojo), ha tomado gran relevancia por ser la hortaliza más comercializada y exportada de México según la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Esta fruta es susceptible a múltiples enfermedades, entre ellas destaca el tizón tardío causado por el hongo *Phytophthora infestans*, que afecta de manera significativa a la planta, causando lesiones en el tallo, las hojas y el fruto. La presencia de este hongo en el jitomate representa pérdidas significativas a los agricultores, es por ello, que se ha buscado erradicarlo con el uso de fungicidas químicos, sin embargo, se ha evidenciado el aumento de la aparición de cepas agresivas resistentes a estos productos.

Las nanopartículas de plata (Np´s Ag) tienen propiedades antibacterianas, bacteriostáticas y fungicidas, que le confieren la capacidad de ser aplicadas en diferentes campos, tales como la medicina y agricultura, es por ello, que pueden ser una alternativa en el manejo de enfermedades de las plantas. Por estas razones, se pretende desarrollar una técnica mico-nanotecnológica, en donde a partir de la biomasa fúngica se lleva a cabo la síntesis de Np´s Ag. Para la metodología se modificó el protocolo planteado por Narware y cols. (2023). Para la preparación del cultivo, sembró *P. infestans* en PDA a 28°C durante 72 hrs. Posteriormente, se obtuvo el micelio, al cual, se le realizó tres lavados, el primero a 135 rpm durante 24 hrs con agua destilada, el segundo y tercero con agua bidestilada a 150 rpm durante 24 hrs respectivamente. La biomasa obtenida fue filtrada. Para la síntesis de las Np´s Ag, el micelio fue sumergido en 50 mL de cada una de las siguientes disoluciones: 10 mMolar, 20 mMolar, 30 mMolar y 40 mMolar de $AgNO_3$, durante 72 h.

Para evaluar la presencia de las nanopartículas en las soluciones, fueron caracterizadas mediante las técnicas de espectroscopia UV-VIS, SEM y DLS. En el caso de la espectroscopia UV-VIS se observó un pico de 482 nm, para el DLS, el Z-Average fue de 204.8 nm, donde se obtuvieron 3 picos de 119.3 nm, 452 nm y 43.4 nm, lo cual puede ser indicativo de una mezcla de Np´s de diferentes tamaños, el pico principal (119.3 nm) sugiere que la mayoría de las Np´s se encuentran en ese rango. Las micrografías SEM revelan una distribución heterogénea de Np´s Ag con tamaños de entre 43 a 452 nm. Estos resultados pueden indicar que las Np´s Ag presentan una distribución variada, con predominio en el rango de 100-200 nm, donde el control de agregación podría ser clave para aplicaciones específicas.

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de plata (NPs Ag) son estructuras cuyas dimensiones varían entre 1 y 100 nanómetros y destacan por sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes y catalíticas. Estas características las convierten en herramientas prometedoras para el sector agroindustrial, especialmente en el manejo de fitopatógenos y la conservación de productos hortofrutícolas. En el contexto actual, donde se busca reducir el uso de agroquímicos convencionales, las NPs Ag representan una alternativa innovadora y sustentable (Rai et al., 2009; Durán et al., 2011).

Las NPs Ag actúan a través de diversos mecanismos, como la alteración de la membrana celular microbiana, la inhibición de la replicación del ADN y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que provoca daños oxidativos en los microorganismos (Morones et al., 2005).
A diferencia de los métodos fisicoquímicos tradicionales, que suelen ser costosos y contaminantes, la síntesis verde emplea organismos vivos o sus derivados para obtener nanopartículas de forma económica y ecológica. Entre estos organismos, los hongos destacan por la acción de sus enzimas extracelulares y metabolitos secundarios, los cuales poseen un alto potencial reductivo y estabilizante (Iravani, 2011; Narayanan & Sakthivel, 2010).

El desarrollo de nanopartículas mediante métodos sostenibles, como la micosíntesis a partir de *Phytophthora infestans*, podría representar una solución viable y ecoamigable frente a los desafíos actuales en la producción agrícola en México, como la que presenta el jitomate (*Solanum lycopersicum*) siendo uno de los cultivos hortícolas más importantes en México, no solo por su papel esencial en la dieta diaria, sino también por su impacto en la economía nacional y el desarrollo del sector agrícola. México se destaca como uno de los principales productores y exportadores de jitomate a nivel mundial, principalmente hacia Estados Unidos y Canadá (SIAP, 2022; SAGARPA, 2020). Sin embargo, su producción enfrenta desafíos significativos, como el desarrollo de enfermedades fúngicas y bacterianas, que afectan la calidad y el rendimiento del cultivo. Entre estos problemas, el uso excesivo de agroquímicos para el control de fitopatógenos ha generado preocupaciones ambientales, riesgos para la salud pública y la aparición de patógenos más resistentes (FAO, 2017; López-Bucio et al., 2019).

En el presente estudio se propone la micosíntesis y caracterización de nanopartículas de plata a partir del hongo *Phytophthora infestans*, explorando sus propiedades fisicoquímicas y su aplicación en el sector agroindustrial como agente antimicrobiano para el control de fitopatógenos. La propuesta busca desarrollar soluciones sostenibles que integren biotecnología y nanotecnología, respondiendo a los desafíos agrícolas actuales.

TEORÍA

El tizón tardío, causado por el oomiceto *Phytophthora infestans*, es una de las enfermedades más severas del cultivo de jitomate. Bajo condiciones favorables, *P. infestans* puede destruir cultivos enteros en pocos días, debido a su ciclo de vida corto y alta tasa de esporulación, ocasionando pérdidas de hasta el 100% del rendimiento (Enciso Maldonado, G. A., 2021). Este patógeno se transmite a través de semillas infectadas y puede sobrevivir en forma de micelio en plantas cultivadas, arvenses de la familia Solanaceae o en residuos de cosecha presentes en el suelo (Luisa Fernanda C. P., 2016). La infección en los frutos varía entre 41% y 100% en cultivos sin tratamiento con fungicidas, mientras que en parcelas protegidas, las pérdidas oscilan entre 12% y 65%.
La infección inicia cuando las esporas de *P. infestans* germinan en condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas. Primero, el oomiceto forma esporangios, que liberan zoosporas móviles en presencia de agua. Estas se adhieren a hojas, tallos o frutos y penetran el tejido vegetal a través de estomas o heridas (Judelson & Blanco, 2005; Cedeño, 2017). Una vez dentro de la planta, el patógeno se disemina rápidamente, provocando necrosis y marchitamiento de los frutos. Sus síntomas incluyen manchas oscuras y húmedas en tallos y hojas, así como micelio blanco bajo condiciones de alta humedad, favoreciendo su rápida propagación (Enciso Maldonado, 2021).
En México, este patógeno puede causar pérdidas del 70% al 100% de la producción de jitomate, lo que incrementa los costos operativos por el uso intensivo de fungicidas químicos. Sin embargo, el abuso de estos productos ha generado efectos negativos como contaminación ambiental, riesgos a la salud y la aparición de cepas resistentes (Luisa Fernanda C. P., 2016; FAO, 2017).

Ante este panorama, la nanotecnología surge como una alternativa innovadora y sustentable. La síntesis de nanopartículas de plata (NPs Ag) mediante métodos biológicos, como la micosíntesis, ha demostrado efectividad antimicrobiana contra diversos fitopatógenos (Iravani, 2011; Rai et al., 2009). En las últimas décadas, la nanotecnología ha impulsado el desarrollo de nanopartículas metálicas, como las de plata, que poseen propiedades antimicrobianas, antifúngicas y catalíticas.

No obstante, los métodos tradicionales de síntesis química suelen ser costosos y ambientalmente riesgosos, lo que ha incentivado la búsqueda de alternativas verdes, como la micosíntesis (Narayanan & Sakthivel, 2010).

La biosíntesis o síntesis verde de nanopartículas de plata es observada en forma continua, y merece mucha atención debido a una creciente necesidad de métodos de síntesis amigables para el medio ambiente, que utilizan agentes reductores y de terminación ecológicos, como son las proteínas, péptidos, carbohidratos, varias especies de bacterias, hongos y levaduras, algas y plantas. Las sales de plata y las nanopartículas de plata se utilizan en variadas aplicaciones para el control de infecciones, en forma de apósitos y compresas, que contienen superficies “antimicrobianas” con las nanopartículas. Algunas de las bases genéticas para la resistencia bacteriana a iones de plata se encuentran bien documentadas, principalmente la expresión de los sistemas de eflujo, bien caracterizados (Esquivel,2021).

La micosíntesis, una variante de la síntesis verde utiliza hongos para la producción de nanopartículas. Este proceso puede realizarse de forma extracelular, mediante filtrados del medio de cultivo, o intracelular, a partir de la biomasa fúngica. Aunque hongos como *Aspergillus niger* y *Fusarium oxysporum* han sido ampliamente estudiados, el uso de hongos fitopatógenos como *Phytophthora infestans* representa un enfoque novedoso (Kuppusamy et al., 2016).

Los hongos poseen enzimas como el nitrato reductasa, además de compuestos fenólicos y polisacáridos, que facilitan la reducción de iones metálicos (Ag^{+}) a su forma elemental (Ag^{0}), permitiendo la formación de nanopartículas estables (Gade et al., 2008). *Phytophthora infestans*, conocido por causar el tizón tardío en cultivos de papa y jitomate, es un oomiceto fitopatógeno que secreta numerosas enzimas extracelulares para invadir tejidos vegetales. Esta capacidad enzimática puede ser aprovechada para inducir la reducción de iones de plata, actuando como biocatalizador en la síntesis de nanopartículas (Judelson & Blanco, 2005). El empleo de *P. infestans* en la micosíntesis no solo convierte a un agente patógeno en una herramienta biotecnológica, sino que también permite revalorizar recursos biológicos disponibles en el medio agrícola.

La micosíntesis aprovecha el metabolismo fúngico para reducir iones metálicos y estabilizar nanopartículas mediante enzimas y metabolitos secundarios. Aunque *Phytophthora infestans* es un fitopatógeno, su elevada actividad metabólica lo hace un candidato viable para aplicaciones en bionanotecnología (Durán et al., 2011).

PARTE EXPERIMENTAL

La micosíntesis de nanopartículas plata se realizó y modifico de la propuesta de Narware y Cols (2023), se realizó el sembrado de la cepa de *Phytophthora infestans* en medio PDA (agar papa dextrosa) por 72 hrs a 28°C como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Cepa de *Phytophthora infestans*

Tras la cosecha de la biomasa fúngica (micelio), se realizaron tres lavados bajo condiciones específicas. El primero se llevó a cabo con 50 mL de agua destilada en un agitador orbital a 133

rpm (figura 2), en condiciones de oscuridad, durante 24 horas. Posteriormente, se efectuó un segundo lavado con 50 mL de agua bidestilada, utilizando un agitador orbital a 150 rpm por un período adicional de 24 horas. Finalmente, el tercer lavado se realizó nuevamente con 50 mL de agua bidestilada, manteniendo las mismas condiciones de agitación (150 rpm) y duración (24 horas).



Figura 2. Lavado en agitador orbital

Tras el período de incubación, el micelio lavado se filtró y se pesó. Paralelamente, se prepararon cuatro soluciones de nitrato de plata ($AgNO_3$) con concentraciones de 10 mM, 20 mM, 30 mM y 40 mM. Posteriormente, se añadió una fracción del micelio a cada una de las soluciones, donde actuó como agente reductor del $AgNO_3$. Las muestras se mantuvieron en un agitador orbital a 150 rpm, en condiciones de oscuridad, durante un período de 72 horas, con este proceso comienza la formación de agregados de partículas, la cual se manifiesta a través de una coloración marrón (Figura 3).

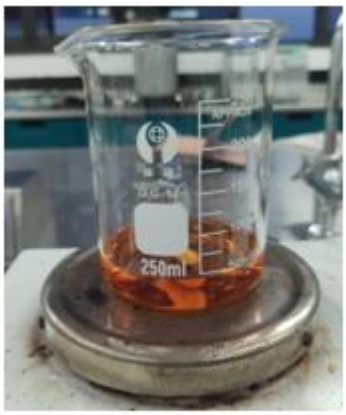


Figura 3. Nanopartículas de Plata

RESULTADOS

Espectroscopia UV-Vis

En la Figura 4 se puede observar el espectro UV-Vis de las nanopartículas de plata sintetizados por esta vía, el cual muestra un comportamiento similar de acuerdo con lo reportado por Sally D. Solomon (2007), la absorbancia se encuentra entre 420-450 nm atribuibles a un tamaño de partícula de entre 40-100 nm.

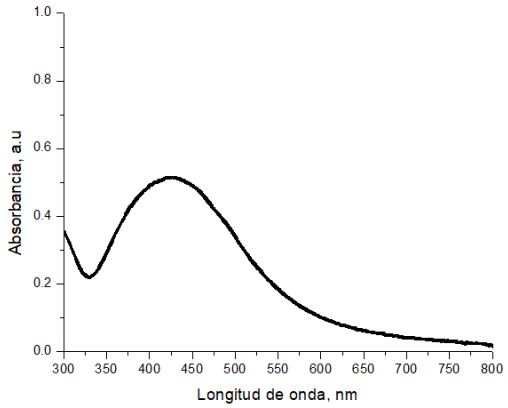


Figura 4. Espectro UV-Vis de las Np´s

Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Las micrografías SEM (figura 5) de la muestra revelan una morfología predominantemente esférica, con algunas partículas que presentan irregularidades o tendencias a la agregación.

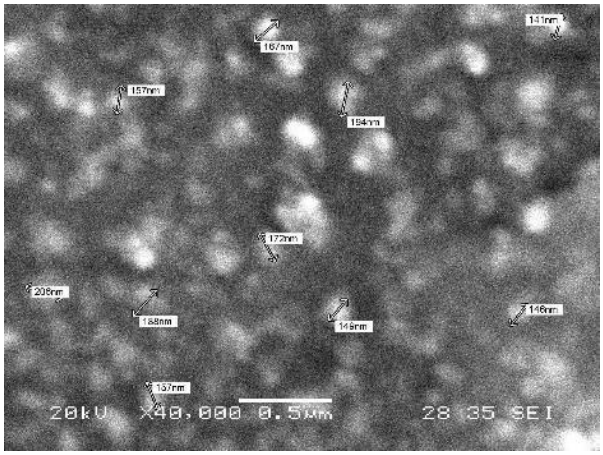


Figura 5. Morfología de las Np´s

La distribución de tamaños es heterogénea, con nanopartículas que varían entre 43 nm y 452 nm, lo que sugiere la presencia de agregados o subpoblaciones de tamaños distintos (figura 6). La superficie de las partículas parece uniforme, sin evidencias de estructuras rugosas o porosas significativas, lo que puede influir en su interacción con el medio dispersante. La escala y la magnificación utilizadas en la imagen permiten una visualización clara de los contornos y agrupaciones, lo que es clave para interpretar la estabilidad y funcionalidad de estas nanopartículas en aplicaciones específicas.

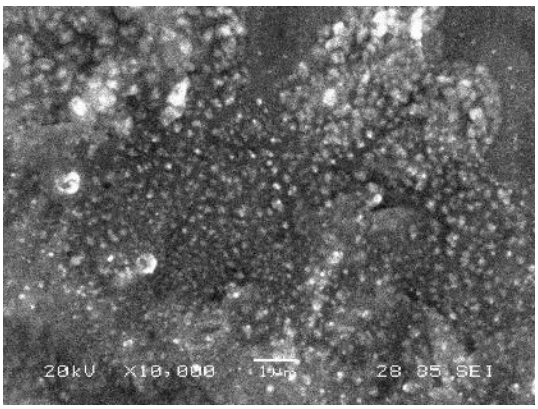


Figura 6. Agregados de las Np´s

Dispersión de Luz Dinámica (DLS)

El análisis por dispersión de luz dinámica (DLS), sugiere una diversidad moderada en tamaños (figura 7), lo que concuerda con los tres picos registrados en la distribución: 119.3 nm, 452 nm y 43.4 nm. La presencia del pico secundario en 452 nm sugiere la existencia de agregados o partículas con interacción significativa, lo que puede influir en la estabilidad coloidal. En términos de calidad de medición, el Intercept (0.9554) confirma una buena fiabilidad en los datos obtenidos, mientras que la intensidad de señal indica una medición robusta con óptima atenuación. En conjunto, la micrografía SEM y el análisis DLS del Zetasizer muestran que las nanopartículas presentan una distribución variada, con predominancia en el rango de 100-200 nm, donde el control de agregación podría ser clave para aplicaciones específicas.

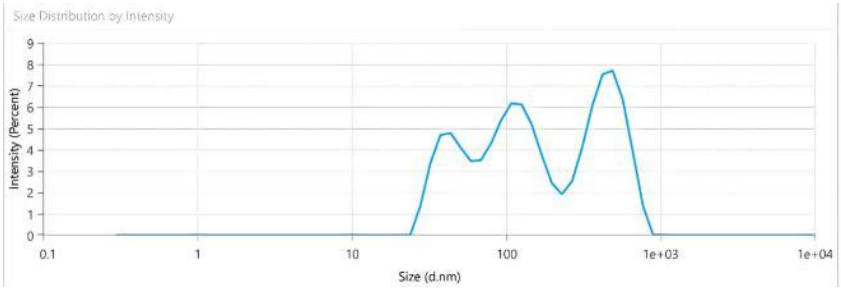


Figura 7. Análisis por dispersión de luz dinámica (DLS)

CONCLUSIONES

La presente investigación demuestra la viabilidad de la micosíntesis de nanopartículas de plata (*NPs Ag*) a partir del hongo *Phytophthora infestans* como una alternativa sostenible para el sector agroindustrial ya que sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas de las *NPs Ag* las posicionan como una herramienta prometedora en el manejo de fitopatógenos agrícolas, en particular para el control de *Phytophthora infestans*, causante del tizón tardío del jitomate.

Los resultados en las caracterizaciones obtenidos de espectroscopía Uv-vis, SEM y DLS destacan la importancia de optimizar las condiciones de síntesis para mejorar la uniformidad del tamaño y la estabilidad coloidal de las nanopartículas. El control de agregación y la modulación de parámetros experimentales podrían potenciar sus aplicaciones en el ámbito agrícola.

La implementación de *NPs Ag* biogénicas en el manejo de enfermedades fitopatógenas puede contribuir significativamente al desarrollo de estrategias agrícolas sostenibles, reduciendo la dependencia de agroquímicos convencionales y mitigando los riesgos ambientales y sanitarios.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cardona-Piedrahita, L. F., Castaño-Zapata, J., & Ceballos-Aguirre, N. (2016). Epidemiología del tizón tardío (Phytophthora infestans (Mont.) de Bary) en quince introducciones de tomate silvestre. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, *19*(1), 45-54.
2. Durán, N., Marcato, P. D., De Souza, G. I. H., Alves, O. L., & Esposito, E. (2011). Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several Fusarium oxysporum strains. Journal of Nanobiotechnology, 9(1), 1-8. https://doi.org/10.1186/1477-3155-9-17
3. Enciso Maldonado, G. A., Lozoya Saldaña, H., Sanabria Velázquez, A. D., Gamarra, F., Maidana Ojeda, M., & Ayala Espínola, S. J. Actividad curativa de fungicidas contra el tizón tardío en tomate.
4. Esquivel-Figueredo, R. D. L. C., & Mas-Diego, S. M. (2021). Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie Trichoderma. Revista Cubana de Química, 33(2), 23-45.
5. FAO. (2017). *La sostenibilidad en la agricultura: desafíos y oportunidades*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. https://www.fao.org
6. Gade, A. K., Bonde, P., Ingle, A. P., Marcato, P. D., Duran, N., & Rai, M. K. (2008). Exploitation of Aspergillus niger for synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 2(3), 243-247.
7. Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. Green Chemistry, 13(10), 2638–2650.
8. Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. Green Chemistry, 13(10), 2638–2650. https://doi.org/10.1039/C1GC15386B
9. Judelson, H. S., & Blanco, F. A. (2005). The spores of Phytophthora: weapons of the plant destroyer. Nature Reviews Microbiology, 3(1), 47–58.
10. Judelson, H. S., & Blanco, F. A. (2005). The spores of Phytophthora: weapons of the plant destroyer. Nature Reviews Microbiology, 3(1), 47–58.
11. Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 473-484.
12. López-Bucio, J., Ramírez-Pimentel, J. G., & Herrera-Estrella, L. (2019). *Biotecnología en el manejo de fitopatógenos en cultivos hortícolas*. Revista Mexicana de Fitopatología, 37(2), 123-135.
13. Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramírez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology, 16(10), 2346–2353. https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059
14. Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Advances in Colloid and Interface Science, 156(1-2), 1–13.
15. Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Advances in Colloid and Interface Science, 156(1-2), 1–13. https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.02.001
16. Narware, J., Singh, SP, Manzar, N. y Kashyap, AS (2023). Síntesis biogénica, caracterización y evaluación de nanopartículas sintetizadas contra el hongo patógeno Alternaria solani. *Frontiers in Microbiology* , *14* , 1159251.

17. Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances, 27(1), 76–83. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002
18. SAGARPA. (2020). *Informe anual del sector agroalimentario 2019-2020*. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.
19. SIAP. (2022). *Anuario estadístico de la producción agrícola*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. https://www.gob.mx/siap
20. Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. A., Boritz, C., & Mulfinger, L. (2007). Synthesis and Study of Silver Nanoparticles W. Journal of Chemical Education, 84(2).

CO-CARBONIZACIÓN HIDROTERMAL, PROCESO UTILIZADO PARA TRANSFORMAR RESIDUOS SÓLIDOS DE PET Y BIOMASA A MATERIALES DE CARBONO

Jhoana I. De Jesús-Melchor [1], Oscar M. Rodríguez-Narváez[2], Alejandro Vega-Rios[3], Alain S. Conejo-Dávila[4].

[1, 2, 4] Centro de Investigación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), calle Omega 201, León Guanajuato, México, C.P 3745, [3]Centro de Investigación de Materiales Avanzados, Av. Miguel Cervantes Saavedra 120, Complejo Industrial Chihuahua, Chih. México, C.P. 31136
jmelchor.estudiantepicyt@ciatec.mx

RESUMEN

El incremento en la generación de residuos plásticos, particularmente de tereftalato de polietileno (PET), plantea un serio problema ambiental debido a su resistencia a la degradación y su acumulación en los ecosistemas. Frente a las limitaciones del reciclaje convencional, especialmente cuando el PET está mezclado con otros materiales como biomasa, este estudio propone la producción de hidrocarbón (HC), mediante el proceso de co-carbonización hidrotermal utilizando PET y muérdago. Este método permite transformar los residuos en un material carbonoso poroso, estable y con potencial de adsorción de contaminantes. A través de técnicas de caracterización como FTIR, CHONS y BET, se evaluaron los efectos de la proporción de biomasa sobre las propiedades químicas y estructurales del HC. Se observó que un mayor contenido de muérdago favorece la aparición de grupos funcionales oxigenados y estructuras aromáticas, aunque reduce el área superficial del material y aumenta el tamaño de los poros. Estos resultados confirman que la co-CHT facilita la integración de polímeros y biomasa, generando materiales con características útiles para aplicaciones ambientales, como la remoción de colorantes disueltos en agua, y promoviendo al mismo tiempo una estrategia efectiva para la valorización de residuos orgánicos e inorgánicos difíciles de tratar.

INTRODUCCIÓN

El aumento en la generación de residuos plásticos, especialmente de tereftalato de polietileno (PET), representa un desafío ambiental significativo debido a su difícil degradación y acumulación en los ecosistemas (Eriksen, y otros, 2023), (Béraud, Bednarz, Otto, Golbuu, & Ferrier-Pagès, 2022) (Furfaro , y otros, 2022), (Valderrama Ocoró, Chavarro Guzmán, Osorio Gómez, & Peña Montoya, 2018). A pesar de los esfuerzos en reciclaje, una gran cantidad de residuos de PET, particularmente aquellos mezclados con otros materiales, en algunos casos con biomasa, no pueden separarse fácilmente y terminan desechados. Este contexto despertó el interés por desarrollar un material innovador que combine biomasa y PET, con el objetivo de revalorizar estos residuos y convertirlos en un producto útil como el hidrocarbón (HC). El HC se caracteriza por ser un material rico en carbono sólido, poroso, estable, aunque su estructura puede variar dependiendo de la materia prima utilizada y las condiciones de proceso. El HC se obtiene mediante el proceso de carbonización hidrotermal o tratamiento térmico de biomasa en condiciones húmedas, presiones autogeneradas y temperaturas moderadas (i.e., 180 a 250° C), por otro lado, la co-carbonización hidrotermal (co-CHT) es un proceso en el que dos o más materiales son sometidos a condiciones anteriormente mencionadas (Yao, 2018), para obtener un material carbonoso mejorado, durante este proceso se genera un medio en estado subcrítico que actúa como un reactivo y un medio de transporte para la conversión de compuestos orgánicos, además generan productos intermedios solubles y compuestos aromáticos que posteriormente forman estructuras carbonosas, los fragmentos generados reaccionan entre sí para formar estructuras más grandes y ricas en carbono. Usar este tipo de proceso puede ayudar a mejorar la integración de dos diferentes materiales, como en el caso del presente trabajo, en el cual se utilizó muérdago y PET para obtener un HC homogéneo además de favorecer la propiedad de adsorción. Es así como el proyecto se centra en la obtención de HC a partir de biomasa y PET, variando el medio donde se llevan a cabo las reacciones dentro del reactor, para mejorar la adsorción de colorante disuelto en agua.

Para la caracterización de los diferentes materiales obtenidos se emplean varias técnicas como FTIR, CHONS, BET y TG, para evaluar las propiedades y cambios que se tienen con las variaciones en el proceso (co-HTC), además se evalúa la remoción de colorante con los diferentes materiales obtenidos, con la finalidad de observar como la propiedad de adsorción cambia y evaluar el mejor material con respecto a esta propiedad. Este trabajo no solo busca aportar un enfoque técnico y científico, sino también resaltar el valor de los desechos como nuevos recursos.

TEORÍA

Hidrocarbónr: Concepto y aplicaciones

El hidrocarbón (HC), es un material carbonoso sólido que se produce mediante un proceso de carbonización hidrotérmica (CHT). La CHT transforma la materia orgánica en un material con alto contenido de carbono que posee una estructura química diferente a la de la original, es decir, se produce una estructura porosa con gran área superficial y se generan grupos funcionales oxigenados, como hidroxilos y carboxilos (Titirici & Antonietti, 2009). Además, este proceso puede ser modificado con sustancias ácidas y alcalinas que afectan las propiedades del HC como el contenido de carbono, su estructura porosa, su estabilidad térmica, su capacidad de adsorción y sus aplicaciones (Latham, Jambu, Joseph, & Donne, 2014).

Para determinar las propiedades físicas, químicas y estructurales del HC, se evalúa su composición elemental, tamaño de poro, el contenido de carbono, estabilidad a altas temperaturas y otros aspectos relevantes. Estos estudios ayudan a comprender las características del HC y su potencial aplicación (Gao, Zhou, Meng, & Zhang, 2016) (Zhao, Tian , Zhou, & Yuanyu, 2020). Referente a su aplicación se han realizado estudios sobre su capacidad de adsorción de contaminantes o colorantes en el agua (Mohan , Sarswat, & Y. S., 2014) (Pratriwi, Udaibah, & Kustomo, 2021) (Pineda Pineda & Flórez, 2019), su utilización como fuente de energía (Ye , Zhang , Wang, & Wang, 2023), su aplicación como enmienda del suelo para mejorar la fertilidad y la retención de nutrientes (Malghani, Jüschke, Baumert, & Thuille, 2015).

Método de obtención

La producción de HC a partir de la CHT transforma biomasa o diversos materiales orgánicos (Fernández, Ledesma, Román, Bonelli, & Cikierman, 2015) (Huang, 2023) mediante presiones y temperaturas medias (180 a 250°C) en presencia de agua, donde se genera un medio en estado subcrítico que actúa como un reactivo y un medio de transporte para la conversión de compuestos orgánicos, durante el proceso se llevan un sistema de reacciones simultáneas de hidrólisis, deshidratación, condensación, aromatización y descarboxilación (Khosravi, 2022) (Wang, 2018) (Bardhan, y otros, 2020). En el proceso convencional se utiliza agua como medio de reacción, sin embargo, se han realizado investigaciones para evaluar sustancias ácidas y alcalinas como medio de activación, los cuales influyen en la descomposición de la materia orgánica y en las propiedades del HC resultante (Latham, Jambu, Joseph, & Donne, 2014), el tratamiento con NaOH mejora la estructura porosa y aumenta la presencia de grupos funcionales oxigenados (Zhou, 2022). Por otro lado, se ha reportado que usando ácido sulfúrico (H_2SO_4) y aumentando el tiempo de retención en el reactor, se mejora el rendimiento de obtención del HC (Shettigondahalli Ekanthalu, 2021). Además, diversos estudios han explorado variables como la temperatura, la presión, el tiempo de reacción y el uso de catalizadores para optimizar el proceso y obtener un HC de alta calidad esto con el objetivo de reducir el consumo de energía, la minimización de los subproductos y la mejora de la viabilidad económica (Titirici & Antonietti, 2009).

Con respecto a la utilización de la CHT usando polímero como materia prima, se ha investigado muy poco hasta momento, sin embargo, en el proceso de co-Carbonización hidrotermal (co-CHT) (Bardhan, y otros, 2020), donde se pueden mezclar más de dos materias primas en el proceso, se ha utilizado polímero para obtener HC, pero hasta el momento no se tienen reportes con el PET, sin

embargo el estudio hecho con poliéster indican que el polietilen tereftatalato puede ser transformado en HC y que la materia orgánica mejora la carbonización, creando un material estable a altas temperaturas (Lin, 2020).

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis

El PET se limpia, se corta y se tamiza hasta llegar a un tamaño de 2mm tamaño suficiente para poder manejarlo en el reactor, lo mismo se hace con el muérdago. Después se lleva a cabo la síntesis de HC, poniendo el PET, muérdago o una mezcla de ambos (con relación 1:1, 2:1 y 4:1) en un recipiente de teflón (con capacidad de 20 mL) con un medio alcalino, ácido o alcalino, utilizando ácido sulfúrico [0.2M] o hidróxido de sodio [0.2M] en una relación de 120g/L. Posteriormente el liner de teflón se cierra y se inserta en reactores de acero inoxidable, los cuales son cerrados herméticamente y se colocan en mufla 200°C por 24 horas. Una vez completado el tratamiento térmico, se retiran los reactores de la mufla y se dejan enfriar a temperatura ambiente. Los reactores a temperatura ambiente son abiertos en la campana de extracción, donde se filtra la parte sólida (HC) por medio de embudos de vidrios y papel filtro de 110 mm ∅. Por último, los filtros se retiran de los embudos y se ponen en cápsulas de porcelana para realizar el secado a 80°C en la mufla, después se hace un tamizado de 1mm para homogenizar el material. Para la identificación de cada material se utilizó la nomenclatura HCA-PM, donde HCA es el material de hidrocarbón hecho en medio ácido, P es el PET y la relación en la que está (4,2,1) y M es el muérdago, por ejemplo, para el material producido en ácido en una relación 4:1 de PET y muérdago la nomenclatura sería HCA-P4M1.

Caracterización

- FT-IR (Infrarrojo por transformada de Fourier), para observar los cambios estructurares y los grupos funcionales que se formen.
- BET (Brunauer, Emmett y Teller): Area Superficial
- Análisis elemental: Relación entre (Carbono, Hidrógeno y Oxígeno) y analizar los materiales de acuerdo al diagrama Van Krevelen

RESULTADOS

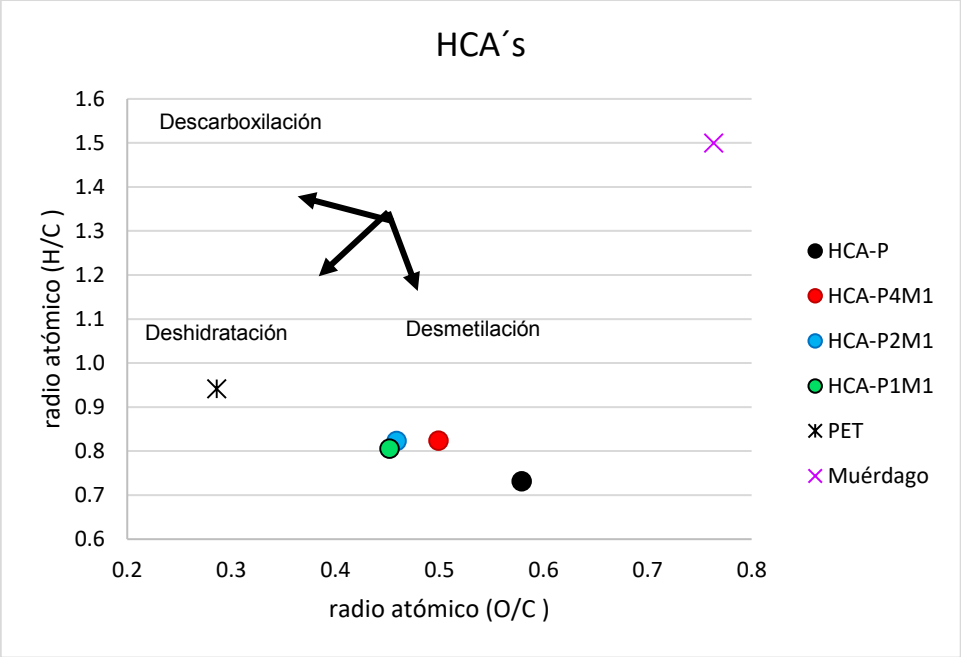
De acuerdo a los resultados del porcentaje de rendimiento en masa para los materiales hechos en medio ácido, se observa que al aumentar biomasa a la producción de HC disminuye el rendimiento, lo cual se atribuye a la mayor facilidad de la biomasa para sufrir reacciones de deshidratación y descarboxilación, generando productos gaseosos y solubles que no se retienen en la fase sólida. (Tabla 1). Observando el diagrama Van Krevelen (Figura 1), podemos ver una deshidratación y descarboxilación de los materiales a los que se les agregó biomasa, observando que el H_2SO_4 favorece la hidrólisis ácida de los polisacáridos (como la celulosa y la hemicelulosa del muérdago), liberando azúcares que se deshidratan fácilmente con el proceso de CHT, esto ayuda una mayor formación de estructuras condensadas, por otro lado, el medio ácido en el proceso de CHT puede descomponer ácidos carboxílicos que favorece la disminución de H, y grupos oxigenados, en lugar de estos pueden agregar grupos de $-SO_3H$.

Además, la evaluación de la relación H/C y O/C que refleja la evolución de la estructura química de los materiales, se observa que, con un aumento de biomasa en las relaciones de materia prima inicial (PET y Muérdago solos), se genera una disminución de H/C que implica pérdida de hidrógeno, indicando que los enlaces C-H se han convertido en enlaces C=C o estructuras aromáticas, por otra parte se tiene una relación de H/C >0.5 que reitera la presencia de grupos funcionales oxigenados como carboxilos, hidroxilos y carbonilos.

Tabla 1. Nomenclatura y rendimientos de materiales hechos en medio ácido

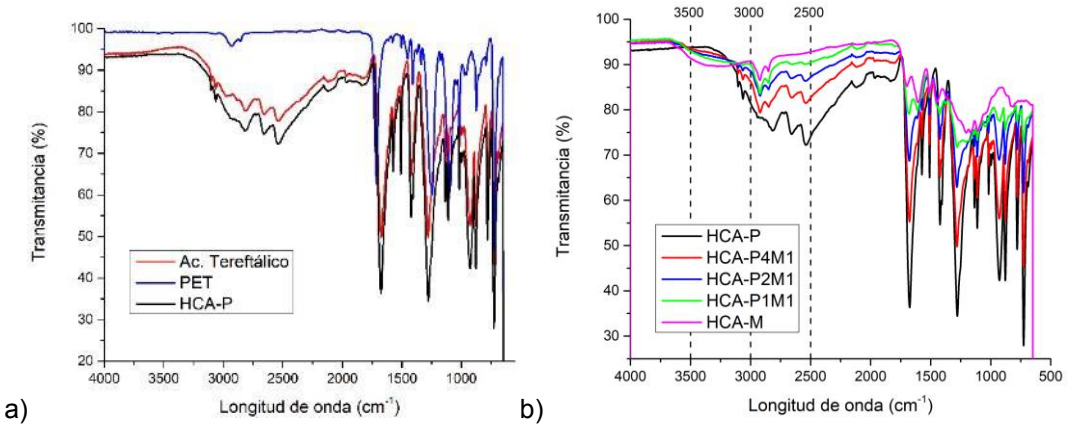
Sólido		Nomenclatura	Rendimiento en peso
Material	Relación		
PET	1	HCA-P	80%
PET:Muérdago	4:1	HCA-P4M1	77%
PET:Muérdago	2:1	HCA-P2M1	76%
PET:Muérdago	1:1	HCA-P1M1	75%

Figura 1. Diagrama Van Krevelen de comparación de los diferentes materiales



Para los materiales hechos en medio ácido, los espectros del FT-IR (Figura 2) se observan cambios estructurales significativos cuando se hace el proceso de CHT con solo PET (Figura 2a) indicativo de que el medio, la temperatura y la presión dentro del rector lograron romper la estructura polimérica del PET transformándolo en otro compuesto que observando señales (1580 y 1513 cm-1) indicativas de vibraciones de estiramientos de enlaces C=C referentes a los compuestos aromáticos, esto se refuerza con la presencia de estiramientos de enlaces -CH de grupos aromáticos (3100 y 3061 cm-1), además se pueden ver una señal intensa característica del grupo carbonilo (1673 cm-1), señales de torsión y estiramiento del grupo carboxilo (1420 cm-1), una señal ancha por estiramiento del OH (3000-2200 cm-1), torsiones fuera del plano del carbonilo (960-875 cm-1) referentes a ácidos carboxílicos, además de señales de estiramiento simétrico y asimétrico de enlaces carbonilo dobles (1280 cm-1), por lo anterior el espectro se comparó con el espectro del ácido tereftálico observando que tiene una gran similitud (Figura 2a). Por otro lado, los materiales hechos con co-CHT (Figura 2b), se observan vibraciones de enlaces simples de -OH en las longitudes de onda de 3500 a 3200 cm-1, así como vibraciones simétricas (2860 cm-1) y asimétricas (2930 cm-1) de enlaces -CH, estos grupos hidroxilo y alifáticos son obtenidos de la parte de la biomasa que se agregó al reactor. Por otro lado se observa la presencia de grupos de $-SO_3H$, debido a las señales de estiramientos asimétricos (1280 cm^{-1}) y asimétricos de S=O (1017 cm^{-1}).

Figura 2. a) FT-IR materiales PET, HCB-P y ácido tereftálico b) FT-IR de materiales de HC hechos en medio ácido



Además, se determinó el área superficial por el procedimiento estándar de Brunauer Emmett Teller (BET), donde se utilizó la adsorción de nitrógeno con una presión relativa de 0.99, con esto se observó que el material HCA-P4M1 presenta la mayor área superficial (2.297 m²/g), lo cual sugiere que esta proporción entre PET y muérdago favorece la generación de una estructura más porosa y, potencialmente, con mayor capacidad de adsorción (ver Tabla 2). En cambio, HCA-P1M1, que contiene la mayor proporción de biomasa en relación al polímero, muestra la menor área superficial (0.835 m²/g), indicando que el exceso de muérdago reduce esta propiedad. A medida que aumenta la proporción de muérdago (de HCA-P a HCA-P1M1), el tamaño de poro también se incrementa (de 10.753 a 14.781 nm), lo cual indica una transición hacia una estructura con poros más amplios, del tipo mesoporoso. El mayor volumen de poro también lo presenta HCA-P4M1, lo que reafirma que esta composición ofrece el equilibrio más favorable entre tamaño y cantidad de poros.

Tabla 2. Resultados de análisis BET de los materiales de HC

Datos BET de HCA´S				
	HCA-P	**HCA-P4M1**	**HCA-P2M1**	**HCA-P1M1**
Área superficial BET (m²/g)	1.023	2.297	1.526	0.835
Área superficial Langmuir (m²/g)	4.352	3.841	4.352	4.352
Volumen de poro (cm³/g)	0.0028	0.0065	0.0049	0.0031
Tamaño de poro (nm)	10.753	11.284	12.842	14.781

CONCLUSIONES

Tras analizar los datos recopilados, se concluye que la co-carbonización hidrotermal (co-CHT) permite una integración efectiva de biomasa y polímeros, dando como resultado un hidrocarbón con propiedades químicas y estructurales modificadas. El análisis mediante FT-IR y CHONS evidencia la incorporación de grupos funcionales oxigenados como carboxilos, hidroxilos y carbonilos, los cuales favorecen la interacción con contaminantes. Por otro lado, la caracterización por BET revela que la proporción de biomasa en la mezcla influye de manera directa sobre la estructura porosa del material. Se observó que una relación intermedia de biomasa y PET proporciona el mejor equilibrio entre área superficial y volumen de poro, condiciones clave para optimizar la capacidad adsorbente. Estos hallazgos resaltan el potencial de la co-CHT no solo como una estrategia para la valorización

de residuos orgánicos e inorgánicos, sino también como una vía viable para el diseño de materiales funcionales orientados a la remoción de contaminantes disueltos en agua.

BIBLIOGRAFÍA

Bardhan, M., Mamun, N. T., Tabssum, M., Islam, M. A., Islam, M. A., & Hameed, B. (2020). Co-hydrothermal Carbonization of fifferent feedstocks to hydrochar as potential energy for the future world: A review. *Journal of Cleaner Production*.

Béraud, E., Bednarz, V., Otto, I., Golbuu, Y., & Ferrier-Pagès, C. (6 de Julio de 2022). Plastics are a new threat to Palau's coral reefs. (J. Guest, Ed.) *PLos ONE, 17*(7), 7. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270237

Eriksen, M., Cowger, W., Erdle, L., Coffin, S., Villarrubia Gómez, P., Moore, C., . . . Wilcox, C. (8 de Marzo de 2023). A growing plastic smog, now estimated to be over 170 trillion plastic particles afloat in the world's oceans—Urgent solutions required. (J. Hewitt, Ed.) *PLoS ONE, 18*, 3. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281596

Fernández, M., Ledesma, B., Román, S., Bonelli, P., & Cikierman, A. (Mayo de 2015). Development and characterization of activated hydrochars from orange peels as potential adsorbents for emerging organic contaminants. *Bioresource Technology, 183*, 221-228. doi:https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.035

Furfaro , G., D'Elia, M., Mariano, S., Trainito, E., Solca , M., Pirano , S., & Belmonte, G. (17 de 06 de 2022). SEM/EDX analysis of stomach contents of a sea slug snacking on a polluted seafoor reveal microplastics as a component of itsdiet. *Scientific Reports, 12*(1), 1-13. doi:10.1038/s41598-022-14299-3

Gao, P., Zhou, Y., Meng, F., & Zhang, Y. (15 de Febrero de 2016). Preparation and characterization of hydrochar from waste eucalyptus bark by hydrothermal carbonization. *Energy, 97*, 238-245. doi:https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.12.123

Huang, J. F. (2023). A bibliographic study reviewing the last decade of hydrochar in environmental application: history, status quo, and trending research paths. . *Biochar, 5*(1), 12.

Khosravi, A. Z. (2022). Production and characterization of hydrochars and their application in soil improvement and environmental remediation. *Chemical Engineering Journal*, 133142.

Latham, K., Jambu, G., Joseph, S., & Donne, S. (2014). Nitrogen Doping of Hydrochars Produced Hydrothermal Treatment of Sucrose in H2O, H2SO4, and NaOH . *ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 2*, 755-764. Obtenido de pubs.acs.org/journal/ascecg

Lin, Y. G. (2020). Investigation of hydrothermal co-carbonization of waste textile with waste wood, waste paper and waste food from typical municipal solid wastes. *Energy, 210*, 118606.

Malghani, S., Jüschke, E., Baumert, J., & Thuille, A. (Enero de 2015). Carbon sequestration potential of hydrothermal carbonization char (hydrochar) in two contrasting soils; results of a 1-year field study. *Biology & Fertility of Soils, 51*, 123-134. doi:http://doi.org/10.1007/s00374-014-0980-1

Mohan , D., Sarswat, A., & Y. S., &. (2014). Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent–a critical review. *Bioresource technology, 160*, 191-202.

Pineda Pineda, M. X., & Flórez, G. D. (2019). *Evaluación del Hydrochar producido por tratamiento hidrotermal como medio adsorbente de color de un agua residual.* Universidad de La Salle, Facultad de Ingeniería. Ingeniería Ambiental y Sanitaria.

Pratriwi, D. S., Udaibah, W., & Kustomo, K. (30 de Junio de 2021). Synthesis of Hydrochar Cassava peels with hydrothermal carbonization method and applications as hard water softener. *Journal of Natural Sciences and Mathematics Research, 7*(1). doi:https://doi.org/10.21580/jnsmr.2021.7.1.11283

Shettigondahalli Ekanthalu, V. N. (2021). Influence of acids and alkali as additives on hydrothermally treating sewage sludge: effect on phosphorus recovery, yield, and energy value of hydrochar. *Processes, 9*(4), 618.

Titirici, M.-M., & Antonietti, M. (24 de Septiembre de 2009). Chemistry and materials options of sustainable carbon materials made by hydrothermal carbonization. *Chemical Society Reviews*(39), 103-116. doi:10.1039/B819318P

Valderrama Ocoró, M., Chavarro Guzmán, L., Osorio Gómez, J., & Peña Montoya, C. (Junio de 2018). Estudio dinámico del reciclaje de envases pet en el Valle del Cauca. *Lasallista de Investigación, 15*(1). doi:https://doi.org/10.22507/rli.v15n1a6

Wang, T. Z. (2018). A review of the hydrothermal carbonization of biomass waste for hydrochar formation: Process conditions, fundamentals, and physicochemical properties. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 223-247.

Yao, Z. &. (2018). Characteristics of co-hydrothermal carbonization on polyvinyl chloride wastes with bamboo. *Bioresource Technology, 247*, 302-309.

Ye , L., Zhang , J., Wang, G., & Wang, C. (15 de Enero de 2023). *Energy* (Vol. 263). ELSEVIER. Obtenido de https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.125903

Zhao, Y., Tian , Y., Zhou, H., & Yuanyu, T. (15 de Noviembre de 2020). Hydrothermal conversion of black liquor to phenolics and hydrochar: Characterization, application and comparison with lignin. *Fuel, 280*(118651). doi:https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118651

Zhou, F. L. (2022). Efficient removal of methylene blue by activated hydrochar prepared by hydrothermal carbonization and NaOH activation of sugarcane bagasse and phosphoric acid. *RSC advances, 12*(3), 1885-1896.

REMOCIÓN DE COLORANTE TEXTIL AB1 A TRAVÉS DE ADSORCIÓN Y TRATAMIENTOS OXIDATIVOS (FENTON Y PERÓXIDO)

Carolina Gissel Miranda Arizmendi[1]. María del Carmen Díaz Nava[1]. Martha Manjarrez Olvera[1]. Maribel Verónica Albíter López[1]. Edith Erielia Gutiérrez Segura[2]. Teresa Torres Blancas[1].

[1]Instituto Tecnológico de Toluca, TecNM. Av. Tecnológico 100-s/n, Agrícola, 52149 Metepec, Méx.
[2]Facultad de Química UAEMEX, Instituto Literario No.100, Col. Centro.
mm24280633@toluca.tecnm.mx[1]

RESUMEN

La descarga de efluentes provenientes de la industria textil es una problemática global actual debido a las afectaciones ambientales como la eutroficación de cuerpos de agua y su toxicidad, que deriva en problemas de salud con efectos mutagénicos en animales y plantas. El colorante azoico acid black one (AB1) es utilizado en la industria textil, sin embargo, un inconveniente que presenta es su difícil degradación a través de métodos convencionales, ya sean químicos o biológicos, por lo que, debido a la problemática ambiental de este colorante surge la necesidad de proponer alternativas eficientes y sustentables para su eliminación. En esta investigación se presentan los resultados de la evaluación de un proceso de oxidación avanzada tipo Fenton heterogéneo utilizando una zeolita natural tipo clinoptilolita acondicionada con hierro.

La reacción de Fenton es un proceso químico que utiliza H_2O_2 y un catalizador estable para generar radicales hidroxilos (•OH), los cuales son altamente reactivos, con la capacidad de degradar y mineralizar compuestos contaminantes. La reacción de Fenton heterogénea es una variante de la reacción de Fenton tradicional (homogénea) y aborda algunas de las limitaciones del proceso original, como la generación de lixiviados, haciendo uso de un catalizador. La zeolita natural tipo Clinoptilolita (ZNat) fue seleccionada como potencial catalizador por sus propiedades superficiales y de intercambio iónico; para su preparación primero fue tamizada a un tamaño de 0.595 mm, luego homoionizada con NaCl y finalmente acondicionada con $FeCl_3$ a temperatura ambiente por inmersión, el catalizador heterogéneo fue identificado como ZeFe.

Para conocer la morfología y análisis elemental del catalizador se emplearon las técnicas de microscopía electrónica de barrido con espectroscopía de dispersión de barrido (MEB/EDS), el área específica se determinó por el método BET y las bandas características de los espectros de las muestras de zeolitas se identificaron por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR). Después del acondicionamiento se observó un incremento en el contenido de hierro de ZNat=0.45±0.11 %w a ZeFe=6.74±0.26 y del área específica, de 25.31 m^2/g a 33.90 m^2/g.

Los procesos de adsorción, oxidación con peróxido de hidrógeno y Fenton heterogéneo fueron evaluados sin agitación a diferentes tiempos de contacto, en un volumen de reacción de 10 mL de solución de AB1 (Ci=100 mg/L), se evaluó el efecto de la masa de catalizador empleada (50, 150 y 300 mg de ZeFe), en los procesos de oxidación se aplicó una dosis de 200 µL de H_2O_2. La respuesta sobre la degradación de AB1 fue evaluada a través de UV/Vis mediante una curva de calibración, determinando el porcentaje de decoloración.

La aplicación del proceso Fenton heterogéneo usando zeolita férrica resulta prometedor ya que alcanzó un máximo del 90% de decoloración a las 48 h de contacto con las siguientes condiciones: 300 mg de zeolita férrica, Ci= AB1 de 100 mg/L y 200 µL de H_2O_2, en contraste, los procesos de adsorción y oxidación obtuvieron un 48% y 20% de decoloración, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la industria textil es uno de los sectores productivos que causa mayor contaminación en efluentes líquidos, lo anterior está relacionado a la alta concentración de colorantes sintéticos no fijados en las fibras y la gran cantidad de agua utilizada en el proceso de teñido, aunado a esto, la estructura química de los colorantes sintéticos es compleja, lo cual los hace poco biodegradable y con propiedades recalcitrantes que pueden inducir a efectos mutagénicos en distintas especies y llegar a causar eutroficación a los ecosistemas acuáticos. Las moléculas de colorantes por lo general contienen estructuras químicas estables que no pueden ser destruidas por los métodos convencionales para tratamiento de aguas residuales, por ejemplo, procesos físicos por adsorción con bentonita/TiO_2/ZnO han logrado un 89% de remoción en 120 min (Jamil, 2024) si bien; son eficaces para la eliminación del color en muchos casos, simplemente transfieren contaminantes a otros medios, generando así, residuos secundarios. Por otro lado, los tratamientos biológicos no son viables para efluentes con alta carga no biodegradable, al no cumplir una relación DBO/DQO inferior a 0.4. Por ende, surgen como alternativa los procesos de oxidación avanzada (POA), estás son tecnologías destructivas, con baja o nula generación de residuos, que implican la producción de radicales hidroxilos los cuales oxidan la mayoría de los compuestos orgánicos presentes en matrices acuosas contaminadas. Dentro de la clasificación de los POA, se encuentran los procesos heterogéneos, específicamente los de tipo fotoquímicos que utilizan una fuente luminosa (UV/H_2O_2/catalizador); en este sentido, los catalizadores sólidos enriquecidos con hierro empleados en los procesos heterogéneos tienen que representar ventajas, tales como costo, accesibilidad, baja toxicidad y alta reactividad. Entre los catalizadores empleados para llevar a cabo reacciones tipo Fenton aplicando POAs los soportes catalíticos que se han utilizado están las bentonitas, arcillas pilareadas, resinas o zeolitas sintéticas y naturales. Específicamente, el uso de zeolitas como catalizadores en procesos Fenton heterogéneo (ZCF), se ha investigado por su capacidad de adsorción y catálisis para la restauración de la calidad del agua, enfatizando las ventajas de sus propiedades inherentes, tales como: resistencia mecánica y térmica, porosidad, elevada área específica, propiedades de intercambio iónico y selectividad, que los hace especialmente viables para aplicaciones en un proceso Fenton heterogéneo para el tratamiento de efluentes textiles. Respecto a el uso de zeolitas naturales como ZCF, recientemente se han estudiado diversos métodos de acondicionamiento para enriquecerlas con metales activadores para la generación de especies radicalarias reactivas mediante como los radicales hidroxilos los cuales promueven la degradación y/o mineralización de especies en procesos catalíticos Fenton heterogéneo. El objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia de remoción del colorante textil acid black one (AB1) mediante POA, tipo Fenton heterogéneo fotoquímico solar empleando una zeolita tipo Clinoptilolita modificada con hierro y comparar los efectos individuales de adsorción (sin adición de peróxido) y la oxidación simple del colorante (con adición de H_2O_2). Para ello, se estudiaron las variables de masa de catalizador ZCF (50, 150 y 300 mg), en un reactor tipo Batch de 10 mL con una dosis de 200 µL de H_2O_2, para llevar a cabo las reacciones tipo Fenton. También, el catalizador empleado en el proceso ZCF fue caracterizado para determinar si la especie catalítica fue debidamente incorporada sobre la estructura del mineral zeolítico y de esta manera llevar a cabo la generación de especies radicalarias que promuevan la degradación de AB1, basadas en la reacción de Fenton.

TEORÍA

De acuerdo con Kishor *et al*. (2021) las concentraciones de colorantes presentes en las aguas residuales procedentes de la industria textil pueden variar del 2 al 50% de la concentración inicial de colorante usado durante el proceso productivo, de manera que gran cantidad del colorante usado inicialmente, se pierde durante el proceso de teñido de los tejidos. De la gran gama de colorantes empleados en la industria, los colorantes azoicos son el tipo de tinte más producido con una tasa de producción del 70% y se utilizan predominantemente en la industria textil, de alimentos, de papel, industrias de impresión, cuero y cosméticos (Khateresan *et al*., 2018).

Colorantes tipo azo

Los colorantes azo son coloreados debido a la descolocación de electrones en sistemas conjugados, su estructura usualmente contiene uno o más enlaces azo (-N=N-) que acoplan sistemas aromáticos

que contienen grupos auxocromos como son: -OH, $-NH_2$, $-NO_2$, -COOH y/o SO_3H. El impacto ambiental de estos colorantes no solamente se debe al color, si no el hecho de que muchos colorantes azoicos y sus productos de degradación (con frecuencia aminas incoloras) son tóxicos y/o mutagénicos para los organismos vivos (Bopape *et al*., 2024).

Ácido negro 1

El colorante azoico AB1 por sus siglas en inglés “Acid Black one” ó ácido negro uno, tiene diversos sinónimos, tales como: Amido Black 10B, Buffalo Black NBR y Naphthol Blue Black. Las características generales de este colorante textil se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Características generales del colorante:

Fórmula molecular química:	$C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$
Peso molecular:	616.49 g/mol
No. CAS :	1064-48-8
Aspecto:	Polvo color marrón oscuro
Olor:	Inoloro
pH:	aprox.9.0 a 10 g/l a 25 °C (77 °F)
Solubilidad en agua	aprox.32.35 g/l a 20 °C (68 °F)
Biodegradabilidad	No biodegradable

Sigma-Aldrich. (2024). *Ficha de datos de seguridad del reactivo Naphtol blue black* (Cat. No. 195243). Recuperado de https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/naphtol

Los colorantes azoicos son ampliamente utilizados en la industria textil, la impresión, la fabricación de papel, etc., más de la mitad de los colorantes disponibles en el mercado son compuestos azoicos, esto debido a la demanda de telas con colores brillantes, característica que contienen cromóforos azoicos con grupos reactivos, como clorotriazina, vinilsulfona, tricloropirimidina y diclorofluoropirimidina (Muniyasamy *et al*., 2020). Además, los colorantes azoicos se caracterizan por su estabilidad fisicoquímica y han atraído cada vez más atención debido a su amplia gama de colores, luminosidad, simplicidad de fabricación y buen rendimiento de teñido (Benkhaya *et al*., 2020)

Tratamiento de efluentes textiles

Los tratamientos a los que se someten las aguas residuales deben garantizar la eliminación de las moléculas contaminantes y esto puede lograrse a través de diversos métodos, en la figura 1 se presentan los métodos utilizados en el tratamiento de efluentes textiles.

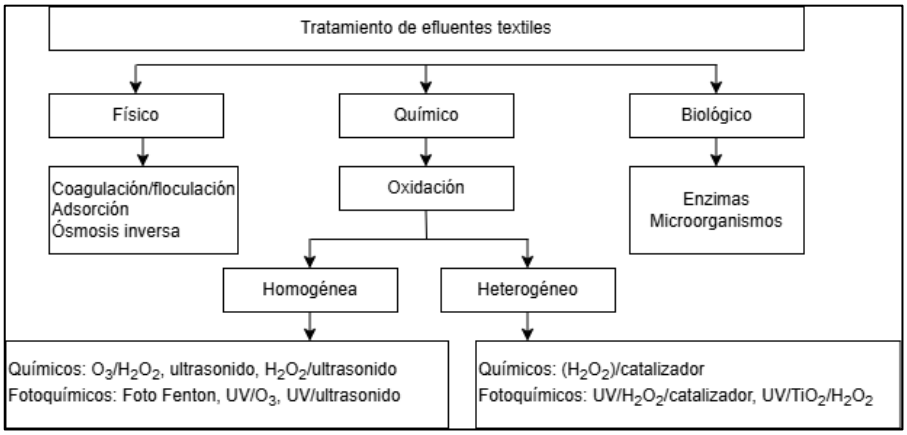


Figura 1. Métodos de tratamiento para efluentes textiles

De manera particular, los procesos químicos oxidativos transforman los contaminantes en compuestos no tóxicos, ya sea a la conversión a dióxido de carbono y agua o en sustancias más sencillas y biodegradables que permitan la descarga del efluente tratado, sin originar problemas de ecotoxicidad (Rodríguez *et al*., 2006). Las normas mexicanas referentes a los límites máximos permisibles de efluentes textiles son:

- **NOM-001-SEMARNAT-2021**, que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación.
- **NOM-CCA-014-ECOL/1993**, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de la industria textil.
- **NMX-AA-017-SCFI-2021**. Análisis de agua-medición de color verdadero en aguas naturales, residuales, residuales tratadas y marinas-mediante coeficientes de absorción espectral-método de prueba (cancela a la NMX-AA-017-1980).

De manera particular, los colorantes azoicos son difíciles de degradar por medio de procesos convencionales fisicoquímicos o biológicos, por ello, surgen nuevas alternativas, a través de vías oxidativas tipo heterogéneo fotoquímico.

Fenton homogéneo

De acuerdo con Li *et al*. (2023) el proceso clásico de Fenton consiste en producir sustancias reactivas a través de un catalizador (hierro) y un oxidante (peróxido de hidrógeno) para la producción de grupos hidroxilo, con un poder oxidativo de E°=2.77 eV, capaz de descomponer las moléculas orgánicas de los colorantes sintéticos, algunas ventajas son que la operación se puede realizar a temperatura y presión atmosféricos y el peróxido se puede incorporar posteriormente al ambiente como agua y oxígeno, sin embargo Wang *et al*. (2019) menciona algunas desventajas como el rango limitado de pH (próximo a 3), iones metálicos remanentes en los residuos y la necesidad de separación del catalizador después del proceso; por ello, en busca de superar estas limitaciones de operación a bajo pH y recuperación del catalizador gastado del efluente, surge otra clasificación a partir del proceso clásico de Fenton llamada Fenton-like tipo heterogéneo.

Fenton heterogéneo

En los procesos Fenton heterogéneos, donde el Fe^{+2} actúa como catalizador y es soportado en estado sólido sobre algún material en menor cantidad o proporción, genera ventajas sobre los procesos Fenton homogéneos. Los procesos Fenton heterogéneo deben su efectividad a la formación de grupos hidroxilo los cuales son generados por la reacción entre el peróxido de hidrógeno en solución acuosa y la especie de hierro inmovilizada en la superficie del material. Las ventajas de este método es la baja cantidad de hierro requerida en el material y el rango amplio de pH, y como lo indica Arimi (2017) la formación de una cantidad mínima o inexistente de lodo hace que este tipo de tratamientos sea prometedor en comparación con otros tratamientos para aguas coloreadas provenientes de efluentes textiles. Otra de las ventajas que tienen los procesos Fenton heterogéneos es que el catalizador empleado puede ser separado fácilmente del efluente para su reutilización lo cual implica un ahorro en operación.

Foto Fenton solar

Dentro de los POAs y con relación a los procesos Fenton heterogéneos, se han desarrollado métodos catalíticos heterogéneos empleando materiales sólidos que contienen elementos metálicos como Fe, Cu, Co, Al y Mn los cuales en conjunto con una especie oxidante como el H2O2, pueden llevar a cabo reacciones tipo Fenton y de esta manera generar radicales hidroxilos eficientemente. Debido a el poder redox del radical HO• E°= 2.77 eV, esta especie radicalaria puede propiciar directamente el rompimiento de moléculas complejas para degradarlas o destruirlas, ya que es una especie muy reactiva e inestable. Basados en que la reacción de Fenton se apoya de la actividad catalítica entre el hierro y el H2O2, el sistema redox involucrado puede mejorarse significativamente mediante la irradiación de luz, a lo anterior se denomina fotocatálisis heterogénea Fenton, en la cual

los electrones en la banda de valencia de un catalizador semiconductor se excitan bajo la irradiación de luz y se desplazan hacia la banda de conducción, los electrones excitados potencian la transformación de H_2O_2 en HO•. Por lo tanto, recientemente se ha considerado la catálisis foto-Fenton heterogénea como un enfoque alternativo más práctico y eficiente para la purificación de aguas residuales de contaminantes orgánicos resistentes (Brindha et al., 2018; Doan et al., 2020). La eficiencia de la degradación fotocatalítica en el tratamiento de aguas residuales textiles depende en gran medida a los parámetros operativos iniciales, que incluyen la concentración de contaminantes, el tiempo de reacción, la temperatura, el pH y la carga de catalizador (Brindha et al., 2018). Los POA basados en la degradación fotocatalítica se caracterizan por su bajo coste operativo a presión y temperatura ambiente, y logran una mineralización completa además son respetuosos con el medio ambiente, considerando que la degradación fotocatalítica mediante luz solar es rentable (Dihom et al., 2022).

Zeolitas como catalizadores para procesos Fenton heterogéneo (ZCF)

El desarrollo de catalizadores heterogéneos que sirvan como soporte en la aplicación de procesos tipo Fenton heterogéneo debe contener las propiedades de selectividad, alta actividad catalítica, área superficial y tamaño de poro (Rodríguez *et al*., 2020). Las zeolitas han sido reportadas como soportes adecuados para reacciones Fenton por su estructura porosa y gran área superficial que facilita la difusión de reactivos y promueve la accesibilidad de los sitios activos de catalizadores con precursores metálicos (Wang *et al*., 2021), además de ser sostenibles y rentables (Barros *et al*., 2024). De manera particular, la zeolita tipo Clinoptilolita, se encuentra de manera abundante en zonas volcánicas de México, es estable a la deshidratación, posee alta capacidad de intercambio iónico y estabilidad térmica. La estructura de la Clinoptilolita es monoclínica y está constituida por celdas elementales de tetraedros de aluminio y silicio (Tsitsishvilli *et al*, 1992). Algunos métodos que se han desarrollado para lograr un mayor rendimiento catalítico en los soportes sólidos a base de ZCF son: electroquímicos, método sol-gel, precipitación, impregnación, evaporación, y el hidrotermal, siendo este último el más utilizado en el caso de las zeolitas. Las zeolitas intercambiadas con hierro actúan como catalizadores para la reacción Fenton, donde el ciclo REDOX (Fe^{3+}/Fe^{2+}) se ve mejorado por la presencia del soporte. El intercambio de Fe^{3+} en la zeolita estimula la reacción Fenton, lo que confirma que las especies iónicas promueven el ciclo REDOX del hierro (Benchearoun *et al*., 2022).

Métodos de acondicionamiento de zeolitas como ZCF

Los minerales zeolíticos presentan limitaciones en su uso como catalizadores tales como la presencia de impurezas o la falta de uniformidad en su composición química, por lo que se han estudiado diferentes métodos para su acondicionamiento en relación con la generación de materiales con actividad catalítica. El rendimiento de la ZCF está estrechamente relacionado con el método de preparación del catalizador. Los metales de transición o sus compuestos se incorporan a las zeolitas para aprovechar al máximo la funcionalidad catalítica. Los metales de transición o sus compuestos inmovilizados en las zeolitas actúan como las principales especies activas para reaccionar con el H_2O_2 en las ZCF. Los tres métodos comunes para preparar catalizadores aplicados a reacciones ZCF son (Shangguan *et al*., 2022):

a) Impregnación

Los componentes activos pueden penetrar en la superficie interna de la zeolita, como en la captación del líquido en los poros de la zeolita a través de la presión capilar. Los componentes activos pueden luego depositarse sobre las superficies internas y externas de la zeolita después de que el solvente se evapore, por lo que el método de impregnación generalmente no requiere filtración ni lavado adicionales, y por lo tanto facilita la carga de especies metálicas. Este método tiene dos variantes:

- Húmeda (uso de un volumen excesivo de solución precursora en relación con el volumen de poro de la zeolita).
- Humedad incipiente o capilar (el volumen de la solución precursora es igual o ligeramente mayor que el volumen de poro de la zeolita).

b) Intercambio iónico

Los iones metálicos reemplazan a los cationes intercambiables en los canales y jaulas, se clasifica en dos:

- Intercambio iónico en estado sólido: mezcla de la sal metálica sólida con el polvo de zeolita, que luego se seca, se lava y se calcina.
- Intercambio iónico húmedo: similar al método de impregnación, pero requiere filtración y lavado adicionales.

En comparación con el método de impregnación, el método de intercambio iónico no solo puede cargar las especies metálicas en la superficie exterior de los cristales de zeolita, sino también dentro de los canales y jaulas. Por lo tanto, el método de intercambio iónico muestra una mayor dispersabilidad en comparación con el método de impregnación.

c) Hidrotermal

La mezcla del precursor metálico y la zeolita se hace reaccionar en un reactor hidrotermal a una cierta temperatura durante un tiempo determinado (más de 24 h), posteriormente las muestras obtenidas se filtran, se lavan, se secan y por último se calcinan.

El método hidrotermal puede encapsular centros activos en los canales y jaulas de zeolita o incluso incorporarse en la estructura de zeolita para formar iones metálicos de estructura. Esto hace que el componente metálico y la unión de la zeolita sean más firmes y, por lo tanto, el catalizador sintetizado a través del método de síntesis hidrotermal tiene una mejor estabilidad.

PARTE EXPERIMENTAL

Las etapas experimentales desarrolladas en este proyecto se dividen en: preparación del catalizador a partir de una zeolita natural tipo clinoptilolita, caracterización del material catalítico mediante diversas técnicas (MEB/EDS, FT-IR y BET) y los experimentos de decoloración del colorante textil de interés AB1, mediante tres procesos de remoción: adsorción, foto Fenton heterogéneo solar y oxidación por peróxido.

Preparación del catalizador

Se denominó como ZNat al mineral zeolítico natural tipo clinoptilolita proveniente de Tehuacán, Puebla; con tamaño de partícula malla no. 30 (0.595 mm). El material ZNat fue sometido a homoinización por intercambio iónico mediante una solución de NaCl a temperatura ambiente y sin agitación. Posteriormente ZNat fue sometido a un acondicionamiento con $FeCl_3$ bajo las mismas condiciones anteriores denominado a este material ZeFe el cual es el catalizador de interés para llevar a cabo las reacciones ZCF.

Caracterización del catalizador

Se determinó la morfología y composición elemental mediante la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido con Espectroscopía de Dispersión Electrónica (MEB/EDS), el área específica se determinó por el método BET y las bandas características de los espectros de las muestras de zeolitas se identificaron por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR).

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB/EDS)

Con el fin de observar la morfología y topografía del material zeolítico, se empleó el microscopio electrónico de barrido de bajo vacío JEOL JSM 6610LV equipado con un detector de rayos X marca OXFORD para el análisis semicuantitativo elemental por la técnica EDS, este es un método para identificar composiciones elementales de la superficie de una muestra.

Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

La presencia de grupos funcionales del material zeolítico, se realizó mediante la identificación de bandas características del material a través de la espectroscopia infrarrojo por transformada de Fourier en el equipo Jasco ATR PRO4X VIEW, en un rango de análisis de 4000 a 400 cm^{-1}, las bandas de vibración son expresadas a través de la transmitancia (%).

Área específica (BET)
La determinación del área específica, volumen y tamaño de poro, se realizó a partir de las isotermas de adsorción/desorción de nitrógeno a 196 °C (77 K) mediante el método BET, utilizando el equipo Belsorp max. Antes del análisis, todas las muestras se desgasificaron en el equipo Belprerp vac II, a 115 °C al vacío ($1x10^{-1}$ KPa) durante 19 h para limpiar la superficie de cualquier impureza adsorbida.

Pruebas de decoloración de AB1
La evaluación del proceso foto Fenton solar se realizó con ZeFe (30 mesh) a distintas masas (50, 150 y 300 mg) fueron probadas en un volumen de 10 mL de solución con $[AB1]_i$= 100 mg/L y una dosis de $[H_2O_2]$=200 µL al 30%, en viales de vidrio a diferentes tiempos de reacción (2, 4, 6, 8, 24 y 48 h), en presencia de radiación solar. Una vez transcurrido el tiempo de contacto se separaron las fases y de los sobrenadantes se determinó la concentración de colorante mediante espectrofotometría UV/Vis a una longitud de onda de 621 nm en la región visible (r^2= 0.9993). Los experimentos fueron realizados por duplicado.

Se evaluó el efecto de adsorción del catalizador ZeFe sobre la $[AB1]_i$= 100 mg/L, en viales de vidrio con variación de masa del catalizador con exposición a radiación solar a distintos tiempos y sin dosis de H_2O_2 bajo las mismas condiciones experimentales descritas de masa de ZeFe. Por ultimo los sobrenadantes fueron separados y se determinó la concentración a través del UV/Vis.

El análisis del efecto del agente oxidante (H_2O_2) en contacto con $[AB1]_i$= 100 mg/L, sin presencia del catalizador ZeFe y bajo exposición de radiación solar se llevó a cabo en distintos intervalos de tiempo previamente establecidos. Los sobrenadantes obtenidos fueron analizados en el UV/Vis.

RESULTADOS

Caracterización del catalizador
Microscopía Electrónica de Barrido (MEB/EDS)
En la figura 2 se muestran las micrografías con su respectivo aumento correspondiente a la muestra zeolítica acondicionada analizada mediante MEB.

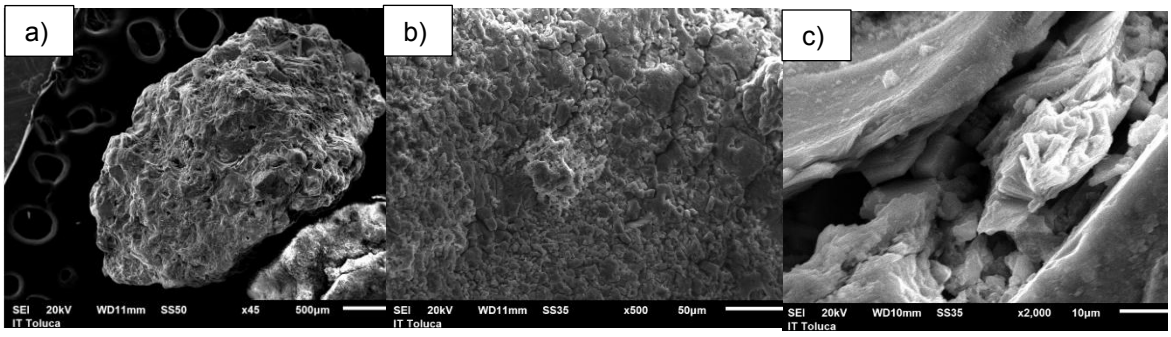


Figura 2. Imagen electrónica de ZeFe; a) imagen MEB a x45; b) imagen MEB a x500; c) imagen MEB a x2000.

La forma cristalina de la zeolita clinoptilolita por medio de MEB se visualiza de una forma monocíclica, el cristal se describe mediante vectores de distinta longitud que forman un prisma rectangular con un paralelogramo en su base similar a una forma de ataúd (Flores *et al*., 2006; Diaz *et al*., 2020), forma que se logra observar en la figura 2 c).

De acuerdo con la espectroscopia de dispersión de barrido EDS, la tabla 2 muestra los resultados obtenidos, tomando como referencia la composición elemental de la zeolita natural.

Tabla 2. Composición elemental de los materiales por EDS

	ZNat	ZeFe
Elemento	%w	%w
C	16.82±0.70	6.26±1.45
O	61.44±0.72	56.69±0.99
Na	N.I.	N.I.
Mg	0.83±0.10	0.43±0.08
Al	0.64±0.08	3.01±0.13
Si	4.03±0.14	24.54±0.49
Cl	N.I.	N.I.
K	N.I.	1.28±0.09
Ca	15.75±0.31	1.06±0.09
Fe	0.45±0.11	6.74±0.26

N.I.: No identificado.

De acuerdo con el análisis semicuantitativo, la zeolita natural sufrió un incremento aproximado del 7% en el elemento hierro después del acondicionamiento, es decir, el intercambio iónico fue satisfactorio entre los iones sodio y hierro, lo cual es favorable para las pruebas de remoción tipo Fenton.

Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR)

La figura 3 muestra las bandas características de los espectros de las muestras ZNat y ZeFe.

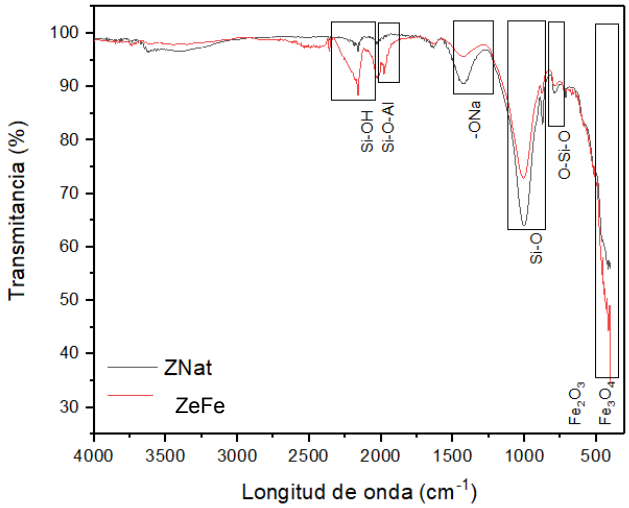


Figura 3. Espectros IR de muestras ZNat y ZeFe

Las bandas identificadas para cada enlace observado en el espectro se presentan en la tabla 3.2

Tabla 3. Tipo de vibraciones principales del material zeolítico

Tipo de vibración	Frecuencia (cm^{-1})
Fe_2O_3/ Fe_3O_4	450
Flexión interna O-Si-O	700
Tensión asimétrica del Si-O	1000
Tensión asimétrica de enlaces internos -ONa	1450
Torsión Al-O-Si y Si-OH	2500

El espectro IR de los materiales zeolíticos, presenta bandas representativas en la señal de 400 a 1700 cm^{-1}, tal como lo reporta Rodríguez *et al*. (1998) en este rango se presenta la influencia de las características de los cationes en la frecuencia y transmitancia de las vibraciones de la zeolita o comúnmente conocido como "huella dactilar". La banda característica con un valor de aproximado a 1000 cm^{-1}, es una señal fuerte correspondiente a la vibración de tensión asimétrico del Si-O (Montes *et al*., 2015; Brand & Lizcano, 2022). En el rango de 1500 a 1700 cm^{-1} del espectro IR de una zeolita natural tipo clinoptilolita muestra las vibraciones de los cationes de la zeolita (Rodríguez *et al*., 1998).

Área específica (BET)

En la tabla 4 se muestra el resumen de área específica (A), tamaño de poro (T) y volumen de poro (V_m), correspondientes a las muestras ZNat y ZeFe.

Tabla 4. Resumen análisis BET de ZNat y ZeFe

Muestra	A (m^2/g)	T (nm)	V_m (cm^3 (STP)/g)
ZNat	25.31	6.142	0.038
ZeFe	33.90	6.50	0.052

A: área superficial
T: tamaño de poro
V_m: volumen de poro

De acuerdo con la clasificación de la IUPAC, el tamaño de poro de las muestras zeolíticas son de tipo mesoporoso (2 a 50 nm) y lo reafirma la isoterma obtenida de tipo II-IV, características de materiales macro-mesoporosos; en referencia al tipo de histéresis presenta el tipo H3, que corresponde a materiales mesoporosos con poros en forma de rendija (Vargas *et al*., 2014).

En cuanto al área específica la muestra tiene un valor de 33.90 m^2/g que de acuerdo con Galicia (2022) el área específica de la zeolita natural tipo clinoptilolita puede variar entre 15 a 30 m^2/g, es decir, la muestra ZeFe tiene un valor levemente mayor a 30 m^2/g.

Pruebas de decoloración de AB1

Las figuras 4,5 y 6 muestran los perfiles de degradación para los procesos de remoción: foto Fenton solar, oxidación por peróxido y adsorción.

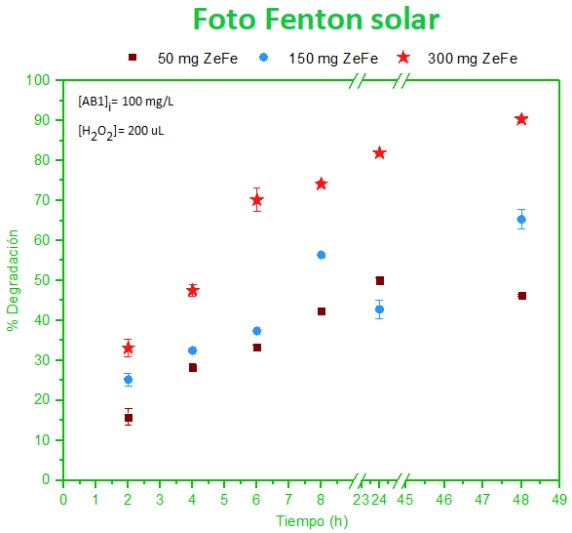


Figura 4. Perfil de degradación para tratamiento foto Fenton solar

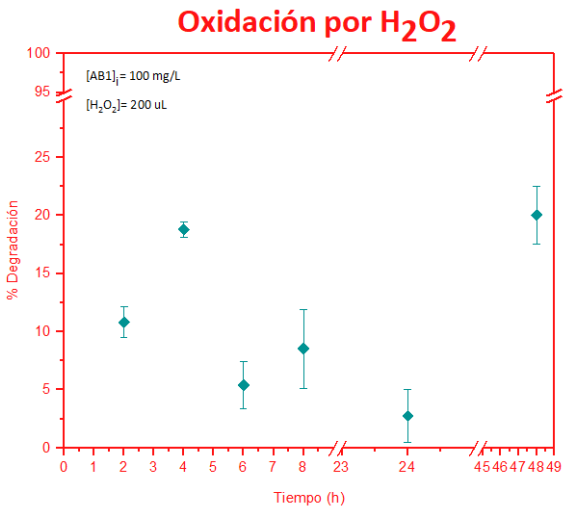


Figura 5. Perfil de degradación para el tratamiento por H_2O_2

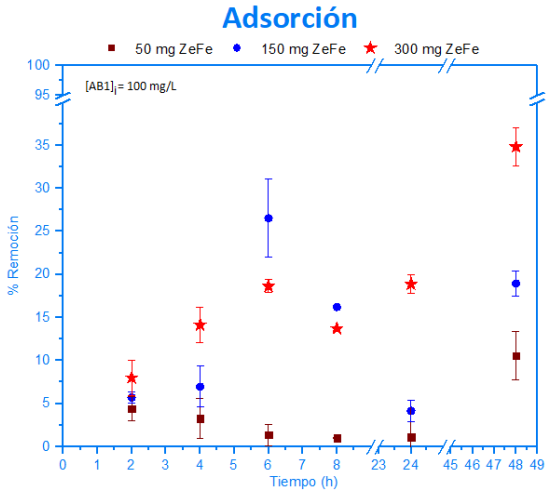


Figura 6. Perfil de remoción para el tratamiento de adsorción

El mayor porcentaje de degradación alcanzado fue de 90% en un lapso de 48 h, correspondiente al experimento foto Fenton solar en un volumen de reacción de 10 mL con $[AB1]_i$= 100 mg/L, $[H_2O_2]$=200 µL al 30% y 300 mg de ZeFe con exposición de radiación solar (ver figura 4); esto debido a la eficiencia en la catálisis otorgada por el uso de un catalizador enriquecido con hierro, además del uso de luz solar como acelerador de la reacción catalítica; por otro lado, el proceso de oxidación y adsorción individualmente obtuvieron un 20% (ver figura 5) y 48% (ver figura 6), respectivamente, ambas en 48 horas; lo anterior, demuestra que los procesos de adsorción y oxidación por peróxido no reflejan la misma eficiencia que el método foto Fenton solar.

El efecto en la dosis de masa de catalizador es un factor importante que contribuye en la primera etapa de la catálisis heterogénea, siendo la masa de 300 mg la que produce un efecto positivo, esto se puede ver reflejado en el porcentaje de remoción del proceso individual de adsorción.

CONCLUSIONES

El material zeolítico ZeFe demostró ser eficiente en un proceso foto Fenton solar, logrando un 90% de degradación del colorante AB1 en un lapso de 48 h con exposición solar, esto debido al previo enriquecimiento de hierro en el catalizador ZeFe para el proceso fotocatalítico en la descomposición de las moléculas orgánicas del colorante AB1. La evaluación de remoción de colorante por los métodos individuales de oxidación y adsorción alcanzaron porcentajes menores al 50%, por lo cual la degradación y retención del colorante, respectivamente, fueron ineficientes sin la sinergia otorgada por el método foto Fenton solar, mediante el uso de un catalizador férrico y un agente oxidante.

Agradecimientos
Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada para estudios de Posgrado (Carolina Gissel Miranda Arizmendi) y apoyo para estancia Posdoctoral (Teresa Torres Blancas).
Al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento recibido a través del Proyecto TecNM 22879.25-P.

BIBLIOGRAFÍA

Arimi, M. M. (2017). Modified natural zeolite as heterogeneous Fenton catalyst in treatment of recalcitrants in industrial effluent. *Progress in Natural Science: Materials International*, *27*(2), 275-282.
Barros, Ó., Parpot, P., Rombi, E., Tavares, T., & Neves, I. C. (2024). Machine learning approach for classification of REE/Fe-zeolite catalysts for fenton-like reaction. Chemical Engineering Science, 285, 119571.
Bencheqroun, Z., Sahin, N. E., Soares, O. S., Pereira, M. F., Zaitan, H., Nawdali, M., ... & Neves, I. C. (2022). Fe (III)-exchanged zeolites as efficient electrocatalysts for Fenton-like oxidation of dyes in aqueous phase. Journal of Environmental Chemical Engineering, 10(3), 107891.
Bopape, D. A., Ntsendwana, B., & Mabasa, F. D. (2024). Photocatalysis as a pre-discharge treatment to improve the effect of textile dyes on human health: A critical review. *Heliyon*.
Brand-Galvis, J. A., & Lizcano-Arias, A. C. (2022). Caracterización Térmica de la Zeolita Clinoptilolita y su Capacidad Como Suceptor de Microondas.
Brindha, R., Muthuselvam, P., Senthilkumar, S., & Rajaguru, P. (2018). Fe0 catalyzed photo-Fenton process to detoxify the biodegraded products of azo dye Mordant Yellow 10. *Chemosphere*, *201*, 77-95.
Díaz-Guzmán, D., Legorreta-García, F., Pérez-González, N. K., Flores-Zamora, M. I., Vargas-Ramírez, M., & Reyes-Cruz, V. E. (2020). Breve crónica y aplicación de dos criterios de apoyo para la identificación de una clinoptilolita. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, *8*(Especial), 33-40.
Dihom, H. R., Al-Shaibani, M. M., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A. A., Sharma, A., & Khamidun, M. H. B. (2022). Photocatalytic degradation of disperse azo dyes in textile wastewater using green zinc oxide nanoparticles synthesized in plant extract: A critical review. *Journal of Water Process Engineering*, *47*, 102705.
Doan, V. D., Tran, V. A., Le, H. S., Tran, D. L., Pham, T. M., Tran, T. H., & Nguyen, H. T. (2020). Cu/Fe3O4@ carboxylate-rich carbon composite: one-pot synthesis, characterization, adsorption and photo-Fenton catalytic activities. Materials Research Bulletin, 129, 110913.
Flores, J., Maubert, A., & Martín, N. (2006). Evaluación de los intercambios iónicos en una zeolita natural mexicana para la separación de N2-O2 en el aire atmosférico. *Revista mexicana de ingeniería química*, *5*(2), 119-129.
Jamil, T. (2024). Role of advance oxidation processes (AOPs) in textile wastewater treatment: A critical review. Desalination and Water Treatment, 318, 100387.
Katheresan, V., Kansedo, J., & Lau, S. Y. (2018). Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. Journal of environmental chemical engineering, 6(4), 4676-4697.

Kishor, R., Purchase, D., Saratale, G. D., Saratale, R. G., Ferreira, L. F. R., Bilal, M., ... & Bharagava, R. N. (2021). Ecotoxicological and health concerns of persistent coloring pollutants of textile industry wastewater and treatment approaches for environmental safety. Journal of Environmental Chemical Engineering, 9(2), 105012.

Montes-Luna, A. D. J., Fuentes-López, N. C., Perera-Mercado, Y. A., Pérez-Camacho, O., Castruita-de León, G., García-Rodríguez, S. P., & García-Zamora, M. (2015). Caracterización de clinoptilolita natural y modificada con Ca2+ por distintos métodos físico-químicos para su posible aplicación en procesos de separación de gases. *Superficies y vacío*, *28*(1), 5-11.

Muniyasamy, A., Sivaporul, G., Gopinath, A., Lakshmanan, R., Altaee, A., Achary, A., & Chellam, P. V. (2020). Process development for the degradation of textile azo dyes (mono-, di-, poly-) by advanced oxidation process-Ozonation: Experimental & partial derivative modelling approach. *Journal of environmental management*, *265*, 110397.

Li, L., Yin, Z., Cheng, M., Qin, L., Liu, S., Yi, H., ... & Lai, C. (2023). Insights into reactive species generation and organics selective degradation in Fe-based heterogeneous Fenton-like systems: A critical review. Chemical Engineering Journal, 454, 140126.

Liu, Z., Zhang, Y., Lee, J., & Xing, L. (2024). A review of application mechanism and research progress of Fe/montmorillonite-based catalysts in heterogeneous Fenton reactions. Journal of Environmental Chemical Engineering, 112152.

Rodriguez-Fuentes, G., Ruiz-Salvador, A. R., Mir, M., Picazo, O., Quintana, G., & Delgado, M. (1998). Thermal and cation influence on IR vibrations of modified natural clinoptilolite. Microporous and Mesoporous Materials, 20(4-6), 269-281.

Rodríguez Fernández-Alba, A., Letón García, P., Rosal García, R., Dorado Valiño, M., Villar Fernández, S., & Sanz García, J. M. (2006). Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales. Informe de Vigilancia Tecnológica; Madrid, Spain.

Rodríguez Peña, M., Barrera Díaz, C. E., Costillas, S., Lacasa, E., Sáez, C., Cañizares, P., ... & Sánchez Bautista, A. (2020). Procesos de oxidación avanzada en el tratamiento de agua.

Shangguan, Z., Yuan, X., Jiang, L., Zhao, Y., Qin, L., Zhou, X., ... & Wang, H. (2022). Zeolite-based Fenton-like catalysis for pollutant removal and reclamation from wastewater. *Chinese Chemical Letters*, *33*(11), 4719-4731.

Tsitsishvili, V., Kirov, N., Filizova, L.D., Potashnikov, I.B., Williams, P.A. (1992). Natural zeolites.

Vargas-Rodríguez, Y. M., Obaya-Valdivia, A., Vargas-Rodríguez, G. I., Gómez, V., Chávez, J. Á., Ríos, H., & Rodríguez, S. (2014). Caracterización de Materiales, Nanomateriales y Catalizadores.

Wang, C., Sun, R., Huang, R., & Cao, Y. (2021). A novel strategy for enhancing heterogeneous Fenton degradation of dye wastewater using natural pyrite: Kinetics and mechanism. *Chemosphere*, *272*, 129883.

Wang, D., Qiu, S., Wang, M., Pan, S., Ma, H., & Zou, J. (2019). Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in water by oxidative decolorization of azo dyes using Fenton system. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 221, 117138.

Wang, N., Zheng, T., Zhang, G., & Wang, P. (2016). A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. Journal of Environmental Chemical Engineering, 4(1), 762-787.

REQUERIMIENTOS EDÁFICOS DE ESPECIES DE PINO EN UNA ZONA DEGRADADA

Diana Paola Padilla Díaz[1], María Alcalá De Jesús[1], María Elena Granados García[1]

[1]Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
2010922g@umich.mx

RESUMEN

Por falta de cubierta vegetal a consecuencia de la deforestación en un área degradada en el Ejido Santa Rosalía en Michoacán, el suelo se está degradando, principalmente por erosión hídrica. Para reducir la pérdida de suelo y rehabilitar el lugar se están introduciendo varias especies de *Pinus,* sin embargo, no se han tomado en cuenta las propiedades del suelo (edáficas) para el desarrollo y crecimiento de dichas especies. El objetivo fue relacionar las propiedades físicas (textura) y químicas (pH y materia orgánica) de los suelos con los requerimientos edáficos de las especies de *Pinus pseudostrobus, Pinus michoacana y Pinus michoacana var cornuta* que se están introduciendo en el Ejido Santa Rosalía en Michoacán. Se realizó un muestreo de suelos en los primeros 30 cm de espesor de once sitios del área de estudio; una vez seco el suelo, éste se trituró y se tamizó en una malla de 2 mm de diámetro; en el laboratorio, por duplicado se obtuvieron las propiedades de los suelos: textura, por el método de Bouyoucos, pH relación agua suelo 1:2.5 medido en potenciómetro y materia orgánica (MO) por el método de combustión húmeda de Walkley y Black, de acuerdo con la metodología de la Norma Oficial de suelos. Los resultados indicaron que 18% de las muestras presentan textura arcillo-arenosa y 82% arcillosa. Los de textura arcillo arenosa son las más favorables para las especies de Pinos antes indicadas, no obstante, las arcillosas son aptas, pero no las más óptimas al presentar limitaciones en cuanto al drenaje. El pH en promedio fue de clase fuertemente ácida y la MO, de clase media (2.7% a 3.5%) a muy rica (6.1%) contribuyen en la conservación del suelo y en la nutrición de las especies de Pinos. La textura arcillo arenosa, la acidez del suelo y la MO son requerimientos edáficos aptos para el establecimiento de las especies de *Pinus pseudostrobus, Pinus michoacana y Pinus michoacana var. cornuta* utilizadas para reforestar en el Ejido Santa Rosalía.

INTRODUCCIÓN

La reforestación se destaca por ser una de las estrategias más efectivas en el combate de la degradación del suelo y al mismo tiempo mitigar la pérdida de biodiversidad (SEMARNAT, 2018) en áreas afectadas por el desmonte y tala. El Ejido Santa Rosalía ubicado a 23 km de la ciudad de Morelia, Michoacán, se ha visto afectado por la deforestación y en consecuencia, se aprecia la disminución en la calidad del suelo por falta de cubierta vegetal, aumentando la erosión hídrica y la formación de cárcavas (Figura 1a). Este problema ha llevado a la implementación de proyectos de reforestación con especies de *Pinus* (Ibarra, 2018) con el fin de reducir la erosión y rehabilitar el área.

Para su desarrollo y crecimiento, las especies de *Pinus* introducidas en el Ejido Santa Rosalía (*Pinus pseudostrobus, Pinus michoacana y Pinus michoacana var. Cornuta)* tienen requerimientos edáficos y el éxito de la reforestación está estrechamente relacionado con estos (Rafael, 2023). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue relacionar las propiedades físicas (textura) y químicas (pH y materia orgánica) de los suelos con los requerimientos edáficos de las especies de *Pinus* que se están utilizando para reforestar en el Ejido Santa Rosalía en Michoacán.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron recorridos por el área de estudio para seleccionar once sitios de muestreo. En estos, se realizaron perfiles de observación (cortes de suelo) en los primeros 30 cm de espesor (Figura 1b).



Figura 1. Área de estudio: Ejido Santa Rosalía (a); perfil de observación de 0-30 cm de espesor (b).

Una vez colectadas las muestras de suelo, estas se secaron al aire y a la sombra, luego se trituraron en un mortero y posteriormente se tamizaron en una malla con abertura de 2 mm de diámetro. En el laboratorio, se realizaron por duplicado análisis del suelo; se determinó la textura por el método de Bouyoucos que es una propiedad física; en cuanto a las propiedades químicas, se obtuvo el pH en una relación de agua-suelo 1:2.5, medido en potenciómetro y materia orgánica por combustión húmeda, Walkley y Black (Figura 2). La colecta, el tratamiento previo y los análisis fueron realizados con base en la DOF (2002).

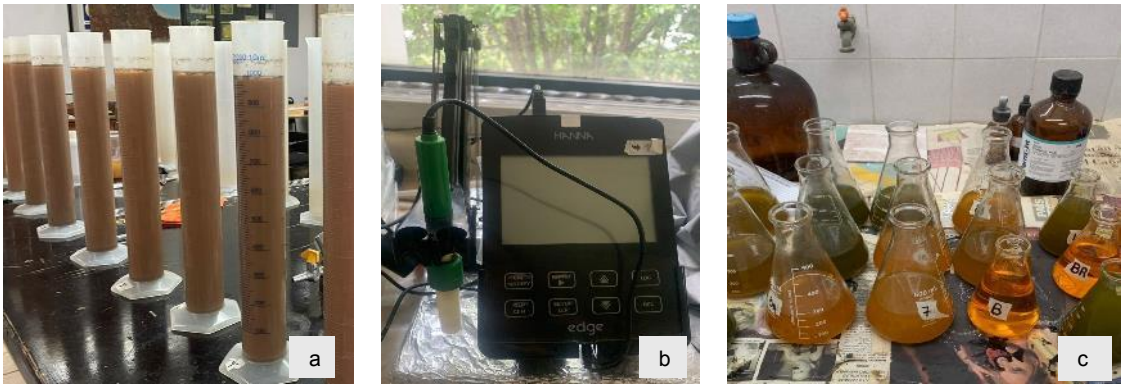


Figura 2. Obtención de textura (a), pH (b) y materia orgánica (c) del suelo.

RESULTADOS

Los resultados de los análisis indican que la clase textural menos dominante en la zona de estudio es arcillo-arenosa (18%), mientras que la predominante es arcillosa (82%) (Figura 3).

Las especies de *Pinus pseudostrobus, Pinus michoacana y Pinus michoacana var. cornuta* requieren texturas franco-arenosas y arcillo-limosas, aunque pueden tolerar las arcillo-arenosas, son más favorables las francas a franco-arenosas (Flores *et al.,* 2008; CONAFOR, s/f).
Aunque la textura arcillosa es problemática para las especies de *Pinus* por dificultar el buen drenaje, simultáneamente favorece la retención de agua y nutrientes, de suma importancia en zonas degradadas.

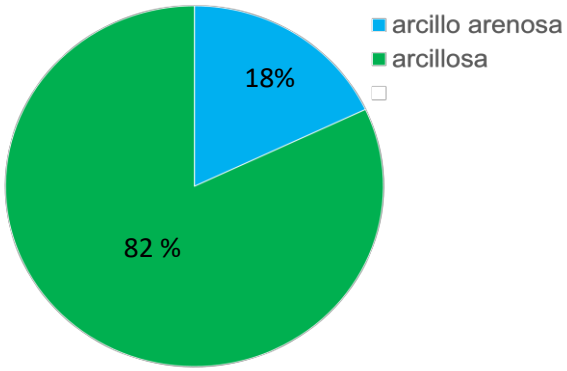


Figura 3. Clases de textura de los suelos.

El pH en promedio fue de 4.08 oscilando de 3.6 a 4.4 de clase extremadamente ácido (Figura 4). Estos resultados indican que el suelo en el Ejido es extremadamente ácido, favorable para las especies de *Pinus*, ya que se encuentran bien adaptadas a suelos ácidos, aunque la acidez extrema también puede limitar la disponibilidad de algunos nutrientes como el calcio y el magnesio, lo que podría afectar su crecimiento a largo plazo, por lo que sería importante considerarlo en futuras investigaciones

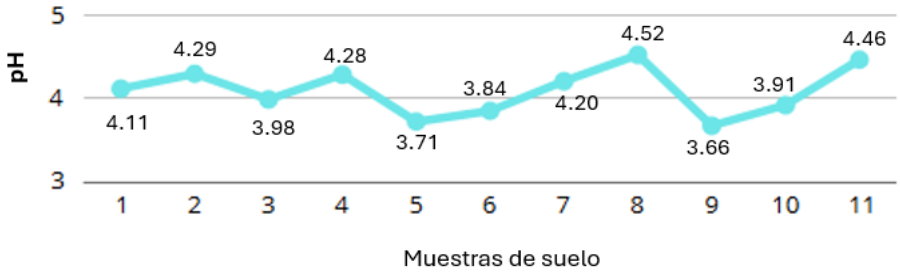


Figura 4. pH de los suelos.

Para la MO se obtuvieron valores de clase alta (2.7% a 3.5%) a muy alta (6.1%) (Cuadro 1). Estos resultados se encuentran dentro de los valores establecidos por Flores *et al.* (2008) y CONAFOR (s/f) quienes indican que las clases medianas a altas de MO son favorables para las especies de pinos.

Cuadro 1. Valores para clasificar la materia orgánica del suelo (DOF, 2002).

Clase	%
Alta	2.5-4.2
Muy alta	Mayor a 4.2

El contenido de MO en los suelos, contribuye en su conservación y en la nutrición de las especies de *Pinus;* su alto contenido mejora la estructura del suelo y aporta nutrientes, lo cual es esencial para la reforestación en el Ejido Santa Rosalía.

Para asegurar el éxito de la reforestación, primero se debe mejorar la calidad del suelo y tomar en cuenta los efectos que a largo plazo en los *Pinus,* aspecto de suma importancia para que exista un mejor crecimiento de las especies y así se pueda llegar a la rehabilitación del área degradada en su totalidad y a su vez a la mitigación de las cárcavas presentes en la actualidad.

CONCLUSIONES

Los requerimientos edáficos de las especies de *Pinus* utilizadas para la reforestación en el Ejido Santa Rosalía, no son completamente compatibles, pero se encuentran dentro de los rangos favorables para que prosperen en la zona.

La textura arcillo arenosa, la acidez del suelo y la MO son requerimientos edáficos aptos para el establecimiento de las especies de *Pinus pseudostrobus, Pinus michoacana y Pinus michoacana var. cornuta* utilizadas para reforestar en el Ejido Santa Rosalía.

BIBLIOGRAFÍA

1. Secretaria de Medio Ambiente Y Recursos Naturales. 2018. Principales beneficios de plantar árboles. gob.mx. obtenido de https://www.gob.mx/semarnat/articulos/principales-beneficios-de-plantar-árboles.
2. Ibarra C., E. 2018. Introducción de especies leñosas para la rehabilitación ecológica de sitios perturbados en el Escobal, Mpio. De Morelia, Mich. Tesis Licenciatura, UMSNH.
3. Rafael A., Y. G. 2023. Obtención de plántulas de Pinus pseudostrobus en diferentes sustratos para reforestar áreas degradadas Ejido Santa Rosalía. Tesis de Licenciatura. UMSNH.
4. DOF (Diario Oficial de la Federación). 2002. Norma Oficial Mexicana de suelos NOM-021-RECNAT-2000 con fines de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.
5. Flores L.,J. & J.E. Vargas H. 2008. Silvicultura del pino michoacano (Pinus michoacana Martínez). INIFAP. http://reunionescientificas2021.inifap.gob.mx/_media/CONVOCATORIAS/MEMORIA
6. CONAFOR. s/f. Fichas técnicas. http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/975Pinus%.pdf. Recuperado 20 de mayo 2025.

ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE FORMACIÓN DE RADICALES HIDROXILO CON DOS FOTOCATALIZADORES (TiO_2 Y ZNO) USADOS EN LA FORMULACIÓN DE PROTECTORES SOLARES DERMATOLÓGICOS

Carla Paulina Benítez-Correa, Erika Ramos-Balderas, Andrea Sánchez-Balderas, Brisa Astrid Hernández-González, Núñez-Vilchis Alejandro

Laboratorio de Instrumentación Analítica, Parque Biotecnológico UAQ, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N Querétaro, Qro. C. P. 76010
cbenitez25@alumnos.uaq.mx

RESUMEN

La radiación ultravioleta (UV) proveniente del sol genera un potencial daño a la salud humana pues provoca complicaciones como envejecimiento de la piel, sensibilidad a la luz, eritema y neoplasias malignas de la piel; dicha radiación puede clasificarse en función de pequeñas regiones de longitud de onda como: UVC (200 – 290 nm), UVB (290 – 320 nm) y UVA (320 – 400 nm), los protectores solares comerciales contienen TiO_2 y ZnO como fotocatalizadores y se consideran alternativas seguras contra la radiación UV, sin embargo, no contemplan los procesos químicos que resultan de la interacción de la radiación con los óxidos metálicos mencionados en matrices acuosas como lo es el sudor, entre los que se reconoce la genera-ción de especies reactivas de oxígeno, EROs ($O^{2\bullet-}$ y •OH) , y que también pueden generar daños citotóxicos. En este estudio, realizamos el seguimiento cinético de la formación de EROs en una matriz sintética, con una composición similar a la del sudor, al irradiarla con radiación UVC (254 nm) y UVA (365 nm) en presencia de los fotocatalizadores en distintas proporciones; esto mediante el monitoreo de la 7-hidroxicumarina, un producto de reacción entre las especies reactivas y cumarina añadida al medio, utilizando espectrofotometría de luminiscencia. Se encontró que el orden de reacción para el TiO_2 fue de orden cero, y para el ZnO fue de primer orden, lo que puede ser atribuible a la morfología de ambos compuestos. Otro parámetro cinético analizado fue la constante de velocidad, en la cual no hubo diferencias estadísticas significativas (α=0.05) tanto entre el tipo de radiación como en la concentración del fotocatalizador, particularmente del TiO_2 al 12 % con un valor promedio de la constante k de 0.0237 M/s, TiO_2 al 24% con un valor de 0.0325 M s^{-1} y para el 12 % UVA con un valor de 0.010 M s^{-1}. El ZnO presentó actividad fotoquímica con la cumarina y la radiación hasta una concentración del 12 % con una constante de velocidad de 0.0223 s^{-1}. Este trabajo representa un primer acercamiento a los estudios cinéticos de formación de especies radicalarias en los medios adecuados considerando la composición química de matrices biológicas que podría tener un papel impor-tante en estos procesos químicos, ya sea como catalizador o inhibidos de los mismos.
Palabras clave: ZnO; TiO_2; fotocatalizadores; exposición; rayos UV; hidroxicumarina; cinética; radicales hidroxilo.

INTRODUCCIÓN

Los rayos ultravioletas (UV) del sol amenazan la salud de la piel de los seres huma-nos y provocan complicaciones como envejecimiento de la piel, sensibilidad a la luz, eritema y neoplasias malignas de la piel. La radiación ultravioleta es una longitud de onda particular de la luz solar que incide sobre la piel, estos haces se dividen en tres: Ultravioleta C o UVC (200-290 nm), Ultravioleta B o UVB (290-320 nm) y Ultravioleta A o UVA (320 –400 nm) [1]. Los protectores solares orgánicos que contienen TiO2 y ZnO se comercializan cada vez más como alternativas más seguras a los protectores solares de molécula pequeña. Sin embargo, las afirmaciones sobre la seguridad del producto parecen ignorar los peligros que pueden resultar de la irradiación UV de óxidos metálicos en estos productos, incluida la generación bien documentada de especies reactivas de oxígeno y la degradación de compuestos orgánicos [2].

El dióxido de titanio (TiO_2) se utiliza como agente inorgánico en protectores solares debido a su capacidad para reflejar, dispersar y absorber una amplia gama de radiación ultravioleta de la luz solar. La carga máxima de TiO_2 en los protectores solares es del 25% m/v (Ibrahim et al., 2019). El

ZnO se ha medido a valores de absorbancia entre 320 y 400 nm, mostrando ser útil en diversos bloqueadores solares, estando presente entre un 12% y un 24% [2].

La actividad fotocatalítica de estos compuestos en contacto con el agua del medio (piel y media ambiente) puede generar radicales superóxido (O2•-) e hidroxilo (•OH), mediante la irradiación de la luz solar; desfavoreciendo su aplicación en protectores solares. Estas especies reactivas de oxígeno con características citotóxicas y genotóxicas pueden reaccionar con biomoléculas como proteínas y el ADN, provocando carcinogénesis, inactivación de enzimas y posibles daños a las biomoléculas [3].

La cuantificación directa de OH es poco probable debido a su alta reactividad y su corta vida útil (~10−6s) [4], debido a esto la producción relativa de radicales hidroxilo se analiza mediante la fotooxidación de cumarina a 7-hidroxicumarina (C9H6O3) como reacción de prueba bajo exposición a la luz solar. La cumarina reacciona directamente con el radical hidroxilo para producir un compuesto fluorescente 7-hidroxicumarina (C9H6O3) que puede detectarse mediante espectrofotómetro de luminiscencia. La 7-hidroxicumarina (C9H6O3) altamente fluorescente se puede detectar a 460 nm en el espectro de fluorescencia [3].

El principal objetivo de la investigación fue el estudio de la cinética de formación de radicales hidroxilo (•OH) a partir de la exposición de los fotocatalizadores TiO_2 y ZnO a rayos ultravioleta (UVA y UVC).

PARTE EXPERIMENTAL

1 Preparación del medio de reacción
Se realizó la preparación de sudor artificial siguiendo la metodología reportada por [8] para la simulación de las condiciones en que se encuentran los fotocatalizadores al aplicarse en la piel humana por medio del protector solar. Se realizaron 2.5 L de dicha solución, que contenía 0.5% m/v de NaCl, 0.1% m/v de urea, y 0.1% v/v de ácido láctico y 0.1% de KCl adquiridos en el almacén de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. El pH de esta solución se ajustó con bicarbonato de sodio hasta 6.5, para el ajuste de este parámetro se usó un potenciómetro Hanna Hi 8424.
Para la disolución de 2 L se pesaron:
10 g de NaCl, 2 g de urea, 2 g de KCl y se midieron 2 mL de ácido láctico, dicha mezcla se aforaró a 2 L con agua destilada.

Para la disolución de 500 mL se pesaron:
2.5 g de NaCl, 0.5 g de urea, 0.5 g de KCl y se medirán 0.5 mL de ácido láctico, dicha mezcla se aforará a 500 mL con agua destilada.
Ambas disoluciones se guardarán en frascos ámbar para su uso posterior.

1.2 Preparación de las disoluciones de TiO2 y ZnO

1.2.1 Condiciones del laboratorio
Se trabajó en la campana de extracción del Laboratorio Integral de Básicas, y con la mínima luz posible, esto con la finalidad de proteger/aislar las soluciones de los fotocatalizadores de la luz solar y artificial, con el fin de evitar/disminuir la producción prematura de radicales hidroxilo (•OH).

1.2.2 Preparación de las disoluciones de TiO_2
Se prepararon las disoluciones de TiO_2 siguiendo la metodología reportada por [9].Se prepararon tres disoluciones con la matriz ya mencionada, cada una a diferente concentración de TiO_2 (0%, 6%, 12% y 24%); los porcentajes que se utilizaron de fotocatalizador corresponden a los encontrados en diferentes protectores solares dermatológicos. Se utilizó un sonicador marca Branson modelo 2510 durante 15 minutos, y se homogenizarán las disoluciones durante 10 minutos. Las disoluciones

fueron almacenadas en frascos ámbar, y se evitó su exposición a la luz; antes de su uso se sonicaron durante 15 minutos.

300 mL de una disolución al 12% de TiO_2:
Se pesaron 36 g de TiO_2 y se aforó con la matriz hasta 300 mL, posteriormente se colocó en 27 vasos de precipitado de 10 mL cada uno con 5 mL de disolución.

300 mL de una disolución al 24% de TiO2:
Se pesaron 72 g de TiO_2 y se aforó con la matriz hasta 200 mL, posteriormente se coló en 27 vasos de precipitado de 10 mL cada uno con 5 mL de disolución.

1.2.3 Preparación de las disoluciones de ZnO
Se prepararon las disoluciones de ZnO siguiendo la metodología reportada [9]. Se prepararon tres disoluciones con la matriz ya mencionada, cada una a diferente concentración de ZnO (0%, 6%, 12% y 24%); los porcentajes utilizados de fotocatalizador corresponden a los encontrados en diferentes protectores solares dermatológicos. Se utilizó un sonicador marca Branson modelo 2510 durante 15 minutos, y se homogeneizaron las disoluciones durante 10 minutos. Las disoluciones fueron almacenadas en frascos ámbar, y se evitará su exposición a la luz; antes de su uso se sonicaron durante 15 minutos.

300 mL de una disolución al 12% de ZnO:
Se pesarán 36 g de ZnO y se aforó con la matriz hasta 300 mL, posteriormente se colocó en 27 vasos de precipitado de 10 mL, cada uno con 5 mL de disolución.

300 mL de una disolución al 24% de ZnO:
Se pesarán 72 g de ZnO y se aforó con la matriz hasta 300 mL, posteriormente se colocó en 27 vasos de precipitado de 10 mL, cada uno con 5 mL de disolución.

1.3 Preparación de solución de cumarina
Se preparó una solución de cumarina con una concentración de 1x10-3 M, según el método descrito por Ibrahim et al., (2019), para esto se disolvieron 0.15 g de cumarina adquirida en laboratorios Faga en 1 L de agua destilada, y se sonicó por 2 horas en un sonicador marca Branson modelo 2510, con calentamiento.

1.4 Preparación de las muestras
A cada vaso con 5 mL de disolución de fotocatalizador (TiO_2 y ZnO) se le añadieron 600 µL de la solución de cumarina. Estas se homogeneizaron antes de ser expuestos a la luz UV (Ibrahim et al., 2019).
El siguiente esquema se realizó con la finalidad de comprender la preparación de las distintas disoluciones y sus triplicados, al igual que para conocer los volúmenes totales de las disoluciones.

1.5. Exposición de las muestras a los rayos ultravioleta

1.5.1 Exposición a rayos ultravioleta C

Las disoluciones a diferentes concentraciones de fotocatalizadores fueron divididas en 27 vasos con 5 mL de disolución cada uno, estos fueron expuestos a rayos ultravioleta C, utilizando una cámara UV Cole-Parmer 9818-series dark room con a una longitud de onda de 254 nm y se sacaron tres muestras cada 15 minutos durante 2 horas para medir la producción de los radicales.

1.5.1 Exposición a rayos ultravioleta A

Las disoluciones a diferentes concentraciones de fotocatalizadores fueron divididas en 27 vasos con 5 mL de disolución cada uno, estos fueron expuestos a rayos ultravioleta C, utilizando cámara UV

Cole-Parmer 9818-series dark room con a una longitud de onda de 365 nm. Se sacaron tres muestras cada 15 minutos durante 2 horas para medir la producción de los radicales.

1.6 Cuantificación de radicales hidroxilo (•OH) por medio de la hidroxicumarina
Una vez expuestas las muestras, estas fueron centrifugadas durante 5 minutos para detener la reacción y eliminar el fotocatalizador con la finalidad de no tener interferencias durante la lectura, las muestras fueron analizadas utilizando un espectrofotómetro de luminiscencia Perkin Elmer LS-45, utilizando una longitud de onda de excitación de 335 nm y una onda de emisión de 460 nm, esas condiciones fueron establecidas según lo descrito por Ibrahim et al., (2019).

1.7 Cinética
Una vez obtenidas las intensidades de cada muestra, estas fueron registradas en tablas para obtener el gráfico correspondiente de cada réplica, en el eje Y correspondió a la intensidad medida mientras que en el eje X se indicó el tiempo de exposición de la muestra. Una vez realizados los gráficos se determinó el orden de reacción de cada grupo de triplicados de acuerdo con las condiciones establecidas para el orden cero, primer orden y segundo orden. Ya con el orden de reacción determinado se procedió a obtener las constantes de rapidez de la reacción a partir de las ecuaciones de la recta obtenidas.

1.8 Análisis estadístico
Los datos obtenidos en la sección anterior fueron analizados en el programa GraphPad Prism mediante una T de student con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

2.1. Reacción general

2.1.1. Reacción general para el TiO_2

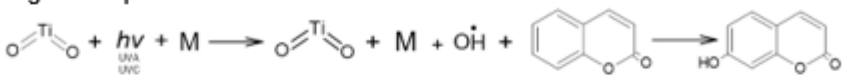


Figura 1. Reacción general para el TiO_2.

2.1.1. Reacción general para el ZnO

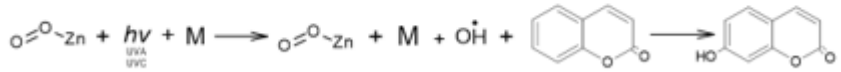


Figura 2. Reacción general para el ZnO.

2.2. Análisis por luminiscencia

En los siguientes gráficos, se muestra la relación intensidad vs tiempo de los fotocatalizadores (ZnO y TiO_2) a las concentraciones de 0%, 12% y 24% irradiadas a luz UVC y UVA (Figuras 3-6); también se reportó el comportamiento de la intensidad de los fotocatalizadores que se acoplaron a un orden de reacción según sus concentraciones y rayos a los que fueron expuestos, graficando intensidad vs tiempo (figuras 7, 9, 11 y 13); de igual manera, se graficaron los datos por triplicado (para todos los gráficos se graficaron los triplicados) de los fotocatalizadores que se acoplaban a un orden de reacción para observar el comportamiento del logaritmo natural de estos (figuras 8, 10, 12 y 14).

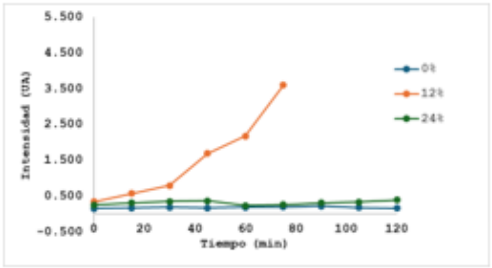


Figura 3. ZnO a concentraciones 0%, 12% y 24% irradiadas con luz UVC.

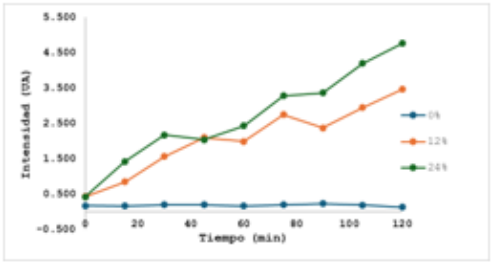


Figura 4. TiO_2 a concentraciones 0%,12% y 24% irradiadas con luz UVC.

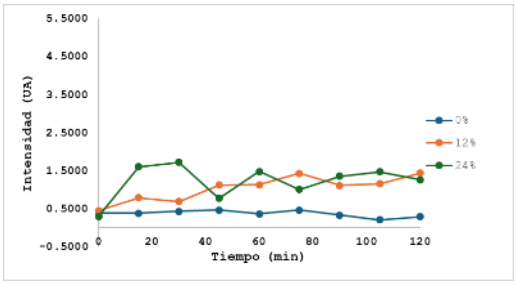


Figura 5. ZnO a concentraciones 0%, 12% y 24% irradiadas con luz UVA.

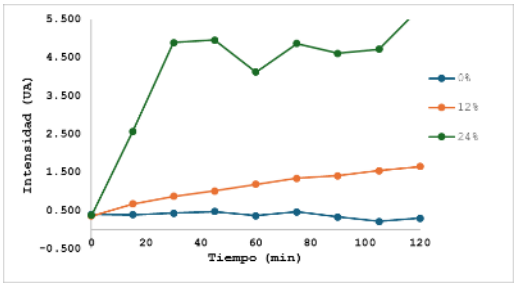


Figura 6. TiO_2 a concentraciones 0%,12% y 24% irradiadas con luz UVA.

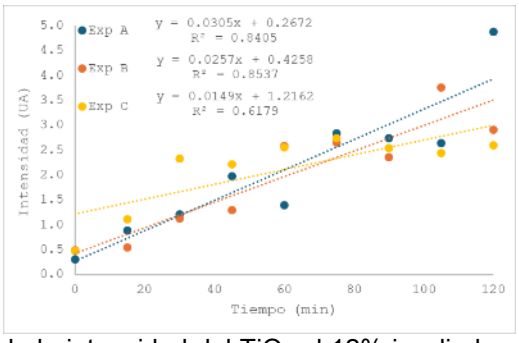


Figura 7. Comportamiento de la intensidad del TiO_2 al 12% irradiada con luz UVC con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

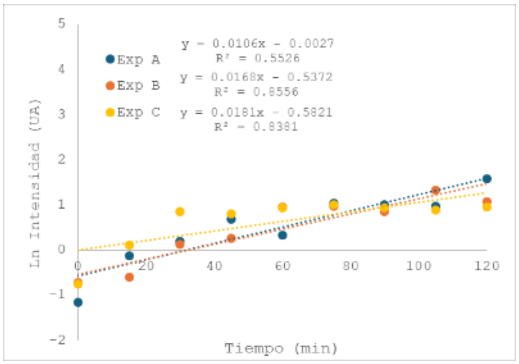


Figura 8. Comportamiento del logaritmo natural de la intensidad del TiO_2 al 12% irradiada con luz UVC con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

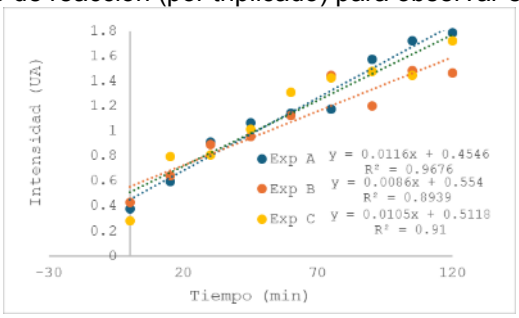


Figura 9. Comportamiento de la intensidad del TiO_2 al 12% irradiada con luz UVA con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

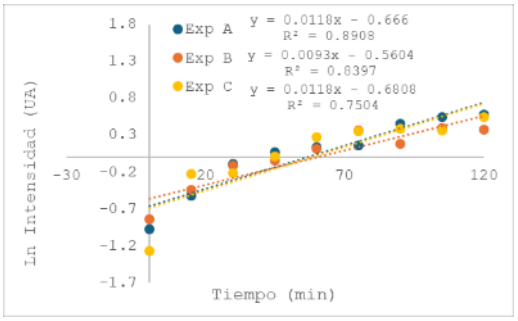


Figura 10. Comportamiento del logaritmo natural de la intensidad del TiO_2 al 12% irradiada con luz UVA con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

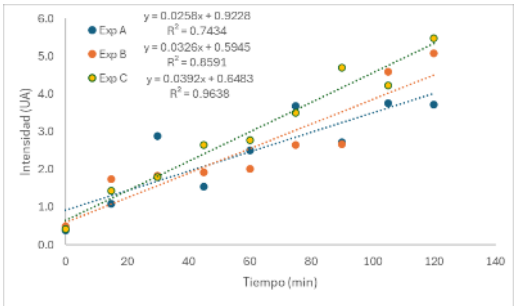


Figura 11. Comportamiento de la intensidad del TiO_2 al 24% irradiada con luz UVC con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

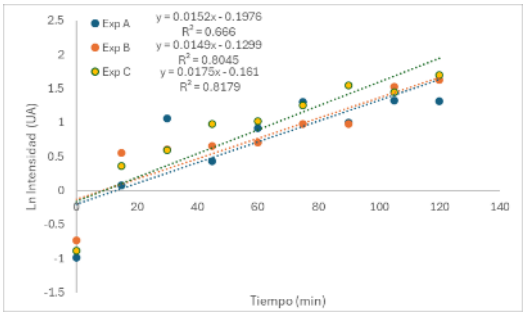


Figura 12. Comportamiento del logaritmo natural del TiO_2 al 24% irradiada con luz UVC con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

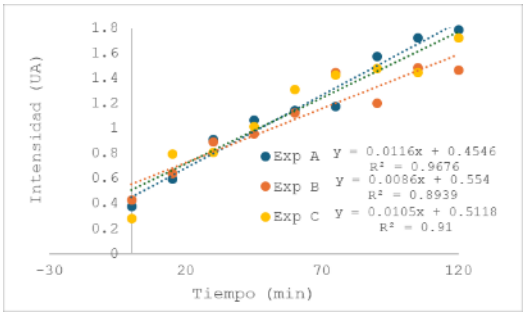


Figura 13. Comportamiento de la intensidad del TiO_2 al 12% irradiada con luz UVA con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

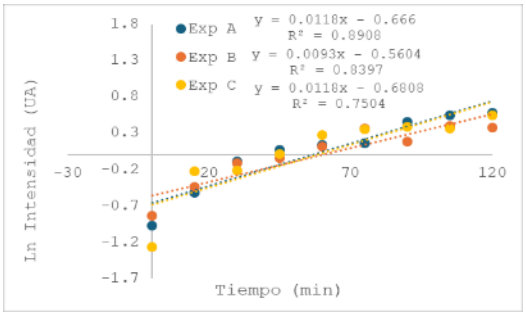


Figura 14. Comportamiento del logaritmo natural de la intensidad del TiO_2 al 12% irradiada con luz UVA con respecto al tiempo de reacción (por triplicado) para observar el orden de reacción.

Tabla 1. Órdenes de reacción y su constante de velocidad K para cada experimento analizado.

Disolución	**Orden de reacción**	***K* (constante de velocidad)**
ZnO 12% UVC	1	0.0205 0.0248 0.0216 0.0223
TiO_2 12% UVC	0	0.0305 0.0257 0.0149 0.0237
TiO_2 24% UVC	0	0.0258 0.0326 0.0392 0.0325

TiO_2 12% UVA	0	0.0116 0.0086 0.0105 0.0102

[1] Cada experimento se realizó por triplicado y se calcularon los promedios.

La constante de velocidad, *K*, describe la rapidez con la que ocurre la reacción de formación de 7-hidroxicumarina en las muestras al ser expuestas a rayos UV.

2.3. Análisis estadístico

Para ver el efecto del tipo de exposición y de la concentración sobre la velocidad de la reacción, se realizaron dos pruebas t de student con un nivel de confianza del 95 %. Los resultados obtenidos se reportan en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Resultados obtenidos de la prueba t de student donde se comparó el efecto del tipo de exposición (UVC y UVA) al que se sometieron las muestras.

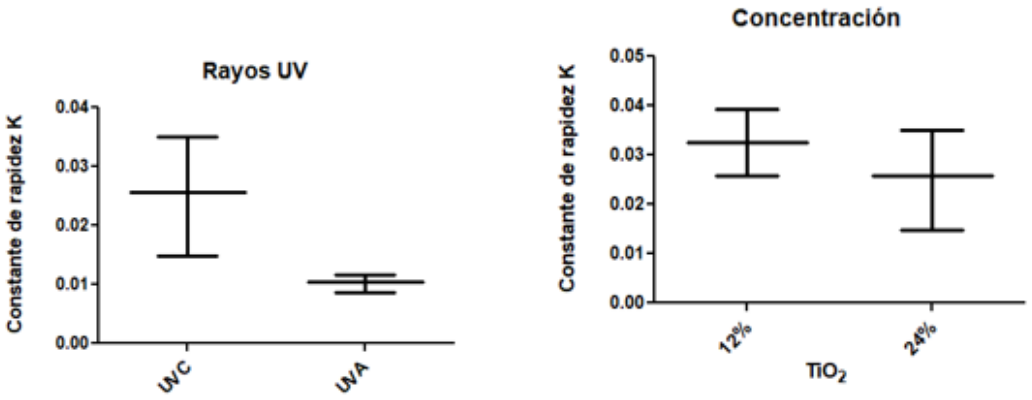
	UVC TiO_2 12%	**UVA TiO_2 12%**
Media	0.0252	0.0102
Desviación estándar	0.010	0.0015
P	0.0634	

[1] Datos calculados a partir de los triplicados. No es diferente significativamente.

Tabla 3. Resultados obtenidos de la prueba t de student donde se comparó el efecto de la concentración en un mismo tipo de exposición (UVC) al que se sometieron las muestras.

	UVC TiO_2 12%	**UVA TiO_2 24%**
Media	0.0252	0.0325
Desviación estándar	0.010	0.0067
P	0.3536	

[1] Datos calculados a partir de los triplicados. No es diferente significativamente.



(a) (b)

Figura 15. (**a**) Gráfico correspondiente a la comparación entre el tipo de exposición de las muestras de TiO2 12%; (**b**) Gráfico correspondiente a la comparación entre la concentración de TiO_2 12% y 24% frente al mismo tipo de exposición.

DISCUSIÓNES

3.1. Reacción general

En las figuras 1 y 2 se encuentran las reacciones generales de ambos fotocatalizadores (TiO_2 y ZnO), dicha reacción comprende dos fases, primeramente la reacción entre el fotocatalizador y el medio (matriz de sudor artificial) con incidencia de los rayos UVA y UVC (320-400 nm y 200-290 nm respectivamente), esto da como resultado la formación de los radicales hidroxilo, posteriormente estos radicales oxidan a la cumarina presente en el medio formando así la 7-hidroxicumarina, el análisis de dicho compuesto nos explica cómo se comporta la reacción ya que a una mayor intensidad de 7-hidroxicumarina implica la oxidación de una mayor cantidad de cumarina y a su vez una mayor formación de radicales hidroxilo.

3.2. Análisis por luminiscencia

Los resultados obtenidos se plasmaron en gráficas de intensidad de hidroxicumarina con respecto al tiempo (figuras 3, 4, 5 y 6), cada una con las concentraciones trabajadas (0, 12 y 24%).

La figura 3 nos muestra que la suspensión de ZnO al 12% fue la única en presentar cambios en la intensidad por lo que las demás concentraciones fueron excluidas en análisis posteriores, además la concentración de ZnO al 12% de la misma figura se graficó hasta los 80 minutos ya que las intensidades registradas en los tiempos restantes difieren por pocas unidades, esto se tomó cómo que la reacción terminó en ese tiempo.

En el caso del fotocatalizador de TiO_2 irradiado a longitud de UVC (figura 4) únicamente la concentración 0% no presentó cambios en la intensidad por lo que podemos decir que la concentración de 12% y 24% de TiO_2 reaccionaron.

En la figura 5 para el ZnO a longitud de UVA podemos observar que ninguna de las concentraciones tuvo un avance de reacción congruente por lo que podemos considerar que dichos datos son despreciables para el análisis.

En el caso del TiO_2 en longitud de UVA (figura 6) observamos que a pesar de que las concentraciones de 12% y 24% reaccionaron únicamente la concentración del 12% tuvo un avance de reacción congruente por lo que solo se usó ese para el análisis de resultados.

Se cree que las suspensiones con más concentración de fotocatalizador no reaccionaron debido que al tener una consistencia muy espesa, los rayos UV no incidían en la suspensión y por lo tanto

no producían los radicales hidroxilo. En este caso la simetría del cristal prohíbe la transmisión directa de electrones. Por ende, la absorción es pequeña, por lo tanto, la reducción del tamaño de las partículas disminuye la capacidad de absorción de luz UV [5].

Para el análisis final se usaron únicamente los datos reportados para ZnO al 12% irradiado con luz UVC, TiO_2 al 12 y 24% irradiado con luz UVC y TiO_2 al 12% irradiado con luz UVA, esto debido a que fueron los únicos datos que se acoplaron a un orden de reacción.

Se determinó el orden de reacción graficando la intensidad contra el tiempo en el caso del orden 0 y el logaritmo natural de la intensidad contra tiempo para la reacción de primer orden. En la Tabla 1. se observa el resumen de los datos obtenidos, teniendo que para el caso de TiO_2 en todos los experimentos realizados obtuvimos una reacción de orden cero es decir la velocidad de la reacción es independiente de la concentración de alguno de los reactivos, recordemos que la interacción como tal del fotocatalizador con el medio es suficiente para la producción de iones hidroxilo por lo que lo obtenido es consistente. En el caso del ZnO se obtuvo una reacción de orden 1, esto se lo podemos atribuir a su estructura ya que el ZnO sufre una mala respuesta a la luz, de hecho, la morfología es una propiedad importante del catalizador, que puede influir en su actividad fotocatalítica [6]. Además, se menciona que, en comparación con el TiO_2, el ZnO parece ser menos fotorreactivo, pero a diferencia del TiO_2, puede presentar inestabilidad durante la irradiación [5].

De manera general al analizar el comportamiento de la reacción para ambos fotocatalizadores podemos observar una relación de la energía de la banda prohibida con el tiempo en el que el fotocatalizador se encuentra en la suspensión, dicha energía disminuye con el paso del tiempo, correlacionando esto con el tamaño de la partícula. Una banda prohibida más pequeña disminuye la cantidad de energía necesaria para superar la brecha, lo que corresponde a longitudes de onda más altas [5].

3.2. Análisis estadístico

2.2.1 Efecto del tipo de exposición sobre la velocidad de la reacción.
De acuerdo con los resultados obtenidos se obtuvo un valor de $P > 0.05$ lo que indica que la diferencia entre las medias de las constantes de velocidad no es estadísticamente significativa. Esto comprueba que el tipo de rayo (UVC y UVA) al que fueron sometidas las muestras no afectan en la velocidad de reacción.

3.2.2 Efecto de la concentración sobre la velocidad de la reacción.
De acuerdo con los resultados obtenidos se obtuvo un valor de $P > 0.05$ lo que indica que la diferencia entre las medias de las constantes de velocidad no es estadísticamente significativa. Esto comprueba que la concentración de TiO_2 no es un factor que afecte en la velocidad de reacción para la formación de radicales hidroxilo.

CONCLUSIONES

Tanto la concentración del fotocatalizador como el tipo de rayo al que es expuesto no son factores que afectan la rapidez en la formación de radicales libres. No fue posible comparar la formación de radicales libres por los dos distintos fotocatalizadores ya que estas presentan un orden de reacción diferente.

BIBLIOGRAFÍA

Torbati, T. V., & Javanbakht, V. Fabrication of TiO2/Zn2TiO4/Ag nanocomposite for synergic effects of UV radiation protection and antibacterial activity in sunscreen. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2020. 187, 110652. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110652

Ginzburg, A. L., Blackburn, R. S., Santillan, C., Truong, L., Tanguay, R. L., & Hutchison, J. E. Zinc oxide-induced changes to sunscreen ingredient efficacy and toxicity under UV irradiation. P&PS 2021, 20(10), 1273–1285. https://doi.org/10.1007/s43630-021-00101-2

Ibrahim, M. N. M., Iqbal, A., Shen, C. C., Bhawani, S. A., & Adam, F. Synthesis of lignin based composites of TiO2 for potential application as radical scavengers in sunscreen formulation. BMC Chemistry 2019, 13(1), 17. https://doi.org/10.1186/s13065-019-0537-3

De-Nasri, S. J., Nagarajan, S., Robertson, P. K. J., & Ranade, V. V. Quantification of hydroxyl radicals in photocatalysis and acoustic cavitation: Utility of coumarin as a chemical probe. CEJ 2021, 420, 127560.

Smijs, T., & Pavel, N. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. NSA 2011. 95. https://doi.org/10.2147/nsa.s19419. https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127560

Lin, Y., Hu, H., & Hu, Y. H. Role of ZnO morphology in its reduction and photocatalysis. ASS 2020 502, 144202. https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.144202

Czili, H., & Horváth, A. (2008). Applicability of coumarin for detecting and measuring hydroxyl radicals generated by photoexcitation of TiO2 nanoparticles. Applied Catalysis. BE 2008. 81(3-4), 295-302. https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2008.01.001

Eldamak, A. R., Thorson, S., & Fear, E. C. (2020). Study of the dielectric properties of artificial sweat mixtures at microwave frequencies. *Biosensors*, *10*(6), 62.

Azizi-Lalabadi, M., Ehsani, A., Divband, B., & Alizadeh-Sani, M. (2019). Antimicrobial activity of Titanium dioxide and Zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic. *Scientific reports*, *9*(1), 17439.

DIAGNÓSTICO SOBRE EL CONOCIMIENTO DEL MANEJO ADECUADO DE RESIDUOS PELIGROSOS EN ESTUDIANTES DE LQFB DEL CENTRO UNIVERSITARIO DE LA CIÉNEGA

María Elena Becerra Mercado[1], Jorge Padilla Álvarez[2], Paulina Salazar Mercado[3], Eloisa Iraiss Valdivia Navarro[4], Diana Sarahi Hernández Mendoza[5].

Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de la Ciénega, Ocotlán, Jal., Mex.
maria.bmercado@academicos.udg.mx

RESUMEN

Los riesgos al ambiente y a la salud causados por los residuos peligrosos son un foco de atención a nivel mundial, que ha propiciado que se generen disposiciones regulatorias (leyes, reglamentos y normas), que establecen pautas de conducta a evitar, a la vez que fijan límites de exposición o alternativas de tratamiento y disposición final para reducir su volumen y peligrosidad.

El manejo de los residuos peligrosos (RP), incluye los procesos de minimización, reciclaje, recolección, almacenamiento, tratamiento, transporte y disposición final.

Los laboratorios de investigación, enseñanza, extensión y vinculación externa de las universidades, tanto públicas como privadas, generan una gran variedad de residuos químicos peligrosos. Los volúmenes y la frecuencia con que se producen tales residuos varían en función de las actividades que se realizan en cada laboratorio.[1]

En las universidades se realizan prácticas o ensayos de laboratorio en los que utilizan un sinnúmero de sustancias químicas y materiales, que generan residuos heterogéneos, generalmente en cantidades no elevadas pero variables en el transcurso del tiempo; sin embargo, la mayoría suelen ser peligrosos y con toxicidad alta para el ambiente, lo que hace que su gestión se dificulte.[2]

En México más del 90% de los residuos peligrosos que se producen al año se manejan inadecuadamente.[3]

El Centro Universitario de la Ciénega genera residuos derivados de las actividades académicas y de investigación de 3 carreras, LQFB, Medicina e ingeniería química. Residuos que requieren ser gestionados adecuadamente.

El presente trabajo tiene como objetivo identificar el nivel de conocimiento que se tiene sobre la gestión de los residuos peligrosos en los laboratorios de la carrera de LQFB, con el objeto de realizar un diagnóstico de la gestión correcta de RP, para sugerir propuestas de mejora que permitan contribuir al medio ambiente reduciendo su impacto.

Esta investigación es de tipo descriptiva no experimental y transversal, se utilizó un software de Google form para la aplicación de la encuesta y análisis de los datos. Las poblaciones de estudio son los estudiantes de LQFB. Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, aplicado a los estudiantes. Se utilizó la encuesta como instrumento para conocer el manejo de los residuos generados. Las técnicas de análisis son estadísticas y la interpretación es deductiva.

Los resultados muestran que el 98,6% de los estudiantes tienen conocimiento para identificar un residuo como peligroso. El 93.7% de los estudiantes expresan que no han tenido incidentes, ni accidentes con los residuos generados en sus prácticas. El 38,3% de los estudiantes conoce la disposición final de los residuos peligrosos y un 27.2% argumentan que existe algún problema para el tratamiento de los residuos peligrosos generados en los laboratorios.

Se observa que la cantidad de residuos peligrosos que se generan cada semestre son cantidades relativamente bajas por lo que la generación de RP en laboratorios se registra de manera parcial y es deficiente para Residuos peligrosos, Residuos sólidos urbanos y residuos de manejo especial,

por lo que es necesario implementar de manera generalizada y obligatoria acciones para su manejo integral.

INTRODUCCIÓN

Los riesgos al ambiente y a la salud causados por los residuos peligrosos son un foco de atención a nivel mundial, que ha propiciado que se generen disposiciones regulatorias (leyes, reglamentos y normas), que establecen pautas de conducta a evitar, a la vez que fijan límites de exposición o alternativas de tratamiento y disposición final para reducir su volumen y peligrosidad.

El manejo de los residuos peligrosos incluye los procesos de minimización, reciclaje, recolección, almacenamiento, tratamiento, transporte y disposición final. El daño de las sustancias y residuos peligrosos en el medio ambiente y la salud humana depende de su toxicidad, su volumen y su persistencia. Es necesario considerar los siguientes aspectos para definir un marco regulatorio que determine el nivel de riesgo que resulta inaceptable para la sociedad. Impactos ecológicos a los ecosistemas y recursos hídricos, riesgos a la salud, riesgos por accidentes o contingencias.

Es importante mencionar que, de acuerdo con la normativa vigente, el generador de la sustancia o residuo peligroso es el responsable de ella hasta su disposición final, y aun después éste tiene una responsabilidad conjunta con el que se encargó de su tratamiento y/o disposición final.[6]

En los laboratorios de enseñanza en la Universidad, las cantidades de residuos químicos pueden variar de un semestre a otro o de un año a otro, en función de los reactivos utilizados. A diferencia de las actividades de la industria de la transformación, que generan volúmenes elevados y constantes de sustancias peligrosas, además en los laboratorios se utilizan pequeñas cantidades, y de forma esporádica, de una gran variedad de reactivos químicos, lo que resulta en menor cantidad de residuos, pero de muy diversa índole. La diversidad en los volúmenes y las características fisicoquímicas de los residuos requiere de una gestión integral para lograr una adecuada disposición final de estos.[1]

La disposición correcta de los residuos de los laboratorios es indispensable con el fin de garantizar la seguridad de la población circundante y de la población de los alrededores a la universidad, es responsabilidad tanto de los técnicos encargados como de los estudiantes ya que cualquier mala disposición puede causar una afectación ambiental e incluso daños a la salud pública.[5]

En las instalaciones de los laboratorios se debe conocer cualitativa y cuantitativamente los desechos generados, además la periodicidad con que estos se producen, la regularidad con la que los responsables disponen de los residuos, la frecuencia con la que es necesario disponer los residuos, la gestión de residuos además debe tener en cuenta la normativa vigente, los reglamentos municipales, las normas y leyes oficiales mexicanas a seguir para una adecuada gestión. Entre los residuos que se generan en las prácticas de laboratorio como, solventes, sales, plásticos contaminados, envases de productos químicos, reactivos sobrantes, reactivos caducados, materiales contaminados, materiales de vidrio dañados por los productos químicos, guantes, mascarillas y otros residuos que si no se disponen de forma correcta suponen un peligro para el ambiente.[2]

En el Centro Universitario de la Ciénega se generan residuos derivados de las actividades académicas y de investigación de 3 carreras, LQFB, Medicina e ingeniería química. Residuos que requieren ser gestionados adecuadamente.

Los laboratorios que son usados por los docentes, estudiantes e investigadores de la carrera de LQFB, generan residuos derivados de actividades académicas y de investigación, que requieren ser tratados para su correcta disposición final en base a la legislación vigente. Es necesario identificar opciones para una mejor producción y manejo de los residuos o reutilizarlos, reciclarlos y recuperar el agente activo de los compuestos químicos.

El presente trabajo tiene como objetivo identificar en nivel de conocimiento que se tiene sobre la gestión de los residuos peligrosos en los laboratorios de la carrera de LQFB, del Centro Universitario sede Ocotlán, con el objeto de realizar un diagnóstico de la gestión correcta de RP, para sugerir propuestas de mejora que permitan contribuir al medio ambiente reduciendo su impacto. En consecuencia, la generación de residuos peligrosos es un problema, lo que demanda la aplicación de medidas operativas y de seguridad en los laboratorios más exigentes y permitan la gestión adecuada de las sustancias químicas usadas, desde su generación hasta la disposición final, representando riesgos a la comunidad universitaria ya que en los últimos años, los estudiantes de la carrera de LQFB, se han incrementado, generando mayor uso de laboratorios como son el de Ciencias Médicas, Química, Microbiología, Farmacia, Instrumentación Analítica, Fisicoquímica y Química Clínica.

TEORÍA

Hoy en día el problema de la contaminación ambiental figura entre las principales preocupaciones de la sociedad mundial debido a los efectos que está produciendo en la salud. Sin duda los residuos peligrosos son una de las principales causas de contaminación del ambiente. En la segunda mitad del siglo XX a nivel internacional se multiplica la legislación y los acuerdos medioambientales, en los distintos niveles de enseñanza se van incluyendo temas ambientales y de conciencia ambiental. En México más del 90% de los residuos peligrosos que se producen al año se manejan inadecuadamente. Por consiguiente, el grueso de los residuos se dispone de manera anómala en el ambiente, contaminando ríos, cañadas, desiertos, etcétera. Como puede advertirse, en México los residuos peligrosos no controlados se encuentran al alcance de la población; este hecho, más que una problemática de contaminación ambiental constituye un severo riesgo para la salud pública.[3]

Actualmente muchos países preocupados por el deterioro del medio ambiente y riesgos a la salud a nivel mundial han establecido metodologías o programas de gestión de Residuos peligrosos y de bioseguridad en el sector salud y manejo adecuado en áreas de trabajo.[4]

La legislación en materia de residuos peligrosos en México se presenta a partir de 1995, las leyes y normas oficiales protegen tanto al medio ambiente, como a la salud y liga las responsabilidades con respecto a las personas físicas, morales o autoridades que no cumplan, esto es relevante al considerar que los residuos en este caso Residuos Peligrosos presentan características particulares que pueden generar un daño o presentar un riesgo al ambiente donde son expuestos.

Se contemplan los llamados residuos peligrosos (RP), y se definen como aquellos que poseen al menos una de las llamadas características CRETIB, que es el acrónimo de clasificación de las características a identificar en los residuos peligrosos y que pueden ser: corrosivos (C), reactivos (R), explosivos (E), tóxicos (T), inflamables (I) y biológico-infecciosos (B). Representen un problema para el equilibrio ecológico o el ambiente. Además se consideran peligrosos los envases, recipientes, embalajes y suelos que hayan contenido o sido contaminados con RP, según lo establece la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR, DOF, 2003). Por otro lado la Norma Oficial Mexicana-052 SEMARNAT-2005 (DOF, 2006), establece el procedimiento para su identificación, así como las características y la clasificación de este tipo de residuos. Uno de estos instrumentos legales en México es la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR; DOF, 2003), el Programa Nacional para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos y los programas estatales y municipales de Prevención y Gestión Integral de los Residuos.[6]

Las universidades para poder afrontar el reto de educación superior utilizan laboratorios que favorecen en el proceso de enseñanza-aprendizaje.[7]

La normatividad aplicable a los vertidos industriales no se puede aplicar en su totalidad a los residuos provenientes de los laboratorios universitarios. Esta situación no es única para este país.
La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) reconoció que la legislación desarrollada para regular los vertidos de residuos peligrosos no había sido diseñada para ser aplicada a los desechos químicos provenientes de universidades. En este sentido, realizan prácticas o ensayos de laboratorio en los que utilizan un sinnúmero de sustancias químicas y materiales, que generan residuos heterogéneos, generalmente en cantidades no elevadas pero variables en el transcurso del tiempo; sin embargo, la mayoría suelen ser peligrosos y con toxicidad alta para el ambiente, lo que hace que su gestión se dificulte. (Universidad de Valencia, 2020). Por esta razón, la gestión en los laboratorios involucra el control, tratamiento y eliminación de los residuos generados, la designación de personas responsables, y una completa información a todo el personal del laboratorio.[8]

Lo anterior implica la participación y compromiso tanto de autoridades universitarias, como docentes, investigadores y estudiantes, y en general todos quienes estén inmersos en la producción de residuos en los laboratorios.

La EPA (Agencia de protección ambiental de Estados Unidos), ha desarrollado proyectos que buscaran alternativas para reducir, reutilizar y reciclar los residuos peligrosos generados en los laboratorios universitarios, así como para darles un tratamiento o disposición final ecológicamente racional.

Uno de los pasos iniciales de estos planes de manejo ambiental de los laboratorios consiste en que cada universidad realice la evaluación de su desempeño ambiental inicial. Esto implica identificar los residuos peligrosos y medir tanto el volumen generado como los volúmenes reutilizados o reciclados.[1]

La generación de residuos constituye uno de los principales problemas que involucran un reto para la política pública de los países, por la velocidad de generación, inadecuada disposición y sobre todo la carencia de gestión de estos, ya que la acumulación de residuos por su volumen y peligrosidad dificulta su reintroducción en los ciclos naturales lo que provoca a su vez inestabilidad en los ecosistemas. Lo que demanda la aplicación de medidas operativas y de seguridad que sean más estrictas y que permitan la gestión adecuada de estas sustancias, desde su generación hasta la disposición final, cumpliendo con las normativas vigentes en México.[9]

Manejo sustentable de los Residuos Peligrosos.

Existen seis puntos principales en el manejo de cualquier tipo de residuos que se dividen de la siguiente forma.[10]

• Reducción en la fuente: Descripción de las acciones en la fuente para una menor generación de residuos o residuos de menor peligrosidad.
• Separación: Describir las actividades, medidas, procedimientos, equipos, instalaciones y/o señalamientos para asegurar el manejo separado de los residuos dadas sus características, peligrosidad e incompatibilidad.
• Valorización: Describir las acciones para el aprovechamiento de los residuos indicando el sitio donde se realiza y el responsable del mismo.
• Tratamiento: Describir los procesos de tratamiento cuando sea el caso.
• Almacenamiento: Indicar en qué condiciones se realizará para evitar la liberación de contaminantes al ambiente.
• Disposición final: Señalar las condiciones en que ésta se llevará a cabo con el fin de evitar la liberación de contaminantes al ambiente.
Sin embargo, para que el manejo sea considerado “sustentable” debe cumplir con los criterios que caracterizan los planes de manejo mencionados en la LGPGIR:
• Ambientalmente efectivo: Para reducir las cargas ambientales sobre el sistema.

• Económicamente viable: Con un costo aceptable para todos los sectores de la comunidad. • Socialmente aceptable: Para asegurar la participación de la sociedad.

Manejo de residuos peligrosos en instituciones educativas.

Los residuos peligrosos pueden manejarse y/o disponerse de manera segura de distintas formas: a) por el reciclaje y reuso previo a su tratamiento y disposición final, b) por medio del tratamiento que reduce su peligrosidad, c) por su incineración bajo condiciones controladas, y d) por su confinamiento en sitios adecuados para ello. Para llevar a cabo estos procesos, los residuos deben transportarse previamente y de manera segura desde sus sitios de origen hasta las instalaciones donde serán manejados o dispuestos para su confinamiento.[6]

Dirección General Integral de Materiales y Actividades Riesgosas, Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental.[11]

La cultura ambiental hoy en día ha tomado un giro importante debido a los problemas que han transcurrido por la falta de conciencia ambiental, se han adoptado medidas necesarias para mitigar estos impactos. Un área específica que requiere ser estudiada son los desechos químicos generados en los laboratorios universitarios, la principal desventaja que estos presentan es su volumen reducido, en comparación con los residuos peligrosos formados en la industria; por lo tanto, pese al volumen de generación, se requiere un plan de manejo que cumpla con los principios ambientales, económicos y sociales haciendo de este un sistema de manejo sustentable. Todos los residuos químicos presentan diferentes tipos de peligrosidad para las personas o el medio; por ello es importante poder clasificar las sustancias de acuerdo a los riesgos que presentan, para poder así manipularlas y almacenarlas de la manera más apropiada. En sentido general, un producto se convierte en residuo en el momento en que su productor o poseedor lo destina al abandono.[12]

Las universidades tienen una gran responsabilidad en preparar profesionales de la química, capaces de realizar procesos químicos limpios y crear un ambiente seguro, además de hacer lo necesario para asegurar el cumplimiento normativo en el manejo y disposición de los residuos que se generan en los espacios universitarios.[13]

Los residuos peligrosos dentro de los métodos de las prácticas de laboratorio en instituciones de educación superior. La gestión de los residuos peligrosos en los laboratorios universitarios, de hospitales y de centros de investigación requiere un planteamiento adecuado, tanto a las características (tipo y cantidad) de los residuos generados, como a las propias del centro productor. En el caso de los laboratorios de hospitales, debe contemplarse su gestión dentro de la de los residuos sanitarios (ver la NTP-372). La experiencia indica que en todos estos centros se contrata la gestión externa a una empresa especializada que, a su vez, colabora en su gestión interna.

Gestión de los residuos peligrosos

Se denomina gestión de residuos en un laboratorio como el conjunto de actividades encaminadas al cumplimiento de metas planificadas como respuesta al acatamiento de normas legales en el campo de manejo de residuos, para la reducción de riesgos ambientales en los laboratorios universitarios.[14]

La gestión de residuos peligrosos es la disciplina dedicada al manejo en los procesos de generación, almacenamiento, recolección, transporte, y disposición final de desechos acorde a los principios legales, de salud pública, y consideraciones ambientales. En México, la gestión integral de los residuos peligrosos es una prioridad nacional, implica una responsabilidad extendida y compartida por toda la sociedad.[15] El procedimiento para identificar si un residuo es peligroso, incluye listados de peligros y características que hacen considerar como tales.[6]

Descripción de las etapas de gestión de RP

1. Identificación. Todos los recipientes que contengan residuos peligrosos deberán contar con:

a) Etiquetas de identificación: La información contenida en esta dependerá de la legislación de cada lugar.
b) Nombre del residuo y sus características de peligrosidad (corrosivo, reactivo, explosivo, etc.). (Clave CRETIB).

2. Almacenamiento temporal de residuos peligrosos.
Una vez que los recipientes se llenen, deberán llevarse al Almacén Temporal de Residuos Peligrosos, lugar asignado para mantener los recipientes con los residuos peligrosos generados en las instalaciones, antes de ser enviados a disposición final.[16]

Residuos Peligrosos ¿Qué son?

De acuerdo con el artículo 31 de la Ley General para Prevención y Gestión Integral de Residuos, existen quince Residuos Peligrosos que deberán sujetarse a un plan de manejo:

1. Aceites lubricantes usados
2. Disolventes orgánicos usados
3. Convertidores catalíticos de vehículos automotores.
4. Acumuladores de vehículos automotores contenido plomo
5. Baterías eléctricas a base de mercurio o de níquel-cadmio.
6. Lámparas fluorescentes y de vapor de mercurio
7. Aditamentos que contengan mercurio, cadmio o plomo
8. Fármacos.
9. Plaguicidas y sus envases que contengan remanentes de los mismos.
10. Compuestos orgánicos persistentes como bifenilos policlorados
11. Lodos provenientes de extracción de combustibles y los provenientes de plantas de tratamientos que sean considerados peligrosos.
12. Sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida como sus derivados
13. Cepas y cultivos de agentes patógenos.
14. Residuos patológicos, tejidos, órganos y partes que se remueven durante intervenciones quirúrgicas
15. Residuos punzo-cortantes que hayan estado en contacto con animales.[17,18]

Características que definen a un residuo como peligroso

Los residuos peligrosos, por sus características corrosivas, reactivos, explosivas, inflamables, toxicas y biológicas-infecciosas y su forma de manejo, representan un riesgo para el equilibrio ecológico, el ambiente y la salud de la población en general.

Los avances científicos y tecnológicos han permitido definir como constituyente tóxicos, ambientales, agudos y crónicos. El procedimiento para identificar si un residuo es peligroso, incluye listados de peligros y características que hacen considerar como tales.[6]

¿Cómo saber cuándo un residuo es peligroso?

Los Residuos peligrosos (RP), se definen como aquellos que poseen al menos una de las llamadas características CRETIB, es decir, pueden ser: corrosivos (C), reactivos (R), explosivos (E), tóxicos (T), inflamables (I) y biológico-infecciosos (B). Pueden estar en cualquier estado físico, por tener una característica CRETIB y representar un riesgo para el equilibrio ecológico, el ambiente y la salud de la población en general, por ello es necesario determinar los criterios, procedimientos, características y listados que los identifiquen.[6]

Los residuos pueden considerarse como peligrosos atendiendo a enfoques distintos.[19]

• Por definición, tratándose de aquellos contenidos en los listados comprendidos en la norma citada y que derivan de diferentes fuentes, procesos o productos desechados.
• Mediante caracterización, atendiendo a sus propiedades CRETIB, tres de las cuales pueden comprobarse mediante pruebas directas de laboratorio (corrosividad, reactividad e inflamabilidad); ya que la toxicidad se determina mediante una prueba indirecta de lixiviación (y no por estudios de capacidad tóxica) que permite cuantificar la presencia en los residuos de las sustancias tóxicas contenidas en el listado correspondiente incluido en la NOM-052- SEMARNAT-2005 para conocer si rebasan los límites máximos establecidos en él.
• Resultado de mezclas, derivar de distintas modalidades de manejo o por contaminación de equipos y construcciones que involucren a residuos peligrosos.

Algunos ejemplos de residuos peligrosos son los que se citan a continuación.[20]

• Corrosivas: Ácidos, hidróxidos.
• Reactivas: Alquilmetales y metaloides, boranos, hidruros, carbonilos metálicos, nitruros alcalinos, fosfinas, fósforo blanco, fósforos, silanos y siliciuros.
• Tóxicas: Plaguicidas.
• Inflamables: Gasolina, tolueno, acetona.
• Oxidantes: Ozono, peróxidos, nitratos, cloratos.

¿Para qué sirve el rombo de seguridad?

Conocido como rombo NFPA 704, es un sistema estándar para identificar los peligros asociados a sustancias químicas. Se utiliza en el almacenamiento de residuos peligrosos para proporcionar información rápida y clara sobre los riesgos que representan.

Se trata de un símbolo de identificación usado a nivel internacional, cuyo objetivo es señalar gráficamente el riesgo que puede presentar una sustancia química con la que se trabaje.

Su propósito es facilitar la detección de riesgos y permitir que se tomen medidas de prevención, manejo y cuidado para trabajar con este tipo de sustancias. Contribuye con la elección adecuada del transporte, y equipo de protección, brinda información suficiente para prevenir accidentes y riesgos relacionados con la sustancia, así como la limpieza e higiene de la estación de trabajo.

El rombo está constituido por cuatro recuadros de distintos colores, que especifican el tipo de peligro o riesgo que presentan, así como una cantidad numérica o grado del mismo. Es implementado para medir el riesgo con una escala numérica que sea fácil de leer y descifrar por el personal que trabaja en empresas y medios de transporte son persistentes y tienen la capacidad de migrar hacia los acuíferos, lo que incrementaría de manera significativa la exposición humana.

Generalmente en las áreas de los laboratorios se cuenta con recipientes para almacenar los residuos conforme son generados, antes de transferirlos al Almacén Temporal de Residuos Peligrosos. Es importante que todos estos contenedores, por más pequeños que sean, cuenten con la identificación mencionada previamente, ya que de lo contrario se corre el riesgo de tener accidentes por mal manejo.[16]

Efectos sobre la salud causados por los residuos peligrosos.

En México, los residuos peligrosos que no están debidamente controlados son accesibles para la población; esta situación, más allá de ser solo un problema de contaminación ambiental, representa un grave peligro para la salud pública.

En una revisión reciente, el Consejo Nacional de Investigación de los EUA encontró pruebas suficientes que demuestran que los residuos peligrosos provocan efectos graves sobre la salud. Además señala que, aunque en muchas áreas el riesgo actual es bajo, este podría aumentar en el futuro al considerar que muchos contaminantes.[21]

Potencialmente son varios los efectos en la salud de los individuos expuestos a residuos peligrosos; no obstante, dos son los que generan más preocupación social: el cáncer y las malformaciones congénitas.[22, 23]

Si bien la preocupación social en cuanto a la asociación de cáncer y malformaciones con los residuos peligrosos tiene sustento toxicológico y se fundamenta en informes científicos, para la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades.(ATSDR).[23]

Esta instancia Identifica cinco problemas de salud adicionales que han sido vinculados a la exposición a sustancias químicas peligrosas: alteraciones en el sistema inmunológico, daños en los riñones y el hígado, problemas neurológicos, así como enfermedades respiratorias y pulmonares.[24]

METODOLOGIA

Se realizó un estudio exploratorio de naturaleza cualitativa, descriptiva, observacional, no experimental y transversal; utilizando una encuesta validada como instrumento para conocer el manejo de los residuos generados. El cuál se llevó a cabo con los estudiantes del Centro Universitario de la Ciénega sede Ocotlán Jalisco.

Se utilizó un software de formularios de Google form para la aplicación de la encuesta y análisis de los datos.

La población de estudio son los estudiantes de LQFB y personal de laboratorio encargados del manejo y gestión de residuos peligrosos generados en los laboratorios.

Tamaño de muestra: Las poblaciones analizadas son finitas y se trabajaran de la siguiente forma: *Personal de laboratorio encargado del manejo y gestión de RP:* No se realizará un muestreo, solo una entrevista.

Los residuos peligrosos: se realizará un muestreo no probabilístico por conveniencia, y aplicado a los estudiantes de LQFB durante 2 meses de agosto y septiembre 2024.

Criterios de inclusión: Estudiantes del Centro Universitario, de la carrera LQFB, de sexto semestre hasta noveno semestre.

Criterios de exclusión: Estudiantes que no sean del Centro Universitario.

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. Las técnicas de análisis son estadísticas y la interpretación es deductiva.

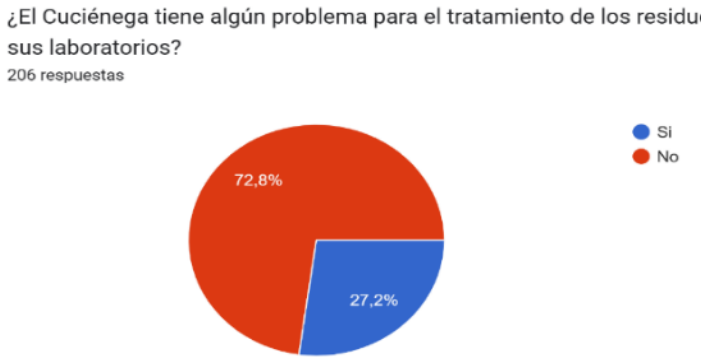
RESULTADOS

La disposición correcta de los residuos de los laboratorios es indispensable con el fin de garantizar la seguridad de la población circundante y de la población de los alrededores a la universidad, es responsabilidad tanto de los técnicos encargados como de los docentes y estudiantes ya que cualquier mala disposición puede causar una afectación ambiental e incluso daños a la salud pública.

La gestión de residuos peligrosos en los laboratorios se refiere a la serie de procedimientos y normas que se implementan para identificar, manejar, tratar, almacenar y eliminar los residuos generados durante las actividades de laboratorio. Estos residuos pueden incluir una variedad de materiales, como sustancias químicas peligrosas, agentes biológicos, material radiactivo, vidrio roto, y otros desechos sólidos o líquidos.

Es importante revisar y actualizar los procedimientos de disposición de residuos regularmente, basándose en nuevas regulaciones y avances tecnológicos. Esto garantiza que los laboratorios no solo cumplan con las normativas, sino que también adopten las mejores prácticas para la seguridad y la sostenibilidad.

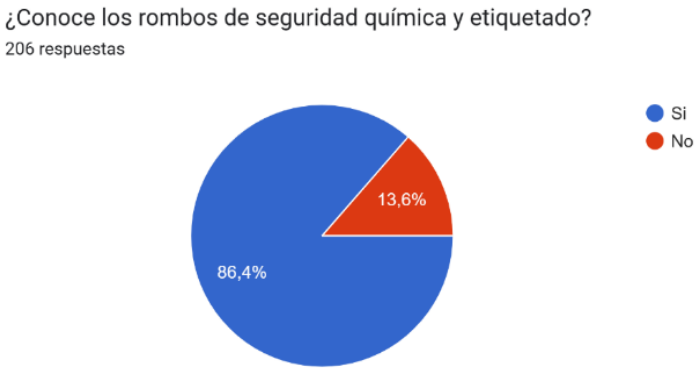
Gráfica 1.



En la presente imagen se observa que el 72,8% de los estudiantes argumentan que existe algún problema para el tratamiento de los residuos peligrosos generados en los laboratorios del CuCiénega.

Gráfica 2.

El rombo de seguridad química es una herramienta esencial utilizada en todo el mundo para identificar los riesgos asociados con los materiales y sustancias químicas peligrosas. Es fundamental que todas las actividades relacionadas con la disposición de residuos de los laboratorios cumplan con las normativas locales, nacionales e internacionales. Esto incluye el etiquetado adecuado, el transporte seguro y la utilización de empresas certificadas para la disposición final. Es vital para prevenir accidentes y manejar de manera segura los materiales peligrosos.



En la gráfica 2, se observa que el 84% de los estudiantes conoce el rombo de seguridad química y etiquetado así como su interpretación para la prevención de riesgos en los laboratorios; y el 13% no lo conoce.

Gráfica 3.

La eliminación de residuos en los laboratorios consta de una serie de pasos diseñados para minimizar el impacto ambiental y garantizar la seguridad. La disposición de residuos es el paso final en la gestión y debe hacerse con extremo cuidado para evitar riesgos en la comunidad universitaria que usa los laboratorios.



En la presente grafica no. 3, se observa que el 38,3% de los estudiantes conoce la disposición final de los residuos peligrosos y el 61.7% no la conoce.

CONCLUSIONES

La disposición de residuos peligrosos es el paso final en la gestión y debe hacerse con extremo cuidado para evitar riesgos en la comunidad universitaria que usa los laboratorios. En este punto se observa que del 100% de la población estudiantil estudiada solo el 38.3% conoce la disposición final de los residuos peligrosos.

Se muestra que el 27.2% de los estudiantes argumentan que existe algún problema para el tratamiento de los residuos peligrosos generados en los laboratorios del CuCiénega, y que no saben que se cuente con un programa de disposición final para el manejo adecuado de los residuos peligrosos generados durante las prácticas de laboratorio.

Los resultados indican que el 98,6% de los estudiantes tienen conocimiento para identificar un residuo como peligroso, con la clasificación CRETIB de acuerdo con la NOM-052-SEMARNAT-2005.

Un porcentaje del 100% del personal con actividad en los laboratorios conoce las características de los residuos para identificarlos como peligrosos y tiene conocimientos sobre la disposición de estos durante el desarrollo de las prácticas así como las medidas que se deberían tomar en caso de presentarse algún accidente con los mismos.

El 84.6% dicen conocer el rombo de seguridad química en cuanto a peligrosidad y su interpretación para prevenir riesgos en los laboratorios. El 93.7% de los estudiantes expresan que no han tenido incidentes, ni accidentes con los residuos generados en sus prácticas.

La encuesta revela que el 53.3% de alumnos desconocen el inventario de residuos peligrosos y su almacenamiento en los laboratorios en los que toman prácticas.

El 44.4% del personal entrevistado de los laboratorios argumenta que no existen contenedores para la separación/clasificación de residuos por su grado de peligrosidad CRETIB indicado en la NOM-052-SEMARNAT-2005 y contenedores especiales para residuos caducados.

Se observa que la cantidad de residuos peligrosos que se generan cada semestre son cantidades relativamente bajas. La generación de residuos Peligrosos en laboratorios se registra de manera parcial y es deficiente también para residuos sólidos urbanos y residuos de manejo especial, por lo que es necesario implementar de manera generalizada y obligatoria acciones para su manejo integral.

Los registros obtenidos en entrevista realizada a los usuarios de los laboratorios de LQFB, demuestran la urgente necesidad de implementar acciones de manejo integral de residuos como la recuperación, reciclaje y valorización de residuos. Se observa que algunos laboratorios ya implementan el microanálisis como medida de corrección durante las prácticas de laboratorio. Además de otras acciones de manejo propuestas en este trabajo de investigación son para en caso de fuga, derrame o vertido accidental de residuos que deben aplicarse para contribuir a mitigar los efectos adversos sobre el suelo y agua.

La gestión de residuos en los laboratorios es un proceso complejo que requiere la atención a numerosos detalles y el cumplimiento estricto de las normativas vigentes. Desde el envasado correcto y almacenamiento de residuos hasta su transporte y disposición final, por lo que el presente diagnostico permitirá implementar a corto plazo un plan de manejo de residuos y abrir la posibilidad de crear un sistema de gestión ambiental en la universidad que conlleve a identificar oportunidades de valorización y minimización de residuos, siendo herramientas empleadas en la producción de procedimientos analíticos más limpios, con la finalidad de lograr un correcto plan para el manejo integral de residuos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cortinas de Nava, C. (2005). *Ideas sobre planes de manejo de residuos peligrosos de laboratorios universitarios: responsabilidad social de las universidades.* Revista de la Universidad Cristóbal Colón, Número 20, 85-97.

2. Universidad de Córdova. (18 de marzo de 2020). *Gestión de residuos peligrosos en la Universidad de Córdova.* Obtenido de http://www.uco.es/servicios/sepa/es/residuos-de-laboratorio

3. Instituto Nacional de Salud Pública. (1996). *Los residuos peligrosos en México. Evaluación del riesgo para la salud.* Obtenido de https://typeset.io/pdf/los-residuos-peligrosos-en-mexico-evaluacion-del-riesgo-para-3msq8hsimn.pdf

4. Norma Oficial Mexicana. Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo. Obtenido de https://www.cndh.org.mx/DocTR/2016/JUR/A70/01/JUR-20170331-NOR14.pdf

5. Escalona Guerra, E. (2014). Daños a la salud por mala disposición de residuales sólidos y líquidos en Dili, Timor Leste. Scielo.

6. NORMA Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación, y los listados de los residuos peligrosos.

México: Diario Oficial de la Federación. Diario Oficial de la Nación, México, 23 de junio de 2006

7. Maldonado, J. C., Beltrán Flandoli, A. M., Ortiz León, C., & Velásquez Benavides, A. V. (2019).

8. Gadea Carrera, E., & Guardino Solá, X. (2014). NTP 276: Eliminación de residuos en el laboratorio: procedimientos generales. Córdova: Ministerio de Trabajo y Asuntos sociales de Córdova.

9. Hernández Flechas, S., & Corredor González, L. R. (2016). Reflexiones sobre la importancia económica y ambiental del manejo de residuos en el siglo XXI. Revista de Tecnología Journal of Technology

10. González Hernández, E. E. (08 de junio de 2012). Registro y Evaluación del Contenido de Planes de Manejo de Residuos Mineros. Ixtapa, Guerrero, México: SEMARNAT. Obtenido de https://www.camimex.org.mx/files/4513/6177/3708/2-1.pdf

11. Semarnat. México. 2012. Dirección General Integral de Materiales y Actividades Riesgosas, Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental.

12. Chávez Vargas Roxana M. 2018 manual de resiudos peligros. Universidad Veracruzana

13. Sandoval Flores. (2019) Manual para el manejo de los residuos peligrosos generados en la UAEM. Universidad Autónoma del estado de México, secretaría de rectoría. Obtenido de https://proteccionalambiente.uaemex.mx/images/Residuos_Peligrosos/Manuales_y_Procedimientos/Manual_de_Desactivacio_y_Tratamiento_de_RP.pdf

14. Santana Moncayo, C. A., & Aguilera Peña, R. G. (2017). Fundamentos de la Gestión Ambiental. Samborondón - Ecuador: Universidad ECOTEC.

15. Tchobanogloous, G., Thiesen, H., & Vijil A, S. (1998). Gestión Integral de residuos sólidos. España: Mc Graw Hill.

16. Velasco González. (2010) Plan de Manejo para la Gestión Integral de Residuos Peligrosos, Considerando su Acopio, Almacenamiento, Transporte y Envío a Reciclaje, Tratamiento o Disposición Final. Universidad Autónoma del Estado de Baja California Facultad de Ciencias Marinas. Obtenido de http://fcm.ens.uabc.mx/stuff/descargas/ambiental/manejo residuos.pdf

17. Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos https://www.gob.mx/profepa/documentos/ley-general-para-la-prevencion-y-gestion-integral-de-los-residuos-62914

18. Benavides González, H. (17 de abril de 2013). PREVENCIÓN Y GESTION INTEGRAL DE LOS RESIDUOS. Nuevo León, México.

19. Cortinas de Nava, C. (2007). Residuos peligrosos y no peligrosos y su perspectiva en México.

20. Fernández Escamilla, F. (s.f.). Manejo de Residuos Peligrosos. Yucatán, México.

21. National Research Council. Environmental epidemiology, public health and hazardous wastes. Washington, D.C.: National Academy Press, 1991:282.

22. Lichtveld MY, Johnson BL. Public health implications of hazardous waste sites in the United States. En: Andrews JS, Frumkin H, Johnson BL, Mehlman MA, Xintaras Ch, Bucsela JA, ed. Hazardous waste and public health. International Congress on the Health Effects of Hazardous Waste. Nueva Jersey: Princeton Sci Publ, 1994: 201-203.

23. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Biennial report 1989 and 1990. Atlanta: ATSDR, US Department of Health and Human Services, 1991.

24. Meyer C. Liver dysfunction in residents exposed to leachate from a toxic waste dump. Environ Health Perspect 1982;48:9-13.

EDITORAS

María Eugenia Sánchez Morales
Gloria Verónica Vázquez García
Amalia Martínez García
Cristina E. Solano Sosa
María del Socorro Hernández Montes
Laura Elena Rosales Zárate
Alexandra Monsetrrat García



ISBN TOMO I
BIOLOGÍA Y QUÍMICA



ISBN OBRA COMPLETA
AVANCES CIENTÍFICOS Y
TECNOLÓGICOS EN MÉXICO II

Ciencia y Tecnología
Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN OPTICA, A.C.