

AÑO 7, N° 7, ENERO - DICIEMBRE 2023

# REVISTA DIGITAL INNOVACIÓN EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y EDUCACIÓN (ICTE)



CIENCIAS  
DE LOS  
ALIMENTOS Y  
AGROPECUARIAS

CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

CIENCIAS  
DE LA  
INGENIERÍA Y  
FÍSICO-MATEMÁTICAS

CIENCIAS  
QUÍMICAS

CIENCIAS  
DE LA  
EDUCACIÓN  
SOCIALES Y HUMANIDADES



## Directorio UNAM-FESC

### UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Dr. Leonardo Lomelí Vanegas  
Rector

Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda  
Secretaria General

Mtro. Hugo Alejandro Concha Cantú  
Abogado General

Mtro. Tomás Humberto Rubio Pérez  
Secretario Administrativo

Dra. Diana Tamara Martínez Ruíz  
Secretaria de Desarrollo Institucional

Lic. Raúl Arcenio Aguilar Tamayo  
Secretario de Prevención, Atención y  
Seguridad Universitaria

Dra. Rosa Beltrán Álvarez  
Coordinadora de Difusión Cultural

### FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Dr. David Quintanar Guerrero  
Director

Dr. Benjamín Velasco Bejarano  
Secretario General

Lic. Jaime Jiménez Cruz  
Secretario Administrativo

I. A. Laura Margarita Cortazar Figueroa  
Secretaria de Evaluación y Desarrollo de  
Estudios Profesionales

Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira  
Secretaria de Posgrado e Investigación

Dr. Luis Rubén Martínez Ortega  
Secretaría de Gestión Integral Estudiantil

I. A. Alfredo Álvarez Cárdenas  
Secretario de Planeación y Vinculación  
Institucional

Lic. Claudia Vanessa Joachín Bolaños  
Coordinadora de Comunicación y  
Extensión Universitaria

Mtra. Emma Ruíz del Río  
Departamento de Publicaciones  
Académicas



## Comité Editorial

Mtro. Salomón David Consuegra Pacheco  
Escuela Naval de Suboficiales ARC, Barranquilla, Colombia

Dr. Yasser Alejandro Chim Chi  
Instituto Tecnológico Superior de Calkini, México

Dr. Juan Carlos García Gallegos  
Universidad Autónoma de Baja California, México

Dra. María Inés Jaramillo Gutiérrez  
Universidad de Santander, Colombia

Dra. María Cristina López Méndez  
Tecnológico Nacional de México campus Misantla, México

Dra. Betsabé Maldonado Mero  
Universidad de las Fuerzas Armadas de Ecuador

Dra. Fabiola Méndez Arriaga  
Instituto de Ingeniería de la UNAM, México

Dra. Jacqueline Oliva Ramírez  
MD Anderson Cáncer Center, USA

Dra. Adriana Rojas Martínez  
Universidad Cooperativa de Colombia

Dr. Paul Vargas Jentsch  
Escuela Politécnica Nacional, Ecuador

Dra. Alma Villaseñor Solís  
CEU San Pablo, Madrid, España

Dr. Jorge Bello Domínguez  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dr. Julio César Botello Pozos  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

M. en C. Paola Edith Briseño Lugo  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dra. Alma Elisa Delgado Coellar  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dra. Mayte Stefany Jiménez Noriega  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dra. Huberta Márquez Villeda  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dra. Marina Morales Galicia  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dr. Julio César Morales Mejía  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Dr. Juan Carlos del Río García  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM



cDra. Selene Pascual Bustamante  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dra. Ma. Eugenia Ramírez Ortiz  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dr. Jorge Luis Rico Pérez  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dra. Francisca Alicia Rodríguez Pérez  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dr. Alejandro Torres Montufar  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dra. María Andrea Trejo Márquez  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dra. María Gabriela Vargas Martínez  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Dra. Gloria Zita Padilla  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,  
UNAM

Diseño Editorial  
Lic. DCV Vianey Guzmán Cano

Imagen de portada:  
Lic. DCV Vianey Guzmán Cano  
Título: "La apertura"

REVISTA DIGITAL INNOVACIÓN EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y EDUCACIÓN (ICTE) No. 7, Año 7, enero - diciembre 2023, es una publicación anual editada por la Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, a través de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC), carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km 2.5, San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli, C.P. 54714, Estado de México. Tel. 5558173478, <http://masam.cuautitlan.unam.mx/RevistaICTE/>, revista. icte@gmail.com. Editor responsable: Dra. María Gabriela Vargas Martínez. Certificado de Reserva de Derechos de Autor número: 04-2022-032315542200-102, ISSN: en trámite ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Dra. María Gabriela Vargas Martínez, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo uno, Av. 1 Mayo S/N, Col. Santa María Las Torres, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, fecha de última modificación: diciembre de 2023. El contenido de los artículos es responsabilidad de los autores y no refleja el punto de vista de los árbitros, del Editor o de la UNAM.

Se autoriza la reproducción total o parcial de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación



Atribución-NoComercial-SinDerivadas  
Permite a otros solo descargar la obra y compartirla  
con otros siempre y cuando se otorgue el crédito  
del autor correspondiente y de la publicación; no  
se permite cambiarlo de forma alguna ni usarlo  
comercialmente.



## PRESENTACIÓN

La Revista Digital Innovación en Ciencia, Tecnología y Educación (ICTE) tiene como objetivo el contribuir a la difusión del conocimiento generado por las Instituciones de Educación Superior, poniendo a disposición material de investigación original de forma anual y con origen de Instituciones de diversos países.

Esto permite el intercambio de saberes con carácter multidisciplinario y busca construir un espacio de discusión y difusión del conocimiento. La Revista se conforma por las siguientes áreas: Ciencias de los Alimentos y Agropecuarias, Ciencias Químicas, Ciencias Biológicas, Ciencias de la Ingeniería y Físico-Matemáticas, así como Ciencias de la Educación, Sociales y Humanidades.

Los autores de ICTE provienen de diversas instituciones nacionales e internacionales, como son la Universidad Autónoma de Querétaro, Universidad Autónoma de Chihuahua, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Tecnológico de Chihuahua, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Universidad Veracruzana, Instituto Politécnico Nacional, Universidad Nacional Autónoma de México, Addenbrooke's Hospital (Cambridge, UK), Universidad de Chile, Escuela Politécnica Nacional (Ecuador), Universidad Técnica de Manabi (Ecuador), Universidad UTE (Ecuador), Universidad Central del Ecuador, Universidad de la costa CUC (Cuba), Universidad de la Habana (Cuba) y la Institución Universitaria ITSA (Colombia), Universidad de San Pablo-CEU (España), Universidad de Santander (Colombia) entre otros.

La publicación está disponible para consulta en línea y con acceso abierto en: <http://masam.cuautitlan.unam.mx/RevistaICTE/>

Esperamos que ICTE editada por la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México, sea un instrumento que fomente entre los lectores, la comunicación científica a través de la publicación de artículos de alta calidad, que promuevan la cooperación científica, la internacionalización del conocimiento y estimulen la discusión académica.



# ÍNDICE

## 14

### Ciencias de los Alimentos y Agropecuarias

IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS PRESENTES EN QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA.

.....15  
Danae Alicia Martínez Martínez, Diana Matías Pérez, Iván Antonio García Montalvo, Alma Dolores Pérez Santiago, Marco Antonio Sánchez Medina, Emilio Hernández Bautista

ELABORACIÓN DE BIOPELÍCULAS COMESTIBLES A PARTIR DE LA CASCARA DEL EXOESQUELETO DEL CAMARÓN PARA RECUBRIMIENTO DE FRUTOS FRESCOS.....23

Mariana Rodríguez Gaona, Rosa María García Martínez

ARQUITECTURA PARA EL MONITOREO DE VARIABLES AGROCLIMATOLÓGICAS EN EL CULTIVO DE LACTUCA SATIVA UTILIZANDO EL IOT PARA FAVORECER LA PRODUCCIÓN Y CONSUMO SOSTENIBLE ..... 30

Arnulfo Gamaliel Hernández González, Daniela Lizbeth Hernández Sánchez, Ana Lilia Sosa y Durán, José Luis Fernández Jiménez

APLICACIÓN DE NIVELES DE *Glomus* intraradices EN RESPUESTA AL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CALABAZA PIPIANA.....

.....41  
Laura Consuelo Ruíz Soto, José Francisco Díaz Najera, Sergio Ayvar Serna, José Luis Arispe Vázquez, Antonio Mena Bahena

EFFECTO DE LA GERMINACIÓN DE LA LENTEJA (*Lens culinaris* M.) SOBRE EL COLOR Y RENDIMIENTO DE HARINA .....47

Ma. Guadalupe Lara Pineda, Liliana Márquez Benavides, Consuelo de Jesús Cortés Penagos, José Herrera Camacho, Berenice Yahuaca Juárez

*Trichoderma* spp. Y PESTICIDAS BOTANICOS COMO ALTERNATIVAS AL CONTROL QUÍMICO DE *Pestalotiopsis mangiferae*, PATÓGENO DEL MANGO.....55

Paola Manzanarez Benítez, Sergio Ayvar Serna, José Francisco Díaz Najera, Ernesto Escobar Bahena, Antonio Mena Bahena, José Luis Arispe Vázquez

DINÁMICA POBLACIONAL DE MOSCAS BLANCAS Y CONTROL QUÍMICO CON flupyradifurone EN MELÓN.....65

José Francisco Díaz Najera, Sergio Ayvar Serna, José Luis Arispe Vázquez, Daniel Alejandro Cadena Zamudio, Alonso Gloriberto Olivares



# ÍNDICE

82

## Ciencias de los Alimentos y Agropecuarias

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO GERMINATIVO DE LA LENTEJA VERDE (LENS CULINARIS M.).....75  
Diana Scarlett Contreras Malagón, Ana Gabriela Campos Arroyo, Berenice Yahuaca Juárez

## Ciencias Biológicas

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA APOPTÓTICA DE MACRÓFAGOS EN RELACIÓN CON LA ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA A PARTIR DE MOLÉCULAS DE EXCRECIÓN-SECRECIÓN DE CLINOSTOMUM MARGINATUM (DIGENEA: CLINOSTOMIDAE).....83  
 Ana Laura Esquivel Campos, María Esther Castilla Cabrera, Zuleyma Basurto Reyes, Felipe Mendoza Pérez, Raquel González Vázquez, Lino Mayorga Reyes, Miguel Ángel Mosqueda Cabrera

EFFECTO DEL RESVERATROL SOBRE EL PERFIL INFLAMATORIO ASOCIADO AL DESARROLLO DEL INFARTO AL MIOCARDIO EN EL ENVEJECIMIENTO .....90  
Elizabeth Romero Monter, Jazmín Flores Monroy, Ruth Mery López Mayorga

EFFECTOS DEL CONSUMO CRÓNICO DE DOS ADITIVOS: EDULCORANTES Y BENZOATO DE SODIO EN RATAS HEMBRAS DE LA ESTIRPE WISTAR.....98  
Alejandra Eloisa Garcia Serbin, América Rayón Piña, Xavier Martínez Rodríguez, Laura Citlali Manrique Sánchez, Samuel Mendoza Pérez, Rolando Salvador García Gómez, Lucía Macías Rosales, Isabel Gracia Mora, Gerardo Salas Garrido, María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

CALIDAD ESPERMÁTICA DE CONEJOS DE LA RAZA CHINCHILLA, DEL MÓDULO DE CUNICULTURA DE LA FES CUAUTITLÁN, DURANTE LA PRIMAVERA.....108  
Daniel González Ruiz, Metzli Mayte García Bernal, Elisa Gutiérrez Hernández, Alicia Alcántar Rodríguez, José Alfredo Medrano Hernández



# ÍNDICE

# 126

## Ciencias Biológicas

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE DE AUTOANTICUERPOS CONTRA IL-6 PRESENTES EN MUESTRAS DE PACIENTES CON ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y AUTOINMUNES.....116  
 Paulina Cortes Acevedo, Lourdes Cerón Gutiérrez, Susana Elisa Mendoza Elvira, Clara Espitia Pinzón, Rainer Döffinger, Gabriela Barcenas Morales

## Ciencias de la Ingeniería y Físico - Matemáticas

MICROORGANISMOS SULFATO-REDUCTORES (MSR) PRESENTES EN UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO DE LODOS DE FLUJO ASCENDENTE (RALLFA) UTILIZADO PARA EL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE UN EFLUENTE PROVENIENTE DE LA OPERACIÓN UNITARIA DE FLOTACIÓN (EOPUF) DE UNA MINA COOPERANTE ..  
 .....127  
Edgar Felipe Bautista-Olivera, Danya Carolina López Pineda, Fortino Rojas-Torreblanca, Marisela Bernal-González, María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa, Enrique Rodolfo Bazúa Rueda, Ángel Enrique Chávez-Castellanos

ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE VEGETACIÓN DE DIFERENCIA NORMALIZADA (NDVI) Y DEL ÍNDICE DE AGUA DE DIFERENCIA NORMALIZADA (NDWI) EN LA REGIÓN DEL RÍO ATOYAC DE LA CUENCA DEL ALTO BALSAS COMO PARTE DEL ANÁLISIS DE IMPACTO AMBIENTAL.....137  
Oscar Iván Benítez-Salazar, Ricardo Macedo Trujillo, Alberto Nájera-Rangel, Rolando Salvador García Gómez, Marisela Bernal González, María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

REGULACIÓN ÓPTIMA DE TEMPERATURA PARA RECINTOS DE VOLUMEN FINITO .....146  
Jared Vladimir Calderón López, Mario Oscar Ordaz Oliver, Jesús Patricio Ordaz Oliver, Francisca Alicia Rodríguez Pérez

ESTUDIO CINÉTICO DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA UREA .....155  
Jorge E. Camargo-Contreras, Ana María Sixto Berrocal, Patricia Miranda-Castro, Martín R. Cruz-Díaz



# ÍNDICE

## Ciencias de la Ingeniería y Físico - Matemáticas

CONSTRUCCIÓN DE UN CUADRICÓPTERO PARA EL ANÁLISIS DE SUPERFICIES MEDIANTE FOTOGAMETRÍA CON APLICACIONES EN TOPOGRAFÍA.....162

Williams de Jesús Martínez Ramirez, Mario Oscar Ordaz Oliver, Justo Fabian Montien Hernández, Jesus Patricio Ordaz Oliver

VEHÍCULO AUTÓNOMO PARA LA PREVENCIÓN DE ACCIDENTES ENCASA, CAUSADOS POR OBJETOS EN EL PISO .....170

Luis Fernando Ocampo Rodriguez, Mario Oscar Ordaz Oliver, Evelin Gutiérrez Moreno, Jesús Patricio Ordaz Oliver

UN ANÁLISIS DIFUSO BASADO EN PROCESOS ANALÍTICOS PARA PRIORIZAR LAS BARRERAS EN EL DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS DE ENERGÍA RENOVABLE EN ALINEACIÓN CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LAS NACIONES UNIDAS: EVIDENCIA DE GUAJIRA/COLOMBIA .....180

Christian Manuel Moreno Rocha, Jorge D. Pertuz Ortiz, Neyder A. Rodríguez Ibáñez, Christian Camilo Sarabia Hadechini, Luisana Mercado Vega

EASYPOWER, SOFTWARE PARA LA ENSEÑANZA DE LA INGENIERÍA ELÉCTRICA.....207

Ángel Isaías Lima-Gómez, Jesús Jatzel Olvera Lopez, Isaías Rafael Espinosa Moreno

# 215

## Ciencias Químicas

DESARROLLO DE LIPOSOMAS FLEXIBLES CARGADOS CON AZUL DE METILENO PARA MEJORAR LA TERAPIA FOTODINÁMICA CONTRA BACTERIAS RESISTENTES.....216

Norma Angélica Villanueva Martínez, Omar Molina Alejandro, Laura Abril Pérez Carranza, Andrea Ángela Becerril Osnaya, Gonzalo Hedain López, Mera, Raúl Dalí Cruz Morales, Diego Sánchez García, Adriana Ganem Rondero

DESARROLLO DE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON 2,2'-DITIOBIS(BENZOTIAZOL) PARA LA DETECCIÓN SELECTIVA DE  $Cu^{2+}$ .....226

José Manuel Flores-Álvarez, Kayim Pineda Urbina, Zeferino Gómez Sandoval.



# ÍNDICE

## Ciencias Químicas

- APLICACIÓN DE TERAPIA FOTODINÁMICA Y SONODINÁMICA CONTRA PATÓGENOS RESISTENTES PARA INFECCIONES NOSOCOMIALES EN PIEL EMPLEANDO RB ENCAPSULADO EN TRANSFERSOMAS®.....236  
Omar Molina Alejandro, Norma Angélica Villanueva Martínez, Laura Abril Pérez Carranza, Andrea Ángela Becerril Osnaya, Gonzalo Hedain López Mera, Raúl Dalí Cruz Morales, Diego Sánchez García, Flora Adriana Ganem Rondero
- DETERMINACIÓN DE OCRATOXINA A EN BOLILLLO DE CD. HIDALGO, MICHOACÁN.....245  
Miriam Yuritzí Gaspar Ruiz, Virginia Angélica Robinson Fuentes
- ESTUDIO SOBRE LA DEGRADACIÓN EXTRA- E INTRA-CELULAR DE BENZO(K)FLUORANTENO POR SELENASTRUM CAPRICORNUTUM.....253  
Manuel Méndez García, Martha Patricia García Camacho
- DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES REOLÓGICAS EN DISPERSIONES DE CARBOPOL APLICANDO EL MODELO MATEMÁTICO DE OSTWALD.....262  
José Gerardo Mejía Hernández, Graciela Martínez Cruz, Rafael Villalobos García
- PROPUESTA METODOLÓGICA PARA LA CONSTRUCCIÓN DE SUPERFICIES DENOTANDO LA VARIACIÓN DE CONSTANTES APARENTES DE FORMACIÓN EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y LA FUERZA IÓNICA.....270  
Ricardo Galdino Martínez Pérez, Jorge Ruvalcaba Juárez, Esperanza Elizabeth Vilchis Barrera,
- DETERMINACIÓN DE MERCURIO COMO IMPUREZA EN SULFATO FERROSO MATERIA PRIMA MEDIANTE UNA VALORACIÓN POR RETROCESO.....281  
Aneth Lorena Hernández Suárez, Juan Manuel Paramo Jurado, Alma Luisa Revilla Vázquez
- IDENTIFICACIÓN POR UPLC-ESI(+)-TOF-MS/MS DE PROTEÍNAS CELULARES Y EXTRACELULARES DE SELENASTRUM CAPRICORNUTUM RELACIONADAS CON LA BIODEGRADACIÓN DE BENZO(A) PIRENO.....288  
Manuel Méndez García, Martha Patricia García Camacho

# ÍNDICE

## Ciencias Químicas

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO COMO IMPUREZA EN SUBSALICILATO DE BISMUTO MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR.....298  
Lizeth Isabel Hernández Santillán, Pablo Hernández Matamoros, Alma Luisa Revilla Vázquez

METABOLÓMICA EN ALERGIAS ALIMENTARIAS CAUSADAS POR PROTEÍNAS DE TRANSFERENCIA LIPÍDICA (LTP).....308  
Andrea Araiza Saldaña, Alma Cristina Villaseñor Solís, Alma Luisa Revilla Vázquez

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE HERBICIDAS TRIAZÍNICOS EN EL CRECIMIENTODECULTIVOSDESELENASTRUMCAPRICORNUTUM Y EN LA REMOCIÓN DE BENZO(b)FLUORANTENO.....317  
María Elena Lara Ruiz, Carlos Uriel Sevilla Agustin, Martha Patricia García Camacho, Manuel Méndez García

SÍNTESIS DE UNA SERIE DE ÉTERES DEL TIPO ALQUIL NAFTIL Y CARACTERIZACIÓN DEL ESTADO DE TRANSICIÓN MEDIANTE EL EMPLEO DE LA QUÍMICA COMPUTACIONAL.....326  
José Guillermo Penieres Carrillo, José Guadalupe García Estrada, Rodolfo Gómez Balderas, León Daniel Ponce Pérez, Luis Antonio Martínez Arellano, Karina Franco Francisco, Perla Itzel Aguilar Vargas

DETERMINACIÓN DE CAPTOPRIL MEDIANTE UNA TITULACIÓN CONDUCTIMÉTRICA.....333  
Portillo Sandoval Byron Moyses, Pablo Hernández Matamoros Hernández, Alma Luisa Revilla Vázquez

DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES EN MUESTRAS DE ORIGEN AGRÍCOLA.....342  
Juan Carlos López Zárate, Alma Luisa Revilla Vázquez, Pablo Hernández Matamoros, Mayte Stefany Jiménez Noriega, Alejandro De la Rosa Tilapa

DETERMINACIÓN DE CAPTOPRIL MEDIANTE UNA TITULACIÓN POTENCIOMÉTRICA.....351  
Diego Antonio Labrada Barcenás, Alma Luisa Revilla Vázquez, Pablo Hernández Matamoros

OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO TEÓRICO DE LOS HÍBRIDOS NO-COVALENTES DE GRAFENO CON FTALOCIANINAS.....360  
Carlos Uriel Mendoza Domínguez, Vladimir Basiuk Evdokimenko, Víctor Hugo Meza Laguna



# ÍNDICE

## Ciencias Químicas

OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO TEÓRICO DE LOS HÍBRIDOS NO-COVALENTES DE GRAFENO CON FTALOCIANINAS .....360  
Carlos Uriel Mendoza Domínguez, Vladimir Basiuk Evdokimenko, Víctor Hugo Meza Laguna

ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE IBUPROFENO MEDIANTE REACCIONES TIPO FENTON HETEROGÉNEAS UTILIZANDO UN NANOCOMPOSITO DE MAGNETITA / HALOISITA COMO CATALIZADOR.....369  
Erick Axel García García, Guadalupe I. Vargas Rodríguez, Julio César Morales Mejía, Yolanda Marina Vargas Rodríguez

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA USANDO EL EXTRAC- TO ACUOSO DE PINGÜICA (*Arctostaphylos pungens* Kunth) COMO AGENTE REDUCTOR.....377  
Luis Manuel Sosa Santos, Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez, Dra. Flora Adriana Ganem Rondero

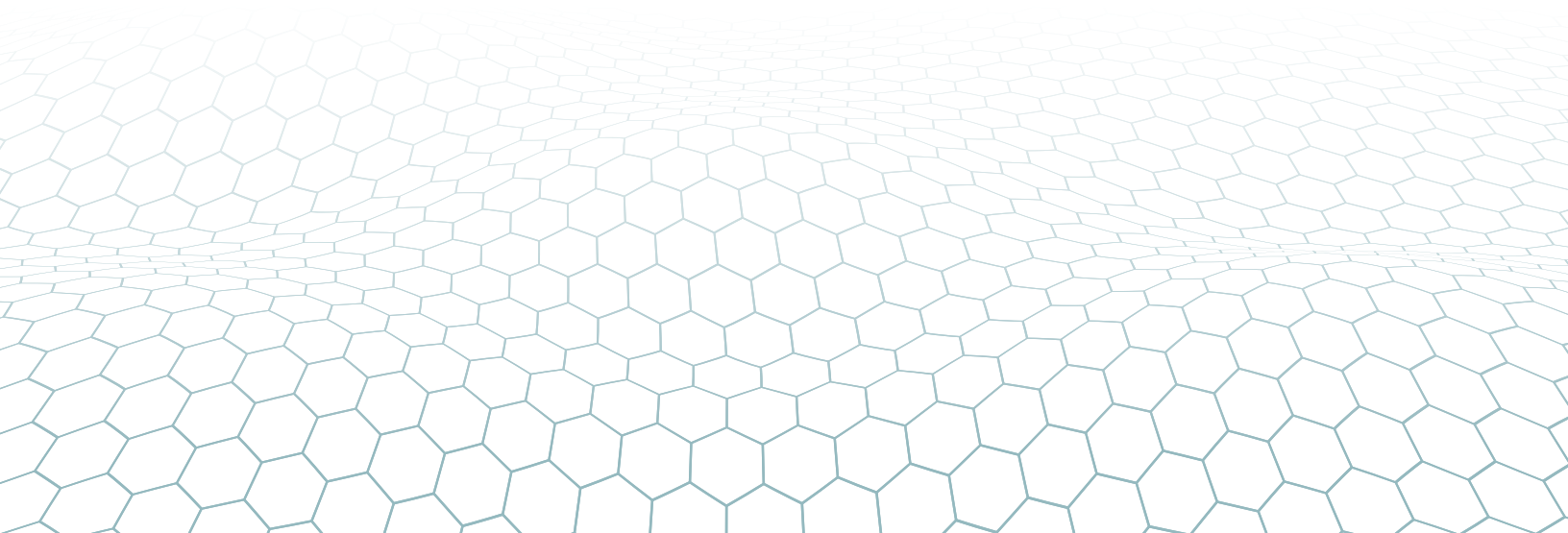
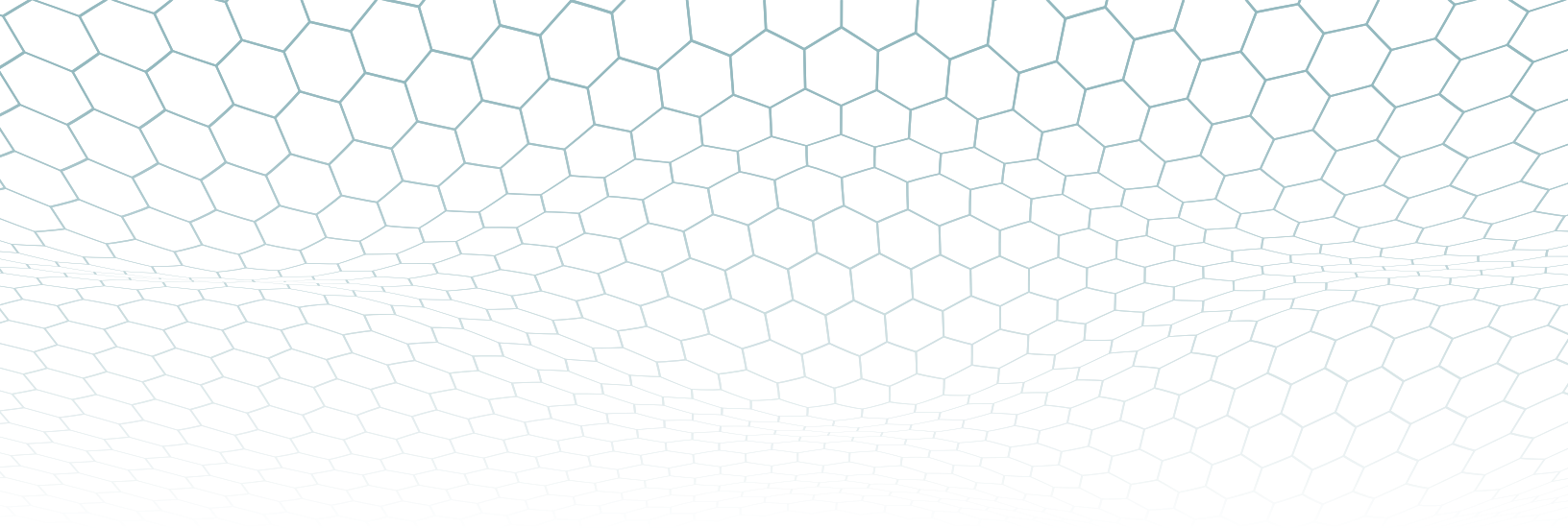
# 388

## Ciencias de la Educación Sociales y Humanidades

ESPECIALIDAD EN ACCESIBILIDAD UNIVERSAL: ENFOQUES TRANSCOMPLEJOS DESDE LA INTERSECCIONALIDAD.....389  
Eska Elena Solano Meneses, Eska Daniela Sierra Solano

USO DE GAMIFICACIÓN CON UN VIDEO 2D EN EDUCACIÓN AM- BIENTAL PARA LA EDUCACIÓN BÁSICA SUPERIOR.....399  
Eska Elena Solano Meneses, Eska Daniela Sierra Solano

USO DEL APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS (ABP) PARA INGENIERÍA AGRÍCOLA EN EL CONTEXTO DE LA EDUCACIÓN HÍBRIDA.....408  
 Dulce Adalgiza Espinoza Romero, Gloria de los Ángeles Zita Padilla



# CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS Y



# AGROPECUARIAS



# IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS PRESENTES EN QUESILLO DE REYES ETLA, OAXACA

*Danae Alicia Martínez Martínez, Diana Matías Pérez, Iván Antonio García Montalvo, Alma Dolores Pérez Santiago, Marco Antonio Sánchez Medina, Emilio Hernández Bautista*

*Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Oaxaca, División de Estudios de Posgrado e Investigación/ Doctorado en Ciencias en Desarrollo Regional y Tecnológico, México; [dnamtz31@gmail.com](mailto:dnamtz31@gmail.com); [diana.matias@itoaxaca.edu.mx](mailto:diana.matias@itoaxaca.edu.mx); [ivan.garcia@itoaxaca.edu.mx](mailto:ivan.garcia@itoaxaca.edu.mx); [alma.ps@oaxaca.tecnm.mx](mailto:alma.ps@oaxaca.tecnm.mx); [mmedinaito@gmail.com](mailto:mmedinaito@gmail.com); [emilio.hb@oaxaca.tecnm.mx](mailto:emilio.hb@oaxaca.tecnm.mx).*

## Resumen

Las bacterias ácido lácticas son microorganismos con características metabólicas similares, producen ácido láctico al fermentar la glucosa, anaerobias grampositivas, inmóviles, catalasa y oxidasa negativas; forman parte de la microbiota natural de la leche cruda, leches fermentadas, yogurt y quesos. Son empleadas en los procesos de conservación de alimentos. El presente estudio, tiene como objetivo identificar microbiológicamente las bacterias ácido lácticas presentes en quesillo de Reyes Etlá, Oaxaca. Se colectó quesillo elaborado con leche cruda de bovino, bajo condiciones de higiene y transportada a temperatura de refrigeración (4 a 7°C). Se realizó aislamiento selectivo en medio de cultivo Man, Rogosa Sharpe (MRS) sólido. Como resultado, se seleccionaron 22 cepas de bacterias ácido lácticas con características de tamaño 1 a 2 mm, color blanco cremoso, forma redonda, puntiformes, bordes enteros, superficie convexa o plana, consistencia butirosa y húmeda; morfológicamente bacilos y cocos, catalasa y oxidasa negativas.

**Palabras clave:** Identificación, bacterias ácido lácticas, quesillo, Oaxaca.



## Antecedentes

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo significativo de microorganismos con características morfológicas, metabólicas, fisiológicas distintivas y están relacionadas funcionalmente, se caracterizan por producir ácido láctico, como principal producto al fermentar glucosa (Mokoena, 2017); son organismos unicelulares, procariotas, morfológicamente son cocos, estreptococos y bacilos. Son gram positivos, no esporulados, la mayoría son inmóviles, catalasa y oxidasa negativos, pueden crecer en altas concentraciones de sal y pH bajo (Miranda, 2021).

En los productos fermentados como vegetales, cárnicos y productos lácteos fermentados tradicionales pueden encontrarse las bacterias ácido lácticas (BAL), sin embargo, tiene una mayor presencia en alimentos derivados de lácteos como quesos, yogurt (Mathur, 2020), ya que estos son los ambientes naturales de estos microorganismos (Terzić, 2020).

En la industria alimentaria las BAL, son considerados microorganismos importantes al producir péptidos antimicrobianos (bacteriocinas), peróxido de hidrógeno, diacilos, que son utilizados contra microorganismos patógenos para controlar la fermentación de los alimentos (Arena, 2018), hoy en día han sido empleados como cultivos iniciadores, para mejorar las propiedades organolépticas y la aceptabilidad de los productos alimenticios fermentados (Hati, 2013), por sus propiedades antimicrobianas son empleados en la conservación de alimentos (Wang, 2021), otra aplicación en la industria alimentaria es la producción de ácidos orgánicos (Beltrán, 2017).

Los géneros de BAL utilizados frecuentemente en la fermentación de alimentos son: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Weisella*, (Mokoena, 2017)

## Objetivo

Identificar microbiológicamente las bacterias ácido lácticas presentes en Quesillo de Reyes Etna, Oaxaca, México.

## Metodología

### Ubicación geográfica del estudio

El Valle de Etna está ubicado al noroeste de los Valles Centrales, en las coordenadas 17° 12'27"N 96°48'00"O.

La superficie territorial es de 2220.96 Km<sup>2</sup>, ver figura 1.





**Figura 1.** Ubicación del distrito de ETLA, en el estado de Oaxaca.

### **Recolección de muestra**

Se colectó muestra de quesillo elaborado con leche cruda de bovino, proveniente del municipio de Reyes ETLA, bajo condiciones de higiene y fue transportada a temperatura de refrigeración (4 a 7°C).

### **Preparación de la muestra**

La muestra de quesillo se homogenizó hasta obtener una pasta, de ello se tomaron 10 g y se colocaron en un recipiente con 90 ml de agua peptonada al 1% estéril, se homogenizó por 5 min para posteriormente preparar diluciones seriadas de 0.01 a 0.0000001.

### **Siembra en medio**

Se colocaron 100 µl de las diluciones 0.00001, 0.000001 y 0.0000001 en cajas petri conteniendo Agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS) sólido, específico para BAL, utilizando asa trifásica estéril se distribuyó uniformemente sobre la superficie de la placa, cada dilución se sembró por duplicado. Las cajas petri inoculadas se incubaron a 30°C, en condiciones anaeróbicas durante 24 h a 48 h.

### **Identificación macroscópica**

Después del tiempo de incubación, se realizó la identificación macroscópica de colonias de BAL, que generalmente presentan color blanco, con forma redonda, aspecto cremoso, diámetro de 1 a 2 mm, superficie convexa y bordes enteros. Las colonias que cumplieron con estas características se sembraron sucesivamente en medio MRS sólido, mediante el método de estría cruzada, posteriormente se incubaron a 30°C, en condiciones anaeróbicas durante 24 h a 48 h hasta su crecimiento.



## Identificación microscópica

### *Tinción de Gram*

Para la selección de las cepas presuntamente ácido lácticas, se realizaron pruebas de tinción de Gram, se colocó una gota de solución salina al 1% sobre un portaobjetos limpio, posteriormente, se tomó con un asa de siembra parte de una colonia a analizar, se mezcló con la gota de solución y se fijó a la flama. Después, se agregaron los colorantes en el orden indicado cristal violeta, solución de yodo, solución de alcohol-cetona y por último safranina, en cada paso se respetó el tiempo de acción de 1 min y posteriormente el lavado a chorro de agua.

### *Identificación morfológica*

Se observó la morfología típica de las células en microscopio óptico 100x. Se seleccionaron las colonias que presentaron coloración violeta en la tinción de Gram y morfología bacilar.

## Pruebas confirmatorias

Se realizó la prueba de catalasa a las cepas de bacterias ácido lácticas que presentaron morfología bacilar y resultaron gram positivas. Se colocó parte de la cepa sobre un frotis y se agregó  $H_2O_2$  al 3%, al presentar burbujas nos indica una prueba positiva. La prueba de oxidasa se realizó empleando el reactivo Kovacs, una coloración púrpura será considerada oxidasa positiva.

## Conservación de cepas

Las cepas de bacterias ácido lácticas gram positivas, morfología bacilar, catalasa y oxidasa negativas fueron conservadas en caldo MRS, adicionado con glicerol al 30% y se almacenaron a  $-70^\circ C$  en viales para crio-conservación.

## Resultados y discusión

A partir de queso de Reyes Etlá, se identificaron 34 colonias con morfología de bacterias ácido lácticas (BAL), que presentaron características macroscópicas de color blanco cremoso, diámetro de 1 a 2 mm, forma redonda, puntiformes, bordes enteros, superficie convexa o plana, consistencia butirosa y húmeda.

Todos los aislados de BAL fueron grampositivos, 21 de los 34 aislados de BAL fueron bastones, mientras que 13 fueron cocos. Los cocos grampositivos y las bacterias en forma de bastón, que se subcultivaron en agar MRS, se caracterizaron además mediante la prueba de catalasa y oxidasa. Según los resultados obtenidos 22 aislados fueron catalasa negativos, 12 aislados fueron positivos para la producción de gas (ver tabla 1).

Se descartaron las cepas que presentaron morfología microscópica de levadura, gram negativas y dieron positivo a las pruebas de catalasa y oxidasa. Así, finalmente se seleccionaron 22 bacterias Gram positivas, morfológicamente bacilos y cocos, con catalasa y oxidasa negativas.

Las características macroscópicas presentadas por las cepas de bacterias ácido lácticas de tamaño, color blanco o cremoso, forma redonda, puntiformes, bordes enteros, superficie convexa o plana, de consistencia butirosa, seca y húmeda, corresponde a características típicas de bacterias ácido lácticas previamente reportadas por (Santander-Cortés, 2023); así como las características microscópicas de bacterias Gram positivas, morfología de cocos y bacilos, catalasa y oxidasa negativa, coincide con lo reportado por (Goa T, 2022).

Las BAL aisladas a partir de queso elaborado con leche cruda, muestra que estos microorganismos forman parte del microbiota de los quesos; Miranda (2021) señala que las BAL pueden encontrarse en diversos tipos de quesos tradicionales, lo que propicia el desarrollo de atributos sensoriales característicos de estos quesos. Coelho et al. (2022) indica que en los quesos de leche cruda elaborados de manera artesanal predomina la presencia de bacterias ácido lácticas, principalmente los géneros *Lactococcus spp*, *Leuconostoc spp*, *Lactobacillus spp* y *Streptococcus spp*.

**Tabla 1.** Cepas con características macroscópicas y microscópicas presuntivas de bacterias ácido lácticas, crecimiento a 30°C durante 24 h en medio de cultivo MRS.

Cepa	Forma	Tamaño (Diámetro)	Color	Margen	Aspecto	Elevación	Gram	Morfología	Catalasa	Oxidasa	Presuntivamente BAL
O1	Redonda	1 mm	Crema	Entero	Húmedo	Elevación	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O2	Puntiforme	<1mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O3	Redonda	1-2 mm	Crema	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O4	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos	(-)	(-)	Sí
O5	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos	(-)	(-)	Sí
O6	Redonda	1-2 mm	Crema	Entero	Seco	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O7	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos	(-)	(-)	Sí
O8	Redonda	1-2 mm	Blanco	Entero	Seco	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O9	Redonda	1 mm	Crema	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos	(-)	(-)	Sí



O10	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Cocos	(-)	(-)	Sí
O11	Redonda	1 mm	Crema	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O12	Puntiforme	<1mm	Crema	Entero	Húmedo	Elevación	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O13	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O14	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O15	Redonda	1-2 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O16	Redonda	1-2 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Elevación	(+)	Cocos	(-)	(-)	Sí
O17	Redonda	<1mm	Blanco	Entero	Seco	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O18	Puntiforme	<1mm	Crema	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O19	Redonda	<1mm	Blanco	Entero	Seco	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O20	Puntiforme	<1mm	Crema	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos	(-)	(-)	Sí
O21	Puntiforme	<1mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O22	Redonda	1-2 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Elevación	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O23	Redonda	1-2 mm	Crema	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O24	Redonda	1-2 mm	Blanco	Entero	Seco	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O25	Puntiforme	1 mm	Crema	Entero	Seco	Elevación	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O26	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Seco	Plana	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O27	Puntiforme	<1mm	Crema	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O28	Redonda	1-2 mm	Crema	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Bacilos	(+)	(+)	No
O29	Puntiforme	1-2 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Plana	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O30	Puntiforme	<1mm	Naranja	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O31	Puntiforme	<1mm	Amarillo	Entero	Húmedo	Elevación	(+)	Cocos	(+)	(+)	No
O32	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O33	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos cortos	(-)	(-)	Sí
O34	Redonda	1 mm	Blanco	Entero	Húmedo	Convexo	(+)	Bacilos curvos	(-)	(-)	Sí

## Conclusiones

El quesillo de Reyes ETLA, Oaxaca, México, es un queso fresco, de pasta hilada o hebras, con gran capacidad de fundición, elaborado con leche cruda de bovino, posee atributos sensoriales únicos debido a su amplia microbiota nativa, principalmente las bacterias ácido lácticas.

Las bacterias ácido lácticas (BAL), son microorganismos seguros, ampliamente utilizados en la industria alimentaria principalmente en la producción de alimentos lácteos fermentados;



los diversos subproductos derivados de la fermentación de estos microorganismos, confieren propiedades antimicrobianas, de conservación y mejoramiento de atributos sensoriales (sabor, aroma, textura, color), lo que permite mejorar la calidad y seguridad de los alimentos.

En conclusión, de las pruebas realizadas al queso, se aislaron 22 cepas de bacterias ácido lácticas que presentaron características macroscópicas y microscópicas propias de estas bacterias, lo que nos indica que este queso tradicional del Valle Eteco, Oaxaca, podría ser una fuente prometedora para el aislamiento de bacterias ácido lácticas y posteriormente su aplicación en la elaboración de algunos otros alimentos funcionales.

### Agradecimientos

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Oaxaca ITO.

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT), México, por el financiamiento para la realización de esta investigación.

### Referencias

Arena, M. P. (2018). Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. *Appl Microbiol. Biotechnol.* 102, 9949–9958, <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9403-9>

Beltrán, J. (2017). Selección de bacterias Ácido Lácticas productoras de Ácido Gamma amino-butírico aisladas del queso crema de Chiapas. Tesis de Licenciatura Repositorio TECNM. <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/3322/1/TESIS%20JESUS%20ANTONIO%20BELTRAN%20CASTRO.pdf>

Coelho MC, M. F. (2022). Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. *Foods*. 11(15): 2276. doi: 10.3390/foods11152276

Goa T, B. G. (2022). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fermented Milk Produced in Jimma Town, Southwest Ethiopia, and Evaluation of their Antimicrobial Activity against Selected Pathogenic Bacteria. *Int J Food Sci.* Vol. 2022, Article ID 2076021, <https://doi.org/10.1155/2022/2076021>

Hati S, Mandal S, Prajapati J. B. (2013). Novel Starters for Value Added Fermented Dairy Products. *Curr Res Nutr Food Sci*, 1(1):83-91 doi : <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.1.1.09>

Mathur, H. (2020). Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. *Nutrients*. 12(6): 1679. [doi: 10.3390/nu12061679](https://doi.org/10.3390/nu12061679)

Miranda, C. (2021). Role of Exposure to Lactic Acid Bacteria from Foods of Animal Origin in Human Health. *Foods*. 10(9):2092. [doi: 10.3390/foods10092092](https://doi.org/10.3390/foods10092092).



Mokoena, M. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*. 22(8):1255. [doi: 10.3390/molecules22081255](https://doi.org/10.3390/molecules22081255)

Santander-Cortés, A. (2023). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from typical fermented Mexican food: a review. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*. 11(22) 59-68. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v11i22.11072>

Terzić, A. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries - Technological and probiotic properties. *Food Res Int* 136(109494). [doi: 10.1016/j.foodres.2020.109494](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494).

Wang, Y. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Front Bioeng Biotechnol* 9(612285). [doi: 10.3389/fbioe.2021.612285](https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285)





# ELABORACIÓN DE BIOPELÍCULAS COMESTIBLES A PARTIR DE LA CASCÁRA DEL EXOESQUELETO DEL CAMARÓN PARA RECUBRIMIENTO DE FRUTOS FRESCOS

*Mariana Rodríguez Gaona, Rosa María García Martínez*

*Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México*

[1800351a@umich.mx](mailto:1800351a@umich.mx), [rosa.garcía@umich.mx](mailto:rosa.garcía@umich.mx)

## Resumen

Las frutas y los vegetales son parte importante de la dieta. El mal manejo de estos productos producen pérdidas, disminuyendo su calidad y junto con una competitividad baja en los mercados domésticos e internacionales.

El desarrollo de biopelículas para alimentos, ha generado importantes avances respecto a la vida de anaquel de dichos alimentos logrando generar una vida más amplia manteniendo así la calidad del producto y alargando su vida comercial, logrando una mejora del mercado para el consumidor y el productor.

La meta del trabajo es lograr la elaboración de biopelículas para posteriormente probarlas en frutos frescos; se llevó a cabo el desarrollo de la formulación con investigaciones anteriores, usando como principal activo el quitosano extraído del exoesqueleto del camarón, junto con un agente plastificante y reticulante, así se obtuvieron las películas y para tomar algunos datos sobre su caracterización como el porcentaje de humedad, solubilidad y espesor.

**Palabras clave:** Agente plastificante, agente reticulante, biopelícula, exoesqueleto, quitosano.



## Antecedentes

Los productos vegetales son la parte fundamental de nuestra dieta, por lo tanto, queremos implementarlas en las mejores condiciones posibles, el manejo de estos productos para su comercialización puede llegar a dañarlos para ellos tenemos que llevar a cabo técnicas que protejan al producto como una película biocomestibles, ya que nos ayuda a la protección de ellos, así como el aumentar su vida de anaquel; logrando obtener una buena calidad de los productos.

En la cáscara del camarón está presente un polímero llamado quitosano, que pertenece a uno de las cuatro grandes fuentes de obtención que es de origen marino siendo su precursor la quitina. La quitina es el segundo polisacárido más abundante en el planeta y es la principal unidad estructural de exoesqueletos de insectos y crustáceos, es similar a la celulosa dando a entender que puede formar estructuras muy extensas y firmes. (Vanegas, 2014)

Por otro lado, el quitosano es un polímero biodegradable, amigable con el medio ambiente y de muy bajo coste, de fácil obtención, un excelente agente quelante y tiene unas características buenas para la formación de películas. (Montenegro, et al. 2019)

Para la formación de películas es necesario utilizar dos agentes que son el plastificante y el reticulante; el agente plastificante se les añaden a los polímeros para mejorar la fluidez y la facilidad del proceso para reducir la fragilidad de la película, debe cumplir la miscibilidad con el producto, el alcohol polivinílico es un polímero que tienen a formar puentes de hidrógeno con otros polímeros, da resistencia a la tracción y flexibilidad dando la fácil formación de polímeros. (Vanegas, 2014)

El agente reticulante forman un enlace que una cadena polimérica con otra mediante enlaces covalentes, dentro de estos agentes se puede utilizar con el quitosano el ácido tánico; frecuente en la naturaleza principalmente en la corteza de los árboles, tiene la capacidad de ser antioxidante que interactúa con macromoléculas biológicas.

## Objetivo (s)

Desarrollar, elaborar y caracterizar una película biocomestible a partir de quitina / quitosano obtenido del exoesqueleto de camarones. Evaluar sus propiedades ópticas y mecánicas, así como las propiedades sensoriales y de composición química general para su uso posterior como recubrimiento en frutos frescos.



## Parte experimental

### 1. Materiales

- a. Vasos de precipitado
- b. Tamizador #50
- c. Probetas
- d. Embudos
- e. Balanza analítica
- f. Papel filtro
- g. Molino manual
- h. Estufa
- i. Desecador
- j. Parrilla con agitador magnético
- k. pH-metro
- l. Cajas Petri de plástico
- m. Termómetro
- n. Mortero

### 2. Reactivos:

- a. Obtención de quitina
  - i. NaOH ..... 0.5% y 3%
  - ii. HCl ..... 2M
  - iii. NaOCl ..... 3%
  - iv. Acetona ..... Concentrada
- b. Obtención de quitosano
  - i. NaOH ..... 50%
- c. Elaboración de películas
  - i. Alcohol polivinílico (APV) ..... 7.5%
  - ii. Ácido acético ..... 3%

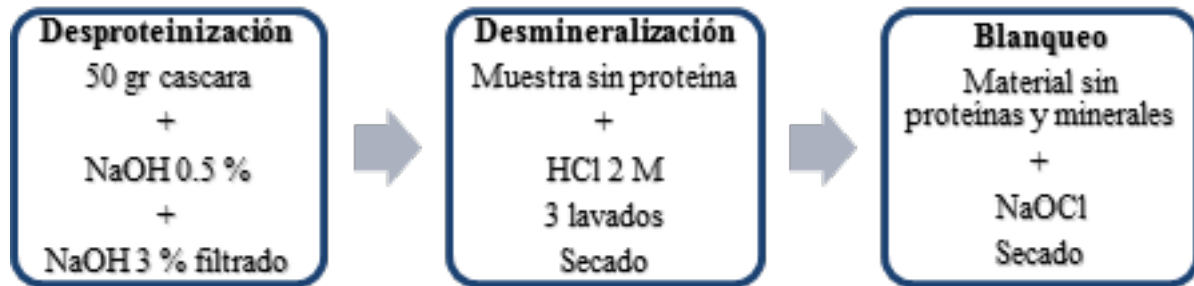
### 3. Acondicionamiento de la materia



**Figura 1.** Metodología del acondicionamiento de la materia

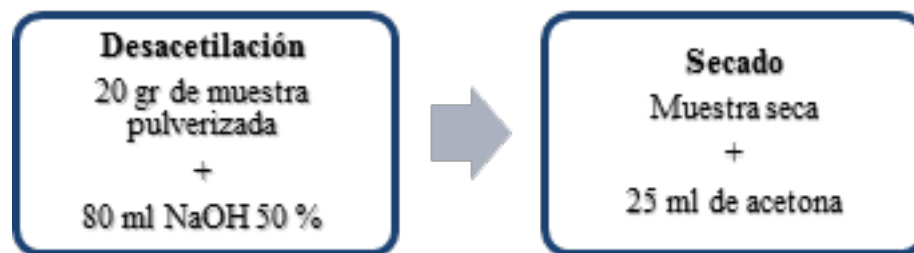


#### 4. Obtención de la quitina



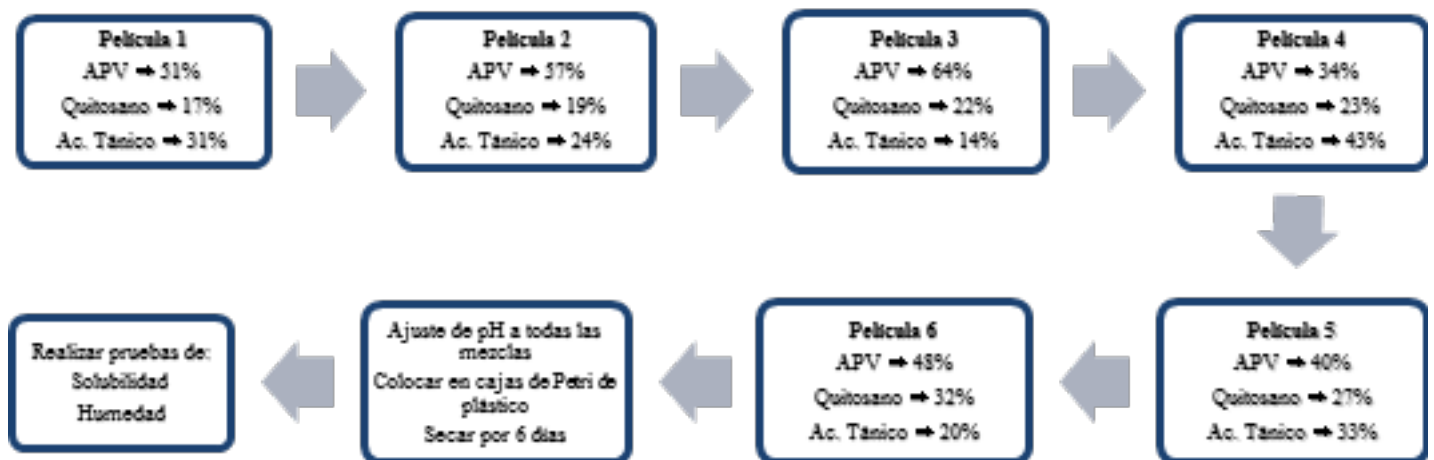
**Figura 2.** Metodología para la obtención de la quitina

#### 5. Obtención del quitosano



**Figura 3.** Obtención del quitosano

#### 6. Formación de biopelículas



**Figura 4.** Desarrollo de biopelículas

7. Humedad



**Figura 5.** *Determinación de humedad*

8. Solubilidad



**Figura 6.** *Determinación de solubilidad*

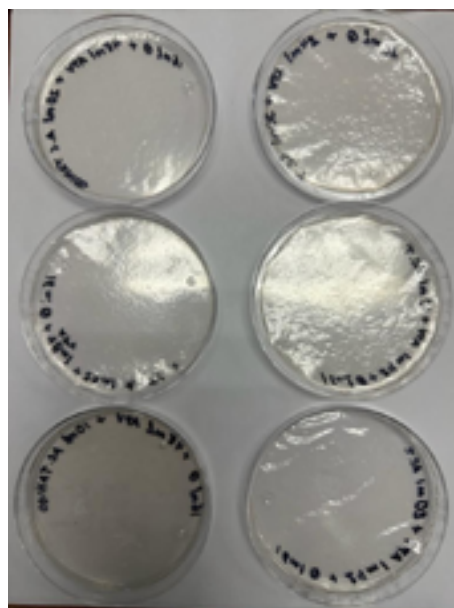
**Resultados y discusión**

**Tabla 1.** *Parámetros evaluados a las biopelículas*

Película	% Humedad	% Solubilidad en H <sub>2</sub> O	Espesor
APV → 51%	14.41%	99.47%	0.10 mm
Quitosano → 17%			
Ac. Tánico → 31%			
APV → 57%	12.69%	99.06%	0.1 mm
Quitosano → 19%			
Ac. Tánico → 24%			
APV → 64%	13.99%	98.68%	0.11 mm
Quitosano → 22%			
Ac. Tánico → 14%			



APV → 34%			
Qitosano → 23%	10.04%	99.73%	0.15mm
Ac. Tánico → 43%			
APV → 40%			
Qitosano → 27%	15.35%	99.46%	0.04 mm
Ac. Tánico → 33%			
APV → 48%			
Qitosano → 32%	20.39%	98.43%	0.28%
Ac. Tánico → 20%			



**Figura 1.** *Biopelículas secas*

Las películas tuvieron mucho éxito en su realización, se obtuvo una excelente calidad en cuestión de solubilidad ya que es casi 100% soluble en agua, nos interesa ya que al cubrir frutos y vegetales al momento de su lavado podemos eliminarla si al consumidor le llegara a molestar, igualmente en el porcentaje de humedad es relativamente bajo y eso es un resultado satisfactorio ya que justamente es un parámetro que influye en la degradación de los alimentos y queremos protegerlos de ella, el espesor de las películas es óptimo ya que no queremos que nuestro alimento tenga una textura notablemente diferente.



## Conclusiones

Se logró obtener las biopelículas de quitosano al 3%, observándose que el quitosano requiere de un agente plastificante como el alcohol polivinílico a una concentración de 7.5% y un agente reticulante como el ácido tánico al 3% para favorecer la formación de los enlaces de las cadenas poliméricas en la obtención de las biopelículas que les confiere resistencia y fluidez para su manipulación. Así como la obtención de buenos resultados de su caracterización motivando para seguir investigando esta línea y probarla en producto fresco.

## Agradecimientos

M.C. Rosa María García Martínez, Profesora Investigadora y directora de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH y a la QFB. María de Jesús Juárez Ayala por las sugerencias que han dado realce al presente trabajo. Agradeciendo también a mi querida Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y a la Facultad de Químico Farmacobiología por brindarme el espacio para la realización de este trabajo Este trabajo forma parte del proyecto de investigación del verano nicolaíta, financiado por la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.

## Referencias

- León, K., & Santiago, J. (2015). Preparación y caracterización de películas de alcohol polivinílico embebidas con extracto de sangre de grado. Repositorio Institucional del Instituto Peruano de Energía Nuclear, 229-234.
- Mata, B. (2012). El aprovechamiento del exoesqueleto del camarón. Morelia: Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo Facultad de Ingeniería Química.
- Montenegro, H., Vega, D., & Hernández, A. (2019). Preparación y caracterización de algunos derivados del quitosano. Revista de investigación de la Universidad de Panamá, 9-25.
- Vanegas, M. (2014). Obtención de películas biodegradables a partir de mezclas de quitosano de cáscaras de camarón y agentes plastificantes. Quito: UCE. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química, Universidad central del Ecuador Facultad de Ingeniería Química. <https://core.ac.uk/download/pdf/71903085.pdf>





# ARQUITECTURA PARA EL MONITOREO DE VARIABLES AGROCLIMATOLÓGICAS EN EL CULTIVO DE *Lactuca sativa* UTILIZANDO EL IOT PARA FAVORECER LA PRODUCCIÓN Y CONSUMO SOSTENIBLE

*Arnulfo Gamaliel Hernández González\**, Daniela Lizbeth Hernández Sánchez, Ana Lilia Sosa y Durán, José Luis Fernández Jiménez

*Instituto Tecnológico Superior de Misantla*

[aghernandezg@itsm.edu.mx](mailto:aghernandezg@itsm.edu.mx), [daniela\\_lizbeth@itsm.edu.mx](mailto:daniela_lizbeth@itsm.edu.mx), [analiliasosa@itsm.edu.mx](mailto:analiliasosa@itsm.edu.mx),

[jlfernandezj@itsm.edu.mx](mailto:jlfernandezj@itsm.edu.mx)

## Resumen

Este trabajo aborda la implementación de una arquitectura basada en IoT para el monitoreo de variables agroclimáticas en cultivos aeropónicos de *Lactuca sativa* en la región de Misantla, Veracruz. La problemática se centra en la necesidad de mejorar la producción y el consumo sostenible de lechuga, así como en generar oportunidades de autoempleo para familias de recursos escasos. El objetivo general es desarrollar una solución tecnológica eficiente y accesible. En el desarrollo del proyecto se implementa una arquitectura con sensores específicos, comunicación mediante Arduino, Raspberry Pi, y una API REST para gestionar datos en tiempo real. Los resultados preliminares sugieren mejoras significativas en la eficiencia del cultivo y la viabilidad económica, destacando el potencial de esta innovación para impulsar el desarrollo sostenible local.

**Palabras clave:** Internet de las Cosas, Cultivos aeropónicos, *Lactuca sativa*, variables agroclimáticas, Raspberry Pi.

## Antecedentes

Vásquez Bermúdez et al. (2023) expone un sistema integral de monitoreo y control basado en la internet de las cosas (IoT) para optimizar un sistema aeropónico de cultivo de lechuga orgánica. La eficacia del sistema en mejorar la calidad de la lechuga producida se destaca en los resultados. La introducción resalta los beneficios ambientales y productivos de la



tecnología aeropónica, enfocándose en la eficiencia hídrica y el uso mínimo de nutrientes. El capítulo de metodología describe la experimentación llevada a cabo en un invernadero en Ecuador durante 45 días y presenta la arquitectura del sistema IoT utilizado para recolectar y monitorear datos. Se discuten los componentes del sistema, incluidos sensores, conectividad, análisis y procesamiento, así como la interfaz de usuario. En los resultados, se evalúa el sistema mediante una aplicación móvil que monitorea parámetros clave como temperatura, turbidez, pH y niveles de agua, con gráficos e informes visuales. La discusión resalta la importancia del monitoreo en métodos agrícolas y concluye que el sistema IoT es efectivo para el cultivo aeropónico de lechuga, sugiriendo adaptaciones para distintos cultivos y fuentes de agua. En resumen, el documento subraya la utilidad del sistema IoT para potenciar la eficiencia y productividad en el cultivo aeropónico de lechuga orgánica. En este proyecto no se utiliza antenas de radio frecuencia ni Raspberry pi para el monitoreo de variables.

Chanchí-Golondrino et al. (2022) presenta el desarrollo de un sistema IoT para el monitoreo y análisis de variables climatológicas en cultivos de agricultura urbana. El sistema se basa en herramientas de hardware y software de código abierto y sigue una arquitectura de cuatro capas. Permite la captura, monitoreo y análisis de variables climatológicas de interés en la agricultura urbana. El estudio también explora la personalización de modelos de análisis basados en las características agroclimáticas de cada cultivo. Se utilizan sensores para capturar variables como temperatura, humedad y luminosidad, que se envían a una placa de captura con un mini servidor web. Los datos se almacenan en una base de datos no relacional y se analizan utilizando medidas estadísticas y modelos de aprendizaje automático supervisado y no supervisado. Los resultados se pueden visualizar en tiempo real y se utilizan para el monitoreo y análisis. En este trabajo se implementa una Raspberry Pi 4 como componente central, desempeñando un papel crucial en la recepción, procesamiento y transmisión de datos procedentes de una variedad de sensores. Estos sensores están diseñados para capturar una serie de variables críticas para la agricultura, tales como temperatura, humedad, pH, luminosidad, presión atmosférica y altitud. La utilización de esta plataforma tecnológica no solo permite un monitoreo preciso de las condiciones ambientales y del suelo, sino que también facilita la recopilación y el análisis de datos en tiempo real. Además de su enfoque agrícola, el proyecto abarca objetivos sociales significativos, el propósito va más allá de la optimización de la producción; también se inspira en promover la sostenibilidad agrícola y en crear oportunidades de empleo para comunidades en desventaja económica en la región. Esta combinación de monitoreo de cultivo específico y objetivos sociales lo convierte en un proyecto integral y de alto impacto en el sector agrícola local, con el potencial de contribuir significativamente al desarrollo sostenible y al mejoramiento de las condiciones de vida de las poblaciones locales.



Hurtado Aldana Lina María et al. (2022) El sistema de riego automatizado para huertas caseras con IoT consiste en el desarrollo de un sistema que utiliza tecnologías de IoT para monitorear y controlar el riego en huertas caseras. Se utilizan componentes electrónicos de bajo costo, como sensores de temperatura y humedad, placas programables y bombas de agua. El sensor de temperatura y humedad DHT11 se utiliza para monitorear la temperatura ambiente y la humedad del suelo. La información recopilada se muestra a través de una interfaz gráfica desarrollada en IoT Cloud de Arduino, que permite el monitoreo remoto y el control del sistema de riego desde cualquier ubicación con acceso a internet. Además, el sistema se alimenta mediante un sistema de energía solar fotovoltaica, lo que lo hace autosostenible y respetuoso con el medio ambiente, el sistema, está diseñado para una escalabilidad destacada, utiliza un servidor web para gestionar y almacenar grandes volúmenes de datos del monitoreo agro climatológico, asegurando adaptabilidad ante crecientes demandas futuras. La comunicación de datos se realiza mediante antenas de microondas NRFL01, asegurando una transmisión eficiente y estable, y se complementa con una aplicación móvil intuitiva. Esta aplicación permite a los usuarios visualizar y consultar variables críticas como pH, humedad, temperatura, presión atmosférica y luminosidad, facilitando decisiones informadas en el cultivo de *Lactuca sativa*.

Vargas Capera Yesid Steven et al. (2022) este proyecto busca solucionar la falta de herramientas tecnológicas para el control y monitoreo de las especies de flora en los viveros de Girardot. Se propone desarrollar un sistema informático que utilice IoT para monitorear la temperatura y humedad de las plantas en tiempo real. El sistema utilizará sensores conectados a través de IoT para recopilar datos de temperatura y humedad de las plantas. Se menciona que se utilizarán sistemas de comunicación inalámbrica como Wi-Fi o Bluetooth para transmitir los datos desde los sensores hasta la plataforma central que permitirá monitorear el estado de las plantas, controlar el riego, gestionar las plantas y generar reportes y alertas automáticas. Además, se plantea la incorporación de energías renovables y la adición de otros sensores en el futuro para ampliar las capacidades del sistema. Por lo tanto, nuestra propuesta implica la utilización de tecnología de transmisión de datos mediante microondas, aprovechando las antenas NRF24L01. Esta tecnología permite la transferencia de datos en áreas desprovistas de antenas Wifi y ofrece un alcance de hasta 1 km sin obstáculos.

Ruiz Martínez & González Gómez (2022) presenta un enfoque interesante al utilizar la ingeniería de software y el lenguaje unificado de modelado (UML) para abordar el diseño y desarrollo de la solución tecnológica. El uso de UML permitió realizar el modelado conceptual de la solución tecnológica, lo que incluye la identificación de los actores involucrados en los procesos a través de casos de uso. Esto demuestra la importancia de aplicar conocimientos científicos en la creación de software. El uso de IoT y aprendizaje automático en el monitoreo





y control de variables medioambientales en un cultivo de café es relevante y puede tener un impacto significativo en la industria agrícola. Estas tecnologías permiten recopilar datos en tiempo real y utilizar algoritmos de aprendizaje automático para analizar y tomar decisiones basadas en esos datos. La distinción de este proyecto radica en la creación de una arquitectura IoT que abarca todo el proceso, desde la captura inicial de datos, su transmisión, recepción, procesamiento y finalmente, el envío de los datos para su posterior monitoreo.

Berrios Gomez & Rivera Herrera (2022) estiman que en un futuro la productividad agrícola dependerá de la inversión en la mecanización de las actividades incluso en agricultura de pequeña escala. Se busca diseñar un sistema IoT basado en ESP32 para el monitoreo y control de diversos factores. La metodología que se utiliza y sus fases de diseño son: La identificación de requerimientos, el diseño conceptual, el diseño de detalle. La arquitectura funciona comenzando en una red de tipo estrella conformada por un nodo central y tres nodos sensores, utiliza Firebase Realtime Database y últimamente una aplicación móvil basada en Android Studio. Los nodos recolectan la información que es temperatura, humedad del ambiente, humedad del suelo y nivel del tanque de agua para el riego. Los datos recolectados, se mandan al nodo central el cual es el encargado de enviarlos a la base de datos y activar o desactivar los actuadores, la aplicación móvil adquiere la información de la base de datos y mediante una GUI la información es mostrada y los sensores pueden ser activados o desactivados por medio de la aplicación. En este proyecto no se implementan servicios web personalizados, ni alguna aplicación web o móvil para visualizar la información.

Herrera Rubio & Ortiz E (2022) en este proyecto el control de variables ambientales se aplica a un tipo de estudio diferente a las plantas, donde busca implementar un sistema de monitoreo y control que utiliza internet de las cosas para determinar el comportamiento de las variables ambientales en la avicultura, la investigación se origina en la Vereda de agua linda en el municipio de los Patios, Norte de Santander. La investigación es de nivel comprensivo, por el objeto de estudio es experimental y de tipo explicativo, se informan detalladamente las causas que corresponden a comportamiento de las variables físicas a estudiar y que afectan la cría y salubridad de las aves de corral como lo son las gallinas. La metodología se divide en cinco fases: la identificación de las variables del entorno, diseño de la red, la programación, la prueba del sistema y por último los análisis y resultados. Mediante sensores como lo son el sensor de temperatura y humedad DHT 22, el sensor de humedad de suelo HL-69, el sensor de amoníaco TAR-MQ135 y por último el sensor de nivel de agua WS-9525 que guardarán información en un servicio web en ThingSpeak, y mostrará en una aplicación móvil los datos que se capturaron. Este proyecto está aplicado para el monitoreo y control en el sector avícola, sin embargo, el mecanismo para la recolección de las variables ambientales es similar para la recolección de variables agroclimatológicas.



Pineda Casas et al. (2021) Realizó un diseño de sensor IOT para variables climáticas en el cultivo aeropónico aplicado a lechuga este trabajo presenta el diseño de un sensor electrónico para monitorear variables climáticas en la agricultura aeropónica a través de IoT. El sensor mide la temperatura, humedad relativa y luminosidad, y envía los datos a plataformas IoT. Se desarrolló una aplicación de Android para configurar el sensor y enviar los datos a plataformas como ThingsBoard, ThingSpeak y Ubidots. El estudio destaca la importancia de elegir la plataforma adecuada para el almacenamiento y análisis de datos. En resumen, el artículo muestra la implementación exitosa de un sensor IoT para monitorear condiciones climáticas en la agricultura aeropónica, utilizando tecnología IoT y plataformas de análisis de datos, por ello el sistema está dotado de servicios web propios, meticulosamente desarrollados mediante el uso del framework Laravel, con el objetivo de proporcionar una experiencia sumamente personalizada. La implementación de Laravel, conocido por su robustez y flexibilidad en el desarrollo de aplicaciones web, permite ofrecer una interfaz y funcionalidades que se alinean de manera precisa con las necesidades y preferencias de los usuarios. Este enfoque no solo refuerza la usabilidad y accesibilidad del sistema, sino que también subraya el compromiso con la entrega de soluciones tecnológicas que se centran en la experiencia del usuario, asegurando que la interacción con el sistema sea intuitiva, eficiente y, sobre todo, valiosa para los usuarios en sus actividades agro climatológicas.

Aguirre et al. (2018) busca desarrollar un sistema de monitoreo para acuaponía en hogares basado en IoT con el objetivo de mejorar la seguridad alimentaria y contribuir a la mitigación del cambio climático a través de la producción de alimentos inocuos y de calidad. El modelo implementado utiliza múltiples variables agroecológicas y tecnologías de monitoreo para mejorar la producción de alimentos y contribuir a la mitigación del cambio climático. El sistema integra la cría de peces con el cultivo de vegetales hidropónicos y utiliza sensores y monitoreo remoto para controlar variables como la temperatura, la humedad y el pH. Los resultados muestran una productividad positiva y un uso eficiente de los recursos, lo que lo convierte en una opción viable para la producción integrada de peces y vegetales en espacios urbanos. Además, el artículo discute varios estudios sobre sistemas hidropónicos y acuapónicos para la producción de diferentes plantas y animales acuáticos, explorando su potencial para la agricultura sostenible y proporcionando evaluaciones preliminares de su efectividad. Este proyecto lleva a cabo la implementación de un sistema de monitoreo en tiempo real que abarca una serie de factores esenciales para optimizar su funcionamiento, entre las variables que se estudian, se incluyen la temperatura, la humedad, el pH, la presión atmosférica, la altitud y la luminosidad. Además, se establece un robusto mecanismo de almacenamiento de los datos generados por estos sensores. Este enfoque permite lograr un control minucioso del proceso de crecimiento en el cultivo de *Lactuca sativa*, contribuyendo significativamente a la eficiencia y calidad de producción.



## Objetivo (s)

Desarrollar e implementar una arquitectura IoT especializada para el monitoreo de variables agroclimáticas en cultivos aeropónicos de Lactuca sativa en la región de Misantla, Veracruz, con el propósito de mejorar la producción, promover el consumo sostenible de alimentos orgánicos y generar oportunidades de autoempleo para familias de escasos recursos.

## Objetivos Específicos:

- Configurar y desplegar sensores agroclimáticos específicos para cultivos aeropónicos en el sistema de cultivo, recopilando datos precisos sobre factores como temperatura, humedad, niveles de nutrientes.
- Implementar un sistema de comunicación eficiente utilizando tecnologías como Arduino, Raspberry Pi y radiofrecuencia para transmitir los datos recopilados desde el sistema aeropónico hasta una estación receptora conectada a Internet.
- Desarrollar una API REST utilizando Laravel 8 para facilitar la transferencia y almacenamiento de datos agroclimáticos específicos para cultivos aeropónicos en una base de datos MySQL.

## Parte experimental:

Se llevó a cabo un estudio experimental para monitorear variables agroclimáticas en un sistema de cultivo aeropónico de Lactuca sativa en la región de Misantla, Veracruz, mediante una arquitectura basada en IoT.

## Materiales:

*Sensores Agroclimáticos:* 1) Sensor BME280 de temperatura y humedad del aire. 2) Sensor PH-4502C de pH para medir la acidez del agua de nutrientes. 3) Sensor Fotorresistencia LDR de luminosidad para evaluar la exposición solar.

*Hardware de la IoT:* 1) Placas de Arduino MEGA para la adquisición de datos de sensores. 2) Raspberry Pi 3 Modelo B para la conectividad y transferencia de datos. 3) Antenas NRF24L01 como dispositivos de radiofrecuencia para la transmisión de datos a larga distancia.

*Estructura de Cultivo:* 1) Sistema de cultivo aeropónico con compartimentos para plantas. 2) Nebulizadores para generar la niebla de nutrientes. 3) Contenedores para soluciones de nutrientes.



*Software:* 1) IDE de Arduino para programar las placas de Arduino. 2) Python versión 3 para programar la Raspberry Pi. 3) Laravel 8 para desarrollar la API REST.

### **Métodos:**

*Configuración de sensores:* 1) Calibración y ubicación estratégica de sensores en el área de cultivo. 2) Programación de sensores utilizando el IDE de Arduino.

*Implementación de Hardware IoT:* 1) Conexión de sensores a placas de Arduino. 2) Configuración de Raspberry Pi como estación receptora. 3) Desarrollo de la API REST con Laravel 8.

*Montaje de la Estructura de Cultivo:* 1) Instalación del sistema aeropónico con compartimentos para plantas. 2) Integración de nebulizadores para la generación de niebla de nutrientes. 3) Preparación de la solución de nutrientes.

*Transmisión y Almacenamiento de Datos:* 1) Envío de datos desde Arduino hasta la Raspberry Pi mediante radiofrecuencia. 2) Transmisión de datos desde la Raspberry Pi a un servidor web remoto a través de internet. 3) Almacenamiento de datos en una base de datos MySQL mediante la API REST.

Este protocolo experimental asegura un monitoreo integral y eficiente, utilizando una arquitectura tecnológica para optimizar el cultivo de *Lactuca sativa* en condiciones aeropónicas.

### **Resultados**

Como resultado principal se obtuvo una arquitectura completamente funcional que se utilizó en un prototipo de cultivo aeropónico de *Lactuca Sativa*, sin embargo, se puede aplicar a cualquier experimento donde se requiera monitorear variables ambientales, la Figura 1 muestra la arquitectura en sus cuatro etapas de desarrollo mismas que se explican a continuación:

**Monitoreo de variables agroclimatológicas:** Para monitorear las variables agroclimatológicas se conectó a una Placa de Arduino MEGA un sensor BME280 de temperatura y humedad del aire, un sensor PH-4502C de pH para medir la acidez del agua de nutrientes y un sensor Fotorresistencia LDR de luminosidad para evaluar la exposición solar, estos sensores proporcionan datos constantemente y cuando se detecta una variación en sus valores se prepara una cadena en formato JSON que no supere los 32 caracteres ya que es la capacidad máxima de caracteres que puede enviar por radio frecuencia el módulo NRF24L01, los datos son enviados a una estación receptora, cabe mencionar que cada experimento se denomina lote y por cada lote se coloca una estación de monitoreo de variables, es posible establecer una estación de monitoreo por cada que se tenga, la programación de este módulo se realizó con Arduino ver. 1.8.16.



**Recepción y Envío de variables:** Para la recepción de los datos en formato JSON se utilizó una placa de Arduino MEGA a la que se conectó una antena NRF24L01 misma que es la encargada de recibir todos los paquetes de información enviados por las estaciones de monitoreo de variables las cuales solo reciben datos de las estaciones que pertenecen al mismo experimento, esta estación receptora se utiliza como un puente entre las estaciones de monitores de variables agroclimatológicas que se encargan de enviar los datos a la estación de recepción y envío de variables, debido a que el módulo NRF24L01 no se pudo conectar directamente a la placa Raspberry Pi 3 Modelo B al momento de realizar este experimento por problemas de compatibilidad entre los módulos con sistemas operativos de arquitectura de 32 bits, así que la placa de Arduino MEGA se conectó directamente a una placa Raspberry Pi 3 Modelo B, con la finalidad que mediante Arduino se reciban los datos y estos se pasan a la placa Raspberry Pi mediante una conexión serie. A la placa Raspberry Pi se le instaló Python 3, PIP y MariaDB mediante la consola del sistema operativo, aquí es donde se recibe el mensaje en formato JSON, se deserializa mediante el lenguaje de programación Python, se crean las instrucciones SQL para insertar los datos en una base de datos local en caso de que la Raspberry no tenga acceso a internet en ese preciso momento, en caso contrario los datos almacenados localmente junto con los datos que van llegando se envían a una API REST, donde se almacenarán permanentemente y se procesarán.

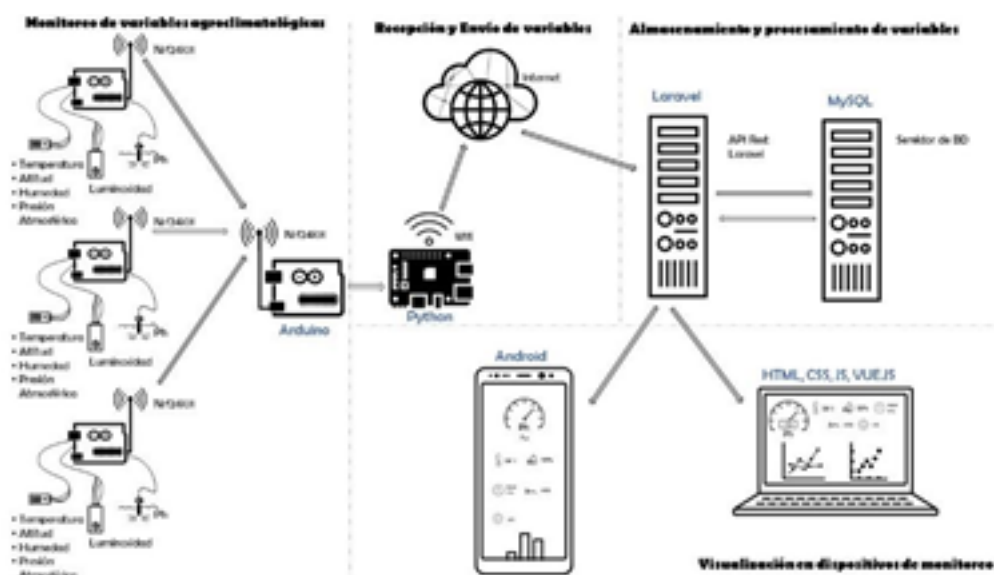
**Almacenamiento y procesamiento de variables:** Para el almacenamiento de los datos se instaló un servidor Web XAMPP que aloja una API REST desarrollada en Laravel 8 y se instaló un servidor de base de datos MySQL, cabe destacar que se diseñó una base de datos relacional para el almacenamiento de datos, la API REST consta de dos endpoint, el primero recibe un objeto JSON y el segundo recibe un arreglo de objetos JSON, cada uno se encarga de decodificar el JSON que contiene toda la información necesaria para crear dinámicamente las instrucciones para insertar los datos en la base de datos

**Visualización en dispositivos de monitoreo:** Aunque no es parte de la arquitectura estos dispositivos, sí utilizan la información generada por la arquitectura para monitorear el comportamiento de las variables agroclimatológicas en cultivos aeropónicos, se trata de una APP desarrollada con Android para monitorear en tiempo real cada variable agroclimatológicas, por otra parte se desarrolló una sistema web que permite dar de alta los experimento que tiene un investigador o persona que quiera aplicar esta arquitectura a sus cultivos, clasificando sus lotes y así ser más preciso en la información, ambas aplicaciones están pensadas para brindar información que ayude a la toma de decisiones.



## Conclusiones

La implementación de una arquitectura basada en IoT para el monitoreo de variables agroclimáticas en cultivos aeropónicos de *Lactuca sativa* en la región de Misantla, Veracruz, ha representado un avance significativo en la búsqueda de soluciones sostenibles para la agricultura local. La integración de sensores específicos, hardware IoT y un sistema aeropónico ha permitido un monitoreo preciso del entorno de cultivo, optimizando el suministro de nutrientes y agua de manera eficiente.



**Figura 1.** Arquitectura para el monitoreo de variables agroclimáticas en cultivo de *Lactuca Sativa* utilizando IoT.

Los resultados preliminares sugieren mejoras notables en la eficiencia del cultivo, con un crecimiento más vigoroso y un uso más eficiente de los recursos. La arquitectura implementada no solo ha facilitado la toma de decisiones en tiempo real para optimizar las condiciones del cultivo, sino que también ha sentado las bases para generar oportunidades de autoempleo, especialmente relevantes en comunidades de escasos recursos.

La implementación exitosa de la arquitectura basada en IoT no solo ha posibilitado el monitoreo efectivo de variables agroclimáticas en cultivos aeropónicos de *Lactuca sativa*, sino que también ha permitido la generación de un conjunto de datos integral, este conjunto de datos será instrumental para la mejora continua de la producción agrícola a través de la aplicación de ciencia de datos. La automatización de un prototipo aeropónico, respaldado por datos precisos y en tiempo real, se presenta como un paso fundamental



hacia la creación de un entorno de cultivo totalmente controlado. Este enfoque no solo fortalece la sostenibilidad y eficiencia del cultivo, sino que también permite la adaptación tecnológica para que futuras investigaciones y aplicaciones impulsen el desarrollo agrícola en la región de Misantla, Veracruz.

### Agradecimientos

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento al Tecnológico Nacional de México (TecNM) por su generoso apoyo financiero que ha hecho posible la realización de este proyecto “Arquitectura para el monitoreo de variables agroclimatológicas en el cultivo de lactuca sativa utilizando el IoT para favorecer la producción y consumo sostenible” su contribución ha sido fundamental para llevar a cabo nuestra investigación y alcanzar los objetivos propuestos. Este respaldo financiero no solo ha fortalecido la calidad de nuestro trabajo, sino que también ha impactado positivamente en el avance de la ciencia y la tecnología en nuestra institución.

### Referencias

- Aguirre, É. A., Monje Carvajal, J. J., Sierra Salamanca, C., & Andrés Vega, D. (2018). Development of a monitoring system for aquaponics in homes based on iot desenvolvimento de um sistema de monitoramento para acuaponia em lares baseado em iot. *Inventum* 13(24), 15–21. <https://repository.uniminuto.edu/handle/10656/8969>
- Berrios Gomez, S., & Rivera Herrera, H. J. (2022). Sistema IoT basado en ESP32 para el control y monitoreo de cultivos en invernadero con enfoque de agricultura 4.0. *Ingeniería Investiga*, 4.e624, DOI: <https://doi.org/10.47796/ing.v4i0.624>
- Chanchí-Golondrino, G.-E., Ospina-Alarcón, M.-A., & Saba, M. (2022). Sistema IoT para el monitoreo de variables climatológicas en cultivos de agricultura urbana. *Revista Científica*, 44(2), 257–271. <https://doi.org/10.14483/23448350.18470>
- Herrera Rubio, J. E., & Ortiz E, V. J. (2022). Implementación de un sistema de monitoreo y control con tecnología IoT para determinar el comportamiento de las variables ambientales en la avicultura. *Investigación e Innovación En Ingenierías*, 10(1), 30–41. <https://doi.org/10.17081/invinno.10.1.5016>
- Hurtado Aldana Lina María, Cortés Parra Juan Esteban, Sarmiento Quintero Kenneth Fabricio, Romero Cabrera Danna Sofía, & Aldana Pulido Deiber Andrés. (2022). Diseño de un sistema de riego automatizado para huertas caseras con IoT. In *Revista Sennova: Revista del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación*. 6 (1). 11-24, <https://doi.org/10.23850/23899573.5365>



Pineda Casas, V., Antonio Méndez Guzmán, H., José Martínez Nolasco, J., Alfredo Padilla Medina, J., & Gerardo Bravo Sánchez, M. (2021). Diseño de sensor iot para variables climáticas en cultivo aeropónico aplicado a lechuga iot sensor design for climate variables in aeroponic cultivation applied to lettuce. In *Tecnológico Nacional de México en Celaya Pistas Educativas*, 43(140). <http://itcelaya.edu.mx/ojs/index.php/pistas>

Ruiz Martinez, W., & González Gómez, A. A. (2022). Un enfoque desde la ingeniería de software a una solución tecnológica de IoT y aprendizaje automático que permita monitorear y controlar las variables medioambientales en un cultivo de café. *Ingeniería*, 26(3), 465–478. <https://doi.org/10.14483/23448393.18495>

Vargas Capera Yesid Steven, Hernández Hernández Camilo Alexander, Escarraga Escobar Nelson Esteban, & Pineda Cadena Edicson. (2022). Análisis, diseño, desarrollo y despliegue de un sistema informático para el monitoreo de temperatura y humedad de especies nativas de flora, utilizando IOT, en el municipio de Girardot en el vivero Guabinal, para el 2022. In *Encuentro Internacional de Educación en Ingeniería*. DOI: <https://doi.org/10.26507/paper.2258>

Vásquez Bermúdez, M. J., Hidalgo Larrea, J. W., Salavarría Melo, J. O., & Carchi, M. (2023). Monitoreo IoT en un Sistema Aeropónico para el cultivo de la Lechuga Orgánica. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 4(2). <https://doi.org/10.56712/latam.v4i2.618>





# APLICACIÓN DE NIVELES DE *Glomus intraradices* EN RESPUESTA AL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CALABAZA PIPIANA

Laura Consuelo Ruíz Soto<sup>1</sup>, José Francisco Díaz Najera<sup>1</sup>, Sergio Ayvar Serna<sup>1</sup>, José Luis Arispe Vázquez<sup>2</sup>, Antonio Mena Bahena<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero,

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias,

Iguala de la Independencia Guerrero, México

[ruizsotolaura177@gmail.com](mailto:ruizsotolaura177@gmail.com), [francisco.najera@csaegro.edu.mx](mailto:francisco.najera@csaegro.edu.mx), [sergio.ayvar@csaegro.edu.mx](mailto:sergio.ayvar@csaegro.edu.mx),  
[antonio.mena@csaegro.edu.mx](mailto:antonio.mena@csaegro.edu.mx), [arispe.jose@inifap.gob.mx](mailto:arispe.jose@inifap.gob.mx)

## Resumen

El uso de tecnologías orgánicas es una alternativa que permite producir plantas de mejor calidad; la aplicación de micorrizas es una práctica agrícola potencialmente eficiente para mayor desarrollo y rendimiento de plantas cultivadas. El objetivo de la presente investigación fue evaluar diferentes dosis de *Glomus* sp. en tratamiento a la semilla de calabaza pipiana asociadas al crecimiento de biomasa, mediante la aplicación del producto comercial Collision® con seis repeticiones y seis tratamientos. La primera evaluación se realizó 5 días después de la emergencia. Se evaluó el diámetro del cuello del tallo, altura de la planta, número de hojas, porcentaje de cobertura vegetal, peso de la biomasa foliar fresca y seca y peso de la raíz fresca y seca. Los resultados indicaron que hubo gran impacto en el porcentaje de cobertura vegetal y una alta relación con el diámetro del cuello del tallo, y la altura en comparación con el testigo.

**Palabras clave:** *Glomus* sp., crecimiento de biomasa, tratamiento a la semilla, rendimiento.



## Antecedentes

La familia *Cucurbitaceae* incluye cerca de 118 géneros y 825 especies (Smith, 2001). El cultivo de estas especies fue importante para el desarrollo de las primeras civilizaciones de América, pues combinadas con otros cultivos del sistema milpa, brindaron alimentos necesarios para su subsistencia (Mera *et al.*, 2011); En México, el cultivo de calabaza es importante en sistemas agrícolas tradicionales de diversos estados, como Yucatán, Jalisco, Oaxaca y Veracruz, aunque generalmente como cultivo secundario después de otros. Variedades locales de calabaza se han perdido por falta de continuidad de uso, y el desplazamiento que ocurre por selecciones nuevas y productivas; algunas se mantienen aisladas y otras requieren caracterización, selección y mejora para manifestar características sobresalientes (Toledo, 2003).

El estado de Guerrero, México, cuenta con amplia diversidad de recursos fitogenéticos, incluidos los referentes a *Cucurbita* spp., y conocer su riqueza permite definir estrategias para su estudio, conservación y aprovechamiento. En los últimos años, gracias a la alternativa de industrialización de la semilla, la demanda y el precio de la semilla ha aumentado, lo que propició que los productores incrementaran la superficie sembrada y, por consiguiente, los niveles de producción (Galeno *et al.*, 2016). Una estrategia para afrontar la problemática de seguridad alimentaria es incrementar la rentabilidad y rendimientos de los cultivos. Por lo que, la aplicación de micorrizas, relación simbiótica con hongos biotróficos obligados del phylum *Glomerycota* con cerca de 200,000 especies de plantas terrestres (Pérez, 2018), es considerada una práctica agrícola potencialmente eficiente para obtener un mayor desarrollo y rendimiento de las plantas cultivadas. El uso de tecnologías orgánicas es una alternativa que permite producir plantas de mejor calidad, aplicando abonos orgánicos y biofertilizantes. Dado que aportan sustancias ricas en carbono que promueven un aumento de la actividad microbiana (Torres, 2008). Bajas reservas de materia orgánica en el suelo disminuyen la actividad microbiana y los nutrientes disponibles, mientras que la aplicación de fertilizantes sintéticos ricos en nitrógeno, fósforo y potasio influyen de manera negativa en la actividad microbiana del suelo, reduciendo los microorganismos benéficos para las plantas (Ricárdez, 2020).

## Objetivo

El objetivo de la presente investigación fue evaluar diferentes dosis de *Glomus* sp. en tratamiento a la semilla de calabaza pipiana y determinar su efecto sobre el crecimiento y acumulación de biomasa.

## Materiales y métodos

La investigación se realizó entre los meses de marzo y mayo del 2023 en las instalaciones del Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, ubicado en el kilómetro 14.5 Carretera Iguala - Cocula. Cocula, Guerrero, México, con coordenadas de 18° 15' 52" N y 99° 38' 52" O, con un clima cálido seco, con temperatura promedio anual de 28 a 32 °C, con precipitación de 767 mm y altitud de 640 m. Se utilizó semilla de calabaza ciclo agrícola/año<sup>1,2</sup> 01 21-22, número de lote CSAEGRO-LOTE-16 perteneciente al Estado de Guerrero, al municipio de Cocula. El inoculante biológico utilizado fue Collision® (*Glomus intraradices* 35,500 UFC/g). Los tratamientos se describen en la Tabla 1. Los tratamientos evaluados se distribuyeron en un diseño de bloques completamente al azar, con seis repeticiones y seis tratamientos generando un total de 36 unidades experimentales. La unidad experimental consistió en una bolsa de polietileno de color negro (21×25 cm), con capacidad de 4 kg de sustrato, el sustrato utilizado fue arcilla al 70 %. Para evaluar el efecto de los tratamientos se midieron las siguientes variables a) diámetro del cuello del tallo (cm), b) altura de la planta (cm), c) número de hojas, d) porcentaje de cobertura vegetal (%); de las cuales tuvieron 6 repeticiones con un intervalo de cinco días después de la emergencia. Posteriormente se analizaron las variables de: e) peso de la biomasa foliar fresca y seca, f) peso de la raíz fresca y seca; fueron expresadas en gramos. Las variables de estudio se sometieron al análisis de varianza, utilizando el programa SAS (Statistical Analysis System), adicionalmente se realizó una prueba de comparación múltiple de medias mediante el método de Tukey con nivel de significancia al 5 %, un análisis de regresión lineal y finalmente un análisis de correlación.

**Tabla 1.** Tratamientos utilizados en semilla de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*).

No.	Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis
T1	Collision®	<i>Glomus intraradices</i>	100 g ha <sup>-1</sup>
T2	Collision®	<i>Glomus intraradices</i>	150 g ha <sup>-1</sup>
T3	Collision®	<i>Glomus intraradices</i>	200 g ha <sup>-1</sup>
T4	Collision®	<i>Glomus intraradices</i>	250 g ha <sup>-1</sup>
T5	Collision®	<i>Glomus intraradices</i>	300 g ha <sup>-1</sup>
T6	Testigo	-----	-----



## Resultados y discusión

En las medidas tomadas en esta investigación, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq .0001$ ). Se determinó que el promedio de la dinámica en la altura de plantas sometidas a un tratamiento en semilla se ajustó a un modelo de regresión lineal ( $R^2 = 0.96$ ), con un incremento de 4.14 cm entre cada evaluación. Por otra parte, las plantas del testigo registraron un incremento promedio de 0.39 cm entre cada evaluación (Tabla 2). La variable de cobertura vegetal tuvo diferencias notorias, dado que se ajustó a un modelo de regresión lineal ( $R^2 = 1.00$ ), teniendo un incremento promedio en las semillas sometidas a un tratamiento de 7.02 cm entre cada evaluación (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis de regresión lineal de las variables altura, diámetro, número de hojas y cobertura vegetal.

Variable	Testigo	R <sup>2</sup>	Tratamiento	R <sup>2</sup>
Altura	$y = 11.87 - 0.39x$	0.97	$y = 11.37 + 4.14x$	0.96
Diámetro	$y = 1.43 - 1.77x$	0.80	$y = 0.01 + 0.66x$	0.51
Número de hojas	$y = 2.20 + 1.66x$	0.95	$y = 2.08 + 1.65x$	0.95
Cobertura vegetal	$y = 6.65 + 10.92x$	0.99	$y = 7.37 + 7.02x$	1.00

No se detectaron diferencias significativas en ninguna de las variables en estudio (Tabla 3). Sin embargo, las dosis de Collision<sup>®</sup> de 150, 200, 250 y 300 g ha<sup>-1</sup>, registraron los mayores promedios de las variables altura de la planta, diámetro del cuello del tallo, número de hojas, cobertura vegetal y peso del follaje (fresco y seco) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Comparación de los valores promedio de las variables por tratamiento

Tratamientos	ALT	DC	NH	CV	PF	PS	PRF	PRS	VR
100 g ha <sup>-1</sup>	51.50a <sup>±</sup>	0.70a	11.83a	40.00a	22.02a	5.23a	2.11a	0.37a	2.25a
150 g ha <sup>-1</sup>	60.67a	0.69a	11.50a	37.83a	33.62a	6.17a	1.88a	0.38a	1.75a
200 g ha <sup>-1</sup>	67.33a	0.81a	13.33a	47.16a	32.04a	7.71a	1.87a	0.43a	1.83a
250 g ha <sup>-1</sup>	66.33a	0.68a	12.66a	49.00a	21.15a	6.18a	1.76a	0.39a	1.75a
300 g ha <sup>-1</sup>	64.50a	0.77a	14.16a	47.16a	22.59a	6.87a	2.05a	0.43a	1.83a
Testigo	59.33a	0.73a	13.33a	45.16a	21.72a	6.03a	2.57a	0.48a	2.50a
Pr. (Pr ≥ F)	0.7738	0.2651	0.4832	0.5707	0.2842	0.4654	0.8905	0.7541	0.9740
DSM	47.989	0.2048	5.8907	16.16	26.39	5.7644	2.5954	0.4333	2.9256

ALT: Altura de la planta; DT: Diámetro del cuello del tallo; NH: Número de hojas; CV: Cobertura vegetal; PF: Follaje fresco; FS: Peso del follaje seco; PRF: Peso de la raíz fresca; PRS: Peso de la raíz seca y VR: Volumen de la raíz. DMS: diferencia mínima significativa. <sup>±</sup>Medias con letras iguales entre columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey 0.05).

Roveda *et al.* (2007), menciona en su investigación que en la aplicación de *Glomus* sp., como tratamiento de la semilla favoreció hasta un 38 % de incremento en su biomasa fresca y seca, mientras que en esta investigación tuvo un gran impacto en el porcentaje de cobertura vegetal y una alta relación con el diámetro del cuello del tallo, y la altura en comparación con el testigo. Anozie *et al.* (2018) reportaron que principalmente bajo condiciones de invernadero, que la aplicación de *Glomus* sp tiene efectos positivos en la producción calabaza, tales como incremento en la altura de las plantas, biomasa, área foliar y por ende en el rendimiento, con diferentes respuestas según la variedad.

En el análisis de correlación simple se presentó una alta relación entre el diámetro del cuello del tallo, y la altura, lo que significó que a medida que se incrementa la altura se tendrá un mayor diámetro del cuello del tallo, así como también el follaje fresco y el porcentaje de cobertura vegetal, las correlaciones antes mencionadas presentaron diferencias altamente significativas (Tabla 4).

**Tabla 4.** Análisis de correlación de las variables de estudio

	ALT	NH	CV	PF	RF	FS	PRS	VR
DT	0.59**							
NH	0.92**	0.58**						
CV	0.34*	0.35*	0.24 <sup>ns</sup>					
PF	0.73**	0.53**	0.67**	0.02 <sup>ns</sup>				
PRF	0.41*	0.41*	0.38*	0.01 <sup>ns</sup>	0.36*			
FS	0.94**	0.68**	0.91**	0.25 <sup>ns</sup>	0.83**	0.38*		
PRS	0.42**	0.40*	0.39*	0.09 <sup>ns</sup>	0.23 <sup>ns</sup>	0.89**	0.35*	
VR	0.23 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.89**	0.19 <sup>ns</sup>	0.78**

ALT: Altura de la planta; DT: Diámetro del cuello del tallo; NH: Número de hojas; CV: Cobertura vegetal; PF: Follaje fresco; FS: Peso del follaje seco; PRF: Peso de la raíz fresca; PRS: Peso de la raíz seca y VR: Volumen de la raíz.

## Conclusiones

El presente estudio reveló que los diferentes niveles de *Glomus* sp. aplicados a la semilla en calabaza pipiana no afectaron el crecimiento ni acumulación de biomasa, en el análisis de correlación se determinó que existió asociación entre las variables de crecimiento y acumulación de biomasa en plantas de calabaza pipiana.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO), a la Coordinación de investigación y extensión del CSAEGRO, así como al área de protección de cultivos y estadística aplicada por las facilidades brindadas para la realización del presente estudio.



## Referencias

- Anozie, H. I., y Orluchukwu, J. A. (2018). Response of three varieties of Cucurbitaceae to arbuscular mycorrhizal fungi (*Gigaspora gigantea*) in the Humid Tropics. *Int. J. Agric. Earth Sci*, 4, 30-36
- Galeno, H. C. A., Flores, Z. M., Castro, L.D. (2016). Diversity and distribution of pumpkins (*Cucurbita* spp.) IN Guerrero, México. *Revistas AGRO*. México. pp. 1-7.
- Mera O. L. M., Bye B. R. A., Villanueva V. C., Luna, M. A. (2011). *Documento de diagnóstico de las especies cultivadas de Cucurbita* L. Instituto de Biología UNAM. México. P. 79.
- Pérez, V. A. (2018). Desafíos y propuestas para lograr la seguridad alimentaria hacia el año 2050. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(1), 175-189. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i1.857>
- Ricárdez, P. J. D. (2020). Vermicomposta y micorriza arbuscular, su efecto en la nutrición del cacao en fase de invernadero. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 7(3), e2282. Epub 08 de noviembre de 2021. <https://doi.org/10.19136/era.a7n3.2282>
- Roveda. G., Polo. C. (2007). Mecanismos de adaptación de maíz asociados a *Glomus spp.* en suelos con bajo fósforo disponible. *Agronomía Colombiana*, 25(2). 349-356
- Smith, B. D. 2001. Documenting plant domestication: The consilience of biological and archeological approaches. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:1324-1326.
- Toledo, V. M. (2003). La riqueza florística de México: un análisis para conservacionistas. In: Guevara S, Moreno-Casasola P, Rzedowski J (Comp.) *Logros y perspectivas del conocimiento de los recursos vegetales de México en vísperas del siglo XXI*. Instituto de Ecología, AC. / Sociedad Botánica de México. Xalapa, Veracruz. México. pp. 109- 123.
- Torres, R. H. (2008). Importancia de los abonos orgánicos. Ra Ximhai. *Revista Científica de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sostenible*. 4(1): 57-68. 10.35197/rx.04.01.2008.04.jf.

## EFFECTO DE LA GERMINACIÓN DE LENTEJA (*Lens culinaris* M.) SOBRE EL COLOR Y RENDIMIENTO DE HARINA

*Ma. Guadalupe Lara Pineda<sup>1</sup>, Liliana Márquez Benavides<sup>2</sup>, Consuelo de Jesús Cortés*

*Penagos<sup>1</sup>, José Herrera Camacho<sup>2</sup>, Berenice Yahuaca Juárez<sup>1\*</sup>*

*<sup>1</sup>Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH, México,*

*<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH, México,*

[1800462g@umich.mx](mailto:1800462g@umich.mx), [berenice.yahuaca@umich.mx](mailto:berenice.yahuaca@umich.mx), [consuelo.cortes@umich.mx](mailto:consuelo.cortes@umich.mx)

[liliana.marquez@umich.mx](mailto:liliana.marquez@umich.mx), [jose.herrera@umich.mx](mailto:jose.herrera@umich.mx)

### Resumen

Las harinas de germinado de lentejas son una alternativa alimenticia. La germinación aumenta la actividad enzimática mejorando las propiedades nutrimentales y fisicoquímicas como el color, dado por clorofila, carotenoides, etc., así como el rendimiento de harina. Se determinó el efecto de la germinación de lenteja sobre la coloración y rendimiento de harina. Se germinaron lentejas verdes (25 °C/2, 4, 6 y 8 días), se deshidrataron (50 °C/24 h) y molieron. El rendimiento se calculó por peso. El color se determinó por el ángulo de matiz (AM) e índice de saturación (IS). Al avanzar la germinación el IS aumenta y el AM disminuye (tonalidades amarillo-naranja) en las harinas. Aunque se perdió materia sólida al germinar (5 % y 9 %), el rendimiento fue alto, con pérdidas inferiores al 10%. El cambio en el color y rendimiento se relacionan con la germinación, deshidratación y molienda, información potencial para crear alimentos nutritivos y atractivos visualmente.

**Palabras clave:** germinación, color, rendimiento, lenteja.

### Antecedentes

El destacable contenido nutrimental de la lenteja es la razón por la que en la actualidad se motiva su reincorporación a la dieta habitual, además de tener implicaciones en la sostenibilidad y soberanía alimentaria. A lo largo de la historia, la principal forma de consumo era en menestras



(sopas y purés, principalmente) obtenidas a partir de una cocción hidrotérmica. Actualmente, en respuesta a la exigencia de la población sobre la adquisición y consumo de alimentos alternativos, nutritivos, de fácil y rápida preparación, destaca la germinación de las semillas, ya sea para consumirlas directamente o bien para la elaboración de harinas, a partir de las cuales pueden desarrollarse diversas formulaciones culinarias. La germinación de la lenteja promueve diversos cambios en la semilla repercutiendo en sus cualidades nutritivas, tecnológicas y sensoriales.

La germinación implica la reanudación del crecimiento y desarrollo del embrión, que previamente estaba en un estado latente dentro de las semillas. Este proceso se caracteriza por la ruptura de la cubierta de la semilla, conduciendo a la formación de una plántula (Martínez, 2019). Además, durante la germinación, se observa una reducción en la absorción de agua y estabilización en el consumo de oxígeno (Vela, 2022). La germinación consta de tres fases, en la primera se lleva a cabo la imbibición, la semilla absorbe agua produciendo el ablandamiento y rompimiento de la testa, en la segunda fase se activan las enzimas provocando el crecimiento de la raíz, aquí las reservas alimenticias son utilizadas por el embrión, la actividad de agua disminuye llegando incluso a detenerse, y en la tercera fase comienza a emerger la radícula, la actividad de agua y respiratoria se reanudan (Sánchez García & Loayza Jaramillo, 2012). En la germinación las semillas triplican su tamaño debido a la absorción de agua, teniendo así un rendimiento elevado (Arrieta Miranda, 2021). También conduce a la conversión de carbohidratos, proteínas y lípidos a formas simples facilitando su digestión; el carbohidrato de reserva más importante es el almidón encontrado en el citoplasma en forma de gránulos (Samperio Ruiz, s/f).

El concepto de semilla germinada y brote son distintos. La semilla germinada se da en un periodo de tiempo de dos a tres días iniciado el proceso de germinación, el germen transforma la reserva nutritiva para que la planta nueva lo asimile. El brote es un estadio más avanzado, que aparece a partir del quinto día, se presenta la radícula, el vástago y la clorofila, se pierde la cascarilla y se asimila la reserva nutritiva (Martínez, 2019). Para la germinación las semillas requieren de condiciones favorables de luz, oxígeno, temperatura y humedad que serán los que determinen el color, olor, sabor de los germinados y el carácter final del alimento (Martínez, 2019 y Davila et al., 2003). La germinación provoca que las legumbres aumentan su valor nutricional, sintetizando nutrientes, minerales y antioxidantes, a partir de compuestos como agua, oxígeno y temperatura necesaria. Durante la germinación, también se inhiben compuestos anti nutritivos que influyen negativamente en la calidad nutricional (Sandoval-Ruiz & Ruiz-Díaz, 2018).





Una excesiva aplicación de calor puede desnaturalizar a las proteínas, disminuir su digestibilidad debido a la formación de nuevos enlaces intra o intermoleculares entre proteínas y otros componentes produciéndose así un pardeamiento enzimático, caramelización de azúcares, promoción de procesos oxidativos (Huampa Barreto, 2016), eventos que interferirá en el color de los germinados y brotes. El calentamiento puede provocar que la clorofila pierda el átomo de magnesio y se transforme en feofitina cambiando su color verde brillante a un color pardo olivo. La degradación de la clorofila comienza con la disociación del residuo de fitol y del anillo de porfirina de la molécula de la clorofila, reacción es catalizada por la clorofilasa. (Deaquiz Oyola, 2014). Cuando la clorofila se degrada, se expresan otros pigmentos como los carotenoides y antocianinas que antes se encontraban disfrazados por la clorofila (Ulloa, 2015). Los carotenoides tienen la capacidad de captar la luz y transferirla a las clorofilas para que se lleve a cabo la fotosíntesis, estos pigmentos presentan tonalidades que van de amarillo a rojo. Estos compuestos pueden alterarse por deshidrogenación, ciclación, epoxidación, etc., produciendo otras estructuras y por tanto otros pigmentos (Rivero Moreno, 2021).

Consumir alimentos que provengan de procesos germinativos es saludable debido a que se cosechan y se consumen en fresco lo que garantiza que sus propiedades nutricionales sigan intactas. Una vez consumidos, la concentración enzimática comenzará a actuar sobre el metabolismo produciendo la regeneración del torrente sanguíneo ya que contienen cuatro veces más vitaminas y compuestos fotoquímicos que las hojas maduras de algunas plantas. Son una alternativa económica ya que son de fácil cultivo y no se necesita de procesos industriales complejos para su cultivo y cosecha (Arrieta Miranda, 2021).

La incorporación de las harinas de germinados a la industria se debe a la búsqueda de alternativas nutricionales y dietéticas para el consumo humano. Esto debido en gran parte, al alto contenido de proteínas que presentan, las cuales son utilizadas por el organismo para cumplir con ciertas funciones de crecimiento, desarrollo, asimilación de nutrientes, regulación de hormonas, entre otras (Zapata & Giraldo, 2021).

En la actualidad las harinas de legumbres y las harinas de germinados de éstas, han cobrado gran importancia debido a que son utilizadas en la industria alimentaria, aportando contenido proteico y mejorando las propiedades sensoriales de otros productos (Sandoval-Ruiz & Ruiz-Díaz, 2018). La utilización de este tipo de harinas tiene como finalidad enriquecer o mejorar la calidad del producto elaborado, cuando son introducidas a una matriz alimentaria, brindando beneficios que no se tienen con la utilización de un producto convencional, ejemplos de esto son como mejoradores en la industria cárnica, (sustituyendo la proteína animal), en fórmulas infantiles, en productos de panadería y pastas, y en la elaboración de queso (Zapata & Giraldo, 2021).



## Objetivo

Determinar el efecto de la germinación de las semillas de lenteja sobre la coloración y rendimiento en la producción de harina.

## Parte experimental

*Material de estudio.* Se utilizaron semillas de lenteja verde (*Lens culinaris* M.) adquiridas en un mercado local de la cd. de Morelia, Michoacán.

*Proceso de germinación.* Se utilizó una solución clorada al 2% para desinfectar las semillas de lenteja, posteriormente se realizó la imbibición por 24 horas utilizando agua potable para el remojo. La germinación de las semillas de lenteja se llevó a cabo en una cámara ambiental marca Lab-line, a una temperatura de 29°C y una humedad relativa de 34%, se realizó en ausencia de luz. Los tiempos de germinación fueron 2, 4, 6 y 8 días. El experimento se llevó a cabo con cuatro repeticiones.

*Obtención de harina.* Terminada la germinación, cada muestra se llevó a deshidratación a 50°C por 24 horas en un deshidratador Hamilton Beach, después se realizó una molienda en un molino Cgoldenwall para obtener la harina de lenteja, cada harina se empacó al vacío para su conservación y posterior análisis.

*Determinación de color.* El color de la harina de germinado de lenteja se determinó con un colorímetro manual marca FRU, se utilizaron aproximadamente 55 gramos de muestra que se colocaron en una caja Petri y sobre la tapa se colocó este equipo. Aquí se midió la luminosidad (L) que presentaron las harinas, así como las coordenadas de color (a y b), a partir de las cuales se calculó el ángulo de matiz y el índice de saturación.

$$\text{Índice de Saturación (IS)} = \sqrt{(a^2 + b^2)}$$

$$\text{Ángulo de Matiz (AM)} = (\arctan)b/a$$

*Determinación del rendimiento de harina.* Inicialmente se utilizaron 150 gramos de semillas de lenteja para la germinación, una vez que se obtuvo la harina, se pesó en una balanza granataria y la diferencia de peso reportada el peso en gramos correspondió al rendimiento de harina obtenido.

## Resultados y discusión

En la tabla 1 se presentan los resultados del análisis de color para las muestras de harina de germinado de lenteja. Con respecto a la luminosidad se puede observar que las muestras del germinado 1 obtuvieron el mayor valor con  $86.80 \pm 1.92$  lo que indica que las muestras se

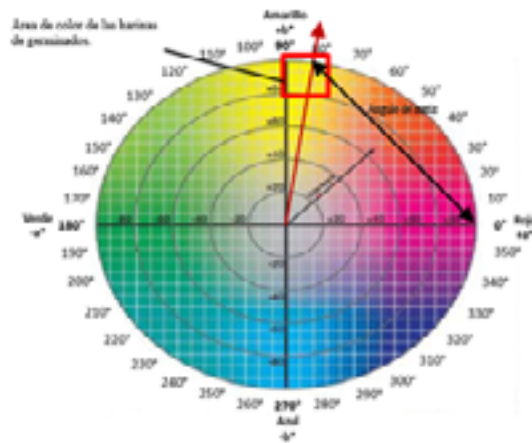
orientan hacia el color blanco. Los valores de las coordenadas de color (a y b) al ser valores positivos indican que las harinas presentan coloraciones rojas (a) y amarillas (b), cabe resaltar que los valores de “b” son mayores que los de “a” predominando en las harinas el color amarillo.

Tipo de muestra	L	a	b	índice de saturación	Ángulo de matiz
Germinado 1 (2 días)	86.8 ± 1.92	1.42 ± 0.05	13.04 ± 0.22	13.12 ± 0.22	83.77 ± 0.24
Germinado 2 (4 días)	84.16 ± 3.44	2.17 ± 0.88	14 ± 0.72	14.19 ± 0.85	81.3 ± 2.96
Brote 1 (6 días)	82.18 ± 1.91	2.82 ± 0.41	14.62 ± 0.83	14.89 ± 0.87	79.1 ± 1.23
Brote 2 (8 días)	83.48 ± 1.07	2.44 ± 0.36	14.71 ± 0.64	14.92 ± 0.59	80.48 ± 1.74

**Tabla 1.** Promedios de los valores colorimétricos de las harinas de germinados de lenteja.

Al observar los promedios obtenidos para el índice de saturación es claro que se encuentran en un rango que oscilan entre los 13 y 15 con desviaciones estándar menores a 1 y para el ángulo de matiz los valores oscilan entre 79 y 84 con desviaciones estándar menores a 3 siendo estadísticamente significativos. Así mismo, se observa que conforme aumentan los días de germinación el índice de saturación aumenta tornándose las muestras más brillosas e intensas. Por otra parte, el ángulo de matiz disminuye conforme transcurren los días de germinación, presentándose colores amarillos-naranjas en las harinas.

En la Figura 1 se puede observar el plano de color, de acuerdo con los valores de AM e IS obtenidos para las harinas de los germinados de lenteja obtenidos se ubican en una zona específica del plano, en ángulos entre 80° y 90°, presentándose tonalidades entre amarillas y naranjas. La germinación, deshidratación y molienda influyen en la variación de color de las harinas.



**Figura 1.** Modelo de color CIElab donde se reporta el área de color de las harinas de germinado de lenteja



Un trabajo realizado por Vela Gisbert, (2020) explica que los cambios o pardeamiento en la coloración de harinas fermentadas se debe a factores como la concentración enzimática, compuestos fenólicos, temperatura, oxígeno, actividad de agua y pH. Así, en esta investigación y derivado de la germinación se puede observar que ésta ocasionó que el color de la harina tuviera una mayor luminosidad y cambios en las tonalidades. Martínez Girón & Ordóñez Santos, (2016) en su trabajo sobre harina de residuos de chontaduro explican que el tratamiento térmico a pesar de que en la mayoría de las ocasiones reduce o aumenta el contenido de carotenoides, en esta ocasión no hubo cambios significativos, y que cuando se controla este tipo de tratamientos puede permitir un reordenamiento asociativo de carotenoides relacionado con el contenido de ácidos grasos o proteínas. De tal forma que se puede considerar que los carotenoides son compuestos que están expuestos a cambios derivados de los tratamientos a los que sean sometidos, tal es el caso de la germinación de la lenteja.

Finalmente, el rendimiento de la harina de lenteja obtenida tras el proceso de germinación se presenta en la Tabla 2. De forma general se aprecia que la germinación disminuye la cantidad de sólidos obtenidos en la lenteja, esta pérdida es de entre 8 a 12 g. Este proceso conlleva una pérdida de materia seca por cada 150 gramos de lentejas. La reducción en la cantidad de sólidos puede atribuirse principalmente al hecho de que durante la germinación, las lentejas inician un proceso de crecimiento en el que utilizan parte de sus reservas de nutrientes y almidones almacenados para alimentar el crecimiento de la nueva planta. Esto resulta en una disminución de la cantidad de materia seca en las lentejas germinadas en comparación con las lentejas no germinadas (Arenas-Vela, 2022).

*Tabla 2. Rendimiento obtenido de las harinas de lenteja de acuerdo con su tiempo de germinación.*

Tiempo	Peso inicial (g)	Peso final (g)	% Rendimiento
Germinación 1 (2 días)	150	138.82 ±4.25	11.18
Germinación 2 (4 días)	150	141.92 ±7.89	8.08
Brote 1 (6 días)	150	137.05 ±4.83	12.95
Brote 2 (8 días)	150	138.62 ±2.64	11.38

Es importante destacar que, aunque la germinación puede llevar a una pérdida de sólidos, también se asocia con beneficios nutricionales significativos, ya que durante este proceso se producen cambios bioquímicos que aumentan la disponibilidad de nutrientes y mejoran la digestibilidad de las lentejas. Por lo tanto, a pesar de la pérdida de materia seca, la harina de lenteja obtenida después de la germinación puede ser una opción más saludable y nutritiva en comparación con la harina de lenteja no germinada. Estos cambios en la composición química y nutricional pueden ser de interés en aplicaciones culinarias y alimenticias, donde se busquen productos más saludables y con mayor valor nutricional.



## Conclusiones

El cambio de color que experimentan algunos alimentos se debe a la modificación estructural de sus pigmentos debido a métodos químicos o biológicos, en este caso los cambios que ocurrieron en la harina de germinados de lenteja se debieron a un método químico que fue la deshidratación. Los pigmentos que predominan en este tipo de alimentos son los carotenoides, los cuales son compuestos estables siempre y cuando no se sometan a tratamientos térmicos elevados pues esto podría provocar la destrucción de la actividad enzimática en la harina de lenteja y por consiguiente un cambio en su coloración afectándose así su aspecto sensorial y su aceptación por parte de los consumidores.

## Referencias

Arenas-Vela, D. (2022). Influencia de la germinación sobre la composición químico proximal, bioactividad, minerales y propiedades térmicas de lenteja (*lens culinaris* M.), arveja (*pisum sativum* L.) y frijol de palo. Repositorio de la Universidad Agraria de la Selva, Tesis de Licenciatura en Ingeniería en Industrias Alimentarias, [http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14292/2246/TS\\_DAV\\_2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14292/2246/TS_DAV_2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Arrieta Miranda, A. (2021). Importancia de los Germinados Para el Consumo Humano. Repositorio de la Universidad de Santander, Tesis de licenciatura en Microbiología Industrial, <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/360e06e6-ea5b-4857-acf2-efbfe71698b6/content#:~:text=Los%20germinados%20de%20semillas%20son,a%20partir%20de%20semillas%20seleccionadas%2C>

Deaquiz Oyola, Y. A. (2014). Los frutos y su fotosíntesis. *Conexagro JDC*, 4 (1), 39-47, <https://revista.jdc.edu.co/index.php/conexagro/article/view/227/248>

Huampa Barreto, E. (2016). efecto de la temperatura y tiempo de escaldado sobre el contenido de vitamina C, carotenoides y capacidad antioxidante en la pulpa de mango (*mangifera indica* L.) variedad Haden. Repositorio de la Universidad Nacional Amazónica De Madre De Dios. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial, <https://repositorio.unamad.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14070/325/004-2-1-028.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martínez Girón, J., & Ordóñez Santos, L. E. (2016). Determinación de la concentración de pigmentos carotenoides en harina de residuos de chontaduro (*Bactris gasipaes*). *Producción + Limpia*, 11(1), 85-93. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1909-04552016000100009&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552016000100009&lng=en&tlng=es).

Martínez, M. E. (2019). Contenido de hierro, calcio y magnesio durante el proceso de producción de



germinados de lentejas (*Lens culinaris*) bajo cultivo aeropónico, Repositorio de la Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias, Tesis de Licenciatura en Bromatología, <https://bdigital.uncu.edu.ar/13643>.

Rivero Moreno, J. B. (2021). Pigmentos clorofílicos y carotenoides en aov: importancia de la pirofeofitina. Repositorio de la Universidad de Sevilla, Tesis de Licenciatura en Farmacia. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/133193/RIVERO%20MORENO%20JUAN%20BAUTISTA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Samperio Ruiz, G. (s/f). Germinación de semillas: Manual de divulgación para uso en instituciones de educación. Asociación Hidropónica Mexicana A.C., <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Germinaci%C3%B3n%20de%20semillas.pdf>

Sánchez García, J. M., & Loayza Jaramillo, E. C. (2012). Efecto del tiempo de germinación sobre las características físicas, reológicas y tecnológicas de la harina del arroz integral variedad INIAP 15, cosecha verano. Repositorio de la Escuela Superior Politécnica del Litoral. Tesis de Licenciatura en Ingenierías en Alimentos, <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/21414/1/Tesis%20germinaci%c3%b3n.pdf>

Sandoval-Ruiz, C. E., & Ruiz-Díaz, E. (2018). Eco-diseño de propuestas de cocina de autor basada en productos y tecnología sostenible. *Universidad, Ciencia y Tecnología*, 22 (87) 54-66.

Vela Gisbert, M. (2020). Desarrollo de un proceso orientado a la mejora del perfil nutricional y digestibilidad de harina de lenteja. Universidad Politecnica de Valencia. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/138481/Vela%20-%20Desarrollo%20de%20un%20proceso%20orientado%20a%20la%20mejora%20del%20perfil%20nutricional%20y%20digestibilidad%20de%20....pdf?sequence=>

Zapata, L. N. V., & Giraldo, A. M. (2021). Harinas no convencionales con alto contenido proteico elaboradas a partir de legumbres y sus aplicaciones en la industria de alimentos: revisión bibliográfica. Repositorio de la Universidad del Valle, Tesis de Licenciatura en Ingeniería en Alimentos, <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/server/api/core/bitstreams/902f66b0-1231-4a23-8bdc-92a6a4e10413/content>



# *Trichoderma* spp. Y PESTICIDAS BOTANICOS COMO ALTERNATIVAS AL CONTROL QUÍMICO DE *Pestalotiopsis mangiferae*, PATÓGENO DEL MANGO

*Paola Manzanarez Benítez*<sup>1</sup>, *Sergio Ayvar Serna*<sup>1</sup>, *José Francisco Díaz Nájera*<sup>1\*</sup>,  
*Ernesto Escobar Bahena*<sup>2</sup>, *Antonio Mena Bahena*<sup>1</sup>, *José Luis Arispe Vázquez*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero,

<sup>2</sup>Posgrado en Horticultura – Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Iguala de la Independencia, Guerrero, México,

<sup>1</sup>[paolamanzana000@gmail.com](mailto:paolamanzana000@gmail.com), <sup>1</sup>[francisco.najera@csaegro.edu.mx](mailto:francisco.najera@csaegro.edu.mx)\*, <sup>1</sup>[sergio.ayvar@csaegro.edu.mx](mailto:sergio.ayvar@csaegro.edu.mx),  
<sup>1</sup>[antonio.mena@csaegro.edu.mx](mailto:antonio.mena@csaegro.edu.mx), <sup>2</sup>[ernesto2022bahena@gmail.com](mailto:ernesto2022bahena@gmail.com). <sup>3</sup>[arispe.jose@inifap.gob.mx](mailto:arispe.jose@inifap.gob.mx)

## Resumen

En las plantaciones de mango establecidas en la región Costa Grande, del estado de Guerrero; es endémica la mancha gris por *Pestalotiopsis mangiferae* que infecta a los frutos en campo y durante la maduración en almacenamiento y provoca pérdidas en el rendimiento y calidad. En la presente investigación se probaron algunos productos comerciales también conocidos como pesticidas verdes y *Trichoderma* spp. nativos y comerciales, con la finalidad de seleccionar aquellos que resulten con mayor potencial fungicida o fungistático contra la cepa de *P. mangiferae* aislada de muestras enfermas colectadas en la región frutícola mencionada, en el afán de mejorar el manejo integrado de este problema fitosanitario. Los resultados obtenidos fueron favorables por parte de *Trichoderma* spp. nativo de Ayutla de los Libres el cual logró suprimir un 36.45% del crecimiento del patógeno, el extracto vegetal con producto comercial Regalia® Maxx presentó el mayor porcentaje de inhibición del patógeno (100%).

**Palabras clave:** endémica, pérdidas, fungistático, suprimir, inhibición.



## Antecedentes

El mango (*Mangifera indica* L.), originario de Asia, se introdujo en México en el siglo XVIII gracias a los españoles, extendiéndose por la región tropical. Su relevancia económica y versatilidad en el consumo como fruta fresca, dulces, jugos y conservas lo convierten en un cultivo clave en el país. Con un alto contenido de agua (86.1%), también es una fuente de hidratación para los consumidores. La producción nacional de mango en 2020 alcanzó las 2,085,751 toneladas.

Sin embargo, el cultivo de mango enfrenta desafíos fitosanitarios, como el hongo *Pestalotiopsis mangiferae*, que provoca la mancha gris en las hojas y afecta los frutos, ocasionando pérdidas en calidad y rendimiento. Este patógeno global disminuye la producción y afecta a otras especies, como la palma aceitera, guayaba, fresa y eucalipto (Campbell, (2002).

Los síntomas del hongo incluyen clorosis en las hojas, reduciendo el vigor del árbol y haciéndolo más susceptible a otras enfermedades. También afecta a los frutos, lo que dificulta su control. El uso excesivo de agroquímicos ha causado problemas para la salud humana y la fauna benéfica (Narvaez-Trujillo, et al., 2017).

Por ello, se promueven alternativas sostenibles como Bioinsecticidas, Bioherbicidas, Biofungicidas y microorganismos benéficos. *Trichoderma* spp., un hongo saprófito del suelo destaca en el control biológico de fitopatógenos, mostrando resistencia a diversas condiciones ambientales. Actúa contra patógenos como *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Oidium* y *Fusarium* mediante antibiosis, micoparasitismo y competencia por nutrientes y espacio. También induce resistencia en las plantas y produce tóxicos y antibióticos. *Trichoderma harzianum* ha demostrado una inhibición del 30% o más contra *Pestalotiopsis* spp. en cultivo de fresa. Además, se han explorado propiedades fungistáticas en especies vegetales como el Neem. Los aceites esenciales presentan resultados positivos en el control de patógenos, aunque su efectividad puede depender de la especie de planta y del patógeno, se han reportado extractos de maceración alcohólica con una inhibición del crecimiento del hongo *Pestalotiopsis clavispora* superior al 90% (González-Sánchez, et al., 2021)

## Objetivos

- Aislar, purificar e identificar el hongo patógeno
- Probar la patogenicidad del hongo en estudio
- Evaluar el efecto de cepas nativas de *Trichoderma* sp. contra el *P. mangiferae*
- Determinar la eficiencia de los fungicidas químicos, botánicos y biológicos contra el patógeno en estudio



## Parte experimental

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología, del Centro De Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CEP-CSAEGRO), que se encuentra localizado en el Km 14.5 de la carretera Iguala-Cocula. El muestreo en campo se efectuó el día 26 de diciembre del año 2022, en una huerta de mango Ataulfo; establecida en San Luis San Pedro, con una edad de 25 años. Se recolectaron muestras de las partes aéreas del árbol que presentaba síntomas de infección y se colectó una muestra de suelo para obtener la cepa nativa de *Trichoderma* spp., al igual que se recolectaron muestras de suelo de lugares cercanos para evaluar la efectividad, todas las muestras se analizaron en el Laboratorio de Fitopatología del CEP-CSAEGRO. De las hojas con síntomas de infección se llevó a cabo la técnica de cámara húmeda para inducir el crecimiento del patógeno y posteriormente realizar aislamientos puros del patógeno en medio de cultivo PDA. Para llevar a cabo la identificación morfológica del hongo se tomaron muestras de micelio y esporas de las cepas purificadas, se hicieron preparaciones con lactofenol en porta y cubreobjetos, se observaron en el microscopio compuesto características específicas del hongo en estudio: septación y formación de los conidios. Lo observado en el microscopio sirvió de base para la identificación tomando como referencias las claves taxonómicas de Maharachchikumbura *et al.* (2011). Para comprobar la patogenicidad del aislamiento fungoso, inocularon plantas y frutos sanos, con la intención de reproducir los síntomas de la enfermedad, siguiendo la metodología de Postulados de Koch (Agrios, 2005). Para la obtención de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. se utilizó la técnica descrita por Waller (2002).

### Ensayo I. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra el hongo *Pestalotiopsis mangiferae*

Los tratamientos que se evaluaron en este Ensayo se encuentran descritos en el Tabla 1.

**Tabla 1** Tratamientos con cepas nativas y comerciales de *Trichoderma* spp. en el Ensayo I.

Simbología	Tratamiento	Cepa / producto
1	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Atoyac de Álvarez, Gro. *
2	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Zacualpan, Gro. *
3	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de San Luis San Pedro, Gro. *
4	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Tecoaapa, Gro.
5	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Ayutla de los Libres, Gro.
6	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Cocula
7	<i>Trichoderma harzianum</i>	PHC® T-22
8	<i>Trichoderma virens</i>	PHC® Rootmate
9	<i>Trichoderma reesei</i>	Bactiva <sup>MR</sup>
10	<i>Trichoderma</i> sp.	Fithan <sup>MR</sup>

\*: Son localidades pertenecientes a la región de Costa Grande.



Se distribuyeron los diez tratamientos con cinco repeticiones, en un diseño experimental completamente al azar. Se utilizó un total de 70 unidades experimentales. Cada unidad experimental fue de una caja Petri de 9 cm de diámetro y 1.5 cm de altura, con 20 mL de PDA.

Las cepas comerciales y tres cepas nativas fueron proporcionadas por el Laboratorio de Fitopatología del CEP-CSAEGRO, estas se encuentran preservadas en PDA en tubos de ensayo en refrigeración. Todas las cepas proporcionadas se reactivaron con anticipación para los Ensayos.

Se utilizó la técnica de cultivo dual siguiendo la metodología descrita por Romero (2014).

Se tomó la siguiente variable:

- Porcentaje de inhibición por *Trichoderma* spp. del crecimiento micelial de *Pestalotiopsis mangiferae*

Los datos de las variables mencionadas se sometieron al análisis de varianza con el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 2015), de acuerdo con el diseño experimental completamente al azar (Steel y Torrie, 1998).

Ensayo II. Antibiosis de los metabolitos secundarios de *Trichoderma* spp. sobre *P. mangiferae*

Se evaluaron los siguientes tratamientos descritos en el Tabla 2.

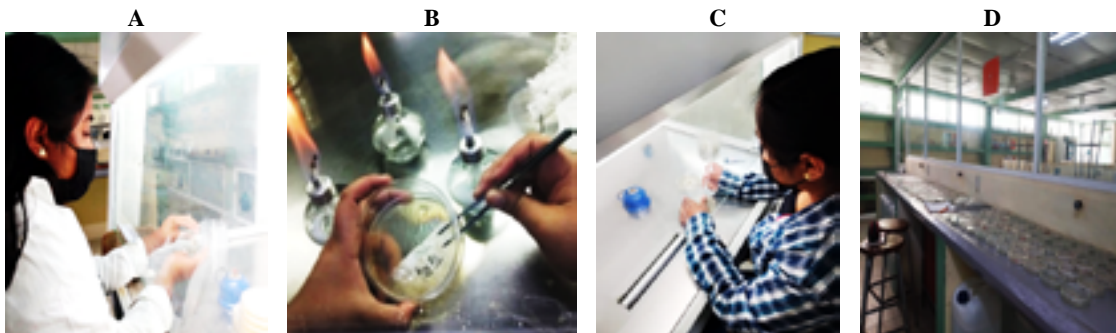
**Tabla 2.** Tratamientos con cepas nativas y comerciales de *Trichoderma* spp. en el Ensayo II.

Simbología	Tratamiento	Cepa / producto
1	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Atoyac de Álvarez, Gro. *
2	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Zacualpan, Gro. *
3	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de San Luis San Pedro, Gro. *
4	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Tecoaapa, Gro.
5	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Ayutla de los Libres, Gro.
6	<i>Trichoderma</i> spp.	Cepa nativa de Cocula
7	<i>Trichoderma harzianum</i>	PHC® T-22
8	<i>Trichoderma virens</i>	PHC® Rootmate
9	<i>Trichoderma reesei</i>	Bactiva <sup>MR</sup>
10	<i>Trichoderma</i> sp.	Fithan <sup>MR</sup>
11	Testigo	-

\*: Son localidades pertenecientes a la región de Costa Grande.

Para este Ensayo se ocuparon once tratamientos con cinco repeticiones cada uno, distribuyéndolos sobre una mesa en el laboratorio de Fitopatología usando un diseño experimental completamente al azar. Haciendo uso de 55 cajas Petri con 20 mL de PDA (Figura 5.9), con las mismas dimensiones que en el Ensayo II.

Para realizar este Ensayo, se utilizó la técnica descrita por Soliman *et al.* (2016) (Figura 1).



**Figura 1.** Técnica de membrana de celofán A. Vaciado de cajas Petri con medio de cultivo PDA. B. Colocación de papel celofán en caja Petri con PDA. C. Siembra del patógeno en PDA con metabolitos secundarios de *Trichoderma spp.* D. Distribución de unidades experimentales a temperatura ambiente

Las variables de estudio fueron las siguientes:

- Porcentaje de inhibición por *Trichoderma spp.* del crecimiento micelial de la colonia de *P. mangiferae*.
- Porcentaje de crecimiento del diámetro de la colonia de *P. mangiferae*.

Los datos de las variables mencionadas se sometieron al análisis de varianza con el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 2015), de acuerdo con el diseño experimental completamente al azar (Steel y Torrie, 1998).

### Ensayo III. Efecto de fungicidas químicos y extractos vegetales sobre *P. mangiferae*.

Para este ensayo se hizo la obtención de fungicidas químicos y extractos vegetales, mismos que se ocuparon como tratamientos en el Ensayo (Tabla 3).



**Tabla 3.** Tratamientos con pesticidas botánicos y químicos utilizados en la prueba de cultivo envenenado.

No.	Tratamiento	Ingrediente activo	Actividad	Dosis comercial	Dosis en PDA (20 mL), g o mL
T1	Cinn Acar	Extracto de canela <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (15.0 %)	Insecticida y acaricida	1.5 - 2.0 L/ha <sup>-1</sup>	0.2
T2	Progranic Omega	Extracto de chicalote <i>Argemone mexicana</i> 90.0 %	Insecticida	2 - 3 L/ha <sup>-1</sup>	0.3
T3	Progranic® Mega	Extracto de <i>Larrea tridentata</i> (Sessé & Mo. ex DC.) Coville (95 %)	Fungicida-Bactericida	1 - 3 L ha <sup>-1</sup>	2
T4	Cinna Mix	Terpenos de naranja <i>Citrus sinensis</i> (2.8 %)	Insecticida y acaricida	1 - 1.5 L/ha <sup>-1</sup>	0.75
T5	Bióloga Secader				3.75
T6	Candor	Extracto de canela <i>Cinnamomum zeylacum</i> (7 %)	Insecticida y acaricida	2 - 4 L/ha <sup>-1</sup>	2
T7	Azanim®	Extracto de <i>Azadirachtina indica</i> A. Juss. "Azadiractina" (3 %)	Insecticida	0.25 - 1 L/ ha <sup>-1</sup>	1
T8	Regalia® Maxx	Extracto de <i>Reynoutria sachalinensis</i> Schmidt. (24.4 %).	Fungicida	1.25 -1 L/ ha <sup>-1</sup>	0.75
T9	Headline	Piraclostrobin. CE 23.6 %)	Fungicida químico sistémico.	0.5 - 1 L ha <sup>-1</sup>	0.25
T10	Testigo	-	-	-	-

\*Se utilizó la dosis recomendada por el fabricante del producto comercial; considerando un gasto de 500 L ha<sup>-1</sup>.

Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 tratamientos y 5 repeticiones cada uno. La unidad experimental fueron cajas Petri de vidrio esterilizadas, con medidas de 90 mm de diámetro y 15 mm de alto aproximadamente, mismas que se colocaron sobre una mesa a temperatura ambiente.

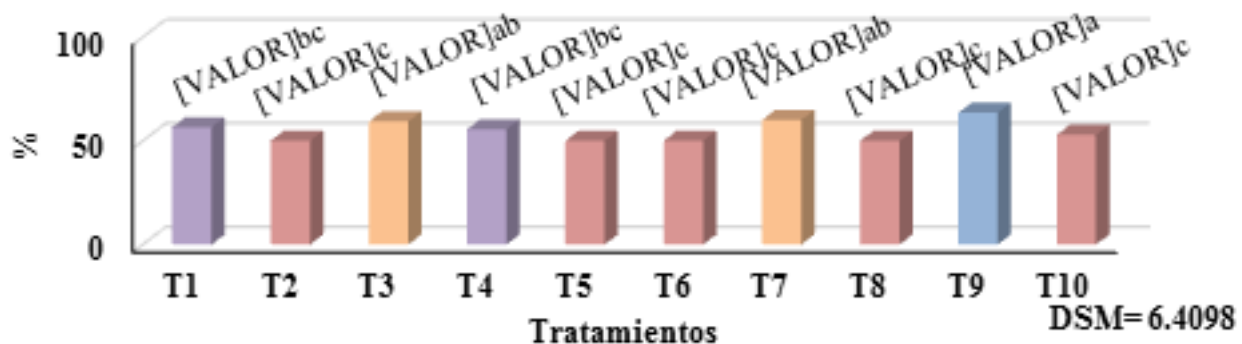
Para conocer el efecto de dichos tratamientos sobre el hongo patógeno, se midieron las siguientes variables:

- Porcentaje de inhibición por efecto de fungicidas químicos o extractos vegetales del crecimiento de la colonia de *P. mangiferae*.
- Porcentaje de crecimiento del diámetro de la colonia de *P. mangiferae*.

Los datos de las variables mencionadas se sometieron al análisis de varianza con el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 2015), de acuerdo con el diseño experimental completamente al azar (Steel y Torrie, 1998).

## Resultados y discusión

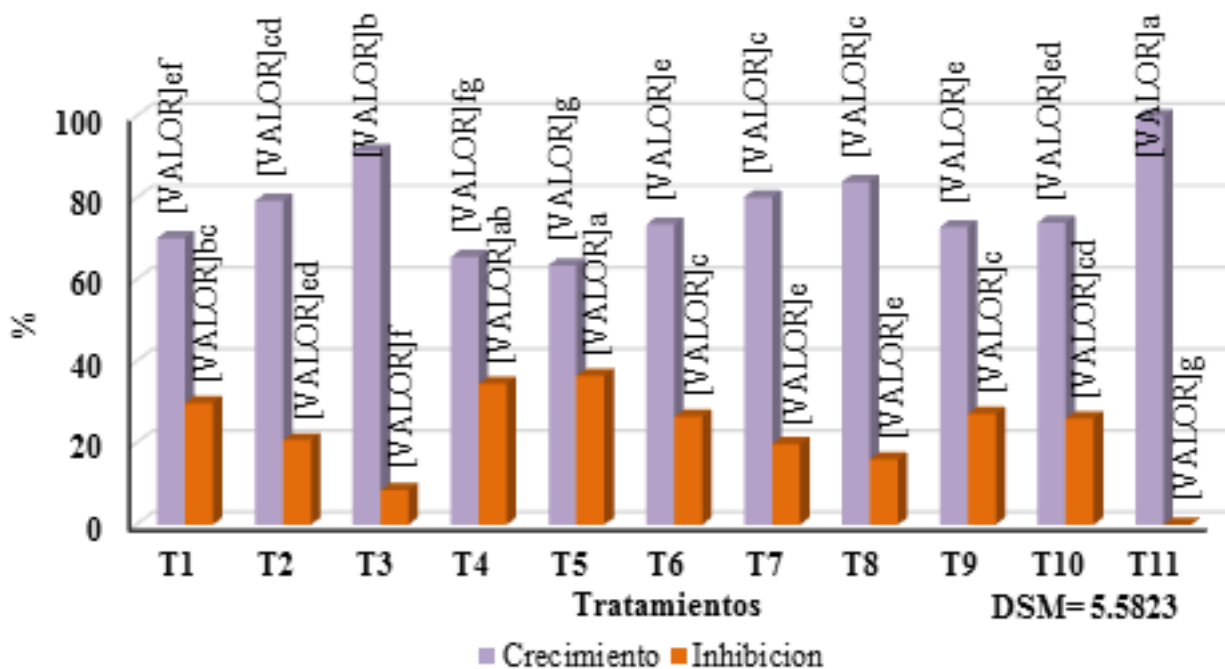
Ensayo I. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. sobre *P. mangiferae*. Los valores de esta variable registraron diferencias significativas (Figura 2). Estudios realizados informan que *Trichoderma reesei* presentó un 57.33 % de inhibición frente a *Macrophomina phaseolina*, resultado inferior a los que se obtuvieron en este estudio (63.56 %).



**Figura 2.** Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. sobre *Pestalotiopsis mangiferae* en cultivo dual del Ensayo II. **DMS=** Diferencia mínima significativa. Las medias encima de las columnas con las mismas literales, no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

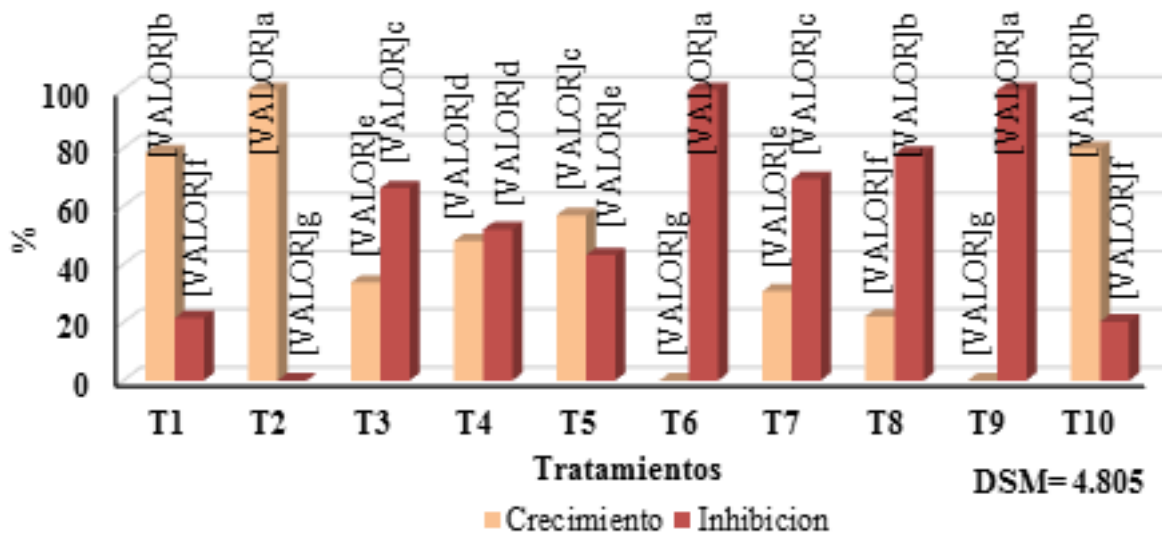
Ensayo II. Porcentaje de inhibición y crecimiento de las colonias de *P. mangiferae*.

Los tratamientos con metabolitos secundarios en PDA causaron variaciones altamente significativas en estas dos variables respuesta (Figura 3). En sentido con lo anterior se reporta que los metabolitos secundarios de cepa nativa de *Trichoderma* spp. sobre *Pestalotiopsis* sp. obtuvo el mayor porcentaje de inhibición (37.7%), resultados similares a los de este estudio. Por otro lado, se ha registrado que una cepa nativa de *Trichoderma* spp. obtuvo el mayor porcentaje de inhibición (12.82%) sobre *Pestalotiopsis* sp., resultado inferior a los obtenidos en esta investigación.



**Figura 3.** Porcentaje de crecimiento e inhibición de las colonias de *Pestalotiopsis mangiferae* a las 168 horas después de la transferencia en PDA + metabolitos secundarios de *Trichoderma spp.* en el Ensayo II. DMS= Diferencia mínima significativa. Las medias encima de las columnas con las mismas literales, no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

Ensayo III. Para la variable de porcentaje de crecimiento e inhibición de *P. mangiferae*, se obtuvieron resultados altamente significativos (Figura 4). Resultados similares se han encontrado al probar la efectividad de fungicidas químicos obteniendo una efectividad de 100% en la inhibición de *Pestalotiopsis palmarum*. Así mismo, se ha reportado que el uso de fungicidas químicos sobre *Pestalotiopsis sp.* obteniendo el 100% de inhibición del patógeno. Por otra parte, también se ha informado que la efectividad de canela contra *Pestalotiopsis sp.* logrando suprimir un 31.33% de su crecimiento, resultados inferiores a los que se muestran en este estudio.



**Figura 4.** Porcentaje de crecimiento e inhibición de *Pestalotiopsis mangiferae* a las 144 horas después de la transferencia en PDA + fungicidas o extractos vegetales, en el Ensayo III. **DMS**= Diferencia mínima significativa. Las medias encima de las columnas con las mismas literales, no son estadísticamente diferentes (Tukey  $\alpha \leq 0.05$ ).

## Conclusiones

- Se identificó morfológica y culturalmente a la especie de *Pestalotia mangiferae* como agente causal de la mancha gris en cultivo de Mango.
- En medio de cultivo papa-destroza-agar (PDA), el patógeno *P. mangiferae* crece en promedio  $1.28 \text{ cm día}^{-1}$ .
- Las cepas nativas de *Trichoderma* spp. presentaron actividad fungistática sobre *P. mangiferae*.
- Los fungicidas botánicos presentaron diferentes niveles fungistáticos contra *P. mangiferae*.

## Agradecimientos

Al CEP-CSAEGRO, por brindarme el apoyo y el recurso para llevar a cabo esta investigación. Así mismo, a los profesores investigadores que aportaron de su conocimiento para el análisis, interpretación.



## Referencias

- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. 5ed. Nueva York. Elsevier Academic Press. 922 pp.
- Campbell, R. J. (Ed.). (2002). A Guide to Mango and Mangosteens in Florida. University of Florida, IFAS Extension. Recuperado de: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/MG216>
- González-Sánchez, M. A., Novelo-Retana, E., González-Estrada, R. R., & Ku-Cauich, J. R. (2021). Antifungal activity of alcoholic extracts from leaves of seven tropical plants against *Pestalotiopsis mangiferae*, causal agent of mango gray spot. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(1), 112-125. DOI: [10.18781/R.MEX.FIT.2019.3.10](https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2019.3.10)
- Maharachchikumbura, S. N., Guo, L. D., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H. and Hyde, K. D. (2011). *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal Diversity*, 50, 167–187 pp.
- Narvaez-Trujillo, A., Gaitan, A. L., Caicedo-Velásquez, M. A., & Quesada-Ocampo, L. M. (2017). First Report of *Pestalotiopsis mangiferae* Causing Fruit Rot on *Mangifera indica* (Mango) in Colombia. *Plant Disease*, 101(12), 2075. DOI: [10.1094/PDIS-07-17-1042-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-07-17-1042-PDN).
- Romero, R. T. (2014). Cepas nativas de *Trichoderma* spp., aisladas de suelo cultivado con Jamaica, su antibiosis y micoparasitismo sobre *Phytophthora* parasítica y *Fusarium oxysporum*. Colegio de Posgraduados campus Montecillo. Tesis de doctorar en ciencias [http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/2397/Romero\\_Rosales\\_T\\_DC\\_Fitopatologia\\_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/2397/Romero_Rosales_T_DC_Fitopatologia_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- SAS Institute. (2015). *SAS user's guide*. Statistics. Release 6.03. Ed. SAS Institute incorporation, Cary, N.C. USA. 1028 pp.
- Soliman, M. H., Abdel, F. G.M. and Metwally, E. A. (2016). Antagonistic Interactions Between the Foliar Pathogen *Botrytis fabae* Sard. And *Trichoderma harzianum* Rifai. *Asian Journal of Plant Pathology*, 10, 21-28.
- Steel, G. D. and Torrie, J. H. (1998). *Bioestadística: principios y procedimientos*. Segunda Edición. Mc Graw Hill. México, D. F. 392 pp.
- Waller, J.M. (2002). *Detection and Isolation of Fungal and Bacterial Pathogens*. En: Waller, J. M.; Lenné, J. M. and Waller, S. J. (Eds.). *Plant Pathologist's Pocketbook*. 3rd edition. (pp, 208-215). CABI Publishing New York, NY, USA





# DINÁMICA POBLACIONAL DE MOSCAS BLANCAS Y CONTROL QUÍMICO CON FLUPYRADIFURONE EN MELÓN

*José Francisco Díaz Nájera<sup>1</sup>, Sergio Ayvar Serna<sup>1</sup>, José Luis Arispe Vázquez<sup>2</sup>,  
Daniel Alejandro Cadena Zamudio<sup>3\*</sup>, Alonso Gloriberto Olivares<sup>4</sup>*

*<sup>1</sup>Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero,*

*<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-CEIGUA,*

*<sup>3\*</sup>Instituto de Ecología A.C, México, <sup>4</sup>Estudiante del Colegio Superior Agropecuario del  
Estado de Guerrero*

*<sup>1</sup>francisco.najera@csaegro.edu.mx, <sup>1</sup>sergio.ayvar@csaegro.edu.mx, <sup>2</sup>arispe.jose@inifap.gob.mx,*

*<sup>3</sup>cadenzamudio@gmail.com*

## Resumen

Las enfermedades transmitidas por la mosca blanca son un factor limitante para el cultivo de melón en la región norte de Guerrero. En este estudio se determinó la efectividad que tiene un nuevo producto químico (flupyradifurone) para disminuir los daños por *Bemisia tabaco* en melón. La investigación se realizó en el Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. El método de aplicación (aspersión foliar e inyección al cuello de la planta) del insecticida y la dosis del producto SIVANTO PRIME se evaluó en 12 tratamientos mediante el diseño experimental de bloques al azar. Se encontró que la dinámica de población de la mosca blanca incrementó durante el desarrollo vegetativo. Las dosis comerciales de los insecticidas SIVANTO® 200 SL de 2 L ha<sup>-1</sup> disminuyen la densidad de las poblaciones de mosca blanca. Los métodos de aplicación de los insecticidas SIVANTO® 200 SL y FINO® 350 FW influyeron en la mosca blanca.

**Palabras clave:** Agroquímicos, diseño experimental, cucurbitaceae, plaga, Sivanto



## Antecedentes

El melón (*Cucumis melo* L.) se ubica en el octavo lugar en importancia entre las hortalizas cultivadas en México y en el tercero dentro de las cucurbitáceas, sólo después de la calabaza y la sandía (Mora, 2004). Es atacado por insectos chupadores que debilitan a la planta, la contaminan con mielecilla que sirve como sustrato para el desarrollo de fumagina. Sin embargo, los daños indirectos más espectaculares ocasionados por áfidos y moscas blancas es la transmisión de numerosas especies de virus causantes de enchinamiento, amarillamiento y detención severa del crecimiento que puede terminar en la pérdida total de la cosecha (Mora, 2004).

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) es una plaga de impacto mundial por los daños económicos ocasionados en numerosos cultivos de importancia agrícola. Entre más joven es atacado por virosis el cultivo, más graves son los daños en el rendimiento (Thompson, 2011). El insecto es vector de más de 150 especies de virus y también provoca la hoja plateada en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) y maduración irregular del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Polston et al., 2014).

Las aplicaciones de insecticidas sintéticos ha sido siempre el principal modo de manejo de plagas entre los productores de hortalizas. Diversos insecticidas incluyendo deltametrina, fenvalerato, pirimicarb y metamidofos alteran la fisiología y conducta de insectos vectores como *Myzus persicae* (Sulzer) (Lowery y Boiteau, 1988). No obstante, desde que apareció en el mercado el imidacloprid se ha convertido en una herramienta importante para el control de *B. tabaci* y los geminivirus que trasmite (Smith et al., 2016). Aunque la tendencia en la tecnología es desarrollar productos cada vez más específicos y menos contaminantes; aunque también son cada vez más costosos; entre los productos con este perfil se encuentra el insecticida Flupyradifurone que presenta el mismo modo de acción de los neonicotinoides pero pertenece al grupo de los butenolidos que se caracterizan porque mantienen a salvo a los insectos polinizadores y, al igual que el dinotefurano, se destoxifica por la enzima monooxigenasa microsomal (Meng et al., 2016) y no presenta resistencia metabólica cruzada con imidacloprid (Nauen et al., 2002).

El producto Sivanto con ingrediente activo Flupyradifurone, derivado del ácido tetrámico, pertenece a una nueva clase de insecticidas butenolidos; contiene una estructura bioactiva novedosa, muy versátil en métodos de aplicación en una amplia gama de cultivos, con excelente y rápida acción contra un gran espectro de insectos plaga picadores succionadores, incluyendo poblaciones de áfidos y moscas blancas que presentan mecanismos de resistencia metabólica a los compuestos neonicotinoides. Por lo tanto, puede ser una alternativa prometedora para aplicarlo en un programa de manejo que incluya la rotación o alternancia

de insecticidas para el control sostenible de plagas agrícolas (Smith y Giurcanu, 2013). Por lo que es imperativo evaluar nuevas clases de insecticidas e integrarlos en un programa de manejo para minimizar el riesgo del surgimiento de poblaciones resistentes de las plagas.

### Objetivos

- Evaluar la incidencia de mosca blanca en la etapa de desarrollo vegetativo del cultivo de melón.
- Estudiar el efecto de cuatro dosis del insecticida Flupyradifurone (SIVANTO®) sobre la incidencia de moscas blancas en el cultivo.

### Materiales y métodos

La presente investigación se realizó en el campo experimental del Centro de Estudios Profesionales (CEP), del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGro), ubicado en el km 14.5 de la carretera Iguala-Cocula, que se encuentra entre las coordenadas 18° 22' 52" Latitud Norte y 99° 33' 52" Longitud Oeste.

### Material genético

Se utilizó la variedad Top Mark que es de tipo Cantaloupe. El ciclo de la siembra a la cosecha es de 70 a 80 días. La hoja es de color verde oscuro. El fruto es uniforme con pulpa color salmEón, compacto y firme; mide de 15 por 14 cm, con peso promedio de 1.5 a 1.8 kg. Se adapta a todas las zonas meloneras de México (COBO, 2017).

### Factores y tratamientos de estudio

Se evaluaron dos factores, 1) Método de aplicación del insecticida (aspersión foliar e inyección al cuello de la planta) y 2) Dosis del producto SIVANTO PRIME (Tabla 1).



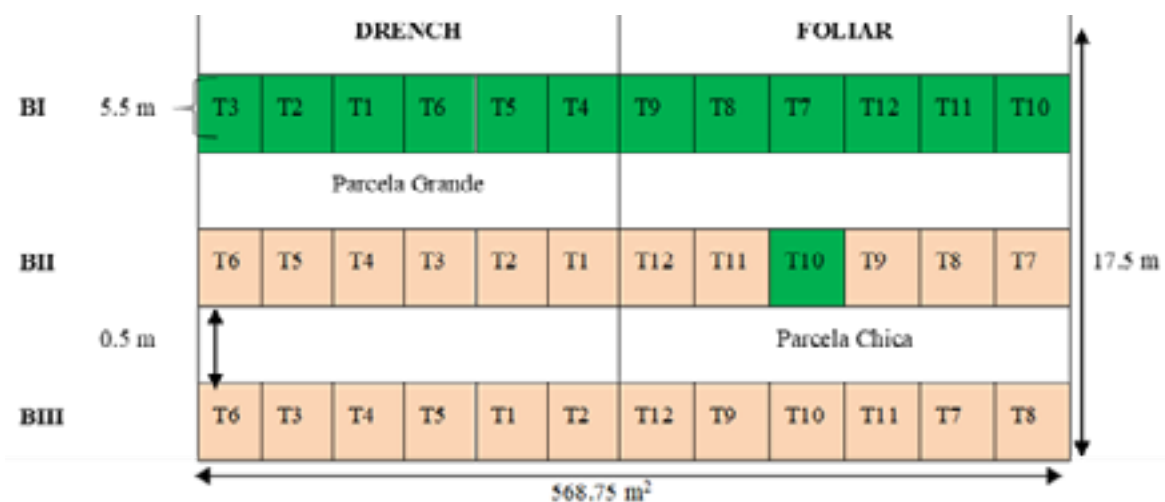
**Tabla 1.** *Tratamientos evaluados contra Bemisia tabaci en melón.*

Factores		Símbolo
Modo de aplicación	Dosis de insecticida	
Cuello de la planta	Testigo	T1
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> * (1 aplicación)	T2
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) (2 aplicaciones)	T3
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) (3 aplicaciones)	T4
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) (4 aplicaciones)	T5
	FINO® 350 FW (imidacloprid) 1 L ha <sup>-1</sup> *	T6
Aspersión foliar	Testigo	T7
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (1 aplicación)	T8
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) (2 aplicaciones)	T9
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) (3 aplicaciones)	T10
	SIVANTO® prime (flupyradifurone) (4 aplicaciones)	T11
	FINO® 350 FW (imidacloprid) 1 L ha <sup>-1</sup>	T12

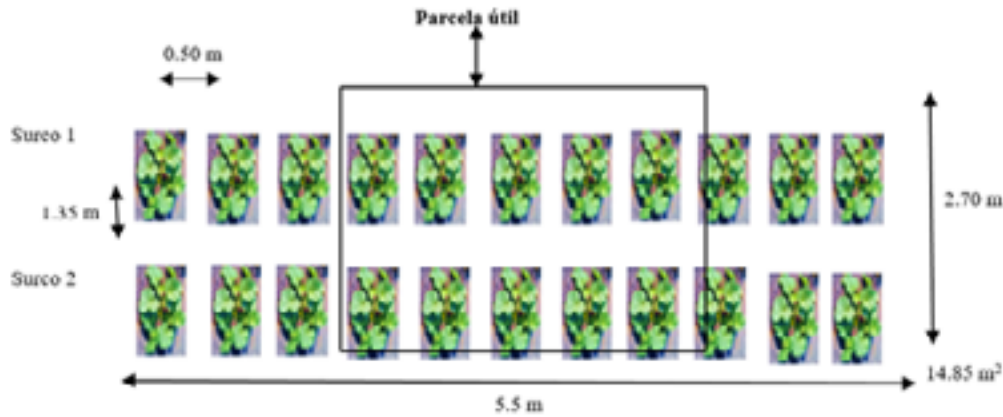
\* Se utilizó la dosis comercial recomendada por el fabricante del producto (DEAQ, 2017)

### Diseño y unidad experimentales

Los 12 tratamientos se distribuyeron en el campo mediante el diseño experimental de bloques al azar con arreglo en parcelas divididas; en las parcelas grande y chica se ubicaron, el método de aplicación y la dosis de insecticida, respectivamente; se utilizaron 3 repeticiones y 36 unidades experimentales (Figura 1); cada una de éstas con 2 surcos trazados a 1.35 m de separación, de 5.5 m de longitud, con 0.50 m de distancia entre matas y 2 plantas por mata. La densidad poblacional fue de 44 plantas por unidad experimental (30,000 plantas ha<sup>-1</sup>). La parcela útil fue de las 10 plantas centrales (Figura 2).



**Figura 1.** *Croquis de distribución de los 12 tratamientos con tres repeticiones en diseño experimental de bloques completos en parcelas divididas.*



**Figura 2.** Características de la unidad experimental y parcela útil.

**Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de las variables de estudio se sometieron al análisis de varianza en el programa SAS (2018), de acuerdo al diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo en parcelas divididas.

**Resultados y discusión**

En el factor modo de aplicación sólo se presentaron diferencias estadísticas en el número de adultos de mosca blanca en el muestreo 3 y 4. En cambio, el factor producto exhibió variación significativa en todas las variables de estudio (Tabla 2).

**Tabla 2.** Valores de frecuencia calculada (F.c.) y coeficiente de variación (C.v.) obtenidos en los análisis de varianza de las variables en estudio.

No.	Muestreo	Variables (de mosquita blanca)	Factores		Interacción F.c.	C.V.	Media
			Modo de aplicación (A), F.c.	Productos (P), F.c.			
	2	Adultos	16.78NS	97.87**	1.26NS	42.33%	0.39
2		Ninfas	0.02NS	87.82**	0.58NS	53.72	0.41
3	3	Adultos	24.14*	225.2**	1.71NS	28.87	0.63
4		Ninfas	2.93NS	369.4**	0.6NS	28.97	0.55
5	4	Adultos	18.69*	229.37**	0.27NS	26.02	1.11
6		Ninfas	1.12NS	677.72**	1.6NS	19.04	0.97

**NOTA:** F.c.= Frecuencia calculada; C.V.= Coeficiente de variación; ns= Efecto estadísticamente no significativo ( $\alpha \leq 0.05$ ); \*= Efecto estadísticamente significativo ( $\alpha \leq 0.01$ ); \*\*= Efecto altamente significativo ( $\alpha \leq 0.001$ ).



## Adultos de mosca blanca

Los adultos de este hemíptero fueron afectados por la dosis de SIVANTO® prime (flupyradifurone) y el insecticida FINO® 350 FW (imidacloprid) se comportaron de una manera estadística similar (Tabla 3); en la evaluación 3, el insecticida FINO® 350 FW (imidacloprid) fue el que presentó el mayor número de adultos de *Bemisia tabaci*, y este efecto se mantuvo constante en el último muestreo, es pertinente señalar que en esta variable no se encontraron evidencias suficientes que indicaran que el fraccionamiento de la dosis de SIVANTO® prime (flupyradifurone) influyera de manera diferente en la dinámica poblacional de *B. tabaci* en plantas de melón Top Mark, aunque si se encontró que la aplicación de 2 L ha<sup>-1</sup> de SIVANTO® prime (flupyradifurone) fraccionado en 1, 2, 3 ó 4 aplicaciones resulta más eficaz que la aplicación de 1 L ha<sup>-1</sup> de FINO® 350 FW (imidacloprid) para el control de adultos de *B. tabaci*. En el muestreo 3 se encontró que la aplicación de los insecticidas de manera foliar redujo en mayor medida el número de adultos de mosca blanca en plantas de melón a comparación de la aplicación dirigida al cuello de la planta, este efecto fue totalmente al revés en el muestreo 4 (Tabla 3). No se presentó efecto interactivo entre los factores en estudio en ninguno de los muestreos.

Sivanto® cuyo ingrediente activo flupyradifurone es un nuevo insecticida desarrollado por Bayer CropScience, introducido en el mercado a partir de 2014 que ofrece un alto potencial para el control rápido de algunas de las especies de plagas de succión más destructivas en muchos cultivos como especies de mosca blanca y pulgones (Nauen *et al.*, 2015). Flupyradifurone tiene un perfil de seguridad toxicológico y ecotoxicológico favorable y está bajo desarrollo global para aplicaciones foliares, de empapamiento y de tratamiento de semillas, particularmente contra insectos plaga chupadores en numerosos cultivos agrícolas y hortícolas. Recibió sus primeros registros comerciales en América Central (Guatemala y Honduras) en abril de 2014 y está clasificado por IRAC como un nuevo subgrupo químico 4D (butenólidos) dentro de la última versión publicada del sistema de clasificación de modo de acción (IRAC, 2014).

**Tabla 3.** Comparación de valores promedio del No. adultos de mosca blanca en las 4 fechas de evaluación.

Factor productos	Evaluación / (días después de la aplicación)			
	1 / 20	2 / 27	3 / 34	4 / 41
Testigo	0.15 <sup>^</sup>	1.78 a <sup>†</sup>	2.92 a	4.68 a
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (1 aplicación)	0.43	0.12 b	0.07 c	0.17 c
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (2 aplicaciones)	0.4	0.1 b	0.18 bc	0.27 c
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (3 aplicaciones)	0.5	0.13 b	0.12 bc	0.17 c
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (4 aplicaciones)	0.32	0.13 b	0.1 c	0.27 c
FINO® 350 FW (imidacloprid) 1 L ha <sup>-1</sup> (1 aplicación)	0.25	0.12 b	0.43 b	1.12 b
<i>Diferencia mínima significativa</i>		0.3052	0.3333	0.5246
<b>Factor aplicación</b>				
Drench	0.48	0.3 a	0.74 a	0.96 b
Foliar	0.2	0.49 a	0.53 b	1.26 a
<i>Diferencia mínima significativa</i>		0.2042	0.1897	0.2986
Interacción productos × aplicación				

<sup>^</sup>Valores promedios de 10 plantas de melón, tomados antes de la aplicación de los tratamientos

<sup>†</sup>Valores con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

### Ninfas de mosca blanca

En las evaluaciones 2 y 3 los insecticidas solo se diferenciaron del testigo, pero no entre ellos (Tabla 4); en la última evaluación, el tratamiento con FINO® 350 FW (imidacloprid) obtuvo el mayor promedio de ninfas de *B. tabaci*, mientras que, la aplicación de 2 L ha<sup>-1</sup> de SIVANTO® prime (flupyradifurone) en 1, 2, 3 y 4 aplicaciones obtuvieron estadísticamente el mismo efecto (Cuadro 4). No se presentó efecto interactivo entre los factores en estudio en ninguno de los muestreos.

De acuerdo con Nauen et al. (2015) se ha demostrado que tiene un excelente perfil ecotoxicológico y de seguridad, que cumple con los requisitos normativos actuales para un insecticida moderno adecuado para un manejo integrado de plagas que ofrece métodos de aplicación versátiles para proporcionar las mejores soluciones para plagas succionadoras de savia.



Tabla 4. Comparación de los valores promedio del número de ninfas de mosca blanca en las cuatro fechas de evaluación.

Factor productos	Evaluación / (días después de la aplicación)			
	1 / 20	2 / 27	3 / 34	4 / 41
Testigo	0.42 <sup>^</sup>	2.13 a <sup>†</sup>	3.1 a	4.92 a
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (1 aplicación)	0.52	0.08 b	0.08 b	0 c
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (2 aplicaciones)	0.18	0.03 b	0 b	0.07 c
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (3 aplicaciones)	0.3	0.03 b	0 b	0 c
SIVANTO® prime (flupyradifurone) 2 L ha <sup>-1</sup> (4 aplicaciones)	0.42	0.03 b	0 b	0 c
FINO® 350 FW (imidacloprid) 1 L ha <sup>-1</sup> (1 aplicación)	0.42	0.15 b	0.12 b	0.83 b
<i>Diferencia mínima significativa</i>		0.4008	0.2892	0.3349
<b>Factor aplicación</b>				
Drench	0.09	0.42 a	0.59 a	1.01 a
Foliar	0.65	0.41 a	0.51 a	0.93 a
<i>Diferencia mínima significativa</i>		0.3372	0.1957	0.3389
Interacción productos × aplicación				

<sup>^</sup>Valores promedios de 10 plantas de melón, tomados antes de la aplicación de los tratamientos

<sup>†</sup>Valores con letras iguales en la misma columna no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

El flupyradifurone es particularmente activo contra moscas blancas que expresan metabolismo de resistencia a otras clases químicas de insecticidas, incluidos los neonicotinoides (Jeschke *et al.*, 2015), lo que lo convierte en una nueva herramienta de gestión de resistencia para el control sostenible de plagas. Recientemente, se ha demostrado bajo condiciones aplicadas que el flupyradifurone tiene un alto potencial para suprimir la transmisión de begomovirus por *B. tabaci* en sistemas de producción de jitomate de Florida (Smith y Nagle, 2016).

La inhibición de la transmisión del Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) con el uso de flupyradifurone fue estudiada por Roditakis *et al.* (2017), quienes compararon su uso con la del tiametoxam, un insecticida neonicotinoide que se ha notificado que inhibe la transmisión del virus. El experimento se realizó bajo condiciones de alta presión de virus (10 insectos virulíferos por planta durante 48 h) usando una cepa de campo completamente caracterizada de *B. tabaci*. Se aplicaron insecticidas foliares en condiciones de invernadero. Lo reportado





por estos autores fue que el flupyradifurone suprimió la transmisión del virus en un 85%, mientras que los niveles de supresión después de los tratamientos con tiametoxam fueron solo del 25% y en parcelas no tratadas, el 100% de las plantas fueron infectadas por TYLCV. Estos resultados corroboran que la diferencia observada en el potencial para suprimir la transmisión del virus está relacionada con un fuerte efecto de reducción así como una inhibición prolongada de la alimentación del vector en los tratamientos con flupyradifurone.

## Conclusiones

La dinámica de población de la mosca blanca se incrementó durante el desarrollo vegetativo.

El uso de dosis comerciales de los insecticidas SIVANTO® 200 SL (flupiradyfurone) de 2 L ha<sup>-1</sup> (con y sin fraccionamiento) y FINO® 350 FW (imidacloprid) de 1 L ha<sup>-1</sup> disminuyen la densidad de las poblaciones de mosca blanca.

Los métodos de aplicación mediante aspersion foliar e inyección al cuello de la planta de los insecticidas SIVANTO® 200 SL y FINO® 350 FW en la var. Top Mark de melón, influyen significativamente sobre la incidencia de mosca blanca.

## Referencias

Cobo (2017). Melón Topmark. Disponible en <http://www.casacobo.com.mx/pdf/hortalizas/MELON-TOPMARK.pdf>.

DEAQ. 2017. *Diccionario de especialidades agroquímicas*. Vol. (1). PLM de México.

IRAC. (2014). Insecticide Resistance Action Committee. Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University. Disponible en <http://www.Pesticideresistance.com/search.php>[http://www.irc-online.org/content/uploads/modo\\_de\\_accion\\_Oct11.pdf](http://www.irc-online.org/content/uploads/modo_de_accion_Oct11.pdf)

Jeschke, P., Nauen, R., Gutbrod, O., Beck, M. E., Matthiesen, S., Haas, M., & Velten, R. (2015). Flupyradifurone (Sivanto™) and its novel butenolide pharmacophore: Structural considerations. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 31-38. [doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.10.011](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.10.011)

Khattree, R., & Naik, D. N. (2018). Applied multivariate statistics with SAS software. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, [https://onemat.files.wordpress.com/2012/05/ebooksclub-org\\_applied\\_multivariate\\_statistics\\_with\\_sas\\_software.pdf](https://onemat.files.wordpress.com/2012/05/ebooksclub-org_applied_multivariate_statistics_with_sas_software.pdf)



- Lowery, D. T., & Boiteau, G. (1988). Effects of five insecticides on the probing, walking and settling behaviour of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) and the buckthorn aphid, *Aphis nasturtii* (Kaltenbach), (Homoptera: Aphididae), on potato. *J Econ Entomol*, 81, 208-214. [doi.org/10.1093/jee/81.1.208](https://doi.org/10.1093/jee/81.1.208)
- Meng, X., Zhu, C., Feng, Y., Li, W., Shao, X., Xu, Z., ... & Li, Z. (2016). Computational insights into the different resistance mechanism of imidacloprid versus dinotefuran in *Bemisia tabaci*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(6), 1231-1238. [doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05181](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05181)
- Mora, Z. (2004). Métodos naturales para el control de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en cultivo de habichuela, como sustituto de pesticidas sintéticos en la granja el aramo el piedecuesta. Monografía presentada como requisito parcial para optar al título de Especialista en química ambiental. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. <https://tallertesis.files.wordpress.com/2015/03/114454.pdf>
- Nauen, R., Jeschke, P., Velten, R., Beck, M. E., Ebbinghaus-Kintscher, U., Thielert, W., ... & Raupach, G. (2015). Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide. *Pest management science*, 71(6), 850-862. [doi.org/10.1002/ps.3932](https://doi.org/10.1002/ps.3932)
- Nauen, R., Stumpf, N., & Elbert, A. (2002). Toxicological and mechanistic studies on neonicotinoid cross resistance in Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science*, 58(9), 868-875. [doi.org/10.1002/ps.557](https://doi.org/10.1002/ps.557)
- Polston, J. E., De Barro, P., & Boykin, L. M. (2014). Transmission specificities of plant viruses with the newly identified species of the *Bemisia tabaci* species complex. *Pest management science*, 70(10), 1547-1552. [doi.org/10.1002/ps.3738](https://doi.org/10.1002/ps.3738)
- Smith, H. A., & Giurcanu, M. C. (2014). New insecticides for management of tomato yellow leaf curl, a virus vectored by the silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Science*, 14(1), 183. [doi.org/10.1093/jisesa/ieu045](https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu045)
- Roditakis, E., Stavrakaki, M., Grispou, M., Achimastou, A., Van Waetermeulen, X., Nauen, R., & Tsagkarakou, A. (2017). Flupyradifurone effectively manages whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) and tomato yellow leaf curl virus in tomato. *Pest management science*, 73(8), 1574-1584. [doi.org/10.1002/ps.4577](https://doi.org/10.1002/ps.4577)
- Smith, H. A., Nagle, C. A., MacVean, C. A., & McKenzie, C. L. (2016). Susceptibility of *Bemisia tabaci* MEAM1 (Hemiptera: Aleyrodidae) to imidacloprid, thiamethoxam, dinotefuran and flupyradifurone in south Florida. *Insects*, 7(4), 57. [doi.org/10.3390/insects7040057](https://doi.org/10.3390/insects7040057)
- Thompson, W.M.O. (2011). *Introduction: Whiteflies, geminiviruses and recent events*. In *The Whitefly, Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) Interaction with Geminivirus-Infected Host Plants; Springer: Berlin, Germany. pp. 1–13.





# DESCRIPCIÓN DEL PROCESO GERMINATIVO DE LA LENTEJA VERDE (*LENS CULINARIS M.*)

*Diana Scarlett Contreras Malagón, Ana Gabriela Campos Arroyo,  
Berenice Yahuaca Juárez*

*Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
(UMSNH), México,*

[1595177f@umich.mx](mailto:1595177f@umich.mx), [berenice.yahuaca@umich.mx](mailto:berenice.yahuaca@umich.mx), [ana.campos@umich.mx](mailto:ana.campos@umich.mx)

## Resumen

Una alternativa al consumo de lentejas son los germinados. Al germinar una semilla, cada etapa representa un cambio nutricional, funcional y sensorial. El objetivo fue describir las etapas del proceso germinativo de la lenteja. Se utilizó lenteja verde (*Lens culinaris M.*). La germinación consistió en: imbibición, incubación y humectación. Las lentejas se imbibieron en agua (25°C/24 h), se drenaron en charolas se colocaron en una cámara ambiental (25°C 2, 4, 6 y 8 días) Se evaluó el crecimiento y desarrollo. La lenteja imbibida absorbe agua, se hincha y ablanda. A las 24 h emerge la radícula y brota la plántula, ésta pasa de coloración blanca a verde (72 h). A los 6 días la plántula desarrolla hojas verde intenso, finalmente al día 8, alcanza el tamaño y color máximos. Las condiciones de germinación influyen en el proceso. Cada etapa está relacionada con cambios bioquímicos, metabólicos y nutricionales.

**Palabras clave:** lentejas, alternativas, nutricional, germinado, imbibición.

## Antecedentes

La alimentación, forma de producción, elaboración y consumo de alimentos están relacionados con las costumbres y cultura de cada individuo. La evolución del hombre va de la mano con el cambio en la alimentación, anteriormente se basaba en frutas, vegetales, raíces y semillas, con el paso del tiempo ha cambiado, en la actualidad se eligen alimentos de fácil y rápido consumo, sin embargo gran parte de estos alimentos, que en general son industrializados, carecen de valor nutrimental. (Ponce de Leon de Lama, Torija Isasa, Matallana Gomez,



& Pintado García , 2020) Razón por la cual, es importante retomar algunos elementos de la alimentación tradicional que se basa en parte, en el consumo de alimentos no procesados y a base de vegetales. Una alternativa son las legumbres, en este sentido, la FAO recomienda aumentar la ingesta de legumbres secas que proporcionan nutrientes y compuestos fitoquímicos con efectos benéficos para la salud. Las legumbres, son económicas y ricas en nutrientes contribuyen a mejorar la calidad de la dieta (Mitchel, 2009). Entre estas legumbres destacan las lentejas, que además de ser un alimento económico y sustentable, es altamente nutritivo. (Aylen, 2021)

Las lentejas son una fuente rica en proteínas, fibra dietética, hierro, ácido fólico y otros nutrientes esenciales. También son fuente de vitaminas, minerales y de algunos compuestos. (Nestle Family Club , 2023) Contienen una concentración de carbohidratos digeribles y no digeribles con base en estos últimos es que no deben comerse crudos ya que en este estado no son asimilados por el organismo humano, además de que contiene alimentos anti-nutricios, los cuales inhiben la asimilación de proteínas y la degradación de polisacáridos, produciendo distensión abdominal y flatulencias. (Castañeiras, 2016)

Existen diferentes prácticas que pueden implementarse para mejorar las características de digestibilidad de las legumbres, las cuales permiten disminuir la cantidad de compuestos anti-nutricios y mejoran la calidad nutricional de las semillas. Entre estas prácticas destacan la cocción hidro-térmica, imbibición, extrusión y germinación. El germinado de cualquier legumbre se caracteriza por pasar por un proceso donde sus componentes se hidrolizan, este proceso se denomina “predigestión”, dando la ventaja de ingerir el alimento más fácil, sin un gasto energético mayor para su digestión y completar este proceso en menor tiempo. (Ponce de Leon de Lama , Torija Isasa , Matallana Gomez , & Pintado García , 2020)

Los germinados son un alimento funcional que a diferencia de otros contiene clorofila, altos contenidos enzimáticos y antioxidante. (Aylen, 2021).

La germinación es un proceso que sufre una semilla cuando posee un ambiente favorable para hacerlo. La germinación da la pauta para que la semilla brote desde su interior y comience a crecer para poder desarrollarse. La semilla se transforma en una planta que seguirá su crecimiento cuando tiene los siguientes factores a su favor; humedad, temperatura, luz y oxígeno. El primer paso para que ocurra la germinación es la activación de la semilla por un proceso de absorción de agua, a continuación sucederán algunas reacciones químicas con lo cual se dará el surgimiento de la radícula y posteriormente la plántula crecerá como veremos más adelante.



## Objetivo

Describir y analizar las etapas que involucran el proceso germinativo de la lenteja.

## Materiales y Métodos

*Material de estudio.* Se utilizó lenteja (*Lens culinaris* M.) variedad verde. Se adquirieron las semillas en un mercado local de Morelia, Michoacán. Se evaluaron tres lotes de 400 gramos cada uno, a su vez la muestra fue dividida en 4 sublotos de 100 gramos cada uno.

*Proceso de germinación.* Las semillas de lenteja se lavaron y colocaron en una charola con una solución de cloro al 2% durante 10 minutos para su desinfección. Al término se decantó el agua de desinfección y se procedió a la imbibición de la lenteja. Para ello, las lentejas se sumergieron en agua a 25 °C por 24 horas. Se eliminó el agua de imbibición y las lentejas imbibidas se colocaron en charolas de germinación, fueron esparcidas uniformemente en toda la superficie de estas. Las charolas se introdujeron en una cámara ambiental en ausencia de luz directa y a una temperatura de 25 °C. por 2, 4, 6 y 8 **días, en el transcurso de 24 hrs** las lentejas fueron asperjadas con agua manualmente en tres periodos.

*Documentación de las etapas del proceso germinativo.* En cada etapa del proceso de germinación (2, 4, 6 y 8 días) se hizo la documentación descriptiva a través de observación y a través de la bibliografía se relacionaron los eventos ocurridos con los cambios físicos, químicos y metabólicos de la germinación de semillas de legumbres.

## Resultados y discusión

Es necesario conocer que una semilla está constituida por un embrión y algunos compuestos de reserva, rodeados por cubiertas seminales. El proceso de la germinación **comienza por la imbibición** (Figura 1) en la cual la lenteja se hidrata, absorbe agua durante 24 horas, esta agua absorbida provoca el ablandamiento del pericarpio permitiendo la entrada de agua a la semilla, manifestándose como un hinchamiento. Es importante mencionar que sin la etapa de imbibición la germinación no podría comenzar ya que al ir entrando el agua poco a poco la semilla va tomando más volumen y es entonces donde se comienzan a activar procesos metabólicos que participaran en las siguientes fases de la germinación. Es importante mencionar que la entrada de agua a la semilla se da gracias a una diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el ambiente. (Ponce de Leon de Lama , Torija Isasa , Matallana Gomez , & Pintado García , 2020)



Se debe tomar en cuenta que un exceso de agua podría resultar negativo ya que no llegaría con facilidad el oxígeno al embrión. (Infoagro, 2023) Posterior a las 24 horas la semilla brota y emerge la radícula y después la plántula. A las 72 horas para de una coloración blanca a verde. A los 6 días la plántula crece y desarrolla hojas verdes, finalmente el día 8 alcanza el tamaño y color máximo permaneciendo constantes.

Después de que la semilla haya absorbido el agua necesaria, va a comenzar a detener esta absorción entrando a la fase de sentido estricto donde disminuirá la ganancia de agua provocando que las reacciones químicas den como resultado macromoléculas de reserva que serán utilizadas por el embrión para su desarrollo y crecimiento.



**Figura 1.** *Etapa de imbibición*



**Figura 2.** *Aparición de la radícula*

Estas moléculas de reserva están dentro de la célula, cuando se necesita que actúen, estos son activados metabólicamente cuando existe la necesidad de hacerlo funcionando como fuente de carbono y energía. La última fase de la germinación comienza por el surgimiento de la radícula cuando se rompe la cubierta seminal (Figura 2). Algunas semillas no reciben condiciones iguales para su desarrollo y por esto no crecen y por lo tanto mueren. (Villamil, 1998)

Es necesario controlar la cantidad de agua para este proceso ya que la semilla es susceptible a que se pueda contaminar por hongos debido al exceso de humedad. Este proceso de germinación sucede del día 0 al día 2. Los compuestos de reserva son carbohidratos, proteínas y lípidos, estos permiten que la semilla continúe el proceso de brotación de la planta para que ella pueda realizar la fotosíntesis en el futuro.

Ya que ha terminado el proceso de germinación porque la radícula de color blanco ya rompió la semilla, comienza la etapa de crecimiento de la plántula. Los compuestos de reserva deben ser degradados a moléculas más pequeñas para que puedan ser fácilmente utilizadas sus propiedades. Por ejemplo, el almidón que contienen las semillas es necesario para obtener energía utilizada para el metabolismo de la semilla. Las proteínas proporcionan aminoácidos gracias a las enzimas proteasas que son sintetizadas por giberelinas que son liberadas por el embrión de la semilla. Los lípidos son degradados por las lipasas añadiendo al metabolismo de la lenteja los productos como el glicerol y ácidos grasos.



**Figura 3.** *Crecimiento de la radícula*

Al día 3 se puede observar que la radícula ha crecido más y parece ser que en la punta de esta se comienza a apreciar el color verde (Figura 3). De entre los días 4-6 lo único que se puede observar es un constante crecimiento de la plántula, favoreciendo el color verde en la mayoría de esta, también se observa que la cubierta que protege la lenteja se va desprendiendo. Al llegar el día 8 la plántula tiene una altura de alrededor de 3 centímetros y en su extremo comienzan a salir pequeñas hojas (Figura 4).



**Figura 4.** *Crecimiento entre el día 6 y 8*

Los carotenoides son pigmentos naturales en las plantas. Intervienen en el proceso de germinación y crecimiento de la plántula. Estos dan protección contra el estrés oxidativo libre y protegiendo a la planta manteniendo a la planta con vida; el beta- caroteno en la fotosíntesis captura la luz solar y la transfiere a los pigmentos fotosintéticos para que la planta cree su alimento. (J, 2007).



**Figura 5.** *Comparación entre la radícula y la planta*

En la figura 5 podemos observar una clara comparación entre la radícula y la plántula que emergen de la lenteja. La radícula es la primera parte que emerge que con el paso del tiempo como se puede ver, se va convirtiendo en una raíz lo que le permite absorber el agua. En cambio la plántula color verde nace por la semilla que está dentro de la lenteja, esta comienza a crecer de altura y desarrollar hojas para comenzar su proceso de fotosíntesis.





## Conclusiones

La germinación de la lenteja es un proceso regulado, el cual involucra una serie de cuidados necesarios para una brotación exitosa donde existen varios cambios bioquímicos y metabólicos, regidos por algunos compuestos de reserva dentro de la semilla de planta; los carotenoides desempeñan un papel fundamental en la protección y el crecimiento de la plántula, teniendo en cuenta la cantidad de agua requerida por la planta.

## Agradecimientos

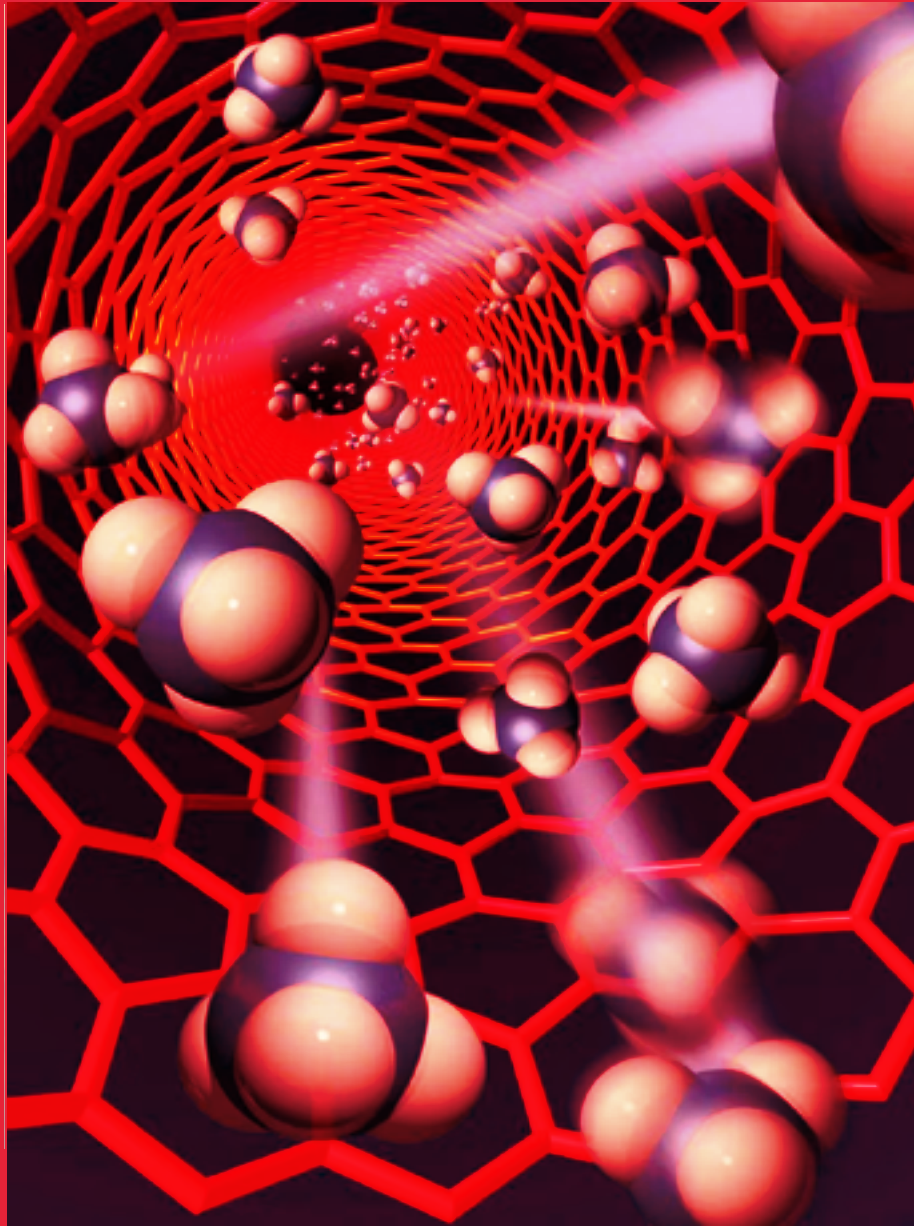
Agradecemos a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo a través de la Facultad de Químico Farmacobiología, en el Laboratorio de Biotecnología “M.C. Víctor M. Rodríguez Alcocer” donde se llevó a cabo la experimentación y documentación del presente trabajo.

## Referencias

- Aylen, A. M. (2021). Importancia de los Germinados Para el Consumo Humano. Tesis de Licenciatura en Microbiología Industrial, p.7-20. Repositorio de la Universidad de Santander, <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/360e06e6-ea5b-4857-acf2-efbfe71698b6/content#:~:text=Los%20germinados%20de%20semillas%20son,a%20partir%20de%20semillas%20seleccionadas%2C>
- Castañeiras, M. P. (2016). Antinutrientes proteicos de las leguminosas: tipos, toxicidad y efectos fisiológicos. Tesis de Licenciatura en Nutrición Humana y Dietética, p10-12. Repositorio de la Universidad de Valladolid, <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/18140/TFG-M-N533.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Infoagro. (2023). El proceso de la germinación de semillas. Etapas, Infoagro.com. Obtenido de Infoagro.com: [https://www.infoagro.com/documentos/el\\_proceso\\_germinacion\\_semillas\\_etapas.asp](https://www.infoagro.com/documentos/el_proceso_germinacion_semillas_etapas.asp)
- J, A. (Junio de 2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *ALAN*, 57(2), Obtenido de Scielo: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222007000200002](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222007000200002)
- Nestle Family Club . (2023). Lentejas: lo que no sabías de ellas, Obtenido de Nestle Family club : <https://nestlefamilyclub.es/articulo/lentejas-lo-que-no-sabias-de-ellas#>
- Ponce de Leon de Lama , C., Torija Isasa , E., Matallana Gomez , M., & Pintado García , C. (2020). Interés de los germinados y su Seguridad Alimentaria. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria* , 61-65.
- Villamil, J. M. (1998). *Germinación de semillas* . Madrid : Din Impresores . Obtenido de Ministerio de agricultura y alimentación: [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1998\\_2090.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1998_2090.pdf)



# CIENCIAS



# BIOLÓGICAS



# EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA APOPTÓTICA DE MACRÓFAGOS EN RELACIÓN CON LA ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA A PARTIR DE MOLÉCULAS DE EXCRECIÓN-SECRECIÓN DE *Clistomum marginatum* (DIGENEA: CLINOSTOMIDAE)

Ana Laura Esquivel Campos<sup>1</sup>, María Esther Castilla Cabrera<sup>1</sup>, Zuleyma Basurto Reyes<sup>1</sup>,  
Felipe Mendoza Pérez<sup>1</sup>, Raquel González Vázquez<sup>3</sup>, Lino Mayorga Reyes<sup>1</sup>,  
Miguel Ángel Mosqueda Cabrera<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México

<sup>2</sup>Departamento del Hombre y su Ambiente, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México

<sup>3</sup>CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, México

[aesquivel@correo.xoc.uam.mx](mailto:aesquivel@correo.xoc.uam.mx), [2192033857@alumnos.xoc.uam.mx](mailto:2192033857@alumnos.xoc.uam.mx),  
[2192037364@alumnos.xoc.uam.mx](mailto:2192037364@alumnos.xoc.uam.mx), [fmendoza@correo.xoc.uam.mx](mailto:fmendoza@correo.xoc.uam.mx), [lmayorga@correo.xoc.uam.mx](mailto:lmayorga@correo.xoc.uam.mx),  
[zitzitl@correo.xoc.uam.mx](mailto:zitzitl@correo.xoc.uam.mx), [rgonzalezv@correo.xoc.uam.mx](mailto:rgonzalezv@correo.xoc.uam.mx)

## Resumen

Las enfermedades crónico degenerativas se caracterizan por la inflamación. Las principales células de la respuesta inflamatoria son los macrófagos que llevan a cabo un incremento en la producción del óxido nítrico (ON). Las infecciones por parásitos tienen efectos positivos en el desarrollo de enfermedades inflamatorias como: el asma, diabetes tipo I, esclerosis múltiple y trastornos inmunometabólicos. Nuestro objetivo fue identificar las moléculas de excreción secreción (MES) de *Clinostomum marginatum* y evaluar su actividad anti-inflamatoria. *C. marginatum* fue cultivado en RPMI 1640 durante un mes. Las MES fueron identificadas por electroforesis en gel de poliacrilamida al 10% (EGPA). La actividad anti-inflamatoria se evaluó en macrófagos J774A.1 estimulados con LPS y se determinó la producción de ON. Se logró identificar una proteína de 54.5 KDa, se observó una disminución del 72% de producción de ON con las MES con respecto al LPS que representa el 100% de la respuesta inflamatoria inducida.

Palabras clave: inflamación, macrófagos, *C. marginatum*, óxido nítrico, anti-inflamatoria.



## Antecedentes

La inflamación es una respuesta del sistema inmune innato ante patógenos, células muertas o irritantes. Una respuesta persistente por microorganismos puede inducir una respuesta inflamatoria. Cuando ocurre un proceso inflamatorio exacerbado se pueden provocar enfermedades inflamatorias crónicas o sistémicas (Guo, et al., 2015). Existe una gran diversidad de enfermedades crónico degenerativas (ECD), que son enfermedades no infecciosas, de progresión lenta y duraderas, como la obesidad, artritis reumatoide, diabetes, enfermedades respiratorias, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares, sarcopenia, enfermedad renal, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedad de Huntington y diferentes tipos de cáncer (Di Renzo et al., 2021). Estas patologías se asocian con el término “inflamatorio” el cual describe una condición caracterizada por la inflamación crónica y sistémica de bajo grado que ocurre durante el envejecimiento y se asocia con la alteración de diferentes vías celulares y moleculares (Falzone et al., 2023). Di Renzo y col. (2023) señalan que las ECD son la causa más frecuente de discapacidad y muerte a nivel mundial, donde más del 30% de la población se ve afectada por una o más de estas ECD, lo que implica un gasto de más del 70% de los recursos de salud pública para el tratamiento de dichas enfermedades.

Prácticamente todas las vías de señalización durante un proceso inflamatorio se pueden ver modificadas por el óxido nítrico (ON) y las especies reactivas de oxígeno que participan en diversos procesos reguladores de la inflamación y desempeñan un rol importante en la regulación de las respuestas inmunitarias. Las bajas concentraciones de ON inhiben la expresión de moléculas de adhesión, la síntesis de citocinas y quimiocinas y la adhesión. Cuando las concentraciones de ON aumentan, pueden ser tóxicas y proinflamatorias. iNOS puede ser inducido por interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) o interleucina (IL)-1; sin embargo, se sabe que el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina de *Escherichia coli* es el mejor inductor de la respuesta inflamatoria sistémica (Guzik y Adame, 2003).

El conocimiento etnobotánico ha permitido desarrollar fármacos contra diversos procesos inflamatorios (Alonso-Castro *et al.*, 2015); sin embargo, estos esfuerzos no han sido suficientes, lo que motiva la exploración de nuevas alternativas que fortalezcan la prevención y atenuación los procesos inflamatorios asociados a diferentes ECD. En este sentido, la “Hipótesis de la Higiene” propone que una menor exposición a helmintos durante la infancia mayor será la probabilidad de desarrollar enfermedades alérgicas, inflamatorias y metabólicas en la vida adulta (Maizels et al., 2014). La infección por helmintos y la liberación de moléculas en el huésped a través de la excreción de productos “de desecho” o mediante un proceso secretor activo para moléculas “funcionales”, pueden jugar un papel importante en las enfermedades

metabólicas, el inmunodiagnóstico y la regulación de funciones inmunomoduladoras (Harnett et al., 2014). Se sabe que los helmintos infectan una cuarta parte de la población mundial; sin embargo, la mortalidad por esta infección es rara, lo que sugiere una larga coadaptación evolutiva entre parásitos y humanos. La infección por parásitos ha demostrado ventajas como, la reducción de reacciones alérgicas, reacciones autoinmunes e inflamatorias (Maizels et al., 2016). Algunos estudios han demostrado que las moléculas de excreción-secreción de helmintos liberadas en el entorno del huésped pueden actuar como moduladores que modifican las funciones metabólicas e inmunes (Dai et al., 2022; Harnett, 2014).

## Objetivo

Identificar las moléculas de excreción-secreción (MES) de *Clinostomum marginatum* y evaluar su actividad anti-inflamatoria en un modelo *in vitro* de macrófagos J774A.1 de ratón.

## Parte experimental

### *Obtención de helmintos*

Las metacercarias de *C. marginatum* se obtuvieron de la musculatura y tubo digestivo de peces, usando jugo gástrico artificial (6g, 7mL HCL en 1L agua destilada) a 37°C/30min (Mosqueda et al., 2023). Posteriormente se lavaron en solución salina (0.6% y Penicilina-Estreptomomicina) hasta quedar libres de microorganismos contaminantes.

### *Obtención de moléculas de excreción-secreción*

Los metacercarias fueron cultivadas en medio RPMI 1640 sin Suero Fetal Bovino (SFB), con Penicilina-Estreptomomicina al 1% en placas de 6 pozos en una atmósfera húmeda al 5% de CO<sub>2</sub> durante un mes. Se colectó 1mL de medio cada tercer día y se almacenó a -20°C. Las MES fueron dializadas en una membrana de 2-14 000kD; posteriormente liofilizadas durante 24h y reconstituidas en 1 ml de agua mili Q.

### *Cuantificación e identificación de proteínas*

Las MES presentes en los sobrenadantes del cultivo celular se cuantificaron por el método de Lowry. Las proteínas se identificaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (Laemmli U.K.) al 10%, (EGPA), la determinación del peso molecular se hizo con marcadores de peso molecular (MPM) en un rango de 10-250 KDa. El gel se tiñó con nitrato de plata 20mM durante 30min, posteriormente la imagen se desarrolló en una solución (carbonato de sodio 0.28M y formaldehído 0.037%), el desarrollo de la imagen se detuvo con ácido acético 1% durante 30 min. El peso molecular de las MES se determinó construyendo una curva de calibración con los MPM, para determinar el peso molecular final de las proteínas (kD) presentes en las muestras.



### *Cultivo de macrófagos*

Se emplearon macrófagos J774A.1 cultivados y mantenidos en RPMI-1640 (suplementado con FBS 10% y gentamicina 100µg/mL), a 37°C/5% de CO<sub>2</sub>.

### *Ensayo de viabilidad celular MTT*

La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo de MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide). 1×10<sup>4</sup> células (macrófagos J774A.1) se sembraron en placas de 96 pozos e incubaron por 24h. Los macrófagos se estimularon con las MES en concentraciones de 100-2000 µg/mL y se incubaron a 37°C/5% de CO<sub>2</sub>. Se adicionaron 20µl de MTT (0.5mg/mL) a cada pozo, posteriormente se incubaron durante 4h/37°C. Después del periodo de incubación se retiró el MTT y los cristales de formazán fueron solubilizados en 200µl de DMSO. La reacción se leyó a una absorbancia de 540-570 nm usando un espectrofotómetro.

### *Ensayo anti-inflamatorio*

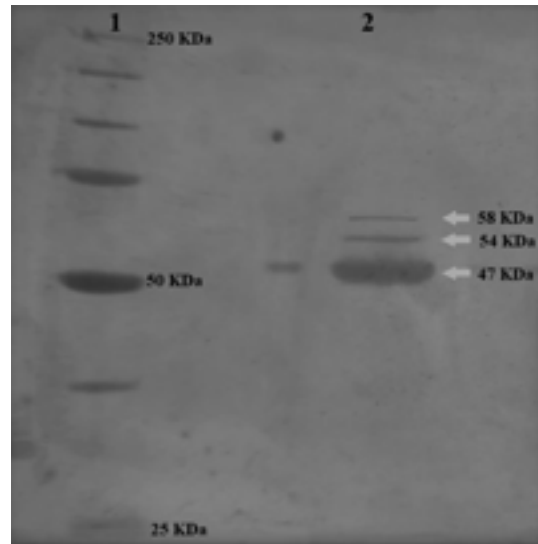
Se sembraron 1x10<sup>6</sup> macrófagos/pozo, formando cuatro grupos de estudio. *i* macrófagos control (sin ningún estímulo), *ii* los macrófagos estimulados con 5µg/mL de LPS (*E. coli* O111:B4) para inducir la inflamación, *iii* macrófagos estimulados con diclofenaco 31µM (anti-inflamatorio), después de 2h se adicionó LPS (5µg/mL) y *iv* macrófagos estimulados con MES (800µg/mL), después de 2h se adicionó LPS (5µg/mL). Todas las células se incubaron por 24h a 37°C/5% de CO<sub>2</sub>. Transcurrido el tiempo se obtuvieron los sobrenadantes para el ensayo de óxido nítrico.

### *Cuantificación de óxido nítrico*

Se cuantificó la producción de óxido nítrico de los cuatro grupos de estudio con un Kit comercial (PROMEGA G2930) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

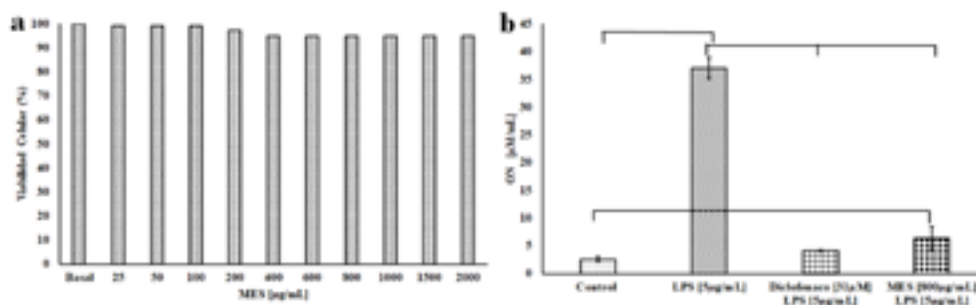
## **Resultados y discusión**

Como se observa en la Figura 1 se lograron identificar 3 proteínas con pesos moleculares de 47, 54 y 58KDa en los sobrenadantes obtenidos de los cultivos de las metacercarias de *C. marginatum* por 30 días. Se sugiere que la respuesta *in vitro* es resultado de dichas proteínas. De acuerdo con lo reportado por Diosdado y col (2020) *Dirofilaria immitis* tiene 2 MES con un peso molecular de 50 y 56kDa, de forma similar Eliás y col (2020) identificaron que *Steinernema* y *Heterorhabditis* tiene MES con pesos moleculares en un rango de 27 kDa a 78kDa y Jones y col (2022) informaron que *Drosophila melanogaster* produce MES con un rango de peso de 25 a 55kDa. Por lo que podemos determinar que las MES identificadas en este trabajo están dentro del rango de peso de proteínas reportadas por otros autores.



**Figura 1.** Electroforesis EGPA al 10%. MPM (carril 1) y proteína 54KDa en MES (carril 2).

La viabilidad de los macrófagos J774A.1 no se vio alterada por la presencia de diferentes concentraciones de las MES con respecto a las células control (-) (Figura 2a). Se observó una disminución del 72% de la producción de ON ( $p < 0.01$ ) en el grupo de las MES+LPS con respecto al grupo de solo LPS que corresponde al 100% de la respuesta inflamatoria inducida. Esta disminución en la respuesta de las MES es aún mejor con respecto al grupo de diclofenaco(antiinflamatorio)+LPS con solo el 54% ( $p < 0.01$ ). Cabe destacar que solo hay una diferencia del 11% de ON entre el grupo control y el grupo MES+LPS (Figura 2b).



**Figura 2.** (a) viabilidad celular de macrófagos con MES. (b) cuantificación de ON en los cuatro grupos de estudio. Los datos representan tres experimentos independientes y son expresados como promedio±desvt (n=9). \* $p < 0.01$ .

La disminución de ON en los macrófagos como resultado de la exposición a las MES de *C. marginatum* puede estar relacionado con lo descrito por Rolot y Dewals (2018), Steinfelder y col., (2016) y Shi y col (202) , estos señalan que los helmintos producen una respuesta

inmune tipo 2 caracterizada por la producción de citocinas como interleucina-(IL-) 4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 inhibiendo la producción de citocinas proinflamatorias, lo que causa una activación alternativa de macrófagos M2 (respuesta anti-inflamatoria) y una reducción en la producción de óxido nítrico sintasa antimicrobiana (iNOS) encargada de formar ON. Así mismo De Abreu Cabral y col. (2018) han reportado que la infección por *Toxoplasma gondii* inhibe la producción de ON en macrófagos J774-A1 y RAW 264.7 activados por la vía clásica o M1 (respuesta proinflamatoria), por otro lado Bao y col (2022) describen que la infección por *Echinococcus granulosus* revirtió la expresión de ON al disminuir los macrófagos activados M1 y Su y col (2018) informaron que la infección por *Heligmosomoides polygyrus* disminuye los niveles de expresión de la citocina proinflamatoria, TNF- $\alpha$  y ON.

## Conclusiones

Se sugiere que las MES obtenidas de *C. marginatum* pueden ser una buena opción antiinflamatoria al disminuir la producción de ON en macrófagos.

## Referencias

- Alonso-Castro, A. J.; Domínguez, F.; Zapata-Morales, J. R.; Carranza-Álvarez, C. (2015). Plants used in the traditional medicine of Mesoamerica (Mexico and Central America) and the Caribbean for the treatment of obesity. *Journal of ethnopharmacology* 175, 335–345. [doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.029](https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.029)
- Bao, J.; Qi, W., Sun, C. Q.; Tian, M.; Jiao, H.; Guo, G.; Guo, B.; Ren, Y.; Zheng, H.; Wang, Y.; Yan, M.; Zhang, Z.; McManus, D. P.; Li, J.; Zhang, W. (2022). *Echinococcus granulosus* sensu stricto and antigen B may decrease inflammatory bowel disease through regulation of M1/2 polarization. *Parasites & Vectors* 15, 1, 391. [doi.org/10.1186/s13071-022-05498-y](https://doi.org/10.1186/s13071-022-05498-y)
- De Abreu Cabral, G. R.; Wang, Z. T.; Sibley, L. D.; DaMatta, R. A. (2018). Inhibition of nitric oxide production in activated macrophages caused by *Toxoplasma gondii* infection occurs by distinct mechanisms in different mouse macrophage cell lines. *Frontiers in Microbiology* 9 1936. [doi.org/10.3389/fmicb.2018.01936](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01936)
- Di Renzo, L.; Gualtieri, P.; De Lorenzo, A. (2021). Diet, Nutrition and Chronic Degenerative Diseases. *Nutrients* 13, 4, 1372. [doi.org/10.3390/nu13041372](https://doi.org/10.3390/nu13041372)
- Di Renzo, L.; Gualtieri, P.; Frank, G.; De Lorenzo, A. (2023). Nutrition for Prevention and Control of Chronic Degenerative Diseases and COVID-19. *Nutrients* 15, 10, 2253. [doi.org/10.3390/nu15102253](https://doi.org/10.3390/nu15102253)
- Diosdado, A.; Simón, F.; Morchón, R.; González-Miguel, J. (2020). *Dirofilaria immitis* possesses molecules with anticoagulant properties in its excretory/secretory antigens. *Parasitology* 147, 5, 559-565. [doi: 10.1017/S0031182020000104](https://doi.org/10.1017/S0031182020000104)





- Eliáš, S.; Hurychová, J.; Toubarro, D.; Frias, J.; Kunc, M., Dobeš, P.; Hyršl, P. (2020). Bioactive excreted/secreted products of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* inhibit the phenoloxidase activity during the infection. *Insects* 11, 6, 353. [doi.org/10.3390/insects11060353](https://doi.org/10.3390/insects11060353)
- Falzone, L.; Candido, S.; Docea, A. O.; Calina, D. (2023). Editorial: Inflammation and aging in chronic and degenerative diseases: Current and future therapeutic strategies. *Frontiers in pharmacology* 13, 1122786. [doi.org/10.3389/fphar.2022.1122786](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1122786)
- Guo, H.; Callaway, J. B.; Ting, J. P. (2015). Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature medicine* 21, 7, 677–687. [doi.org/10.1038/nm.3893](https://doi.org/10.1038/nm.3893)
- Guzik, T. J.; Korbust, R.; Adamek-Guzik, T. (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society* 54, 4, 469–487.
- Harnett, W. (2014). Secretory products of helminth parasites as immunomodulators. *Molecular and biochemical parasitology* 195, 2, 130-136.
- Jones, K.; Tafesh-Edwards, G.; Kenney, E.; Toubarro, D.; Simões, N.; Eleftherianos, I. (2022). Excreted secreted products from the parasitic nematode *Steinernema carpocapsae* manipulate the *Drosophila melanogaster* immune response. *Scientific Reports* 12, 1, 14237. [doi.org/10.1038/s41598-022-18722-7](https://doi.org/10.1038/s41598-022-18722-7)
- Maizels, R. M.; McSorley, H. J. (2016). Regulation of the host immune system by helminth parasites. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 138, 3, 666-675. [doi.org/10.1016/j.jaci.2016.07.007](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.07.007)
- Mosqueda-Cabrera, M. Á.; Desentis-Pérez, D. L.; Padilla-Bejarano, T. A.; García-Prieto, L. (2023). Possible zoonotic implications of the discovery of the advanced third stage larva of *Gnathostoma turgidum* (Spirurida: Gnathostomatidae) in a Mexican fish species. *Helminthologia* 60,1, 112–116. [doi.org/10.2478/helm-2023-0011](https://doi.org/10.2478/helm-2023-0011)
- Rolot, M.; Dewals, B. G. (2018). Macrophage activation and functions during helminth infection: Recent advances from the laboratory mouse. *Journal of Immunology Research*, 2018. [doi.org/10.1155/2018/2790627](https://doi.org/10.1155/2018/2790627)
- Shi, W.; Xu, N.; Wang, X.; Vallée, I.; Liu, M.; Liu, X. (2022). Helminth Therapy for Immune-Mediated Inflammatory Diseases: Current and Future Perspectives. *Journal of Inflammation Research* 15, 475–491. [doi.org/10.2147/JIR.S348079](https://doi.org/10.2147/JIR.S348079)
- Steinfeldt, S.; O'Regan, N. L.; Hartmann, S. (2016). Diplomatic Assistance: Can Helminth-Modulated Macrophages Act as Treatment for Inflammatory Disease? *PLoS Pathogens* 12, 4), 1–14. [doi.org/10.1371/journal.ppat.1005480](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005480)
- Su, C.; Chen, C.; Li, Y.; Long, S. A.; Massey, W.; Kumar, D.; Walker, W. A.; Shi, H. N. (2018). Helminth infection protects against high fat diet-induced obesity via induction of alternatively activated macrophages. *Scientific Reports* 8,1. [doi.org/10.1038/s41598-018-22920-7](https://doi.org/10.1038/s41598-018-22920-7)





# EFECTO DEL RESVERATROL SOBRE EL PERFIL INFLAMATORIO ASOCIADO AL DESARROLLO DEL INFARTO AL MIOCARDIO EN EL ENVEJECIMIENTO

*Elizabeth Romero Monter<sup>1</sup>, Jazmín Flores Monroy<sup>1</sup>, Ruth Mery López Mayorga<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México.*

*<sup>2</sup>Escuela Superior de Medicina, IPN, México,*

*[elizamonter25@gmail.com](mailto:elizamonter25@gmail.com) [jfmqfb@gmail.com](mailto:jfmqfb@gmail.com)*

*[2ruthmerylm@hotmail.com](mailto:2ruthmerylm@hotmail.com)*

## Resumen

La enfermedad coronaria (EC) es la principal causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La forma más común de EC es el infarto de miocardio (IM), responsable de más del 15% de la mortalidad cada año. En México el INEGI publicó el listado de las 10 principales causas de muerte en información preliminar del año 2022, siendo las enfermedades cardiovasculares (ECV) las que ocuparon el puesto número uno en defunciones en mujeres. El IM ocurre cuando la arteria coronaria está parcial o totalmente ocluida, lo que crea una reducción severa en el flujo sanguíneo, esto hace que parte del músculo cardíaco que recibe sangre de esa arteria sufra un infarto. La inflamación es una patogenia común de muchas enfermedades crónicas, incluidas las ECV e intestinales, la diabetes, la artritis y el cáncer. Los tratamientos de IM convencionales se aplican principalmente a las terapias farmacológicas, de reperfusión y de trasplante de órganos. La función principal de estos medicamentos es inhibir la formación de placas endoteliales y restaurar el flujo sanguíneo en el corazón. El resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina presente en una amplia variedad de plantas como uvas, ciruelas, bayas y maní en respuesta a varios estímulos ambientales dañinos, incluida la radiación ultravioleta (UV), toxinas químicas, hongos e infecciones bacterianas.

**Palabras clave:** Infarto, Mujer, Inflamación, Resveratrol, Tratamiento.



## Antecedentes

La enfermedad coronaria (EC) es la principal causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La forma más común de EC es el infarto de miocardio (IM). Es responsable de más del 15% de la mortalidad cada año. En México en enero del 2023, el INEGI publicó el listado de las 10 principales causas de muerte en información preliminar del primer semestre del año 2022, siendo las enfermedades cardiovasculares (ECV) las que ocuparon el puesto número uno en defunciones tanto en lo general como en la distinción por sexo, de lo anterior el 78% de muertes en mujeres correspondieron a un IM. (INEGI, 2023). La menopausia es el último período menstrual. Es una parte universal e irreversible del proceso general de envejecimiento, ya que involucra el sistema reproductivo de la mujer. Se cree que la pérdida de la función ovárica en la menopausia y el estado hipoestrogénico resultante aumentan el riesgo de ECV. (Honor, J. W. 2017). El IM ocurre cuando la arteria coronaria está parcial o totalmente ocluida, lo que crea una reducción severa en el flujo sanguíneo, esto hace que parte del músculo cardíaco que recibe sangre de esa arteria sufra un infarto. (Jayaraj, J. C., Davatyan, K., Subramanian, S. y Priya, J. 2018); propiamente es el daño irreversible del tejido miocárdico causado por isquemia prolongada e hipoxia. (Wolters, 2021). Los mecanismos fisiopatológicos responsables de la muerte celular del miocardio (necrosis, apoptosis, autofagia, etc.) han sido ampliamente discutidos en las últimas décadas. (Kingma, J. G. 2020). En respuesta a la lesión del tejido, el cuerpo inicia una cascada de señales químicas que estimula las respuestas destinadas a curar los tejidos afectados. Estas células activadas producen citocinas que inducen respuestas inflamatorias. La inflamación es una patogenia común de muchas enfermedades crónicas, incluidas las ECV e intestinales, la diabetes, la artritis y el cáncer. (Chen, L., et al. 2017; Zelman, D. 2020). El corazón de los mamíferos adultos tiene una capacidad regenerativa insignificante, por lo que el IM se cura mediante la formación de una cicatriz que depende de una cascada inflamatoria, desencadenada por las células moribundas, su eliminación y de los restos de la matriz, mediante la infiltración de fagocitos activa las vías antiinflamatorias que conducen a la supresión de la señalización de citocinas. Los tratamientos de IM convencionales se aplican principalmente a las terapias farmacológicas, de reperfusión y de trasplante de órganos. La función principal de estos medicamentos es inhibir la formación de placas endoteliales y restaurar el flujo sanguíneo en el corazón. Además, la mayoría de los pacientes después de un infarto son tratados con  $\beta$ -bloqueadores porque bloquean la remodelación cardíaca y reduce la mortalidad después del infarto. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, los antagonistas de los receptores de angiotensina y los antagonistas de la aldosterona también tienen un efecto beneficioso similar sobre la remodelación y la mortalidad. (Wolters, 2021). El resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina presente en una amplia variedad de plantas como uvas, ciruelas, bayas y maní en respuesta a varios estímulos ambientales dañinos,



incluida la radiación ultravioleta (UV), toxinas químicas, hongos e infecciones bacterianas. El contenido de resveratrol en los hollejos de uva fresca es de 50 a 100 mg por gramo y de aproximadamente 0,2 a 5,8 mg/l de vino, según los diferentes tipos de vino. El resveratrol existe en dos formas, incluidos los isómeros *cis* y *trans*. Se ha demostrado que el resveratrol exhibe una variedad de efectos que promueven la salud, así como la prevención de muchas enfermedades, como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, el envejecimiento, la neurodegeneración y el cáncer. (Truong, Jun, y Jeong, 2017).

### Objetivo (s)

Evaluar el efecto inmuno-modulador y antioxidante del pretratamiento con resveratrol en los modelos de menopausia con Infarto de Miocardio crónico en rata Wistar vieja, mediante la cuantificación de biomarcadores de inflamación y óxido nítrico, así como su relación con cambios en la estructura del corazón y vasos como la aorta.

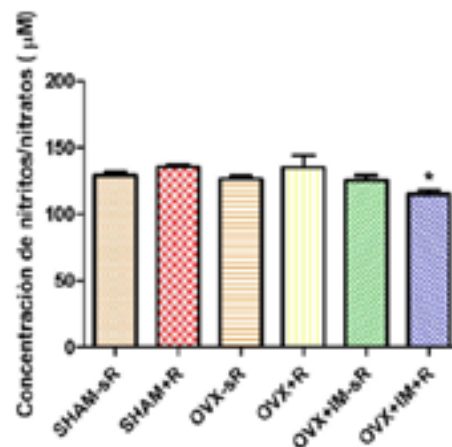
### Parte experimental (u otro título similar si es más descriptivo de lo presentado)

Se contó con 36 ratas Wistar hembra de peso promedio entre 450-500g de 1 año de edad, las cuales se dividieron en dos grandes grupos: sin tratamiento (sR) y tratamiento con Resveratrol (R) a dosis de 0.0330mg/kg/día en el agua de consumo *ad libitum*, subdivididos en: SHAM-sR, OVX-sR, OVX+IM-sR, SHAM+R, OVX+R y OVX+IM+R con una n=6 cada uno, se realizó la cirugía de ovariectomía bilateral (OVX) como modelo de menopausia e inmediatamente se inició el tratamiento en los grupos correspondientes, se permitió su recuperación por 6 sem (OVX-sR y OVX+R son la excepción en la evolución el cual fue de 12 sem), terminado el tiempo, se realizó oclusión coronaria como modelo de infarto de miocardio (IM), permitiendo completar 12 sem en total sin dejar de dar el tratamiento a los grupos correspondientes; al completar, posteriormente se realizó la toma de presiones con modelo Tail Cuff, seguido de electrocardiograma (ECG) y se sacrificaron para toma de muestras de sangre y tejidos, obteniendo suero para cuantificar óxido nítrico y corazones para área de infarto con tinción de trifeniltetrazoleo. (Clave de registro CICUAE-FESC C 22\_12).

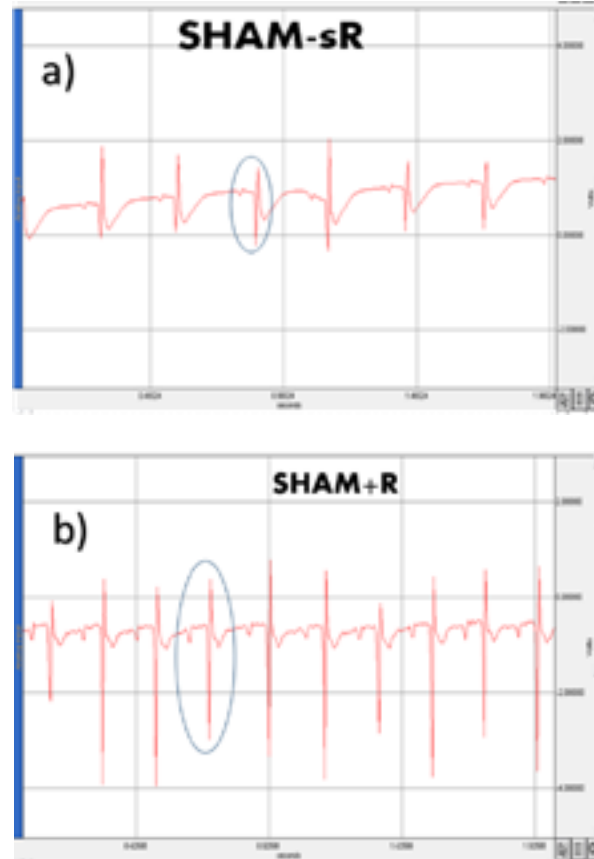
### Resultados y discusión

En el presente trabajo se encontró en la cuantificación de óxido nítrico (NO) diferencia entre los grupos SHAM-sR vs OVX+IM+R ( $129.380 \pm 1.985$  y  $114.969 \pm 3.058$  respectivamente) Gráfica 1, hallando que la excreción de metabolitos de NO disminuye como Gordish, K. y Beierwaltes, W. en 2016 encontraron en los efectos biológicos *in vivo* del resveratrol, que pueden ser severamente limitados por una baja biodisponibilidad, ya que es rápidamente absorbido a través de difusión trans epitelial. La biodisponibilidad sistémica del resveratrol

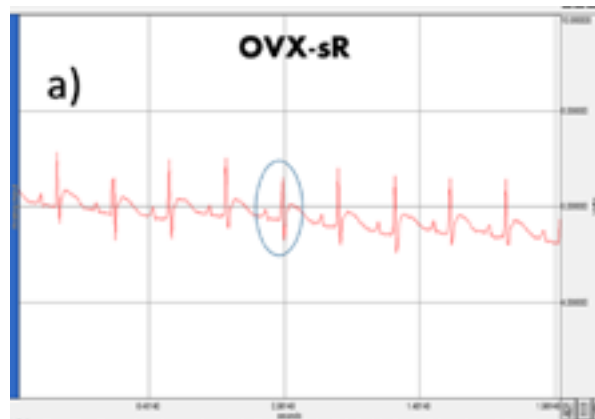
es menor al 1%. (Truong, V.-L., Jun, M. y Jeong, W.-S. 2018). ROS/RNS puede formarse por fuentes endógenas y exógenas. El exceso de ROS/RNS conduce a daños oxidativos/nitrosativos de biomoléculas celulares como proteínas, lípidos y ADN, y posteriormente, causa una amplia gama de enfermedades, incluidas enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, diabetes, envejecimiento y cáncer. El resveratrol puede inhibir la producción de ROS/RNS y eliminar la acumulación de ROS/ARN y suprimir el daño biomolecular oxidativo/nitrosativo, evitando así los riesgos de patogénesis. (Truong, V.-L., Jun, M., & Jeong, W.-S. 2017). Por otro lado, la imagenología de los electrocardiogramas (Figuras 1, 2 y 3) arrojó anomalías en las ondas P y T, así como en el complejo QRS y en el segmento S-T, denotando inversión de onda, complejo, fragmentación y elevación en el caso del segmento, las cuales de acuerdo con la literatura confirman el Infarto de Miocardio en diferentes etapas, además, la posibilidad de presentar taquicardia y remodelación ventricular. Por otro lado, la presión arterial no mostró ningún cambio estadísticamente significativo como se muestra en la Gráfica 2, además, la determinación del área de infarto mostró únicamente la tendencia a la disminución del mismo, como se muestra en la Gráfica 3.

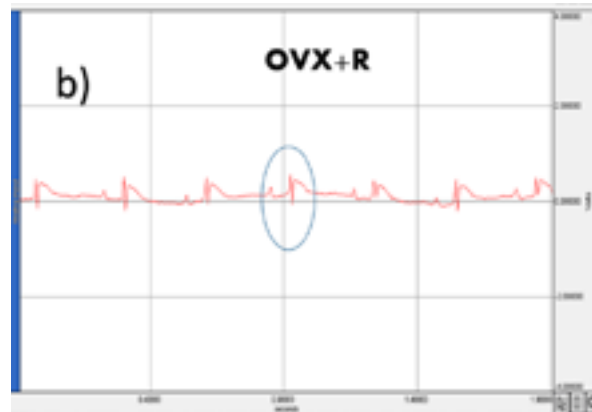


**Gráfica 1.-** Cuantificación de Óxido Nítrico en suero. Estos resultados son la media  $\pm$  el error estándar de una  $n=6$  experimentos. ANOVA de una vía seguida de una prueba de Tukey. \* $P<0.05$  vs OVX+IM+R.

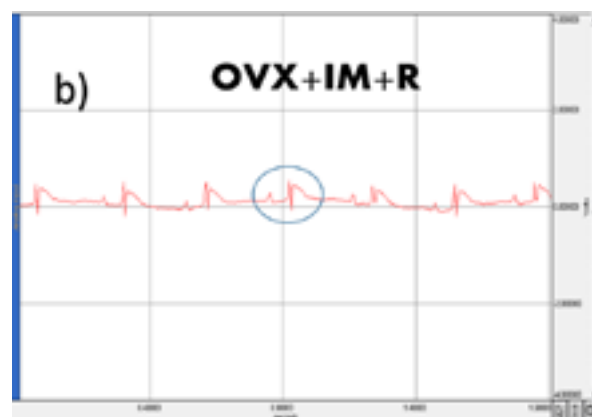
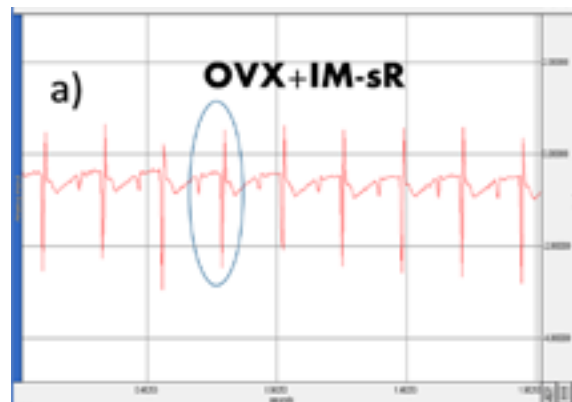


**Figura 1.-** Electrocardiogramas correspondientes a los grupos control (SHAM): a) sin tratamiento (sR) y b) con tratamiento (R) de Resveratrol.

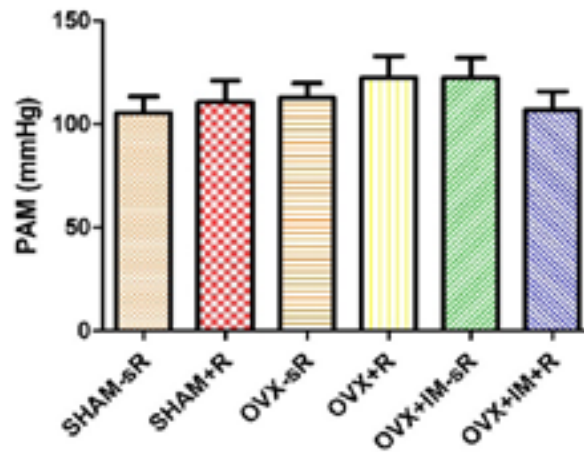




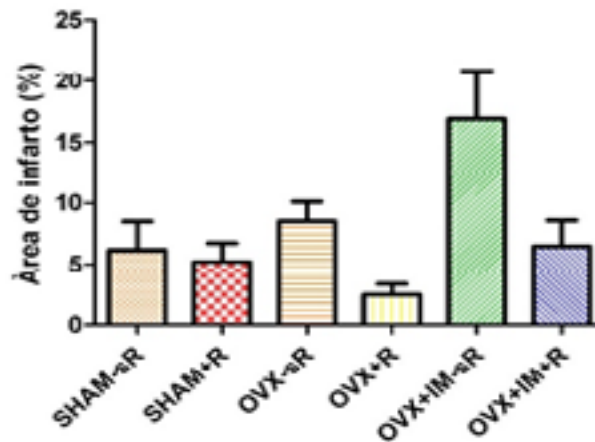
**Figura 2.-** Electrocardiogramas correspondientes a los grupos Ovariectomizados (OVX): a) sin tratamiento (sR) y b) con tratamiento (R) de Resveratrol.



**Figura 3.-** Electrocardiogramas correspondientes a los grupos con Ovariectomía más Infarto de Miocardio (OVX+IM): a) sin tratamiento (sR) y b) con tratamiento (R) de Resveratrol.



**Gráfica 2.-** Presión Arterial Media. Estos resultados son la media  $\pm$  el error estándar de una  $n=6$  experimentos. ANOVA de una vía.  $P<0.05$ .



**Gráfica 3.-** Porcentaje de área de Infarto. Estos resultados son la media  $\pm$  el error estándar de una  $n=6$  experimentos. ANOVA de una vía.  $P<0.05$ .

## Conclusiones

Se comprobó que el resveratrol genera una tendencia a la disminución del porcentaje de área de infarto en los diferentes grupos (SHAM+R, OVX+R y OVX+IM+R), mantuvo la presión arterial media sin diferencia y en los ECG se observa como la inversión de la onda P se revierte.

## Agradecimientos

Proyecto realizado gracias al programa UNAM-PAPIITIN217122





## Referencias

Jayaraj, J. C. , Davatyan, K., Subramanian, S., & Priya, J. (2018). Epidemiology of Myocardial Infarction. In (Ed.), Myocardial Infarction. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74768>

Kingma, J. G. (2020). Acute Myocardial Infarction: Perspectives on Physiopathology of Myocardial Injury and Protective Interventions. In D. C. Gaze, & A. Kibel (Eds.), Cardiac Diseases - Novel Aspects of Cardiac Risk, Cardiorenal Pathology and Cardiac Interventions. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92838>

Wolters, K. (2021). “Cardiovascular Physiology Concepts”. Chapter 9 Cardiovascular Integration, Adaptation and Pathophysiology. The Pharmacologic Treatment of Myocardial Infarction. Rationale for Drug Therapy in Myocardial Infarction. New 3rd edition ISBN-13:9781975150075. Recuperado de: <https://www.cvpharmacology.com/clinical%20topics/myocardial%20infarction-3>

Zelman, D. (2020), Medically Reviewed MD on October 15, Inflammation. Recuperado de: <https://www.webmd.com/arthritis/about-inflammation>

Beleño Acosta, B., Advincula, R.C. y Grande-Tovar, C.D. (2023). “Chitosan-Based Scaffolds for the Treatment of Myocardial Infarction: A Systematic Review”. *Molecules*, 28, 1920. <https://doi.org/10.3390/molecules28041920>

Truong, V.-L., Jun, M., & Jeong, W.-S. (2017). Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress. *BioFactors*, 44(1), 36–49. <https://doi:10.1002/biof.1399>

Tsikis D. (2007). Análisis de nitrito y nitrato en fluidos biológicos mediante ensayos basados en la reacción de Griess: evaluación de la reacción de Griess en el área de investigación de L-arginina/óxido nítrico. *Revista de cromatografía. B, Tecnologías analíticas en las ciencias biomédicas y de la vida*, 851(1-2), 51–70. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.07.054>

NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999\\_220801.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf)





## EFECTOS DEL CONSUMO CRÓNICO DE DOS ADITIVOS: EDULCORANTES Y BENZOATO DE SODIO EN RATAS HEMBRA DE LA ESTIRPE WISTAR

Alejandra Eloisa Garcia Serbin<sup>1\*</sup>, América Rayón Piña<sup>1</sup>, Xavier Martínez Rodríguez<sup>1</sup>, Laura Citlali Manrique Sánchez<sup>1</sup>, Samuel Mendoza Pérez, Rolando Salvador García Gómez<sup>1</sup>, Lucía Macías Rosales<sup>2</sup>, Isabel Gracia Mora<sup>2</sup>, Gerardo Salas Garrido<sup>3</sup>, María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E de la Facultad de Química. UNAM, México

<sup>2</sup>Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) del Conjunto E de la Facultad de Química. UNAM, México

<sup>3</sup>Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México

[316281982@quimica.unam.com](mailto:316281982@quimica.unam.com)\*, [315149436@quimica.unam.mx](mailto:315149436@quimica.unam.mx), [xavier.mr023@gmail.com](mailto:xavier.mr023@gmail.com), [315163708@quimica.unam.mx](mailto:315163708@quimica.unam.mx), [lucmaci@gmail.com](mailto:lucmaci@gmail.com), [Isabel.gracia@gmail.com](mailto:Isabel.gracia@gmail.com), [rolandoga2000\\_a@yahoo.com](mailto:rolandoga2000_a@yahoo.com), [salas.ger@gmail.com](mailto:salas.ger@gmail.com), [mcduran@quimica.unam.mx](mailto:mcduran@quimica.unam.mx)

### Resumen

En la UNAM se está realizando un experimento biológico empleando ratas hembra recién destetadas de la estirpe *Wistar*. A los especímenes se les suministra diariamente bebida con edulcorantes nutritivos y no nutritivos adicionados con y/o sin benzoato de sodio en concentraciones similares a las encontradas en las bebidas no alcohólicas comerciales. El experimento tiene una duración de 12 meses. En esta investigación se contemplan solamente los primeros 120 días de experimentación. De manera general, los grupos que han ingerido edulcorantes nutritivos han sido los que mayor bebida han consumido y una menor cantidad de alimento, mientras que para los grupos que consumen edulcorantes no nutritivos ha ocurrido lo contrario. En cuanto a la presencia o ausencia de benzoato de sodio en las bebidas no se ha apreciado aún algún efecto significativo también en los niveles séricos de glucosa y triglicéridos ni en la ganancia de masa corporal.

Palabras clave: Edulcorantes nutritivos y no nutritivos, ratas *Wistar*, benzoato de sodio, glucosa, triglicéridos



## Antecedentes

En las últimas décadas, el consumo de alimentos ultraprocesados ha sido una de las principales preocupaciones en la salud pública al igual que la prevalencia de enfermedades no transmisibles como la diabetes *mellitus* tipo II. Este tipo de alimentos tienen un fácil acceso y en ocasiones son más atractivos y baratos al público que los alimentos con una mejor calidad nutrimental. Además, pasan por una gran cantidad de procesos industriales para poder conservarse y que su producto final se almacene en los anaqueles del sistema comercial por largo tiempo. Algunos alimentos ultraprocesados se caracterizan por presentar una alta densidad energética, poco o nulo contenido de vitaminas y minerales y una gran cantidad de aditivos químicos para mejorar su apariencia y alargar su vida de anaquel. Entre los principales aditivos presentes en los alimentos ultraprocesados se encuentran los edulcorantes y los conservadores. La industria alimentaria con la finalidad de reducir el contenido energético de sus productos y los costos de producción ha sustituido en las formulaciones de productos ultraprocesados a los edulcorantes nutritivos con los no nutritivos y, por ello, se ha visto en la necesidad de usar cada vez más a los conservadores químicos como el benzoato de sodio, el cual es empleado prácticamente en todos los alimentos procesados y las bebidas obtenidas industrialmente, ya que los edulcorantes no nutritivos no protegen a los alimentos y bebidas no alcohólicas como lo hace el azúcar de daños por microorganismos. Dentro del grupo de los edulcorantes calóricos naturales (nutritivos) se engloban todos los glúcidos. Entre los más empleados están la sacarosa, la fructosa, la glucosa y la maltosa (García-Almeida *et al.*, 2013). Entre los edulcorantes no nutritivos más comunes se encuentran el acesulfame de K, la sucralosa, el aspartame y la sacarina (Mendoza-Pérez *et al.*, 2021a, 2021b). Se ha observado que un consumo constante de los edulcorantes no nutritivos ocasiona un daño a la salud en los animales modelo empleados (Mendoza-Pérez *et al.*, 2021a, 2021b). Incluso la OMS en sus nuevas directrices sobre el consumo de edulcorantes no nutritivos desaconseja su uso para controlar el exceso de masa corporal o reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles (OPS, 2023). Adicionalmente, algunas investigaciones han asociado su consumo con un aumento de masa corporal, alteraciones del apetito (Mendoza-Pérez *et al.*, 2021a, 2021b), disbiosis de la microbiota intestinal (Bian *et al.*, 2017; Suez *et al.*, 2014) y alteraciones en las enzimas de la glucólisis y la lipogénesis (Mendoza-Pérez *et al.*, 2022). El consumo de benzoato de sodio se ha asociado con alteraciones de la homeostasis de glucosa (Brial *et al.*, 2022) y la disbiosis de la microbiota intestinal (Gerasimidis *et al.*, 2020), entre muchos otros.



En este estudio se evaluarán los efectos del consumo simultáneo de edulcorantes nutritivos, no nutritivos y del benzoato de sodio, por medio de la ganancia de masa corporal, los niveles séricos de glucosa y triglicéridos y los patrones de ingesta de alimento, bebida y energía.

### Objetivo(s)

**General:** Evaluar el efecto del consumo crónico de diferentes edulcorantes nutritivos y no nutritivos y el benzoato de sodio adicionados en el agua potable en ratas hembra de la estirpe *Wistar* y sus implicaciones sobre los niveles de glucosa y triglicéridos.

**Específico:** 1) Cuantificar los patrones de ingesta de alimento, bebida ingerida y ganancia de masa corporal en ratas hembra de la estirpe *Wistar* definiendo si estos patrones dependen significativamente de los factores edulcorantes y adición de benzoato a los 120 días. 2) Medir los niveles séricos de glucosa y triglicéridos a los 2 y 4 meses de experimentación después del inicio del experimento en las ratas hembra que consumieron edulcorantes nutritivos y no nutritivos con y sin la adición de benzoato de sodio.

### Metodología

En la Unidad de Experimentación Animal y en los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, desde marzo del 2023, se encuentra en proceso un experimento biológico empleando ratas hembra recién destetadas de la estirpe *Wistar* (con una masa corporal entre 35-50g) con una duración de 12 meses (equivalentes a 50-60 años de edad humana según Sengupta, 2014). Este trabajo solamente incluirá los primeros 4 meses (120 días de experimentación, equivalentes según Sengupta a la pubertad-adolescencia). A los especímenes bajo estudio, se les están suministrando a través de la bebida edulcorantes nutritivos y no nutritivos, con y sin la adición de benzoato de sodio en concentraciones similares a las encontradas en las bebidas no alcohólicas comerciales. Para corroborar el posible efecto sinérgico del benzoato de sodio se tienen los siguientes 12 grupos experimentales con 12 especímenes por grupo: (1) Agua potable (C), (2) agua potable + benzoato de sodio (CB) [0.169 g/L], (3) glucosa (G) [14% m/v], (4) glucosa [14 % m/v] + benzoato de sodio (GB) [0.169 g/L], (5) fructosa (F) [7% m/v], (6) fructosa [7% m/v] + benzoato de sodio (FB) [0.169 g/L], (7) sacarosa (S) [10 % m/v] , (8) sacarosa [10 % m/v] + benzoato de sodio (SB) [0.169 g/L], (9) sacarina [0.033% m/v] (A), (10) sacarina [0.033% m/v] + benzoato de sodio (AB) [0.169 g/L], (11) sucralosa (U) [0.067% m/v], (12) sucralosa [0.067 % m/v]+ benzoato de sodio (UB) [0.169 g/L]. A lo largo del experimento se realizarán 2 eutanasias, una a los 6 meses y otra a los 12. Los especímenes ingieren una dieta especial para ellos, *Lab Diet 5001* (LabDiet, St. Louis, MO, EE. UU.), de manera *ad libitum* y beben el agua con o sin edulcorantes y/o con o sin benzoato de sodio *ad libitum* de



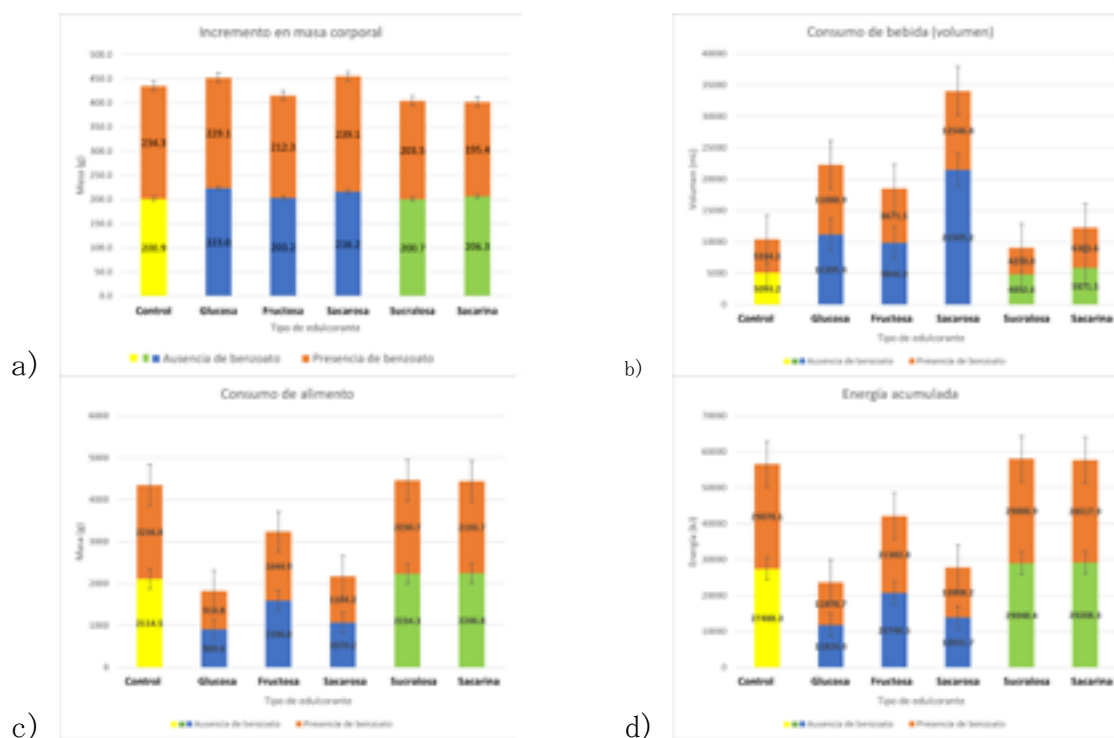
acuerdo con las concentraciones previamente especificadas para cada grupo. Al inicio de la experimentación se distribuyeron aleatoriamente 12 hembras en cada uno de los 12 grupos con la finalidad de evitar cualquier sesgo estadístico. Previo al suministro de las bebidas con edulcorantes y benzoato las ratas recién llegadas a los laboratorios tuvieron un periodo de adaptación al alimento sólido de tres días. Diariamente se cuantifica la masa corporal de los especímenes determinado por la sustracción de la masa base del espécimen (día 0) a la registrada el día de la medición. Asimismo, también se calcula la cantidad de bebida ingerida. Para ello, se realiza la sustracción del volumen remanente en los bebederos medido mediante una probeta. De manera similar se determina el alimento consumido. Diariamente se suministran 100 g de alimento y 24 horas después se pesa el alimento remanente en una balanza digital (VELAB Modelo 5000H). Posteriormente, por diferencia de masa se obtiene el alimento consumido de cada uno de los especímenes. La ingesta teórica energética se calcula con el valor correspondiente al alimento (14 kJ/g) y a los edulcorantes nutritivos (4 kcal/g o 16.7 kJ/g) despreciando tanto el valor del benzoato como el de los edulcorantes artificiales en este cálculo. Al finalizar los 12 meses de experimentación los datos de ganancia de masa corporal, ingesta de alimento, consumo de bebida e ingesta teórica de energía serán analizados mediante un análisis de varianza. A los 2, 4, 6, 8, 10 y 12 meses de experimentación las ratas se someten a un periodo de ayuno de 6 horas para determinar los niveles de glucosa y triglicéridos mediante el equipo *Accutrend plus* (Roche®, Mannheim, Alemania) a través de sangre capilar obtenida por punción del extremo de la cola de cada espécimen para tener la agresividad mínima posible hacia ellos. Los resultados obtenidos se analizarán mediante análisis de varianza con el paquete estadístico *Statgraphics Centurion XVI* (Statpoint Technologie, Inc, Warrenton, VA, US). A los 6 y 12 meses, se realizará la eutanasia de 6 especímenes de cada uno de los grupos. Algunos órganos, tales como corazón, hígado, riñones, páncreas y tejido retroperitoneal, entre otros de interés serán disectados, pesados y almacenados a  $-70^{\circ}\text{C}$  para los análisis posteriores junto con personal de las Facultades de Medicina Veterinaria y Zootecnia y de Medicina de la UNAM. Como ya fue mencionado, en el presente resumen se incluyen los primeros 120 de los 365 días de experimentación.

## Resultados y discusión

Para el tratamiento de datos se consideraron los valores acumulados de alimento consumido, volumen de bebida ingerida, y energía los cuales fueron calculados por el valor acumulado de los consumos diarios de cada uno de los parámetros, así como los resultados de las determinaciones de los niveles de glucosa y triglicéridos a los 2 y 4 meses. Todas las variables fueron determinadas diariamente y los datos se encuentran en la **Figura 1**. Estos valores acumulados se consideraron hasta el día 120 de experimentación en cada una de las ratas hembra estirpe *Wistar* distribuidas en los 12 grupos (C: Control, CB: control + benzoato,



G: Glucosa, GB: glucosa + benzoato, F: Fructosa, FB: fructosa + benzoato, S: Sacarosa, SB: sacarosa + benzoato, A: Sacarina, AB: sacarina + benzoato, U: Sucralosa, UB: sucralosa + benzoato). Los datos experimentales obtenidos fueron analizados mediante gráficos de barras comparativos (presencia y ausencia de benzoato) de cada uno de los edulcorantes de interés en el estudio.



**Figura 1.** Incremento del índice de masa corporal (1a), consumo de edulcorante por medio de la bebida (1b), consumo de alimento (1c) y energía acumulada calculada (1d)

[Nota: Las columnas de color azul corresponden a los edulcorantes nutritivos, las de color verde a los edulcorantes no nutritivos y las de color amarillo a los grupos control]

### Incremento del índice de masa corporal

Como se puede apreciar en la **Figura 1a**, el mayor incremento del índice de masa corporal registrado fue el presentado por el grupo de ratas que consumieron glucosa, pero entre todas las ratas que ingirieron edulcorantes con benzoato, el grupo de ratas que consumieron sacarosa + benzoato de sodio fue el mayor, le sigue el grupo control. Sin embargo, la variabilidad entre el mayor índice de masa corporal y el de menor de este grupo fue muy poca. Así mismo, no se observó ninguna diferencia importante en el índice de masa corporal entre las ratas del grupo que consumieron benzoato de sodio junto con/sin su edulcorante respectivo.



El grupo que presentó el menor incremento de masa corporal fueron las ratas que consumieron sucralosa seguido de las que consumieron sacarina las cuales, al igual que las de los grupos que presentaron el mayor incremento en el índice de masa corporal, no se observó alguna diferencia notoria entre la presencia o ausencia de benzoato de sodio con respecto al incremento en el índice de masa corporal.

Los grupos que presentaron un comportamiento cercano al del control sin la adición del benzoato de sodio fueron los grupos de fructosa y sucralosa. En cuanto a la presencia de benzoato, los grupos más cercanos al comportamiento del control fueron los de sacarosa y glucosa.

### Volumen consumido de bebida

Para el caso de consumo de bebida **Figura 1b**, las ratas pertenecientes al grupo de sacarosa sin la adición del benzoato fueron las que ingirieron un mayor volumen en comparación con todos los grupos con adición y ausencia de benzoato por un gran margen, más de 500 mL con el grupo más cercano a su volumen consumido (glucosa). En el otro extremo, las ratas que consumen sucralosa sin benzoato fueron las que bebieron en menor cantidad. Refiriéndose al consumo de edulcorante con benzoato, los grupos que más bebida consumieron fueron los de sacarosa, glucosa y fructosa en orden descendente, siendo los de menor consumo los de sucralosa y sacarina. Es importante señalar que las ratas consumieron mayor cantidad de bebida cuando el edulcorante empleado en la disolución era del tipo calórico, a diferencia que cuando se empleaba edulcorante del tipo no calórico tanto en presencia de benzoato como en ausencia de éste. Sin embargo, el consumo de bebida sin adición de conservador tuvo una clara preferencia, puesto que la cantidad que consumieron las ratas fue mayor en todos los grupos, salvo el grupo control, cuya diferencia entre la presencia de benzoato y su ausencia fue relevante. El grupo que ha presentado el comportamiento más parecido al grupo control ha sido el grupo que consume sucralosa, específicamente, la sucralosa sin adición de benzoato de sodio.

### Alimento consumido

En cuanto al consumo de alimento **Figura 1c** los grupos de sucralosa y sacarina han sido aquellos que consumieron la mayor cantidad de alimento durante los 120 días de la experimentación, de igual forma no existe aparente diferencia comparándolas en presencia y ausencia de benzoato de sodio. Por otro lado, entre los grupos con edulcorantes nutritivos el grupo que presentó un menor consumo de alimento fue el de glucosa y el de fructosa el más alto, considerando presencia y ausencia de benzoato en este edulcorante no hubo una notoria diferencia. Comparando los edulcorantes nutritivos y los no nutritivos éstos últimos



consumieron una mayor cantidad de alimento, así mismo su consumo ha sido semejante a los de los grupos control.

### Energía acumulada

De manera similar al consumo de alimento se puede observar en la **Figura 1d** que los grupos de sucralosa y sacarina fueron los que presentaron una mayor cantidad de energía acumulada ya que entre ellos no presentaron una notoria diferencia. Así mismo, no se observaron aparentes diferencias comparándolas con y sin la presencia de benzoato de sodio. Por otro lado, el grupo que presentó una menor cantidad de energía acumulada fue el grupo que consumió glucosa. En resumen los edulcorantes no nutritivos presentan mayor energía y ésta es parecida a los grupos control.

### Niveles séricos de glucosa y triglicéridos

#### *Niveles séricos de glucosa*

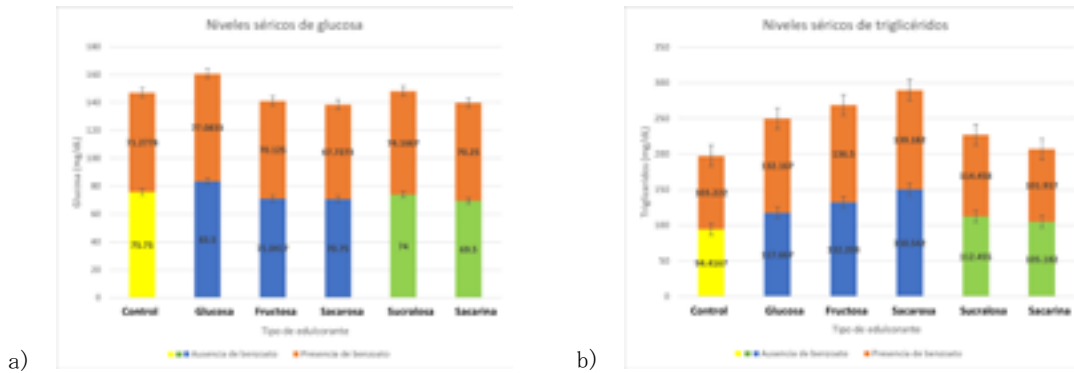
Como se puede apreciar en la **Figura 2a**, el grupo que presentó los valores más altos de glucosa en sangre sin benzoato (83.5 mg/dL) en periodo de ayuno a los 4 meses fue el grupo que consumió el edulcorante glucosa con benzoato de 77.08 mg/dL. Mientras que el grupo que consumió sacarosa con benzoato de sodio presentó los valores menores de glucosa en sangre, (67.72 mg/dL) al igual que para el caso de la sacarina en ausencia de benzoato (69.5 mg/dL). De acuerdo con los datos reportados por el proveedor Envigo (2019), las ratas hembra de la estirpe *Wistar* de las 13 a 18 semanas de vida (el equivalente a 120 días de experimentación en este ensayo biológico) en condiciones normales tendrían una concentración sérica de glucosa de 48.65 a 165.58 mg/dL (2.7 a 9.19 mmol/L). Por tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos, se observó que los niveles séricos de glucosa en las ratas hembra que bebieron tanto edulcorantes nutritivos y no nutritivos como con presencia y ausencia de benzoato tras 120 días de experimentación, se encontraron dentro de los niveles normales.

#### **Niveles séricos de triglicéridos**

En relación con los resultados obtenidos de las mediciones de triglicéridos tras el consumo de edulcorantes nutritivos y no nutritivos con presencia y ausencia de benzoato de sodio, durante un periodo de 120 días (**Figura 2b**), se observó que el grupo que presentó la mayor concentración de niveles séricos en sangre fue el grupo que consumió sacarosa en tanto en presencia como en ausencia de benzoato 139.18 mg/dL y 150.54 mg/dL respectivamente. Por otro lado, que el grupo que consumió sacarina tanto en presencia (101.91 mg/dL) como en ausencia (105.18 mg/dL) de benzoato de sodio tuvieron los menores niveles séricos en



sangre y más parecidos a los grupos controles con y sin presencia de benzoato (103.22 mg/dL y 94.42 mg/dL). Es importante destacar que estos valores no superan aún los niveles normales para una rata sana de 17 semanas de vida aproximadamente, reportados por el proveedor Envigo (2019). Dichos valores para ratas hembra se encuentran en un rango de 0.00 a 183.19 mg/dL (0.00 a 2.07 mmol/dL).



**Figura 2.** Niveles de glucosa (Figura 2a) y niveles de triglicéridos (Figura 2b) en ayuno de 6 horas de ratas hembra de la estirpe Wistar al día 120 de experimentación por consumo crónico de edulcorantes nutritivos y no nutritivos

## Conclusiones

Haciendo referencia a los edulcorantes en ausencia de benzoato de sodio, a los 120 días de estudio, se observa que el tipo de edulcorante ingerido no ha sido un factor significativo sobre la ganancia de masa corporal, pero sí para el consumo de alimento, la ingesta de bebida y la energía calculada acumulada. De manera general, los grupos que ingirieron edulcorantes nutritivos fueron los que mayor bebida han consumido, mientras que, para el caso del alimento ingerido, se tuvo una tendencia contraria, ya que en los grupos que bebían edulcorantes nutritivos consumieron una menor cantidad de alimento. Lo anterior habla de una regulación energética.

Con respecto al tipo de edulcorante en presencia de benzoato de sodio, puede decirse que, a pesar de no ser muy notoria la diferencia, de manera general, las ratas que consumieron edulcorantes en presencia de benzoato de sodio han presentado masas mayores a aquellas que no lo consumieron.

Las ratas que consumieron sacarosa en presencia de benzoato de sodio, presentaron un incremento en su masa corporal a diferencia de las que consumieron sacarosa en ausencia de benzoato de sodio. Por otro lado, el único grupo de edulcorante cuya tendencia fue inversa



a los demás fue el grupo de sacarina, ya que éste ante la presencia de benzoato de sodio fue menor y ante la ausencia fue mayor, caso contrario de lo que ocurrió con todos los demás, por lo que habrá que estudiar el efecto del benzoato de sodio sobre este edulcorante no calórico.

En los casos de alimento consumido y energía acumulada no hubieron grandes diferencias entre aquellas ratas que consumieron algún edulcorante nutritivo o no nutritivo en presencia o ausencia de benzoato de sodio pero sí entre el tipo de edulcorante. Finalmente, en cuanto al volumen consumido el único edulcorante que mostró una diferencia notoria en cuanto a su consumo fue el de las ratas que consumieron sacarosa.

En cuanto a los niveles séricos de glucosa y triglicéridos en las ratas hembra de la estirpe *Wistar* que bebieron edulcorantes nutritivos y no nutritivos con y sin presencia de benzoato de sodio a los 120 días de experimentación se encontraron dentro de los niveles normales establecidos por lo que se tendrá que terminar el experimento para evaluar si la presencia y/o ausencia de benzoato de sodio influye en dichos parámetros.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y a la Facultad de Química. A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el apoyo financiero otorgado para la adquisición de materiales y reactivos empleados en esta investigación a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (**PAPIIT**) número **IN-210923** “Implicaciones metabólicas del consumo crónico de dos aditivos, edulcorantes y benzoato de sodio: Enzimas de la glucólisis y la lipogénesis en extractos hepáticos de ratas hembra”.



## Referencias

Brial, F., Matsuda, F., Gauguier, D. (2022). Diet dependent impact of benzoate on diabetes and obesity in mice. *Biochimie* 194: 35-42.

Envigo. (2019). Historical control data of clinical biochemistry in HsdRcc Han<sup>TM</sup>: WIST, Wistar Hannover Rats. Disponible en: [https://www.envigo.com/resources/data-sheets/hcd\\_clinical-biochemistry\\_kopiervorlage.pdf](https://www.envigo.com/resources/data-sheets/hcd_clinical-biochemistry_kopiervorlage.pdf)

García-Almeida, J.M., Casado-Fernández, G.M., García-Alemán, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. *Nutr. Hosp.* 28, 17-31.

Gerasimidis, K., Bryden, K., Chen, X. Papachristou, E., Verney, A., Roig, M., Hansen, R., Nichols, B., Papadopoulou, R., Parrettl, A., 2020. The impact of food additives, artificial sweeteners and domestic hygiene products on the human gut microbiome and its fibre fermentation capacity. *Eur. J. Nutr.*, 59, 3213-3230.

Mendoza-Pérez, S., Guzmán-Gómez, M.B., García-Gómez, R.S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M.I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. (2021a). Effects on weaned male Wistar rats after 104, 197, and 288 days of chronic consumption of nutritive and non-nutritive additives in water. *Int. J. Food Sci. Technol.* 58, 2349- 2359.

Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R.S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M.I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G., Pérez-Armendáriz, E.M., Bustamante-García, R., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. (2021b). Consumption of sweeteners at different stages of life: Effects on body mass, food, and drink intake in male and female Wistar rats. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 72, 935-946.

Sengupta, P. 2014. The laboratory rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine* 4, 624-630.

Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R.S., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. (2022). Chronic intake of nutritive sweeteners and saccharin increases levels of glycolytic and lipogenic enzymes in rat liver. *Int. J. Food Sci. Nutr.* <https://doi.org/10.1080/09637486.2022.2088705>

OPS. (2023). La OMS desaconseja el uso de edulcorantes para controlar el “peso”<sup>1</sup>. Organización Panamericana de la Salud. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/15-5-2023-oms-desaconseja-uso-edulcorantes-para-controlar-peso>.

---

<sup>1</sup> El peso y la masa NO son sinónimos. El peso es una fuerza y se mide en newtones y la masa es una propiedad de los cuerpos y se mide en kg (nota de las personas autoras)





# CALIDAD ESPERMÁTICA DE CONEJOS DE LA RAZA CHINCHILLA, DEL MÓDULO DE CUNICULTURA DE LA FES CUAUTITLÁN, DURANTE LA PRIMAVERA

*Daniel González Ruiz<sup>1</sup>, Metzli Mayte García Bernal<sup>1</sup>, Elisa Gutiérrez Hernández<sup>1</sup>, Alicia Alcántar Rodríguez<sup>2</sup>, José Alfredo Medrano Hernández<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Centro de Enseñanza Agropecuaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM,

<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

[daniel.gonzalez@cuautitlan.unam.mx](mailto:daniel.gonzalez@cuautitlan.unam.mx), [mvzmay13@gmail.com](mailto:mvzmay13@gmail.com),  
[mvzelisaqutierrez@cuautitlan.unam.mx](mailto:mvzelisaqutierrez@cuautitlan.unam.mx), [reproduccion.animal.fesc.unam@gmail.com](mailto:reproduccion.animal.fesc.unam@gmail.com),  
[amedrano@unam.mx](mailto:amedrano@unam.mx)

## Resumen

Se ha reportado que la calidad espermática de diversas especies presenta fluctuaciones a lo largo del año además de que existen diferencias entre machos. El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad del semen de conejo, recolectado durante la primavera de 2023. Se realizaron evaluaciones macro y microscópicas de varios eyaculados de 6 sementales de la raza Chinchilla, de la FES Cuautitlán. Se compararon los datos de cada macho a lo largo de los 4 meses, además, se realizó una comparación entre los meses, sin considerar a cada individuo. Al comparar cada macho durante cada mes, se encontraron diferencias en el porcentaje de acrosomas intactos en marzo, mayo y junio; en la funcionalidad de la membrana durante mayo y en el volumen durante junio. En general, la calidad espermática de todos los machos se mantuvo estable a lo largo del periodo de estudio.

**Palabras clave:** conejo doméstico, calidad espermática, primavera, integridad acrosomal, clima.



## Antecedentes

La cunicultura se define como la rama de la ganadería que se encarga de la reproducción, cría y engorde de los conejos (González, 2021). En los últimos años se ha tratado de hacer más eficiente la producción de conejo, ya sea para obtención de carne, piel, animales de laboratorio o de compañía; por lo que se ha buscado la implementación de la inseminación artificial, la cual es una técnica que otorga la posibilidad de fertilizar a una gran cantidad de conejas con un solo eyaculado (Domingo y Gil, 2016; Kubovicova *et al.*, 2021). Sin embargo, para obtener mejores resultados, es de vital importancia que el semen que pretenda ser utilizado para realizar esta técnica, sea evaluado con pruebas que traten de predecir la capacidad reproductiva de los machos (Boiti *et al.*, 2005; WHO, 2021).

Uno de los principales puntos que deben de ser considerados cuando se quiere realizar la inseminación artificial es la variación en la calidad de los eyaculados a lo largo de la vida de los conejos; existen diversos factores que pueden mejorar o inhibir el desempeño de los machos. Se ha reportado que el macho (factor individuo) puede influir sobre los parámetros de calidad espermática, pero también existen otros factores como son la raza, el estado nutricional, el ritmo de recolección y factores ambientales como el fotoperiodo, la temperatura y la humedad relativa (Nizza *et al.*, 2003; Roca *et al.*, 2004; El-Far, 2007).

## Objetivos

El objetivo principal de este trabajo fue el comparar la calidad de eyaculados de conejos sementales de la raza Chinchilla recolectados durante marzo, abril, mayo y junio de 2023. Para lo cual, se comparó la calidad de los eyaculados entre machos durante los 4 meses; por otra parte, se comparó la calidad de los eyaculados entre machos en cada mes; además de comparar la calidad de los eyaculados entre los 4 meses.

## Parte experimental

Para el presente trabajo, se utilizaron 6 conejos sementales de la raza Chinchilla de 1 año de edad, los cuales se encuentran alojados en el Módulo de Cunicultura del Centro de Enseñanza Agropecuaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, el cual cuenta con un ambiente natural con ventilación regulada con cortinas. Se resguardaron en jaulas individuales y se alimentaron con conejina Purina® *ad libitum*. Las recolecciones de semen se realizaron 2 veces por semana, se realizó la evaluación macroscópica de cada eyaculado (color, volumen, consistencia, presencia de partículas extrañas), se retiró el tapón mucoide cuando estaba presente y se diluyeron 1:1 (volumen/volumen) en medio TCG (Viudes *et al.*, 1999) para finalmente ser transportados al laboratorio 2 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FES Cuautitlán.



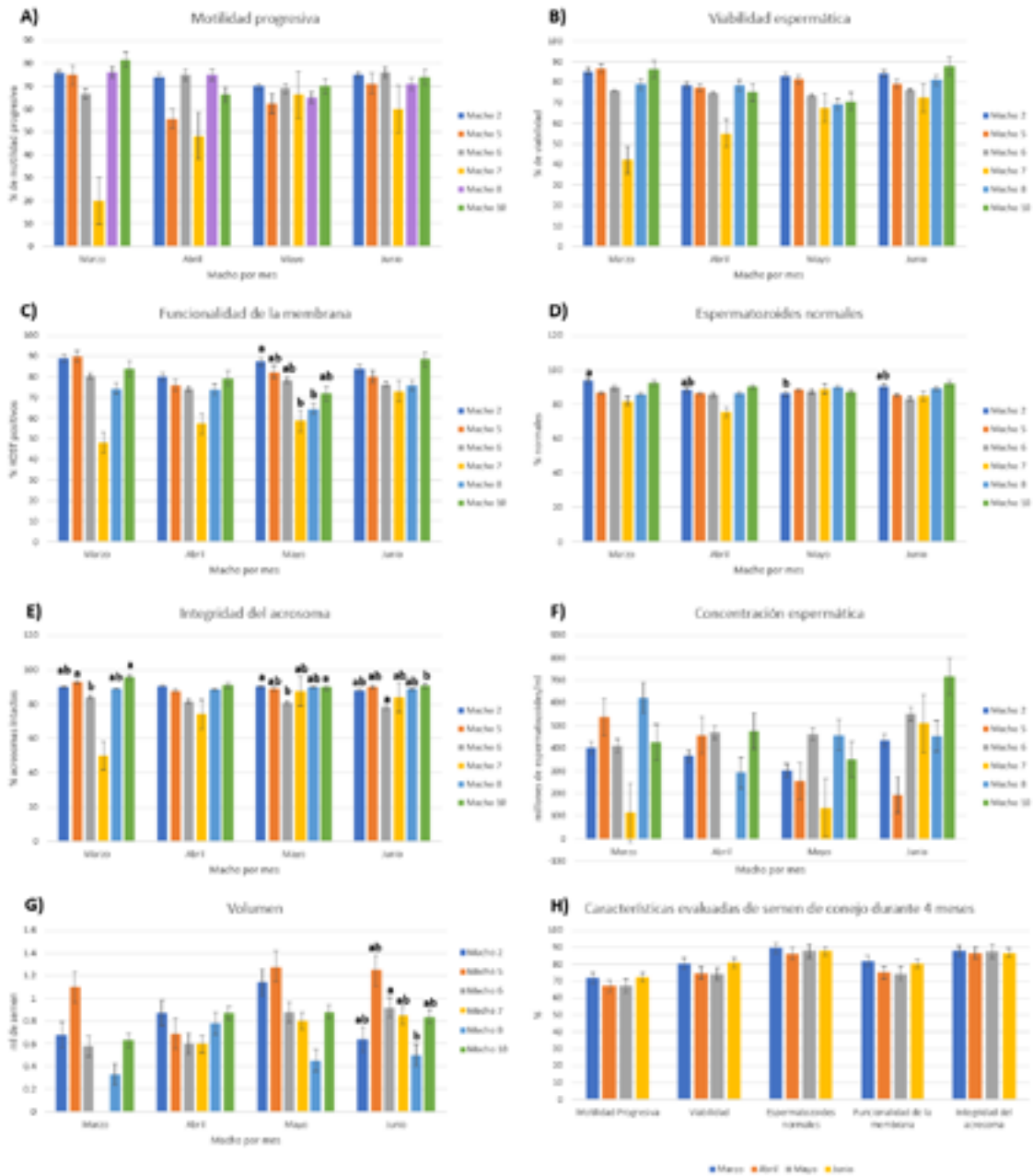
Después de un periodo de atemperado a temperatura de cuarto (10 minutos a 24°C), se evaluó la motilidad masal, colocando una gota de semen sobre un portaobjetos a 37°C; posteriormente, cada eyaculado, se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos (Eo *et al.*, 2019), se retiró el sobrenadante y el paquete celular se resuspendió hasta 0.5 ml en medio INRA-82 (Fadl *et al.*, 2019).

Los eyaculados fueron evaluados microscópicamente: motilidad masal (MM) y progresiva (MP) (dilución 1:10 en medio TCG, determinación de % de motilidad progresiva de forma visual); concentración (dilución 1:200 de solución salina formulada, conteo en cámara de Neubauer), morfoanomalías (MA) y viabilidad (EN) (tinción eosina/nigrosina) (Garzón, 2008), integridad del acrosoma (IA) (dilución 1:1 en glutaraldehído al 0.4% y determinación mediante microscopía de contraste de fases) (Alcantar, 2015) y funcionalidad de la membrana (HOST) (dilución 1:5 en agua destilada, espera de 5 minutos y agregar 1 gota de glutaraldehído al 0.4%) (Rosato e Iaffaldano, 2011).

Los datos recabados fueron analizados mediante estadística descriptiva y sometidos a análisis de varianza (ANDEVA), previa transformación al arcoseno para normalizarlos.

### Resultados y discusión

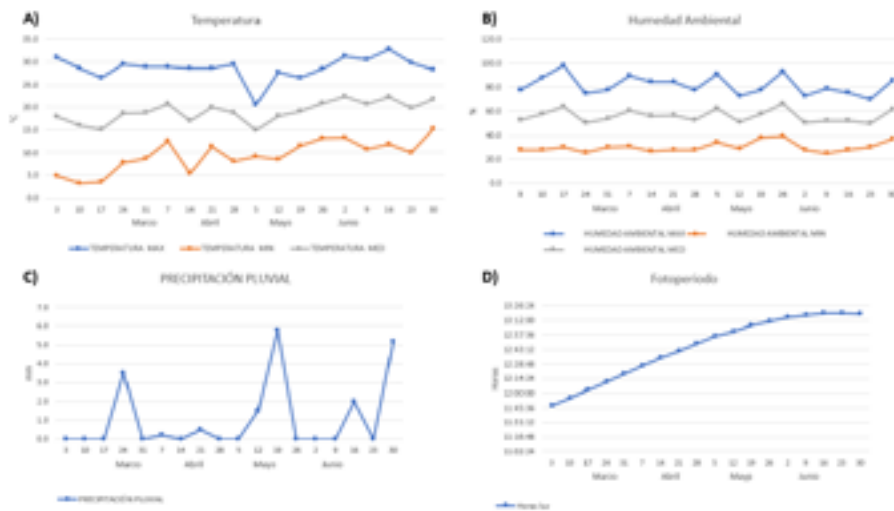
En cuanto a las comparaciones realizadas de cada macho durante cada mes, se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de acrosomas intactos en el mes de marzo, mayo y junio (Figura 1E); diferencias en la funcionalidad de la membrana durante mayo (Figura 1C) y diferencias en el volumen durante junio (Figura 1G). En cuanto a la comparación de cada mes por cada macho, únicamente se encontró diferencia significativa en el porcentaje de espermatozoides normales del macho 2 (Figura 1D). Respecto a la comparación realizada entre meses sin considerar macho, no se encontraron diferencias significativas (Figura 1H).



**Figura 1.** (A-G) Características evaluadas de semen de conejo durante cada mes y entre cada macho. (H) Características evaluadas del semen sin considerar a los machos de forma individual.  $p \leq 0.05$ .



Por otra parte, la estación meteorológica Almaraz proporcionó los datos climáticos que fueron registrados durante el periodo que duró el experimento, esto con la finalidad de observar si alguno de éstos habría tenido algún efecto sobre la calidad espermática (Figura 2).



**Figura 2.** Datos climáticos recabados por la estación meteorológica Almaraz durante el experimento.

A lo largo de los 4 meses, únicamente hubo diferencias en el porcentaje de espermatozoides normales del macho 2, específicamente entre marzo y mayo. Roca *et al.*, 2004 y El-Far, 2007 mencionan que cuando hay aumentos en la temperatura, es posible observar aumento en el porcentaje de espermatozoides anormales. Sin embargo, debe considerarse que, de los 6 machos, este efecto únicamente fue visible en 1 y que, al momento de evaluar todos los datos en conjunto, tampoco fue notorio este efecto; esto podría deberse a que, aunque si hubo un aumento en la temperatura media, este no fue tan drástico (Figura 3). Por lo que podría suponerse que más bien fue un efecto particular del macho.



**Figura 3.** Relación entre porcentaje de espermatozoides normales y datos climáticos.



La prueba del hinchamiento hipo-osmótico provoca que los espermatozoides bioquímicamente activos aumenten su volumen para establecer un equilibrio entre el interior del espermatozoide con el medio, por lo que podemos observar así la funcionalidad de la membrana (Amorim *et al.*, 2009). Durante el mes de mayo, tanto el macho 5 como el 8 mostraron un menor porcentaje de membranas funcionales que los otros machos, lo que se puede explicar con la cantidad de eyaculados contaminados con orina de los que se tiene registro durante ese mes. Se ha mencionado que la presencia de orina en eyaculados altera algunos de sus parámetros, sobre todo en conejos, ya que tiene una gran cantidad de sedimentos. Rodríguez (1996) menciona que cuando una vagina artificial se le presenta a un macho con una mayor temperatura, puede estimular la micción, lo que podría explicar la presencia de orina en esos días.

La variable evaluada que tuvo mayor diferencia entre machos fue la integridad acrosomal, presentando diferencias en marzo, mayo y junio. El macho que constantemente tuvo un menor porcentaje de integridad acrosomal fue el 6, al ser un semental clínicamente sano, de la misma raza, edad y expuesto a las mismas condiciones ambientales que los demás, se puede considerar que posiblemente esta diferencia sea de algún origen genético, como lo menciona Roca *et al.* (2004) (Figura 4).



**Figura 4.** Relación entre porcentaje de integridad acrosomal y datos climáticos.

El volumen en el mes de junio mostró diferencias entre machos. Roca *et al.* (2004), reportaron que hay un aumento en el volumen del eyaculado durante el verano; lo cual pudo empezarse a notar en algunos de los machos y por eso la diferencia. Sin embargo, Nizza *et al.* (2004) reportan que el volumen puede verse afectado por otros factores como son el número de eyaculados recolectados del mismo macho en un cierto periodo, presencia de montas falsas y algunos otros.

Se puede observar que, en la mayoría de las variables y machos, no hubo diferencias a lo largo del tiempo; de igual modo, se puede observar que, aunque se presentaron algunas



variaciones climáticas, estas no fueron drásticas y se mantuvieron constantes. Justamente lo constante de estas variables climáticas podría explicar el por qué las características evaluadas del semen se mantuvieron constantes. Roca *et al.* (2004) mencionan que, aunque existan algunas variaciones climáticas a lo largo del año, puede que éstas no sean suficientes para inducir cambios en la calidad del semen en conejos.

## Conclusiones

Con los resultados obtenidos en este experimento se puede observar que las variables evaluadas a lo largo de los 4 meses se mantuvieron constantes en la mayoría de los machos, lo que concuerda con la relativa poca variación en las condiciones climáticas durante ese lapso de tiempo. Por otra parte, existen diferencias entre machos en algunas de las variables evaluadas, sobre todo en la integridad acrosomal; esto puede deberse a factores genéticos o situaciones desconocidas.

## Agradecimientos

Se agradece al Centro de Enseñanza Agropecuaria y a la Estación Meteorológica Almaraz de la FES Cuautitlán por las facilidades prestadas a este trabajo. Este proyecto recibió financiamiento parcial de los proyectos DGAPA-PAPIIT IN205421 y FESC-CI2214.

## Referencias

- Alcántar A. (2015). Evaluación de la criosupervivencia y la fluidez de la membrana de espermatozoides de perro enfriados a  $-5^{\circ}\text{C}$ , previo a la congelación. (Tesis De Maestría). Universidad Nacional Autónoma De México. Estado De México. México.
- Amorim E., Torres C., Graham J., Amorim L. y Santos L. (2009). The hypoosmotic swelling test in fresh rabbit spermatozoa. *Animal Reproduction Science*. 111(2-4), 338-343.
- Boiti C., Castellini C., Theau-Clement M., Besenfelder U., Liguori L., Renieri T y Pizzi F. (2003). Guidelines for the handling of rabbit bucks and semen. *World Rabbit Science*. 13:71-91.
- Domingo P. y Gil L. (2016). Preservación seminal: estado actual de la especie cunícola. *Boletín de Cunicultura: Lagomorpha*, 14(180): 40-45.
- El-Far A. (2007). Effect of climatic conditions on semen quality in relation to production of rabbits. *Journal of Agricultural Sciences*. 32(6): 4265-4272.
- Eo Y., Hwan S., Seong B., Min O., Chan P. y Jong Y. (2019). *Journal of Animal Reproduction Biotechnology*. 34: 100-105.
- Fadl A., Ghallab A. y Abpu-Ahmed M. (2019). Quality assessment of cryopreserved New Zealand white rabbit spermatozoa in inra-82 extender containing different cryoprotectants. *World Rabbit Science*. 27, 77-83.



Garzón C. (2008). Desarrollo y validación de una prueba de estrés osmótico pre congelación para predecir la criosupervivencia de semen de cerdo. (Tesis De Maestría). Universidad Nacional Autónoma De México. Estado De México. México.

González D. (2021). Evaluación de propóleo en gel como tratamiento alternativo de sarna auricular en conejos (Tesis de Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México. México.

Kubovicova E., Makarevich A., Balazi A., Vasicek J. y Chrenek P. (2021). Factors affecting rabbit sperm cryopreservation: a mini-review. *Zygote*, 30(1): 1-8.

Nizza A., Di Meo C. y Taranto S. (2003). Effect of Collection Rhythms and Season on Rabbit Semen Production. *Reproduction in Domestic Animals*. 38: 436-439.

Roca J, Martínez S, Orengo J, Parrila I, Vázquez J. y Martínez E. (2005). Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. *Livestock Production Science*. 94:169-177.

Rodríguez R. (1996). Recomendación práctica de una técnica de inseminación artificial aplicada a granjas comerciales. Postgrado en producción animal. Universidad Autónoma de Chapingo, México.

Rosato M.P. y Iaffaldano N. (2011). Effect of chilling temperature on the long-term survival of rabbit spermatozoa held either in a tris-based or a jellified extender. *Reproduction In Domestic Animals*. 46:301-311.

Viudes-de-Castro M., Vicente J. y Lavara R. (1999). Effet du nombre de spermatozoïdes sur la fertilité de la semence conservée 24 heures chez le lapin. *Annales de zootechnie*. 48(5), 407-412.

WHO. (2021) WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. (6th Edition).





# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE DE AUTOANTICUERPOS CONTRA IL-6 PRESENTES EN MUESTRAS DE PACIENTES CON ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y AUTOINMUNES

*Paulina Cortes Acevedo<sup>1</sup>, Lourdes Cerón Gutiérrez<sup>2</sup>, Susana Elisa Mendoza Elvira<sup>1</sup>,*

*Clara Espitia Pinzón<sup>3</sup>, Rainer Döffinger<sup>2</sup>, Gabriela Barcenas Morales\*<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM,*

*<sup>2</sup>Department of Immunology, Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK.*

*<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, CU, UNAM*

*[pau\\_corace@hotmail.com](mailto:pau_corace@hotmail.com); [gbarcenas2019@gmail.com](mailto:gbarcenas2019@gmail.com)*

## Resumen

La presencia de autoanticuerpos contra citocinas ha sido cada vez más reconocida como una causa de inmunodeficiencias secundarias, un ejemplo de ello es el desarrollo de enfermedades infecciosas, principalmente por *Staphylococcus*, en pacientes con autoanticuerpos contra IL-6. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue el detectar la presencia de autoanticuerpos anti-IL-6 en muestras séricas de pacientes, para analizar su capacidad neutralizante *in vitro*. De las 72 muestras analizadas de pacientes 24 resultaron positivas a autoanticuerpos anti-IL-6, resultando negativos todos los controles sanos. Los autoanticuerpos contra IL-6 presentaron un efecto de inhibición en la actividad de IL-6 en pacientes con enfermedades infecciosas y de exacerbación en pacientes con enfermedades autoinmunes. Se definieron dos posibles epítomos: <sup>16</sup>RQPLTS<sup>20</sup> y <sup>55</sup>EALAENNLN<sup>63</sup>, este último interacciona con la subunidad gp130 del receptor de IL-6, por lo que el reconocimiento de éste pudiera estar afectando la unión de IL-6 con su receptor inhibiendo su actividad biológica.

**Palabras clave:** Autoanticuerpos anticitocinas, anti-IL-6, neutralización, autoinmunidad, enfermedades infecciosas.



## Antecedentes

La presencia de autoanticuerpos contra citocinas es cada vez más reconocida como una causa de inmunodeficiencias secundarias, ya que dichos autoanticuerpos pueden neutralizar las citocinas e interrumpir su función biológica afectando las actividades celulares y por lo tanto la eliminación de los patógenos, donde finalmente predispone al hospedador a enfermedades infecciosas y manifestaciones inmunológicas (Barcenas-Morales, Cortes-Acevedo, and Doffinger 2019; Chen, Yang, and Cheng 2021; Ku *et al.* 2020).

Hasta la fecha, se ha asociado el desarrollo de diversos padecimientos infecciosos y autoinmunes a la presencia de autoanticuerpos contra diversas citocinas como interferón gamma (IFN $\gamma$ ), el factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF), Interleucina (IL)-6, IL-10, IL-12, un grupo de citocinas producidas por células Th-17 (IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-23), así como contra interferones (IFNs) tipo I (Bastard *et al.* 2020; Döffinger *et al.* 2004; Kisand *et al.* 2010; Meager *et al.* 2003; Nanki *et al.* 2013).

IL-6 es una citocina producida por varios tipos celulares (fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, macrófagos, entre otras) en respuesta al daño tisular o a infecciones. Esta citocina presenta un efecto pleiotrópico en diversos procesos del organismo como la inflamación, la hematopoyesis y la respuesta contra infecciones virales, parasitarias, fúngicas y bacterianas. Reportes recientes mencionan que la disregulación de IL-6 está asociada al desarrollo de enfermedades como inflamación crónica, trastornos autoinmunes multifactoriales, cáncer, anemia y enfermedad de Alzheimer (Kaur *et al.* 2020; Rose-John, Winthrop, and Calabrese 2017). Así mismo, en otros estudios se ha descrito un incremento de la susceptibilidad a infecciones estafilocócicas en pacientes que presentan autoanticuerpos anti-IL-6 (Kärner *et al.* 2016; Nanki *et al.* 2013; Puel *et al.* 2008).

## Objetivo(s)

Detectar la presencia de autoanticuerpos contra IL-6 en muestras séricas de pacientes con diversas enfermedades infecciosas, autoinmunes o ambas, para analizar su capacidad neutralizante *in vitro* sobre la actividad biológica de este mediador del sistema inmunitario.

## Material y Métodos

### *Muestras séricas*

Se evaluaron un total de 100 muestras séricas humanas, de las cuales 39 corresponden a pacientes con enfermedades infecciosas (ID), 33 a pacientes con enfermedades autoinmunes (AID) y 28 a individuos clínicamente sanos (ICS, controles negativos). Se midieron los niveles de autoanticuerpos anti-IL-6, en todos los sueros mediante el ensayo Luminex.



## Detección de autoanticuerpos anti-IL-6 en muestras séricas mediante el ensayo de arreglo de partículas en suspensión múltiple, Luminex

Para el ensayo serológico de detección de anticuerpos contra citocinas, se acopló IL-6 covalentemente a microesferas de poliestireno carboxiladas (Bio-Plex; Bio-Rad Laboratories), para posteriormente emplearlas en el ensayo Luminex, el cual consistió en incubar 1 h a 37°C y en oscuridad los sistemas de citocinas-microesferas con las muestras séricas diluidas 1/200, empleando microplacas con filtro de 96 pozos (Multiscreen® HTS, Millipore, Cat. No. MSBVN1210). La parte líquida fue retirada por un sistema de filtración a vacío y se lavaron las placas tres veces con 10 mM PBS/0.05% Tween 20 y agitación durante 3 min a temperatura ambiente (TA). Posteriormente, los sistemas se incubaron con anti-IgG-Humana-Fc-PE (Leinco/Biotrend, Germany) durante 30 min a 37°C en agitación constante, terminando la incubación se lavaron como se describió anteriormente. Finalmente, se adicionaron 120 µl de PBS-T/pozo y se agitaron las placas por 3 min para realizar el análisis en el Lector Luminex 100 utilizando el software Bio-Plex manager V 3.0. El sistema BSA-microesfera se empleó como control negativo del ensayo.

## Análisis de la función neutralizante de autoanticuerpos en la inhibición de la fosforilación de STAT-3 mediada por IL-6

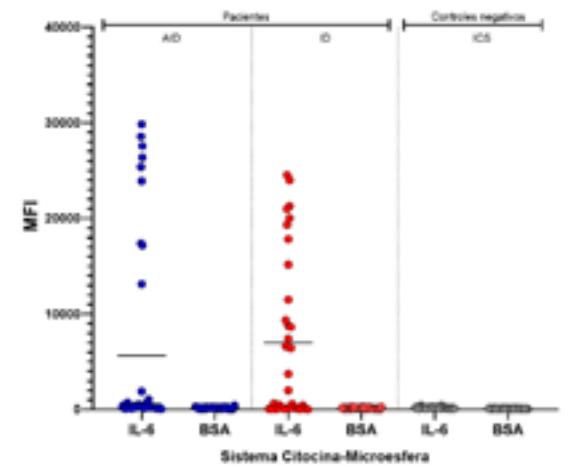
La vía de señalización del IL-6 involucra, como todas las citocinas, diferentes moléculas en el tránsito de señales químicas y vías hacia el interior de las células, incluido el factor de transcripción STAT-3, que forma homodímeros por la fosforilación de ambas unidades proteicas a través de la interacción con la fracción transmembranal del receptor de IL-6, por lo que, la evaluación de la función neutralizante de los autoanticuerpos contra IL-6 se determinó midiendo los niveles de fosforilación de STAT-3 inducida por IL-6, empleando el kit Bio-Plex Pro Cell Signaling Assays (Bio-Rad, Núm. Cat. 171-304006M) y la línea celular Hep3B. Brevemente, las muestras séricas se pre-incubaron con 25 µl de rhIL-6 (50 ng/ml) en medio DMEM, como control positivo del sistema se utilizó la citocina con el anticuerpo monoclonal anti-IL-6 (2 µg/ml), el control negativo del sistema fue cada una de las condiciones anteriores sin rhIL-6 (volumen que fue sustituido por DMEM). Así mismo, se incluyó la condición sin estímulo y sin muestra sérica (50 µl de DMEM por vial). Se resuspendieron un total de  $1 \times 10^6$  células Hep3B en 50 µl de cada una de las soluciones pre-incubadas anteriormente y se incubaron durante 30 min a TA. Después de la incubación, las células se lavaron por centrifugación (6000g por 4min) con 1 ml de solución de lavado de células, seguido del paso de lisis usando 250 µl de solución de lisis PMFS 500 nM (Sigma®, Cat. No. P7626); posteriormente, se centrifugó a 15 000 g durante 10 min, se recolectaron los lisados y se ajustó la concentración de proteína a 150 µg/ml, usando el DC-protein

assay Kit II (Bio-Rad, Cat. Nu. 500-112). Finalmente, los niveles de STAT-3 fosforilados se analizaron utilizando el kit Bio-Plex Pro Cell Signaling Assays, siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, empleando una placa de filtración de 96 pozos, los lisados celulares y los controles se incubaron con el anticuerpo de captura acoplado a microesferas, durante 18 horas a TA agitando a 450 rpm en un agitador de placas horizontal; después se realizaron tres lavados, se incubaron con el anticuerpo de detección (anticuerpo anti-STAT-3 biotinilado) durante 30 min; después de lavar los pozos, se añadió estreptavidina acoplada a PE y se incubó durante 10 min. Finalmente, se realizaron tres lavados y a las microesferas se les añadió 100 µl de la solución de resuspensión del kit. La fosforilación de STAT-3 se midió con un analizador Luminex (Bio-Plex, Bio-Rad Laboratories), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante utilizando el software Bio-Plex Manager 6.1.

### Identificación de epítomos de IL-6 mediante microarreglos de péptidos

Para la determinación de epítomos reconocidos por autoanticuerpos anti-IL-6 detectados, se emplearon microarreglos de péptidos sobrelapados en microchips, este servicio fue solicitado a la compañía alemana “PEPperPRINT”. El análisis *in silico* se realizó utilizando el programa de alineamiento Bioedit® y MEGA 6.0, para ubicar la secuencia de aminoácidos que constituyen al determinante antigénico encontrado en la secuencia de la citocina. Así mismo, para el análisis de modelaje molecular e interacción, se utilizó el programa PyMOL® y la base de datos del PDB (<https://swissmodel.expasy.org/>).

### Resultados y discusión



**Figura 1.** Detección de autoanticuerpos anti-IL-6 en muestras séricas. Se grafican los valores promedio de intensidad de fluorescencia (MFI) de los sistemas IL-6 y BSA (control del ensayo), indicando los niveles de autoanticuerpos contra IL-6 determinados en pacientes con enfermedades infecciosas (ID), enfermedades autoinmunes (AID) e individuos clínicamente sanos (ICS).



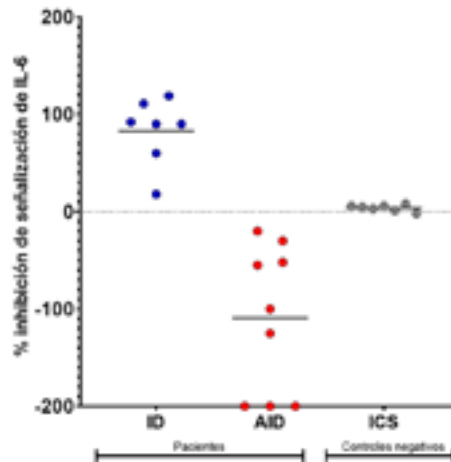
Los resultados del análisis para la identificación de las muestras séricas positivas a la presencia de autoanticuerpos contra citocinas mediante el ensayo Luminex, mostraron que 24 de 72 (33%) sueros del grupo de pacientes resultaron positivos a autoanticuerpos contra IL-6, considerando que presentaron valores promedios de intensidad de fluorescencia (MFI)  $\geq 6400$ ; mientras que en ninguna de las muestras séricas del grupo de ICS se detectaron estos autoanticuerpos. En la **Figura 1** se presentan los resultados de este análisis, donde se pueden observar que de los 24 sueros de pacientes positivos a la presencia de autoanticuerpos anti-IL-6, nueve provenían de pacientes con ID (n=39) y 15 de pacientes con AID (n=33).

Por otra parte, la determinación de los niveles de fosforilación de STAT-3 se cuantificaron empleando la línea celular Hep3B estimulada con la citocina rh-IL-6, en presencia o ausencia de la muestra sérica, dicho análisis se realizó en siete muestras de pacientes con ID y nueve de pacientes con AID, así como siete muestras de ICS. Se realizó el cálculo de los valores de porcentaje de inhibición para cada muestra sérica, considerando como el 100 % de fosforilación de STAT-3 el valor promedio de MFI obtenido en las células estimuladas con la citocina en ausencia del autoanticuerpo. Los resultados de este ensayo se presentan en la **Figura 2**, en donde se pueden observar dos patrones interesantes de respuesta por las muestras séricas de pacientes; el primer patrón fue altos porcentajes de inhibición, en pacientes con ID, reflejando la disminución de la fosforilación de STAT-3 inducida por IL-6 y sugiriendo una inhibición de la actividad biológica de la citocina por los autoanticuerpos contra IL-6, mientras que en el segundo patrón se observó un efecto de exacerbación de dicha actividad biológica al presentar porcentajes de inhibición negativos en las muestras de pacientes con AID. Por otra parte, ninguna de las muestras séricas de ICS presentó un efecto de neutralización o exacerbación de la función de IL-6.

La IL-6 tiene gran importancia en la inmunocompetencia a través de su papel en la defensa contra infecciones virales, parasitarias, fúngicas y bacterianas (Kaur *et al.*, 2020; Rose-John *et al.*, 2017). En estudios previos, se ha confirmado la presencia de autoanticuerpos neutralizantes anti-IL-6 en pacientes humanos con abscesos subcutáneos y celulitis estafilococal recurrente, así como en pacientes que presentaron infecciones por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* y *Escherichia coli*. (Nanki *et al.*, 2013; Puel *et al.*, 2008). Por lo tanto, en el presente trabajo la detección de autoanticuerpos contra IL-6 detectados en muestras séricas de pacientes con ID y que a su vez presentaron un efecto neutralizante en la actividad de IL-6 podría confirmar que dichos autoanticuerpos inhiben la función biológica de la citocina ocasionando un incremento en la susceptibilidad a infecciones.

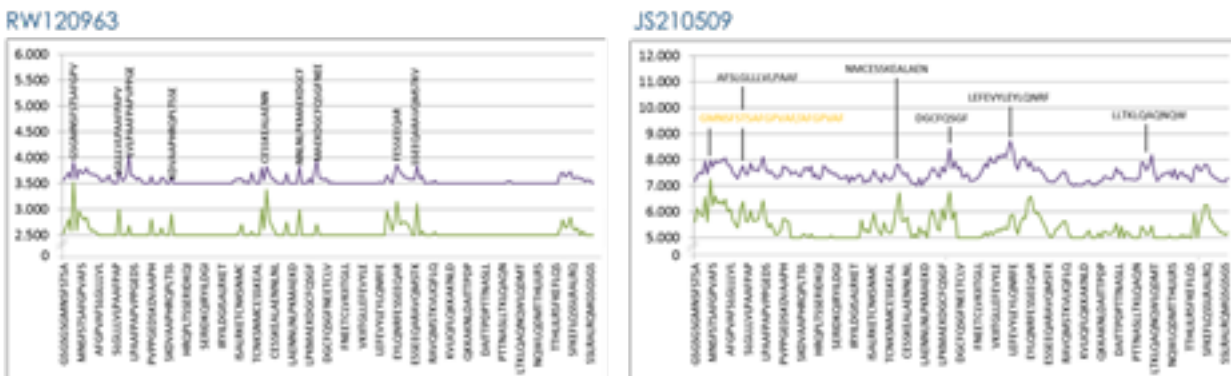


Por otra parte, estudios previos reportan que la expresión de IL-6 en pacientes con esclerosis múltiple complica las manifestaciones clínicas promoviendo la generación de células Th17 patogénicas en órganos linfoides periféricos (Petković & Castellano, 2016; Samoilova *et al.*, 1998). También se han reportado altas concentraciones de IL-6 en sueros de pacientes con mayor duración de la esclerosis múltiple y se ha documentado un incremento en la expresión de IL-6 en monocitos de pacientes con esta enfermedad (Stampanoni Bassi *et al.*, 2020).



**Figura 2.** Análisis del grado de inhibición por autoanticuerpos anti-IL-6 sobre la fosforilación de STAT-3 inducida por IL-6. Valores de los porcentajes de inhibición determinados en células Hep3B estimuladas con rhIL-6 pre-incubada con muestras de pacientes con enfermedades infecciosas (ID), con enfermedades autoinmunes (AID) e individuos clínicamente sanos (ICS).

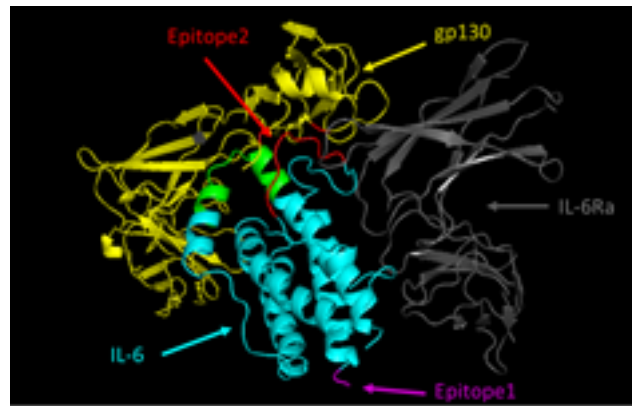
Así mismo, es importante mencionar que la señalización de IL-6 se presenta por dos vías, la clásica y la trans; la señalización clásica se da cuando la citocina reconoce al receptor unido a la membrana celular, mientras que la señalización trans requiere que la citocina se une a la forma soluble del receptor (sIL-6Ra) (Rose-John *et al.*, 2017). Estudios recientes han demostrado que la respuesta antiinflamatoria y regenerativa de la citocina son mediadas por la señalización clásica mientras que la señalización trans está involucrada en la respuesta proinflamatoria (Greenhill *et al.*, 2011; Nowell *et al.*, 2003; Rose-John, 2012). Por consiguiente, el efecto de exacerbación de la fosforilación de STAT-3 observado en las muestras de pacientes con AID, permite especular que los autoanticuerpos contra las IL-6 detectados en el presente trabajo podrían estar inhibiendo la interacción entre IL-6Ra y gp130 de la señalización clásica y una activación de la señalización trans, favoreciéndose la función inflamatoria en los pacientes hasta el punto de producir el cuadro de inflamación que presentaban.



**Figura 3.** Mapeo de epítopes sintetizados a partir de microarreglos peptídicos. Se presentan las intensidades de fluorescencia detectadas en los diferentes microarreglos de péptidos de dos muestras séricas. Panel A: Muestra RW120963. Panel B: Muestra JS210509.

Por otra parte, el mapeo de los epítops reconocidos por los autoanticuerpos anti-IL-6 se llevó a cabo en dos muestras séricas (JS210509 y RW120963), positivas a la presencia de estos autoanticuerpos, empleando microarreglos de péptidos sobrelapados que cubrían la secuencia completa de IL-6 humana. Los resultados del escaneo mostraron varias interacciones débiles entre los autoanticuerpos presentes en las muestras y la secuencia lineal de la IL-6, reflejándose en zonas poco definidas con señales de intensidad baja hacia diferentes arreglos de péptidos individuales de la secuencia analizada (**Figura 3**). Sin embargo, en un estudio previo en el laboratorio, se realizó el escaneo de una muestra positiva a autoanticuerpos anti-IL-6 y se observó una reacción hacia dos péptidos distintivos, el primero  $^{55}\text{EALAENNLN}^{63}$  con una elevada señal de intensidad, mientras que con el segundo  $^{16}\text{RQPLTS}^{20}$  la señal fue de menor intensidad. La integración de estos resultados con los obtenidos en el presente proyecto permitió definir dos secuencias de aminoácidos como posibles epítops reconocidos por autoanticuerpos anti-IL-6:  $^{16}\text{RQPLTS}^{20}$  (Epitope1) y  $^{55}\text{EALAENNLN}^{63}$  (Epitope2). Adicionalmente, se construyó el modelaje molecular entre la estructura de la IL-6, el IL-6Ra y de gp130, para explicar la posible interacción de los epítops de IL-6 reconocidos por el autoanticuerpo anti-IL-6 y el efecto en la vía de señalización de esta citocina, empleando la herramienta SWISS-MODEL para la elaboración de la proyección 3D y el programa PyMOL para identificar las interacciones. En la **Figura 4**, se muestra la imagen de la estructura 3D de la interacción entre IL-6 (estructura azul), IL-6Ra (estructura gris) y gp130 (estructura amarilla). Así mismo, en color rojo se muestra la secuencia de Epitope2, la cual presenta interacción con la subunidad beta del receptor de IL-6, también se puede observar que la secuencia de Epitope1 (secuencia morada) está ubicada en el extremo N-terminal, sin

embargo, no se observó interacción con las secuencias de las subunidades del receptor. La secuencia del Epítotope 2 identificado ( $^{55}\text{EALAENNLN}^{63}$ ) interacciona con una región de la subunidad gp130 del receptor de IL-6, siendo este complejo el primer evento en la activación de la vía de señalización de IL-6, por lo que el reconocimiento de este epítotope por los autoanticuerpos anti-IL-6 pudieran estar afectando la unión de esta citocina con su receptor (IL-6R), específicamente con la subunidad gp130; afectando la actividad biológica de IL-6 y su vía de señalización.



**Figura 4.** Modelaje molecular entre la estructura de la IL-6, el IL-6Ra y de gp130. Se muestra la interacción entre la IL-6 (estructura azul), IL-6Ra (estructura gris) y gp130 (estructura amarilla) generada con el programa PyMOL. Los epítotos reconocidos por autoanticuerpos anti-IL-6 se representan en diferente color: Epítotope1 (secuencia morada), Epítotope2 (secuencia roja)

## Conclusiones

Los autoanticuerpos contra IL-6 detectados en muestras séricas humanas presentaron dos patrones interesantes de respuesta en la fosforilación del factor de transcripción STAT-3, el primero fue la disminución de la fosforilación de STAT-3 en muestras de pacientes con ID, indicando una función de inhibición de la actividad biológica de la IL-6 e incrementando la susceptibilidad a infecciones. El segundo patrón identificado fue un efecto de exacerbación de la fosforilación de STAT-3 mediada por IL-6, en pacientes con AID, lo que sugiere una inhibición de la señalización clásica y una activación de la señalización trans de esta citocina favoreciendo el cuadro de inflamación.

Se identificaron los epítotos principales reconocidos por autoanticuerpos anti-IL-6, donde la interacción de los autoanticuerpos con el epítotope sugiere una posible inhibición de la unión de la citocina con su receptor causando un efecto neutralizante de estos autoanticuerpos sobre la actividad biológica de la citocina.



## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Department of Clinical Biochemistry and Immunology, Addenbrooke's Hospital, Cambridge por el apoyo para la realización de la presente revisión. Además, agradecen al CONACyT, por la beca con número 829997 otorgada a Paulina Cortes Acevedo, a la UNAM por la beca PASPA-DGAPA-UNAM para año sabático, otorgada a Gabriela Barcenás Morales; y por el financiamiento del proyecto con clave CI2204 del Programa Cátedras de Investigación de la FES-Cuautitlán, UNAM.

## Referencias

- Greenhill, C. J., Rose-John, S., Lissilaa, R., Ferlin, W., Ernst, M., Hertzog, P. J., Mansell, A., & Jenkins, B. J. (2011). IL-6 Trans-Signaling Modulates TLR4-Dependent Inflammatory Responses via STAT3. *The Journal of Immunology*, 186(2), 1199. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002971>
- Kaur, S., Bansal, Y., Kumar, R., & Bansal, G. (2020). A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28(5), 115327. <https://doi.org/10.1016/j.BMC.2020.115327>
- Nanki, T., Onoue, I., Nagasaka, K., Takayasu, A., Ebisawa, M., Hosoya, T., Shirai, T., Sugihara, T., Hirata, S., Kubota, T., Harigai, M., & Miyasaka, N. (2013). Suppression of elevations in serum C reactive protein levels by anti-IL-6 autoantibodies in two patients with severe bacterial infections. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 72(6), 1100–1102. <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2012-202768>
- Nowell, M. A., Richards, P. J., Horiuchi, S., Yamamoto, N., Rose-John, S., Topley, N., Williams, A. S., & Jones, S. A. (2003). Soluble IL-6 Receptor Governs IL-6 Activity in Experimental Arthritis: Blockade of Arthritis Severity by Soluble Glycoprotein 130. *The Journal of Immunology*, 171(6), 3202. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.6.3202>
- Petković, F., & Castellano, B. (2016). The role of interleukin-6 in central nervous system demyelination. *Neural Regeneration Research*, 11(12), 1922. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.195273>
- Puel, A., Picard, C., Lorrot, M., Pons, C., Chrabieh, M., Lorenzo, L., Mamani-Matsuda, M., Jouanguy, E., Gendrel, D., & Casanova, J.-L. (2008). Recurrent Staphylococcal Cellulitis and Subcutaneous Abscesses in a Child with Autoantibodies against IL-6. *The Journal of Immunology*, 180(1), 647–654. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.180.1.647>
- Rose-John, S. (2012). IL-6 Trans-Signaling via the Soluble IL-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of IL-6. *International Journal of Biological Sciences*, 8(9), 1237. <https://doi.org/10.7150/IJBS.4989>



Rose-John, S., Winthrop, K., & Calabrese, L. (2017). The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications. *Nature Reviews Rheumatology*, 13(7), 399–409. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2017.83>

Samoilova, E. B., Horton, J. L., Hilliard, B., Liu, T.-S. T., & Chen, Y. (1998). IL-6-Deficient Mice Are Resistant to Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Roles of IL-6 in the Activation and Differentiation of Autoreactive T Cells. *The Journal of Immunology*, 161(12), 6480. <http://www.jimmunol.org/content/161/12/6480.abstract>

Stampanoni Bassi, M., Iezzi, E., Drulovic, J., Pekmezovic, T., Gilio, L., Furlan, R., Finardi, A., Marfia, G. A., Sica, F., Centonze, D., & Buttari, F. (2020). IL-6 in the Cerebrospinal Fluid Signals Disease Activity in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2020.00120>



# CIENCIAS DE LA INGENIERÍA Y FÍSICO - MATEMÁTICAS





# MICROORGANISMOS SULFATO-REDUCTORES (MSR) PRESENTES EN UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO DE LODOS DE FLUJO ASCENDENTE (RALLFA) UTILIZADO PARA EL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE UN EFLUENTE PROVENIENTE DE LA OPERACIÓN UNITARIA DE FLOTACIÓN (EOPUF) DE UNA MINA COOPERANTE

*Edgar Felipe Bautista-Olivera\**, *Danya Carolina López-Pineda*, *Fortino Rojas-Torreblanca*,  
*Marisela Bernal-González*, *María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa*, *Enrique*  
*Rodolfo Bazúa-Rueda*, *Ángel Enrique Chávez-Castellanos*

*Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería*

*Química, Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E, Ciudad Universitaria, Ciudad de México,*

[417068970@quimica.unam.mx](mailto:417068970@quimica.unam.mx), [edgarbao@comunidad.unam.mx](mailto:edgarbao@comunidad.unam.mx), [315206117@quimica.unam.mx](mailto:315206117@quimica.unam.mx),  
[forti.rotb@gmail.com](mailto:forti.rotb@gmail.com), [marisela\\_bernal2000@yahoo.com](mailto:marisela_bernal2000@yahoo.com), [mcduran@quimica.unam.mx](mailto:mcduran@quimica.unam.mx),  
[erbr@unam.mx](mailto:erbr@unam.mx), [ae.chavezcastellanos@gmail.com](mailto:ae.chavezcastellanos@gmail.com)

## Resumen

Esta investigación utiliza un RALLFA, el cual tiene en su interior con MSR, para el tratamiento de un EOPUF rico en  $\text{SO}_4^{2-}$  y bajas concentraciones de Pb, Zn, Cu y Fe. Los MSR llevan a cabo la transformación de los componentes solubles a insolubles. Esto se logra mediante la asimilación de la materia orgánica y los nutrientes disueltos en fase acuosa (carbono, nitrógeno y fósforo) para su propio desarrollo, empleando como aceptores de electrones a los  $\text{SO}_4^{2-}$  que, al transformarse en  $\text{S}^{2-}$ , logran precipitar a los cationes presentes como  $\text{S}=\text{M}^{2+}$ . El objetivo de la investigación es realizar una revisión bibliográfica de las metodologías utilizadas para la identificación de los MSR presentes en un RALLFA, que participan en la transformación de los  $\text{SO}_4^{2-}$  provocando la precipitación de los sulfuros metálicos. Los resultados obtenidos proporcionan información crucial para el desarrollo y la optimización de los sistemas de tratamiento anaerobio.

**Palabras clave:** Reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA), microorganismos sulfato-reductores (MSR), efluente de la operación unitaria de flotación (EOPUF).



## Antecedentes

La planta minera cooperante en este proyecto de investigación se encuentra al suroeste del Estado de México en el municipio de Zacazonapan. Lleva en operación desde 1994. Es una planta donde se producen concentrados ricos en zinc, plomo y cobre a partir de un yacimiento vulcano-sedimentario de sulfuros (González-Sandoval, 2010). El mineral extraído se somete a diversos procesos de concentración tanto pirometalúrgicos como hidrometalúrgicos en las fundiciones y refinерías. El proceso de concentración que se emplea en la mina de estudio es el de flotación, el cual está acompañado de otras cinco etapas que son: Trituración, molienda, clasificación, espesamiento y filtración. En la última etapa se obtiene el concentrado con un contenido de humedad del 8%. Los sulfuros metálicos más significativos son de galena (PbS), esfalerita (ZnS), calcopirita (CuFeS<sub>2</sub>) y piritita (FeS<sub>2</sub>) (Pacheco-Gutiérrez, 2006).

La flotación es una técnica de separación por gravedad y se lleva a cabo por la diferencia de densidad entre la fase continua y la dispersa. Al adicionar un gas o aire en el efluente se promueve la formación de aglomerados, que se basan en distribuir las especies iónicas de metal en las aguas residuales hidrófobas mediante el uso de agentes tensoactivos y la posterior eliminación de estas especies hidrófobas por burbujas de aire. Los xantatos son los colectores más usados en la operación unitaria de flotación de minerales y óxidos (por ejemplo: Óxido de cobre, plomo y zinc metálicos). El xantato etílico remueve eficientemente por arriba del 87% del metal contenido en solución (Mora et al., 2018). En el proceso de flotación frecuentemente el agua se recicla en circuito cerrado. Este procedimiento gradualmente da lugar a perturbaciones en los resultados metalúrgicos debido a la acumulación de reactivos residuales, cambios en la cantidad de sales disueltas (principalmente sulfatos) y aumento en la cantidad de los llamados lodos (Coetzer et al., 2003). En algunas investigaciones como la de Sandenbergh y Wei (2007) y Shengo et al. (2014), se reporta que las aguas residuales reutilizadas varias veces no presentan efectos adversos en la flotación. Sin embargo, la situación podría ser diferente si se considera el uso de agua residual no tratada durante el proceso de flotación de minerales como el plomo y zinc, pues en este caso, el reciclaje del agua provoca la disminución en la concentración del plomo obteniéndose solamente 62% en comparación con el obtenido cuando se utiliza agua dulce, que es por arriba del 87% (Rao y Finch, 1989). Por otro lado, la concentración del zinc se ha visto afectada, aunque en menor medida, por la variación en la calidad del agua (Liu et al., 2013). En este último estudio se notó una mayor recuperación del zinc en el concentrado que de plomo, lo que muestra explícitamente la pérdida de selectividad que surge también debido al agua residual sin tratamiento utilizada en la operación unitaria de flotación. Por lo anterior, las fluctuaciones de la calidad del agua sí influyen en el rendimiento de la flotación, pero en un grado diferente dependiendo del tipo de mineral tratado y el conjunto de reactivos (colectores) utilizados





(Liu et al., 2013; Lutandula y Mwana, 2014).

El agua residual proveniente de la operación unitaria de flotación de la industria minera generalmente contiene iones metálicos disueltos y ácido sulfúrico (Johnson y Hallberg, 2003). Aunque esta corriente de desechos ácidos son un problema ambiental importante, los metales valiosos que contienen pueden recuperarse mediante la reducción de los sulfatos a sulfuros gracias a los microorganismos sulfato-reductores (MSR), seguido de la precipitación de sulfuros metálicos en un bio-reactor (Huisman et al., 2006). Este sistema puede inocularse con un cultivo bacteriano mixto proveniente de diversas fuentes, como lodos de aguas residuales, humedales y sedimentos contaminados con metales pesados o especies de MSR enriquecidos, manteniendo un ambiente biológicamente activo en función de los flujos de entrada y de salida, el cual puede ser un proceso aerobio o anaerobio (Hwang y Jho, 2018). Los bio-reactores anaerobios han sido aplicados con éxito a escala industrial para el tratamiento de drenajes ácidos de minas (DAM) utilizando MSR. Además, han sido patentados como el BioSulphide<sup>®</sup>, producido por BioteQ Environmental Technologies Inc., Canadá y Thiopaq<sup>®</sup>, por Paques, Países Bajos (Ayangbenro et al., 2018).

La elección de un método de tratamiento del agua residual de la operación unitaria de flotación es una decisión que debe estar justificada con estudios *ad hoc*, porque esto afecta los parámetros clave de la flotación y, por lo tanto, las especificaciones metalúrgicas finales del metal concentrado (Liu et al., 2013).

### Objetivo general

Determinar algunas de las especies de MSR presentes en un reactor tipo RALLFA a escala de laboratorio dosificado con efluentes ácidos que provienen de la operación unitaria de flotación de una mina cooperante que, conteniendo bajas concentraciones de Pb, Zn, Cu y Fe, hace que los microorganismos que proliferan sean metalotolerantes.

### Objetivos particulares

- Revisar en la literatura cuáles son las principales especies de MSR, responsables de la precipitación de metales como el Pb, Zn, Cu y Fe en un sistema anaerobio
- Evaluar algunas de las metodologías tradicionales utilizadas para la identificación de los MSR en un sistema anaerobio.

### Parte experimental

**Agua de flotación (EOPUF).** Este residuo industrial del proceso de flotación de una mina cooperante, ubicada en el municipio de Zacazonapan, Estado de México, México,



es transportada en contenedores de 19 L de capacidad, desde la mina al Laboratorio 301 del Edificio E-3 de la Facultad de Química, sin refrigeración. Una vez en el laboratorio se mantiene a 4°C en un cuarto frío (Poblete-Mier, 2015). Posee propiedades fisicoquímicas que la convierten en un agente muy contaminante para el ambiente. En la Tabla 1 se presentan las características del influente.

**Tabla 1.** Datos de caracterización del agua proveniente de la operación unitaria de flotación (EOPUF) (Rojas-Torreblanca, 2023)

Parámetro	EOPUF	Parámetro	EOPUF
pH	2.98±0.38	Fe [mg/L]	0.150±0.006
DQO [mg/L]	161±19	Zn [mg/L]	0.668±0.009
Sulfatos [mg/L]	937±159	Cu [mg/L]	0.129±0.004
Nitratos [mg/L]	8182±340	Pb [mg/L]	0.131±0.012
Sulfuros [mg/L]	4.19±1.31	ST [mg/L]	6750±367
Fosfatos [mg/L]	202±40	SVT [mg/L]	1140±155
COT [mg/L]	13.79±2.7	Relación DQO:SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.17

DQO: Demanda química de oxígeno; COT: Carbono orgánico total; ST: Sólidos totales; SVT: Sólidos volátiles totales

**Reactor tipo RALLFA.** El reactor empleado está construido de vidrio, con un volumen del sistema de 2.2 L y un volumen de trabajo de 1.9 L, tiene un diámetro externo de 120 mm y una altura de 300 mm. En la parte superior tiene un separador de fases líquido-sólido-gas (campana), el cual contribuye con la retención de los sólidos en el reactor, a la salida del efluente líquido y a la salida del biogás por arriba. Tiene forma de embudo invertido. Los lodos de inoculación provienen de un RALLFA que trata agua residual de la destilación de alcohol a partir de mieles incristalizables de caña de azúcar, conocidas como vinazas (Poblete-Mier, 2015) y constituido de una zona de reacción en la parte inferior con una alta concentración de lodos de alta sedimentación. Cuenta con recirculación interna de agua caliente para mantener la temperatura de operación de 28 a 30°C. Para evitar pérdidas de calor en los RALLFA, está enchaquetado con fibra de vidrio y recubierto con aluminio. La alimentación del reactor se realizó diariamente con una solución de 149 mL de la operación unitaria del proceso de flotación, 1 mL de ácido láctico y 0.2 g de bicarbonato de sodio

(Rojas-Torreblanca, 2023), la mezcla se calienta a 28°C y se dosifica en forma de lotes usando una bomba peristáltica marca ISMATEC, modelo ISM847B debido a que el flujo volumétrico es muy bajo, dadas las dimensiones del biorreactor de laboratorio y el tiempo de residencia hidráulica con el que opera que es de 12.6 días (Quiahua-Salvador, 2023).

El trabajo experimental que se llevó a cabo para alcanzar el objetivo propuesto se realizó siguiendo el diagrama experimental de la Figura 1. Cada uno de los procedimientos descritos se llevaron a cabo dentro de una cámara #830-SERIES Compact Glove Boxes (Domestic & Export models) Marca: PLAS LABS, INC. Con atmósfera de N<sub>2</sub>, para mantener las condiciones anaerobias.

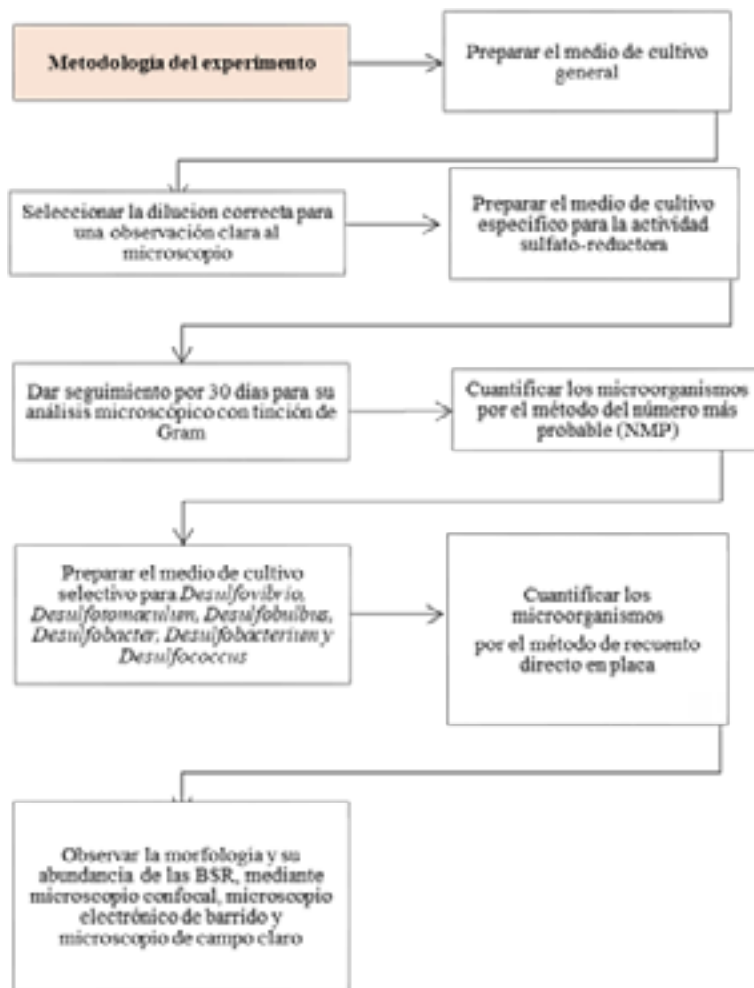


Figura 1. Procedimiento experimental





## Resultados y discusión

**Etapa 1:** Durante la etapa de incubación en medio de cultivo general (Figura 2), se llevó a cabo la selección de la dilución que permitió la identificación fenotípica individual de los microorganismos. La dilución  $10^{-2}$  resultó ser la adecuada, ya que su visualización fue clara de las estructuras morfológicas de los microorganismos con sus características distintivas, sin agrupamientos y con una cantidad óptima de microorganismos desarrollados (Figura 4) y se diferencia de la Figura 3 en donde se presentan aglomeración y bacterias unas encima de otras, mientras que para la dilución  $10^{-3}$  (Figura 5) y las diluciones posteriores el desarrollo va de insuficiente a casi nulo.

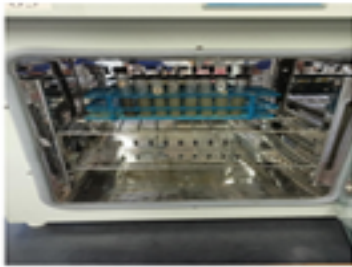


Figura 2. Tubos de cultivo

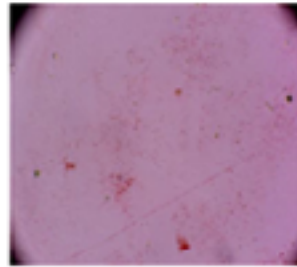


Figura 3. Dilución  $10^1$

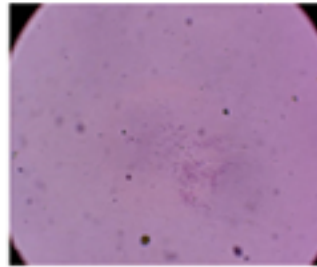


Figura 4. Dilución  $10^{-2}$

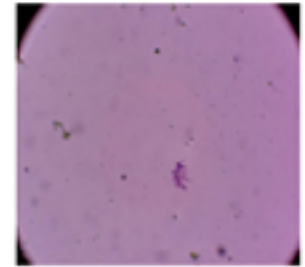


Figura 5. Dilución  $10^{-3}$

El medio de cultivo general permite el desarrollo de una gran variedad de microorganismos y, de esta manera, crecieron y proliferaron distintas especies de microorganismos y, dentro de ellos, los MSR. Las características morfológicas observadas presentan las propiedades descritas por Madigan et al. (2015): Bacilos cortos y gruesos, Gram positivos, bacilos largos y delgados Gram negativos y bacterias gemantes Gram positivos.

**Etapa 2:** Se realizó la siembra de los lodos a la dilución seleccionada en el medio específico para microorganismos sulfato-reductores, con el fin de aislarlas de las bacterias metanogénicas que pudieran estar presentes en los lodos del reactor. Durante 30 días, se verificó la presencia y proliferación exitosa de los microorganismos de interés. Entre el día doce y el día 15 fue cuando se pudo observar un notable incremento en la carga bacteriana, y para el día 30, la concentración y diversidad de microorganismos en el medio de cultivo alcanzaron su punto máximo.

Con tinción de Gram y observación al microscopio se describen los tipos de morfología exhibidas por los microorganismos: Se pudieron distinguir una variedad de bacilos con características diversas, presentando variaciones en su grosor y tamaño, los bacilos gruesos eran los que predominaban en cantidad y los que en su mayoría formaban agrupaciones como



diplobacilos y estreptobacilos, también empalizados o conglomerados. Estas características coinciden con la descripción hecha por Gaylarde y Cook (1990).

**Etapa 3:** Cuantificación de las BSR por medio del método del NMP (Tabla 2). Después de incubar por 30 días se observaron los cambios macroscópicos que se formaron en los tubos de cultivo e identificaron como tubos positivos aquellos que presentan un precipitado de color negro, debido a la formación de  $FeS_2$ . Con el número de tubos de las pruebas confirmativas que hayan dado reacciones positivas, se calcula el número más probable de microorganismos, refiriéndose a las tablas estadísticas del NMP (DOF, 2015).

**Tabla 2.** Como resultado se obtiene la cantidad de BSR a 30°C

Microorganismos sulfato-reductores	30°C
NMP para la combinación (3,1,2)	120 NMP/100 mL
BSR	120000000 bacterias/100 mL

**Etapa 4:** Aislamiento e identificación de las BSR: *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*,

*Desulfobacterium* y *Desulfococcus* que han sido las más estudiadas (Figura 6). Con la dilución previamente seleccionada y asegurando la ausencia de contaminación y la uniformidad de las colonias en los medios de cultivo en las placas de Petri, se procedió al conteo de colonias de las placas triplicadas por cada día y para cada medio, asegurándose de que el número de colonias contadas estuviera entre 30 y 300 (Tabla 3). Para los géneros *Desulfobacter* y *Desulfobacterium* no se alcanza la fase estacionaria dentro del periodo de incubación de 30 días, mientras que para los géneros *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus* y *Desulfovibrio*, se alcanza la fase estacionaria desde la primera semana, señalado también por Navarro et al. (2010). Correlacionando, el género *Desulfobulbus* se ve implicado en la precipitación del metal Zn, según el estudio del RALLFA realizado por Rojas-Torreblancas (2023). Analizando el efluente líquido, el promedio porcentual de remoción de Zn, Fe, Cu y Pb, fue del 86, 65, 57 y 53%, respectivamente, siendo el Zn el metal con la mayor remoción alcanzada de entre los metales de estudio en el proyecto de investigación (Figura 7).

**Tabla 3.** Cinética de proliferación de las BSR en un periodo de incubación de 30 días



Bacteria	Número de generaciones	Tiempo de generación G (h)	Máxima concentración alcanzada (UFC/mL)
<i>Desulfotomaculum</i>	5.29	18	4.82E+07
<i>Desulfobulbus</i>	12.77	6	2.86E+08
<i>Desulfobacter</i>	5.64	13	7.54E+07
<i>Desulfobacterium</i>	7.22	63	2.56E+07
<i>Desulfococcus</i>	1.12	21	2.92E+07
<i>Desulfovibrio</i>	1.24	39	2.61E+07

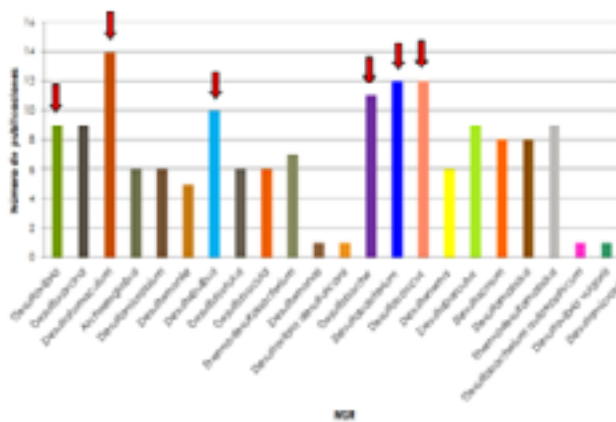


Figura 6. Revisión bibliográfica de los MSR

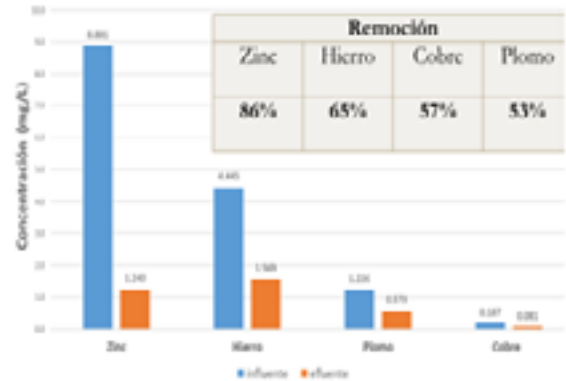


Figura 7. Remoción de los metales presentes en el EOPUF

## Conclusiones

- La inoculación de la dilución  $10^{-2}$  obtenida en medio de cultivo específico permite el desarrollo de las MSR en un periodo de 30 días. La cuantificación mediante la técnica del NMP al emplear medios de cultivo específicos a  $30^{\circ}\text{C}$  resultó en 120000000 bacterias/100 mL.
- La cinética de crecimiento de las bacterias en estudio muestra su fase exponencial en los primeros 5 días destacando que, para los géneros *Desulfobacter* y *Desulfobacterium*, no se consigue la fase estacionaria en los 30 días de incubación mientras que para los géneros *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus* y *Desulfovibrio* sí se logra desde la primera semana.
- La identificación de los microorganismos mediante técnicas genotípicas como la secuenciación de genes o métodos basados en proteómica permitirían una mejor caracterización microbiana y con ello se podría explicar mejor la cinética de degradación en el reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente, RALLFA, utilizado.



## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México. Reactivos, consumibles y materiales empleados en esta investigación fueron adquiridos con el apoyo financiero parcial, tanto de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) a través de su Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), Clave IN110022, “Desarrollo de un modelo cinético diferencial para un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) utilizado para el tratamiento de un efluente proveniente del proceso unitario de flotación” como de la Facultad de Química con su Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado, PAIP, Clave 50009067.

## Referencias

- Ayangbenro, A.S., Olanrewaju, O.S., Babalola, O.O. (2018), Sulfate-reducing bacteria as an effective tool for sustainable acid mine bioremediation. *Frontiers in Microbiology*. 9:1986.
- Coetzer, G., du-Preez, H.S., Bredenhann, R. (2003), Influence of water resources and metal ions on galena flotation of Rosh Pinah ore. *Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy*. 103(3):193-207.
- DOF. (2015), Norma Mexicana NMX-AA-042-SCFI-2015. Análisis de Agua - Enumeración de Organismos Coliformes Totales, Organismos Coliformes Fecales (Termotolerantes) y *Escherichia coli* – Método del Número más Probable en Tubos Múltiples (Cancela a la NMX-AA-42-1987). Secretaría de Economía. Diario Oficial de la Federación, México. 18 de abril de 2016.
- Gaylarde, C., Cook, P., (1990), New rapid methods for the identification of sulphate-reducing bacteria. *International Biodeterioration*. 26(5):337-345.
- González-Sandoval, M.R. (2010), Procesos de oxidación de sulfuros en una presa de jales. 2010. Tesis Doctoral. Tesis de doctorado en Ingeniería (Ingeniería Química, Procesos). Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la UNAM. Facultad de Química. México. Defensa: Noviembre 30. [http://132.248.9.195/ptb2010/junio/0659293/0659293\\_A1.pdf](http://132.248.9.195/ptb2010/junio/0659293/0659293_A1.pdf)
- Huisman, J.L., Schouten, G., Schultz, C., (2006), Biologically produced sulphide for purification of process streams, effluent treatment and recovery of metals in the metal and mining industry. *Hydrometallurgy*. 83(1-4):106-113. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.017>
- Hwang, S.K., Jho, E.H., (2018), Heavy metal and sulfate removal from sulfate-rich synthetic mine drainages using sulfate reducing bacteria. *Science of the Total Environment*. 635:1308-1316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.231>
- Johnson, D.B., Hallberg, K.B., (2003), The microbiology of acidic mine waters. *Research in Microbiology*. 154(7):466-473.



Liu, W., Moran, C.J., Vink, S., (2013), A review of the effect of water quality on flotation. *Minerals Engineering*. 53:91-100.

Lutandula, M.S., Mwana, K.N., (2014), Perturbations from the recycled water chemical components on flotation of oxidized ores of copper—The case of bicarbonate ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2(1):190-198.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H. Stahl, D.A., (2015), BROCK. *Biología de los microorganismos*. 14.a Ed. Pearson educación, S.A., Madrid, España, 1136 pp.

Mora, E., Magalhaes-Baltar, C., Pinos, V., Benachour, M., (2018), Remoción de plomo de un efluente sintético vía flotación iónica utilizando xantato. *Maskana*. 9(1):31-39. <https://doi.org/10.18537/mskn.09.01.04>

Pacheco-Gutiérrez, L.A., (2006), Propuesta de reaprovechamiento integral del agua de proceso de una empresa minera empleando sistemas biológicos anaerobios. Ciudad de México, México. Tesis de Maestría en ingeniería (Ingeniería Química, Procesos). Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la UNAM. Facultad de Química. México. Defensa: Junio 30,2006. <http://132.248.9.195/pd2006/0606818/0606818.pdf>

Poblete-Mier, C.A., (2015), Arranque y operación de un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) para el tratamiento de un efluente proveniente del proceso de flotación de una planta minera. Tesis Profesional de Ingeniería Química. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Noviembre 30. Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2015/noviembre/0738039/Index.html>

Quihua-Salvador G., (2023), Estudio de la reducción del contenido de sulfatos,  $\text{SO}_4^{=}$ , a sulfuros sobre la precipitación de metales del efluente líquido de la etapa de flotación de una planta minera en un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA). Tesis profesional de Ingeniería Química. Facultad de Química, UNAM. Defensa: Ciudad de México, México. <http://132.248.9.195/ptd2023/julio/0843358/Index.html>

Rao, S.R., Finch, J.A., (1989), A review of water re-use in flotation. *Minerals Engineering*. 2(1):65-85.

Rojas-Torreblanca, F., (2023), Comparación del desempeño de dos reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) para la transformación de sulfatos a sulfuros usando microorganismos sulfato-reductores a nivel de laboratorio. Tesis de Maestría en Ingeniería (Campo del conocimiento: Ingeniería Ambiental, Campo disciplinario: Procesos). Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. UNAM. Defensa: agosto 4. Ciudad de México, México.

Sandenbergh, R.F., Wei, Y., (2007), The influence of water quality on the flotation of the Rosh Pinah Complex lead-zinc sulfides. In *The 4th Southern African Conference on Base Metals*. The S. Afr. Inst. Min. Metall. Pp. 45-55. South Africa.

Shengo, L.M., Gaydardzhiev, S., Kalenga, N.M., (2014), Assessment of water quality effects on flotation of copper-cobalt oxide ore. *Minerals Engineering*. 65:145-148.







# ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE VEGETACIÓN DE DIFERENCIA NORMALIZADA (NDVI) Y DEL ÍNDICE DE AGUA DE DIFERENCIA NORMALIZADA (NDWI) EN LA REGIÓN DEL RÍO ATOYAC DE LA CUENCA DEL ALTO BALSAS COMO PARTE DEL ANÁLISIS DE IMPACTO AMBIENTAL

*Óscar Iván Benítez-Salazar\**, Ricardo Macedo-Trujillo, Alberto Nájera-Rangel, Rolando Salvador García-Gómez, Marisela Bernal-González, María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E de la Ciudad de México.

[oscar.bensa@gmail.com](mailto:oscar.bensa@gmail.com)\*, [316337340@quimica.unam.mx](mailto:316337340@quimica.unam.mx), [najeraalberto70@gmail.com](mailto:najeraalberto70@gmail.com), [rolandoga2000\\_a@yahoo.com](mailto:rolandoga2000_a@yahoo.com), [marisela\\_bernal2000@yahoo.com](mailto:marisela_bernal2000@yahoo.com), [mcduran@quimica.unam.mx](mailto:mcduran@quimica.unam.mx)

## Resumen

El río Atoyac, situado en los estados de Puebla y Tlaxcala, pertenece a la región hidrológica del Alto Balsas. El río ha sufrido un notable deterioro de sus recursos hídricos por el desarrollo de actividades antropogénicas como la urbanización, la industrialización y la agricultura. Como una de las etapas del estudio del impacto ambiental, se procesaron imágenes satelitales obteniendo mapas de los índices de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, por sus siglas en inglés) y el índice de agua de Diferencia Normalizada (NDWI, por sus siglas en inglés). Estos índices proporcionan una visión completa y diferenciada de las características y condiciones de tres regiones en el río Atoyac, permitiendo una comprensión más detallada de la distribución de la vegetación y el agua en este entorno fluvial. Estos resultados son de gran importancia para la gestión y conservación de los recursos naturales en la zona, así como para la toma de decisiones informadas en proyectos ambientales y de desarrollo sostenible.

**Palabras clave:** Río Atoyac, contaminación, impacto ambiental, cuenca, teledetección.





## Objetivo general

Evaluar parte del impacto ambiental de las actividades humanas desde la perspectiva de la teledetección y *Sistemas de Información Geográfica*, permitiendo la toma de decisiones en políticas ambientales y la planificación del estudio, así como el uso del agua en la región.

## Objetivos particulares

Generar mapas tipo *NDVI* y *NDWI* usando imágenes satelitales determinando la distribución de parámetros como la salud de la vegetación y diferenciando la composición del agua de la zona de interés.

## Antecedentes

### Marco teórico

#### *Teledetección*

La teledetección estudia la interacción de la radiación electromagnética con las partículas de una superficie o fenómeno de interés mediante algún dispositivo (sensor) que recibe información de diferentes regiones del espectro electromagnético conocidas como bandas. Este sensor se monta sobre una plataforma que es un vehículo en movimiento (avión, satélite, dron) que se encuentra a cierta distancia del área de estudio.

#### *Landsat 8*

El *Landsat 8* es un satélite que fue lanzado el 11 de febrero de 2013 cuyo sensor *OLI-TIRS* es capaz de captar las longitudes de onda que se muestran en la Tabla 1.

#### *Firma espectral*

Lo que justifica el uso de la teledetección en la caracterización de superficies es el hecho de que la radiación electromagnética al contactar con las moléculas de un cuerpo crea patrones de emisión, absorción y transmisión para cada material. Estos patrones espectrales son únicos y absolutos para cada material y es lo que se conoce como firma espectral. Estas firmas se pueden expresar en perfiles donde en el eje de las abscisas se coloca la longitud de onda y en el de las ordenadas el valor de la reflectancia. También se puede visualizar como un vector de posición en el espacio de color.



Tabla SEQ Tabla \\* ARABIC 1. Intervalos de longitudes de onda del Landsat 8

(obtenida de la página-elibre de la NASA)

Número de banda	$\mu\text{m}$	Resolución espacial
1	0.433-0.453	30 m
2	0.450-0.515	30 m
3	0.525-0.600	30 m
4	0.630-0.680	30 m
5	0.845-0.885	30 m
6	1.560-1.660	30 m

Número de banda	$\mu\text{m}$	Resolución espacial
7	2.100-2.300	30 m
8	0.500-0.680	15 m
9	1.360-1.390	30 m
10	10.6-11.2	100 m
11	11.5-12.5	100 m

*Imagen “raster”*

Una imagen conocida como “ráster” es un modelo de datos basado en celdas; cada celda contiene un valor en una matriz de filas y columnas. Es una representación pictórica bidimensional genérica. Los “rásteres” típicos incluyen datos temáticos, de categorías, multidimensionales y de elevación. Es cualquier tipo de imagen digital representada en mallas (*pixels*). Divide el espacio en celdas regulares donde cada una de ellas representa un único valor. Este valor define la condición o atributo de la superficie terrestre en ese momento por medio de un valor digital ND (número digital) que corresponde a la reflectividad recogida por el sensor.

*Imagen vectorial*

Una imagen vectorial en sistemas de información geográfica (SIG) es un tipo de representación gráfica que utiliza elementos geométricos, como puntos, líneas y polígonos, para describir características geográficas y atributos asociados a ellas. A diferencia de las imágenes *raster*, que se basan en una matriz de celdas o *pixeles*, las imágenes vectoriales se componen de objetos geométricos precisos y sus relaciones espaciales.

*Composición a color*

Las imágenes se pueden grabar de modo multibanda o multiespectral, es decir, al mismo tiempo en diferentes regiones del espectro electromagnético. La información de estas imágenes se puede analizar por cada banda en una escala de grises o bien seleccionar la información de tres bandas y desplegarlas correspondientemente en tres cañones del sistema RGB (del inglés *Red, Green, Blue*) de forma simultánea. El sistema RGB hace una síntesis o composición a color de acuerdo con la intensidad de cada uno de los colores primarios aditivos.





### Cociente de bandas

El cociente de bandas es una técnica que busca revelar un mayor contraste espectral y así mejorar el análisis visual. Para lograrlo, se dividen los valores de brillantez (ND) de la banda de mayor reflectancia entre los (ND) de la banda de mayor absorbancia, provocando que los valores altos resalten y los valores bajos se atenúen. De este modo, en una imagen de cocientes de banda los *pixels* más brillantes están vinculados al material o parámetro de interés.

### NDVI

Rouse y colaboradores (1973) definen el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, por sus siglas en inglés) como un índice que se utiliza para evaluar la salud y la densidad de la vegetación en un área determinada. Se basa en la diferencia normalizada entre la reflectancia de la luz en el infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés) y la reflectancia de la luz en la región del rojo (R) del espectro electromagnético. La fórmula del NDVI es la siguiente:

$$NDVI = (NIR - R) / (NIR + R)$$

donde NIR representa la reflectancia en el infrarrojo cercano y R representa la reflectancia en la región del rojo. El valor del NDVI puede variar entre -1 y 1, donde los valores cercanos a 1 indican una vegetación sana y densa, mientras que valores cercanos a -1 pueden indicar una falta de vegetación o superficies no vegetales, como el agua o el suelo desnudo.

### NDWI

Según Gao (1996), el índice de agua de diferencia normalizada NDWI está diseñado específicamente para detectar la presencia y distribución de agua en la superficie terrestre. Se basa en la diferencia normalizada entre la reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR) y la reflectancia en el verde (G) del espectro electromagnético. La fórmula del NDWI es la siguiente:

$$NDWI = (NIR - G) / (NIR + G)$$

donde NIR representa la reflectancia en el infrarrojo cercano y G representa la reflectancia en la región del verde. El valor del NDWI también varía entre -1 y 1, donde los valores cercanos a 1 indican una mayor presencia de agua, mientras que valores cercanos a -1 sugieren una menor presencia de agua.

### Quantum GIS

Las imágenes se procesaron en QGIS, que es un SIG (Sistema de Información Geográfica) de código libre que permite manejar formatos *raster*, vectoriales y bases de datos. Se pueden



visualizar, crear, editar, exportar y analizar datos espaciales; crear mapas interactivos e imprimibles; además de adaptarse a necesidades especiales a través de la arquitectura de interconexión *-plugin-* extensible.

*Metadatos*

Las imágenes y correspondientes bandas espectrales fueron obtenidas de la página del Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS), con nubosidad del 6.22% del día 17 de mayo de 2023.

*Corrección atmosférica*

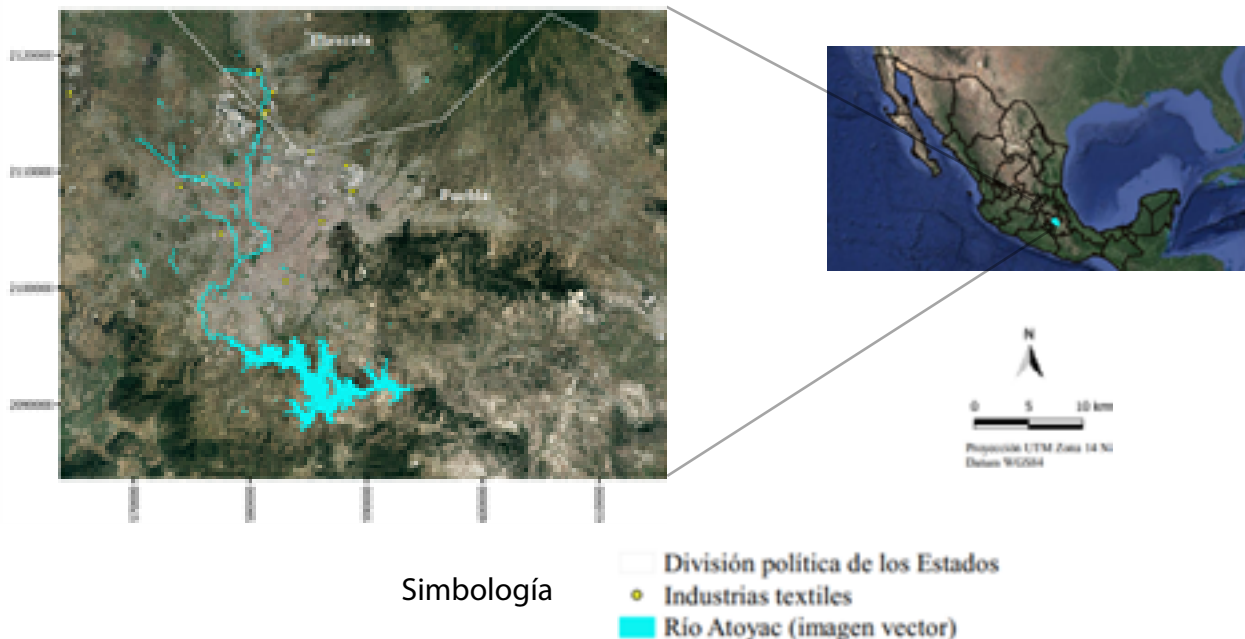
Para corregir los efectos de dispersión atmosférica se utilizó el método relativo de sustracción por *pixel* oscuro. Es sabido que la zona de estudio contiene cuerpos de agua cuyo Número Digital debería corresponder con cero. Al desplegar los histogramas de las bandas se observa que esto no es así por lo que a cada una se le restó el valor mínimo correspondiente.

**Procesamiento y resultados**

Con el objetivo de caracterizar y ubicar el río Atoyac se realizó una composición de bandas Landsat OLI-TIRS RGB (4, 3, 2) la cual arrojó una imagen *ráster* aproximada a los colores reales.

Para resaltar al río Atoyac en el mapa, se vectorizó su geometría y se superpuso a la composición antes mencionada. Además, se añadió un inventario de industrias textiles que se encuentran en los alrededores del río para observar su relación con los posibles efectos contaminantes en este cuerpo de agua (Tabla 2).

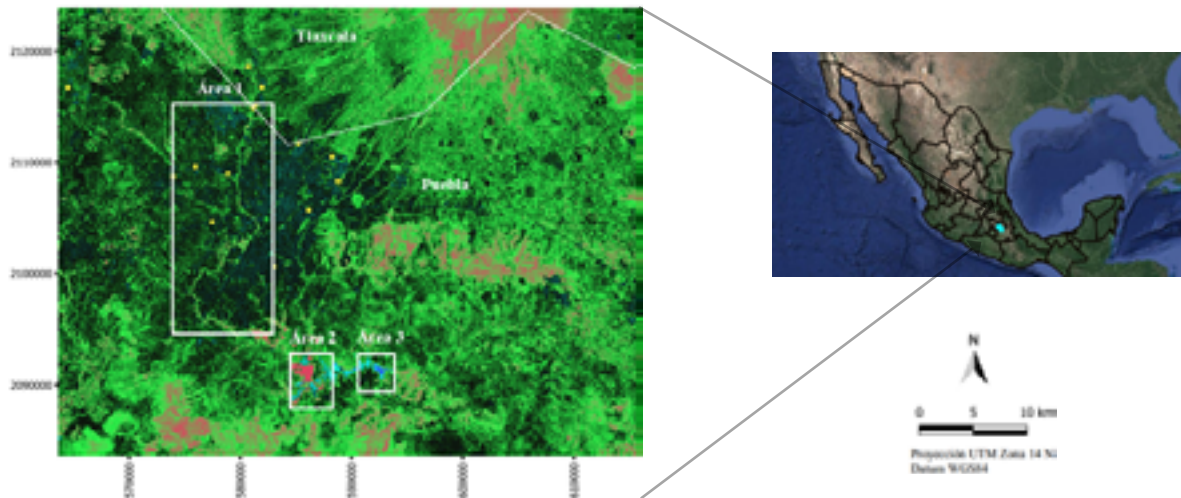
**Tabla 2.** Mapa de composición Landsat OLI-TIRS RGB (4, 3, 2) en la región del río Atoyac





Adicionalmente, se obtuvo un mapa *NDVI* para conocer el estado de la vegetación en las superficies cercanas al río (Tabla 3).

**Tabla 3.** Mapa *NDVI* de la zona del río Atoyac



#### Simbología e interpretación

- Industrias textiles
- NDVI
- -0.5466 Vegetación altamente estresada
  - -0.1799 Vegetación estresada
  - 0.1867 Suelos y zonas urbanas
  - 0.5534 Vegetación con salud moderada
  - 0.9200 Vegetación sana

Para diferenciar la presencia de cuerpos de agua en la zona de interés se obtuvo un mapa *NDWI* (Tabla 4) que se muestra en la página siguiente.

### Discusión

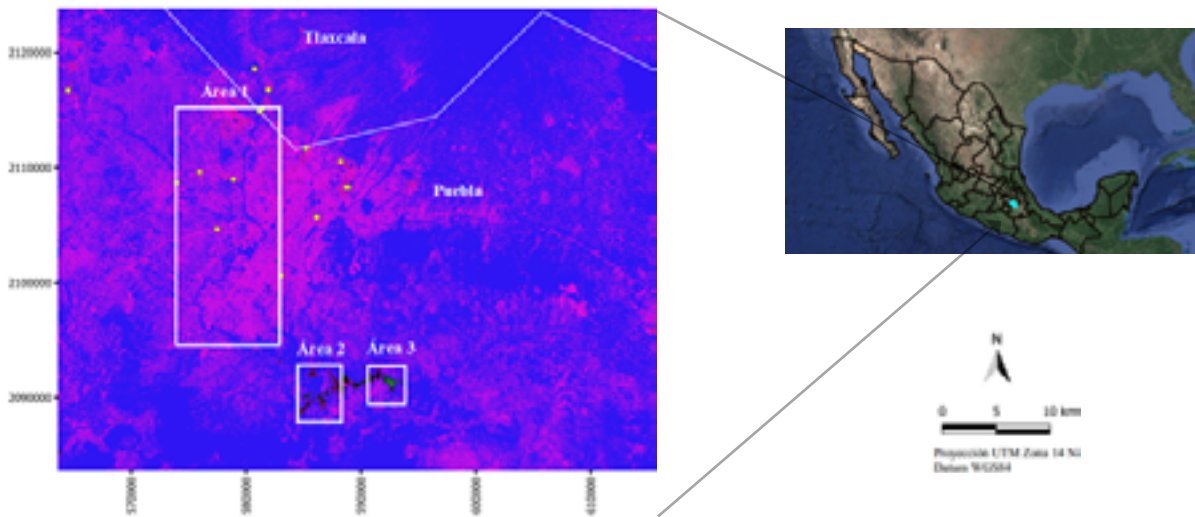
El empleo de los índices de vegetación de diferencia normalizada y el índice de agua de diferencia normalizada (*NDVI* y *NDWI*, por sus siglas en inglés) ha sido fundamental para diferenciar y caracterizar tres regiones distintas en el río Atoyac, cada una con características únicas.

En la Área 1, los valores cercanos a 0.5 en el *NDVI* sugieren la presencia de vegetación moderadamente sana, mientras que los valores negativos en el *NDWI* pueden indicar



la existencia de humedales debido a las características propias de esta zona. Esta área corresponde a las zonas urbanas e industrias textiles más cercanas al río Atoyac.

**Tabla 4.** Mapa NDWI de la zona del río Atoyac



Simbología e interpretación

NDWI	
<span style="color: blue;">■</span>	-0.5466 Zonas húmedas
<span style="color: magenta;">■</span>	-0.1799 Suelos y área urbana
<span style="color: black;">■</span>	0.1867 Cuerpo de agua tipo 1
<span style="color: green;">■</span>	0.5534 Cuerpo de agua tipo 2
<span style="color: red;">■</span>	0.9200 Cuerpo de agua tipo 3

En el Área 2, se ha observado una densa y saludable vegetación con valores del *NDVI* cercanos a 1, lo que confirma la abundancia y vitalidad de la vegetación en esta región. Además, el *NDWI* ha permitido identificar una composición diferente entre el perímetro y la superficie central de este cuerpo de agua, lo cual sugiere posibles variaciones en la concentración de sustancias disueltas o en suspensión en el agua y vegetación en diferentes partes de la zona. Por ello, se decidió diferenciar estas características en tipos 1, 2 y 3.

Finalmente, en el Área 3, los valores negativos de *NDVI* y los valores de 0.5 en el *NDWI* señalan una probable ausencia o degradación significativa de la vegetación, mientras que la presencia de agua sigue siendo notable. Esto podría indicar áreas con escasa o nula cobertura vegetal, lo que podría deberse a factores tales como una contaminación puntual u otras influencias antropogénicas o de tipo natural que estén afectando esa área.



## Conclusiones

La vegetación en el Área 1 no es sana, aunque se encuentre con presencia de cuerpos de agua. Se sugiere hacer un análisis temporal para determinar los cambios que ha sufrido esta área. Esto pudiera ser debido, entre otros, al crecimiento de la mancha urbana y a la presencia de las industrias textiles señaladas y de otras fuentes de contaminación (residuos de “agroquímicos” como se conoce a los fertilizantes y plaguicidas) como las descargas acuosas de las propias ciudades que vierten sus aguas residuales sin tratamiento o con un tratamiento parcial.

Se tiene la hipótesis de que, al no estar en presencia de lo mencionado, el río Atoyac en esta zona podría presentar una vegetación sana o bien, analizar la posibilidad que estos cambios están sujetos a las condiciones de precipitación o temporada del año. Los resultados ponen a la vista a la que se denominó Área 3 como la zona con un mayor estrés en la vegetación y con una composición espectral que induce a una composición química distinta a los cuerpos de agua circundantes, lo que podría deberse a factores contaminantes de la zona.

Para futuros estudios en el río Atoyac, se recomienda complementar el análisis mediante el uso de otras técnicas avanzadas de teledetección para proporcionar una visión más completa y detallada de las condiciones ambientales en la zona.

Asimismo, se sugiere utilizar el software *WEAP* (*Water Evaluation and Planning System*), software libre diseñado por el gobierno de Suecia, para realizar un análisis hidrológico y de gestión integral del agua en el Río Atoyac. *WEAP* es una herramienta de modelado que permite simular escenarios hidrológicos y evaluar el comportamiento del recurso hídrico ante distintas variables, como el cambio climático, la demanda de agua, la disponibilidad de recursos, entre otros factores.

Con el uso de *WEAP*, se podría proyectar cómo las diferentes condiciones climáticas, la urbanización, la agricultura y otros factores podrían afectar la disponibilidad y calidad del agua en la cuenca del río Atoyac. Asimismo, se podrían diseñar estrategias de gestión y conservación del agua que promuevan un uso sostenible y eficiente de este recurso vital.

En conjunto, la combinación de técnicas de teledetección avanzadas y el análisis mediante paqueterías de software como *WEAP*, abrirán la puerta a un enfoque más completo y profundo en el estudio del río Atoyac, proporcionando una base sólida para la toma de decisiones informadas en cuanto a la protección y manejo adecuado de este importante cuerpo de agua y sus ecosistemas circundantes no solamente por las autoridades sino por las comunidades, los industriales, los agricultores, etc., esto es, todos los usuarios del agua.





## Reconocimientos

Los(as) autores(as) reconocen el apoyo de la UNAM a través de su Dirección General de Asuntos del Personal Académico, DGAPA, que mediante su programa académico PAPIME Clave 101822 “Innovaciones de docencia para la asignatura Estancia Académica de la carrera de Ingeniería Química ante la problemática del Covid-19: Creación de ejemplos para solucionar problemas reales mediante el empleo de programas de cómputo”, permitió adquirir el equipo de cómputo que tiene la capacidad de procesar y almacenar la información de las diferentes paqueterías empleadas. Asimismo, reconocen el valioso apoyo del personal de cómputo académico de la Facultad de Química de la UNAM, quienes instalaron las diferentes paqueterías en los equipos de cómputo adquiridos con el apoyo del proyecto PAPIME Clave 101822.

## Referencias

Gao, B.C., (1996). NDWI - A normalized difference water index for remote sensing of vegetation and liquid water from space. *Remote Sensing of Environment*, 58(3), 257-266. doi: 10.1016/S0034-4257(96)00067-3.

Rouse, J.W., Haas, R.H., Schell, J.A., Deering, D.W., (1973). Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. *Third Earth Resources Technology Satellite-1 Symposium*, vol. 1. NASA, Washington, DC, pp. 309-317.

USGS, (2023), EarthExplorer, Recuperado de: <https://earthexplorer.usgs.gov/>

INEGI, (2023), Consulta de indicadores sociodemográficos y económicos por área geográfica, recuperado de: <https://www.inegi.org.mx/>





# REGULACIÓN ÓPTIMA DE TEMPERATURA PARA RECINTOS DE VOLUMEN FINITO

*Jared Vladimir Calderón López<sup>1</sup>, Mario Oscar Ordaz Oliver<sup>1\*</sup>, Jesús Patricio Ordaz Oliver<sup>1</sup>,  
Francisca Alicia Rodríguez Pérez<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>Escuela de Ingeniería, Ingeniería Mecatrónica, Universidad La Salle Pachuca, México,

<sup>2</sup>Departamento de ingeniería y tecnología, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad  
Nacional Autónoma de México, México,

[jared.calderon@lasallep.mx](mailto:jared.calderon@lasallep.mx), [mordaz@lasallep.mx](mailto:mordaz@lasallep.mx), [jordaz@lasallep.mx](mailto:jordaz@lasallep.mx), [ica\\_alicia@hotmail.com](mailto:ica_alicia@hotmail.com)

## Resumen

Los sistemas de control de temperatura tienen diversas aplicaciones, que van desde la refrigeración hasta procesos de fundición, siendo cruciales para garantizar la calidad en la producción. Aunque esencial, su uso implica un consumo significativo de energía. Este proyecto se enfoca en implementar un control óptimo para regular la temperatura en un espacio de volumen finito. El objetivo es mejorar la eficiencia térmica sin comprometer la calidad del resultado. El enfoque no solo busca optimizar el consumo de energía, sino también asegurar la uniformidad y calidad de productos y procesos. Esto se puede lograr manteniendo una estabilidad térmica en valores adecuados y una gestión responsable de recursos. En general, el proyecto propone mejorar la eficiencia y calidad en la regulación de temperatura, contribuyendo a prácticas industriales sostenibles y eficaces.

**Palabras clave:** Control óptimo, índice de desempeño, temperatura, consumo de energía, recinto de volumen finito.

## Antecedentes

En el estudio de (Braun-J. E. 1990), se busca utilizar la capacidad térmica en espacios reducidos para reducir costos operativos mediante un control dinámico de la temperatura, destacando la importancia de la optimización para ahorrar energía. En el trabajo de Gandur Adarme-S. Y (2016), se enfoca en la necesidad de controlar eficazmente los intercambiadores de calor y propone estrategias avanzadas de control específicas para estos dispositivos,



explorando modelos dinámicos y abordando las limitaciones para mejorar su operación y reducir oscilaciones. En el estudio de (Herrera Segura-E, 2021), se aborda el diseño de sistemas de retroalimentación en la teoría de control y la estimación del flujo de calor. Se utilizan métodos de elementos finitos, controladores PID y regulación lineal mediante retroalimentación de estados, centrándose en invernaderos sin medición del flujo de calor. Además, se introduce la idea de utilizar un observador como herramienta complementaria. Por otro lado, en el trabajo de (Onyu-J, et al., 2021), se propone la implementación de un método de diseño de filtro óptimo para controlar la Modulación por Ancho de Pulso (VMI) con el objetivo de reducir el ruido mecánico. Este método considera aspectos clave como la eficiencia, el amortiguamiento y la mitigación de errores, especialmente en la regulación de la potencia sonora en recintos. En este enfoque de control avanzado, tanto la eficiencia como el amortiguamiento desempeñan un papel fundamental para garantizar la robustez del sistema. La presente investigación busca identificar los parámetros del modelo matemático de un recinto de volumen finito para desarrollar una ley de control eficiente que regule la temperatura y reduzca el consumo de energía. Se revisarán investigaciones previas, se evaluarán resultados y se establecerán suposiciones y objetivos específicos.

## Objetivo

El proyecto se centra en regular la temperatura en espacios de volumen finito mediante leyes de control evaluadas con un índice de desempeño continuo. Se identifica el modelo matemático con Gauss-Newton para optimizar el consumo de energía.

## Construcción de la plataforma experimental

Se construyó una plataforma experimental en forma de cubo de MDF de 9 mm de grosor utilizando corte láser, elegido por su aislamiento térmico y facilidad de manipulación. La plataforma tiene un área total de 96.4 cm<sup>2</sup> con aberturas para alojar un ventilador, un foco de 40 watts y un sensor de temperatura DS18B20. El foco genera calor para simular una fuente térmica y se controla para crear un gradiente térmico. En lo que respecta a la generación de calor, se implementó un conjunto de dispositivos de suma importancia para la medición y actuación en el funcionamiento de la plataforma. Específicamente, en una de las caras de la plataforma, se ha ubicado estratégicamente un sensor digital de temperatura DS18B20. Esta ubicación se ha seleccionado cuidadosamente, colocándolo en una posición opuesta a la del actuador térmico. El DS18B20, al ser un componente de alta precisión, desempeña un rol crítico al proporcionar mediciones altamente fiables de la temperatura interna del recinto experimental (Maxim I. 2019). Esta información termométrica es de vital relevancia ya que servirá como base fundamental para el monitoreo continuo y la retroalimentación constante del





sistema de control, asegurando así un control preciso y eficiente del gradiente de temperatura generado por la fuente de calor en el interior del recinto. Se ubicó estratégicamente un sensor DS18B20 en una cara opuesta al actuador térmico para obtener mediciones precisas de la temperatura interna del recinto. Esto es esencial para el monitoreo y control del gradiente de temperatura. Se utiliza un ventilador de 9 palas a 5 V en la cara opuesta al sensor para introducir corriente de aire a temperatura ambiente y regular la temperatura interna según las necesidades del experimento. Se implementa un puente H, modelo L298N, para controlar la velocidad del ventilador y simultáneamente el foco, permitiendo un control preciso de ambos actuadores. Inicialmente se conectan las tierras comunes tanto hacia el Arduino como hacia la fuente de voltaje, asegurando así una referencia común de tierra. Se garantiza la corriente necesaria en el ventilador con el uso del puente H L298N, mismo que se conecta entre la salida del Arduino y el ventilador. Se emplea el algoritmo Gauss-Newton para identificar el modelo matemático del sistema. Este método iterativo se utiliza en ingeniería de control y optimización numérica para la estimación de los parámetros del modelo que se ajusten mejor a datos experimentales, reduciendo la discrepancia entre observaciones y predicciones del modelo. El proceso iterativo del algoritmo de Gauss-Newton se inicia con una estimación inicial de los parámetros del modelo, representados por el vector  $\theta$ . A través de iteraciones sucesivas, se ajustan los parámetros para minimizar el error cuadrático entre las observaciones experimentales y las predicciones del modelo, Esto se logra mediante la actualización del vector de parámetros en cada iteración, como se muestra a continuación:

$$\theta_{k+1} = \theta_k - (J_k^T J_k)^{-1} J_k^T r_k, \quad (1)$$

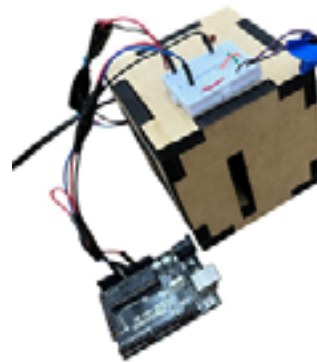
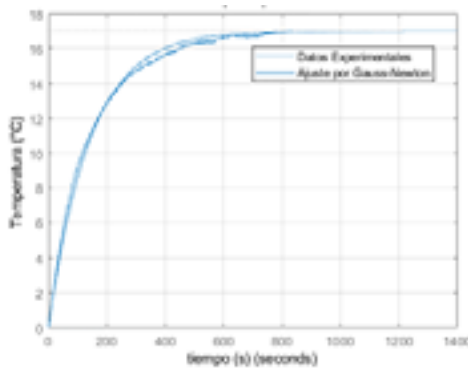
Donde:  $\theta_k$  es el vector de parámetros en la interacción,  $J_k$  es la matriz jacobiana del modelo evaluado en  $\theta_k$  y  $r_k$  es el vector de residuos entre las observaciones y las predicciones del modelo en la interacción  $k$ . Este algoritmo es clave en la identificación de parámetros de modelos a partir de datos experimentales, esencial en la optimización y ajuste de sistemas de control y modelización de sistemas dinámicos. Se basa en inicializar valores, calcular residuos y el Jacobiano, actualizando parámetros en cada iteración hasta converger. En este estudio, se ajustaron parámetros de un modelo matemático de un aerogenerador con el algoritmo de Gauss-Newton. Se compararon datos experimentales con predicciones del modelo ajustado y se evaluó el ajuste mediante coeficiente de correlación. Después del proceso de identificación y ajuste de parámetros, el modelo matemático seleccionado demostró una alta correlación con los datos experimentales y un ajuste significativo a las respuestas del sistema, alcanzando un valor de correlación del 94.45 %. Mediante la aplicación del algoritmo de Gauss-Newton a los datos experimentales que representan la respuesta a una entrada de



escalón, se procede a la estimación del modelo matemático del sistema. Este modelo se identifica como una función de transferencia de segundo orden que presenta polos sub amortiguados en la siguiente configuración:

$$G(s) = \frac{k}{T\omega^2 s^2 + 2\zeta T\omega s + 1} \quad (2)$$

Donde: K es el numerador de la función de transferencia (que indica que dicha función no cuenta con ceros  $T\omega$ , es la frecuencia natural no amortiguada,  $\zeta$  es el coeficiente de amortiguamiento y se representa la variable compleja s en el dominio de Laplace. Los parámetros identificados en el algoritmo de Gauss-Newton definidos como  $K = 2.9394$ ,  $T\omega = 95.067$  y  $\zeta = 0.3913$ .



**Figura 1.** Modelo de segundo orden

**Figura 2.** Plataforma experimental

La representación gráfica (fig. 1) muestra un alto coeficiente de correlación entre el modelo identificado y los datos experimentales, lo que garantiza que el modelo refleja de manera consistente el comportamiento de la plataforma experimental bajo leyes de control validadas numéricamente. Se realizó una comparación entre el controlador PID (Linear Quadratic Regulator - LQR) y el control óptimo en el contexto de aplicaciones de control moderno, utilizando el cálculo variacional para determinar el control óptimo. Considerando un sistema lineal invariante en el tiempo en su forma estándar en el espacio de estados.

$$\begin{aligned} \dot{x}(t) &= Ax(t) + Bu(t) \\ y(t) &= Cx(t) + Du(t) \end{aligned} \quad (3)$$



En donde  $x \in R^2$  es el vector de estado, es el vector de salidas  $u \in R$ , es el vector de señales de control,  $A \in R^{2 \times 2}$ ,  $B \in R^2$ ,  $C \in R^{1 \times 2}$  y  $D \in R$  se relacionan con la dinámica del sistema. Se desea hallar el control  $u(t)$  que minimice el consumo de energía y que esté sujeto al índice de desempeño:

$$J(x(t), u(t)) = \int_0^{\infty} [x^T(t)Qx(t) + u^T(t)Ru(t)] dt \quad (4)$$

Donde  $Q > 0$  y  $R > 0$  son matrices de dimensiones adecuadas que penalizan la convergencia del estado y el consumo de energía, respectivamente y satisfacen una ecuación algebraica de Riccati (R. Bellman, 1966). Dada la ecuación de Hamilton-Jacobi-Bellman, que se escribe como:

$$\frac{dV_B(x(t))}{dt} \Big|_{\dot{x}(t)} + D(x(t), u(t)) = 0 \quad (5)$$

En donde es el integrando del índice de desempeño y se conoce como función de Bellman. Ahora bien, se propone una función de Bellman con forma cuadrática como:

$$V_B(x(t)) = x^T(t)Px(t) \quad (6)$$

Al incorporar la derivada temporal de la ecuación (6) en el contexto de la ecuación (5) y minimizarla en relación con  $u(t)$ , se logra el control óptimo que cumple con el índice de desempeño (4). Esto satisface la ecuación de Hamilton-Jacobi-Bellman para sistemas lineales invariantes en el tiempo (LTI) con la forma (3).

$$u(t) = -R^{-1} B^T P x(t) \quad (7)$$

Por otra parte, el control analógico está en declive debido al predominio de métodos de control digital. Sin embargo, el enfoque de control PID analógico ha demostrado ser efectivo en sistemas industriales durante más de medio siglo. El control PID digital utiliza tres acciones: proporcional, integral y derivativa para ajustar la salida en función del error, la integral del error y la derivada del error. A pesar del crecimiento de los sistemas digitales, el enfoque PID analógico sigue siendo relevante y efectivo en muchas aplicaciones industriales, incluso en el control de múltiples plantas con un solo dispositivo digital. La configuración del control PID en sistemas analógicos se define mediante un conjunto de parámetros y ecuaciones que regulan el comportamiento del proceso controlado

$$m(t) = K \left[ e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^t e(t) dt + T_d \frac{de(t)}{dt} \right] \quad (8)$$

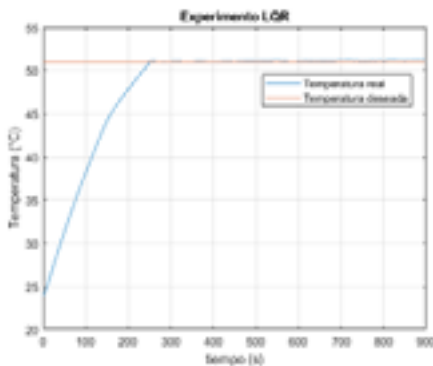


La ecuación (3) que describe la función de transferencia en forma de pulso del controlador PID digital suele ser referida como la representación posicional del esquema de control PID de la forma (Ogata-K, 1996):

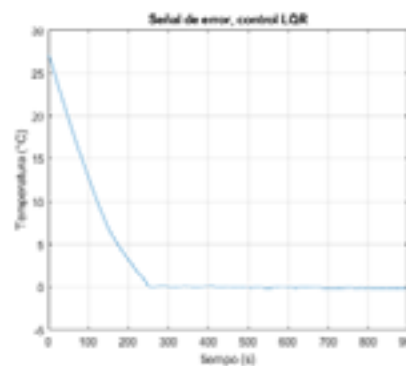
$$G_D(z) = \frac{M(z)}{E(z)} = k_P + \frac{k_I}{1-z^{-1}} + k_D(1-z^{-1}) \quad (9)$$

### Resultados y discusión

Para el análisis experimental, se realizó una tarea de regulación en donde la temperatura deseada  $T_{des}=51\text{ C}^\circ$  bajo las acciones de control (7) y (9). En donde  $Q=[925.1\ 0\ 0\ 47.42]$ ,  $R = 0.2$  y la matriz  $P = [13.1437\ 3.0742\ 3.0742\ 210.2774]$  para el control LQR que satisfacen a una ecuación algebraica de Riccati y minimizan el índice de desempeño (4). Y las ganancias de control PID resultan como:  $K_p=64.5$ ,  $K_d=28.4$ , y  $K_i=22.7$ , del proceso de asignación de polos. A continuación, se presentan las gráficas de temperatura y error de ambos experimentos:



**Figura 3.** Temperatura medida, control LQR

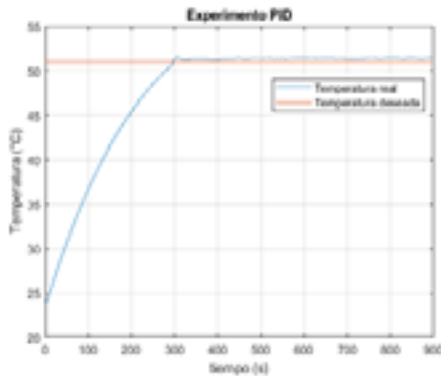


**Figura 4.** Señal de error, control LQR

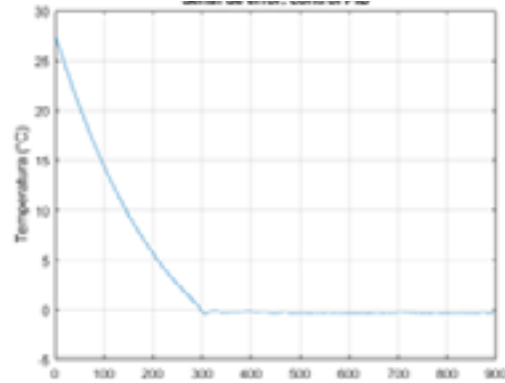
Un ejemplo de estos experimentos se puede observar en el video del siguiente enlace: <https://youtu.be/fj9UGhSuoY4>

De manera similar, se presenta a continuación un conjunto de índices de desempeño basados en el error, mismos que permiten conocer en términos numéricos el rendimiento, consumo de energía y eficiencia de las leyes de control implementadas.





**Figura 5.** Temperatura medida, control PID



**Figura 6.** Señal de error, control PID

**Integral del valor absoluto del error (IAE):** Un sistema cuyos parámetros de control son penalizados con este criterio presenta un desempeño óptimo, dado que el valor del amortiguamiento está comprometido con el consumo de energía. Este criterio se implementa fácilmente en sistemas de control de naturaleza discreta por medio de la siguiente expresión sumatoria

$$J_{IAE} = \sum_{k=0}^{Nh} \left| k \frac{x(k) + x(k+1)}{2} \right| \quad (11)$$

**Tabla 1.** Integral del valor absoluto del error

Controlador	IAE
PID	3470.1348
LQR	2839.8538

**Integral del valor absoluto del error multiplicado por el tiempo (ITAE):** Los sistemas penalizados por este criterio muestran errores iniciales significativos en tareas de regulación debido a una penalización moderada en la respuesta. Esto conduce a respuestas transitorias con bajo sobre impulso y una amortiguación adecuada. La evaluación de este criterio en sistemas se logra de manera sencilla mediante una operación específica.

$$J_{ITAE} = \sum_{k=0}^{Nh} K \left| h \frac{x^2(k) + x^2(k+1)}{2} \right| \quad (12)$$





**Tabla 2.** Integral del valor absoluto del error multiplicado por el tiempo

Controlador	ITAE
PID	407044.8797
LQR	239608.7398

**Integral del error al cuadrado (ISE):** Al minimizar este criterio se dice que el sistema es óptimo y minimiza el consumo de energía, pues el valor mínimo de la integral se obtiene para un valor en el amortiguamiento comprometido entre valores sobre amortiguados y críticamente amortiguados. Aplicando la regla trapezoidal al absoluto del error se tienen la siguiente expresión sumatoria para el caso discreto:

$$J_{ISE} = \sum_{k=0}^{Nh} h \left[ \frac{x^2(k) + x^2(k \cdot)}{2} \right] \quad (13)$$

**Tabla 3.** Integral del error al cuadrado

Controlador	ISE
PID	54568.3212
LQR	47199.7094

**Integral del error al cuadrado multiplicado por el tiempo (ITSE):** Este criterio es utilizado en parámetros de controladores que son penalizados por medio de la respuesta a una entrada escalón, donde el error inicia  $x(0)$ , , puede tener criterio, mismo que aumenta con el tiempo, y penalizar más significativamente al error. Para sistemas discretos, la integral que define este criterio de costos se escribe en términos de la regla trapezoidal como:

$$J_{ITSE} = \sum_{k=0}^{Nh} Kh \left[ \frac{x^2(k) + x^2(k+1)}{2} \right] \quad (14)$$

**Tabla 4.** Integral del error al cuadrado multiplicado por el tiempo

Controlador	ITSE
PID	3322158.655
LQR	2397825.648





## Conclusiones

Con un sólido conocimiento matemático y la aplicación de la mecatrónica, logramos implementar tanto un controlador PID como un controlador óptimo. Al comparar sus respuestas, se hizo evidente que el sistema controlado de manera óptima alcanza la temperatura deseada en un tiempo significativamente más corto y muestra un consumo de energía más eficiente en comparación con el controlador PID. Este hallazgo resalta la importancia de utilizar enfoques de control avanzados y ajustados específicamente para lograr un rendimiento óptimo en sistemas mecatrónicos.

## Agradecimientos

Expresamos nuestra profunda gratitud a la Universidad La Salle Pachuca por su colaboración al proporcionarnos acceso a sus laboratorios y talleres, fundamentales para la creación de nuestras plataformas experimentales. Agradecemos la valiosa oportunidad de utilizar estos recursos y el constante apoyo brindado por la universidad.

## Referencias

- Braun, J. E. (1990). Reducing energy costs and peak electrical demand through optimal control of building thermal storage. *ASHRAE transactions*, 96(2), 876-888,
- Gandur Adarme, S. Y. (2016). Diseño de control óptimo y control robusto para regular la temperatura de un intercambiador de calor.
- Herrera Segura, E. (2021). Medición por elementos finitos vía internet de la temperatura en un invernadero a través de un dispositivo móvil.
- Jeon, O., Kim, H. G., & Wang, S. (2021). Optimal filter design of a virtual mechanical impedance control system for multifrequency active sound power reduction of enclosure panels. *IEEE Access*, 9, 104227-104241.
- Ogata, K. (1996). *Sistemas de control en tiempo discreto* (2da edición). Pearson Educación.
- Chapra, S. C. (2006). *Métodos numéricos para ingenieros* (5ta edición). McGraw-Hill.
- Bellman, R. (1966). Dynamic programming. *Science*, 153(3731), 34-37.
- Semiconductor, D. (2002). DS18B20 programmable resolution 1-wire digital thermometer. DS18B20 datasheet.





# ESTUDIO CINÉTICO DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE LA UREA

*Jorge E. Camargo-Contreras, Ana María Sixto Berrocal, Patricia Miranda-Castro,*

*Martin R. Cruz-Díaz*

*Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-Campo Uno, Universidad Nacional Autónoma de México*

[cdmrmartin@gmail.com](mailto:cdmrmartin@gmail.com)

## Resumen

En el presente trabajo se estudió la cinética enzimática de la hidrólisis de la urea en presencia de la ureasa para producir carbonato de amonio. El sistema experimental consistió en un reactor intermitente (100 mL) enchaquetado. El estudio consistió en determinar los parámetros cinéticos a diferentes concentraciones de enzima (0.1 a 0.2 g/L) y de sustrato (2.0 mmol L<sup>-1</sup> a 25 mmol L<sup>-1</sup>), así como a diferentes temperaturas (15 a 50 °C) y valores de pH (4 a 9). Se encontró que el modelo cinético no competitivo con inhibición por producto aproxima de forma satisfactoria los datos experimentales. El valor de las constantes encontradas  $K_m = 3.252$  mmol L<sup>-1</sup>,  $v_{max} = 0.01156$  mmol L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>,  $K_p = 12.624$  mmol L<sup>-1</sup>,  $E_a = 35.3$  kJ mol<sup>-1</sup>,  $K_{E1} = 7.57$  E-7 y  $K_{E2} = 1.27$ E-8 concuerdan con los valores reportados en la literatura, cada variable de estudio requiere un tiempo de experimentación de 2 a 3 h.

**Palabras clave:** ureasa, urea, cinética enzimática, inhibición por producto, modelo cinético.

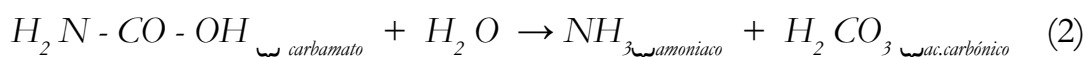
## Antecedentes

La ureasa es una enzima que está ampliamente distribuida en la naturaleza, se encuentra en diferentes organismos como lo son bacterias, algas, algunos invertebrados, plantas superiores y como una enzima del suelo. Al catalizar la hidrólisis de la urea, la ureasa permite que los organismos utilicen urea exógena e internamente generada como fuente de nitrógeno. Las ureasas llaman la atención por el papel que desempeñan en la agricultura, en la salud humana y animal. En la agricultura, la actividad de la ureasa en el suelo es esencial para la liberación de amoníaco de los fertilizantes a base de urea. La ureasa se ha incorporado en dispositivos médicos, por ejemplo, en el riñón artificial para eliminar la urea de la sangre o del dializado, en

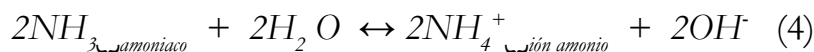
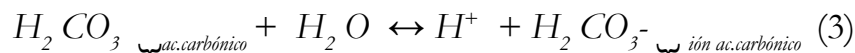


dispositivos analíticos, en biosensores para la determinación de urea y para la determinación de sustancias que son inhibidores de la ureasa. Esta enzima que contiene níquel cataliza la hidrólisis de la urea, la reacción se realiza en dos pasos; en la primera se forma el carbonato de amoníaco, seguida por una segunda reacción espontánea entre la molécula de amoníaco y ácido carbónico para formar amonio (Filadeo, 2003).

Las reacciones estequiométricas que catalizan la hidrólisis de la urea se presentan en las siguientes ecuaciones (1-4). Los productos de la reacción son amoniaco y carbamato (Ec.1), este último se descompone espontáneamente en amoniaco y ácido carbónico (Ec.2):



Los productos liberados: ácido carbónico y amoníaco están en equilibrio con sus iones (Ecs. 3 y 4), resultando en un aumento en el pH de la solución de reacción:



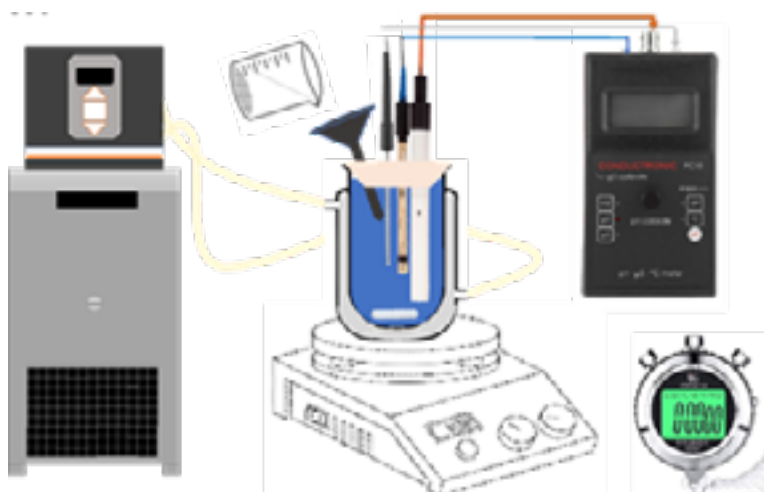
La formación de amonio es un proceso de hidrólisis que depende del pH, si el pH es mayor de 6.3 la urea se hidroliza en amonio y en ion bicarbonato, pero si es menor de 6.2 se descompone en amoniaco, dióxido de carbono y agua (Filadeo, 2003). En el presente trabajo se estudió la cinética enzimática de la ureasa en presencia de la urea, como sustrato, para producir carbonato de amonio. El objetivo del estudio es que el alumno desarrolle habilidades teóricas y experimentales para determinar parámetros cinéticos utilizando modelos diferentes al de Michaelis-Menten.

### Metodología experimental

El estudio experimental se realizó en un reactor intermitente de 100 mL de fondo toriesférico y con chaqueta de calentamiento de fondo plano, se utilizaron 50 mL de urea a diferentes concentraciones (2.5, 5.0, 10, 15, 20, 30, 40 mM) y en cada ensayo se utilizó 50 mL de solución de ureasa con concentración de  $0.2 \text{ g L}^{-1}$ , ambas sustancias de la marca Sigma-



Aldrich. En cada unidad experimental las concentraciones tanto de la urea como de la ureasa de diluyen a la mitad. El reactor se montó en una parrilla de agitación y para mantener la temperatura constante de reacción, se utilizó un baño de recirculación. En el reactor se instaló el electrodo de conductividad iónica, el electrodo de pH y un termopar, los tres sensores se conectaron al medidor Conductronic PC18®. El sistema también cuenta con un orificio para alimentar las soluciones a través de un embudo, las cuales previamente se llevaron a la temperatura de reacción (15 a 50 °C). El estudio cinético se realizó utilizando el método de velocidades iniciales ( $r_0$ ), por lo tanto, para cada ensayo experimental se tomaron en cuenta los primeros 3 minutos de la reacción, el registró de los cambios de conductividad y pH se realizaron cada 5 segundos. En la Fig. 1 se muestra el dispositivo experimental. A partir de una solución madre de carbonato de amonio se prepararon diluciones para realizar una curva de calibración, con la cual se transformaron los datos de conductividad a valores de concentración de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (producto).



**Figura 1.** Esquema experimental para el estudio de la cinética enzimática de la hidrólisis de la urea. Variables de monitoreo: conductividad, pH y T.

### Metodología para estimar los parámetros del modelo cinético

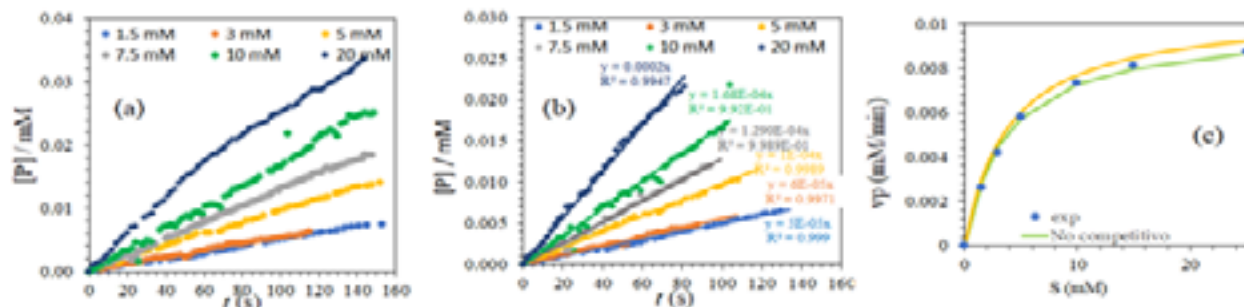
En concordancia con la literatura (Filadeo, 2003), se ha reportado que la cinética enzimática de la hidrólisis de la urea se representa de forma satisfactoria con el modelo cinético no competitivo por inhibición por producto (Ec. 5), en donde se incorpora el efecto de la temperatura y de pH.

$$V_p = \frac{\exp\left[-\frac{E_a}{R}\left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T^*}\right)\right] [E_o][S]}{(K_m + [S])\left(1 + \frac{[P]}{K_p}\right)\left(1 + \frac{10^{-pH}}{K_{E,1}} + \frac{K_{E,2}}{10^{-pH}}\right)} \quad (5)$$

Para estimar los valores de los parámetros cinéticos ( $K_m$  y  $v_{max}$ ), se utilizó el método Linevaver-Burk. La estimación de  $K_p$  se realizó con un método iterativo. Posteriormente, se refinaron los valores de los parámetros a través de la regresión de datos con el método de Levenberg-Marquardt, utilizando el software Polymath versión académica 5.1. Posteriormente, se determinó el efecto de la temperatura sobre la tasa máxima de producción del producto a través de la  $v_{max}$ , recordando que  $v_{max} = k_1[E_o]$ , la constante de velocidad de reacción específica ( $k_1$ ) se determinó por medio de la expresión de Arrhenius en forma linealizada a través del método de logaritmos. Por último, se estudió el efecto del pH inicial sobre la velocidad de formación del producto encontrando las constantes  $K_{E,1}$  y  $K_{E,2}$ .

## Resultados y discusión

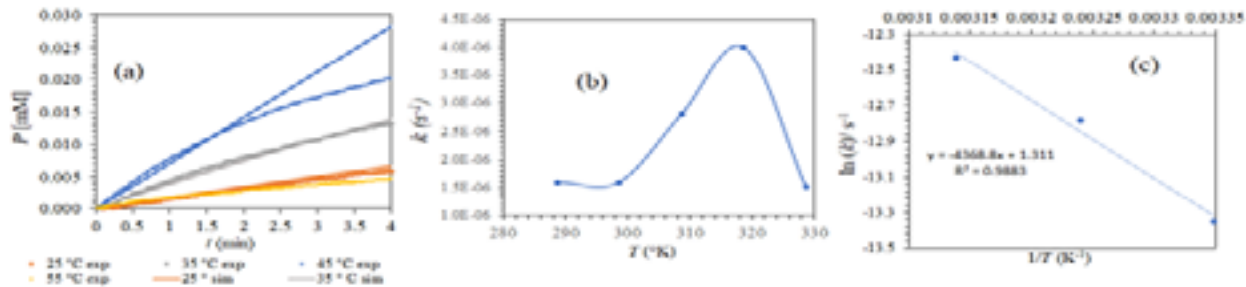
En la Fig. 2(a) se presenta la evolución de la formación de producto a diferentes concentraciones de sustrato, en la Fig. 2(b) se presenta la determinación de las velocidades iniciales a través de la regresión lineal de los primeros tiempos de reacción (comportamiento lineal), en la Fig. 2(c) se reporta la tasa de producción de producto en función de la concentración de sustrato, así como la predicción de los datos experimentales con los modelos de M-M y el modelo no competitivo, en donde se observa que la predicción del modelo no competitivo es mejor con respecto al modelo de M-M.



**Figura 2.** (a) Concentración de  $(NH_4)_2CO_3$  (carbonato de amonio) vs tiempo para cada concentración de sustrato (urea), (b) Determinación de las velocidades iniciales a través de regresión lineal. (c) Velocidad de formación de producto vs concentración de sustrato. Datos experimentales (●), modelo de M-M (■), modelo no competitivo (▲).



En la Fig. 2 se observa que al incrementar la concentración de sustrato aumenta la concentración de producto, después de una concentración de urea de 10 mM la producción (P) no aumenta de forma considerable, efecto que se ve reflejado en la velocidad de formación del producto ( $v_p$ ), indicando que la acumulación de producto en el medio de reacción tiene un efecto inhibitorio. Por lo tanto, el modelo de inhibición competitiva (Ec. 5) es más adecuado para modelar esta reacción. El valor de los parámetros encontrados son los siguientes:  $K_m = 3.252$  mmol L<sup>-1</sup>,  $v_{max} = 0.01156$  mmol L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>,  $K_p = 10.624$  mmol L<sup>-1</sup>, los cuales concuerdan con los reportados en la literatura (Krajewska, 2003).

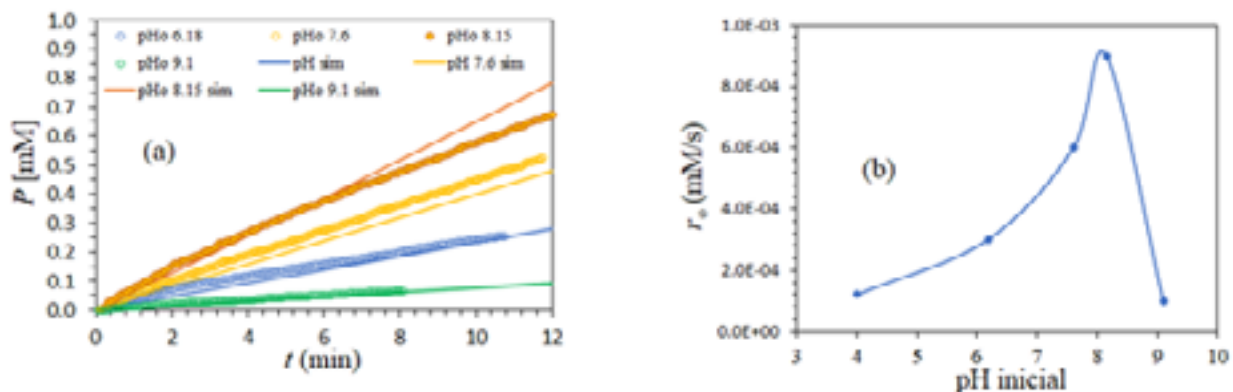


**Figura 3.** (a) Concentración de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (carbonato de amonio) vs tiempo a diferentes temperaturas (25, 35, 45 y 55 °C). (b) Constantes de velocidades específicas (k) en función de la temperatura. (c) Logaritmo de las velocidades específicas en función del inverso de la temperatura para determinar la energía de activación (E<sub>a</sub>). Datos experimentales (●), modelo matemático (—).

En la Fig. 3 se presentan los resultados obtenidos del estudio cinético en función de la temperatura para obtener una expresión de la velocidad máxima en función de la temperatura, las concentraciones de sustrato y de enzima iniciales fueron 25 mM y 0.1 g/L, respectivamente. En la Figs. 3(a) se observa que al incrementar la temperatura de reacción la velocidad de formación de producto también aumenta, intervalo entre 25 y 45 °C, mientras que a 55 °C la tasa de reacción del producto disminuye drásticamente, indicando que a esa temperatura la enzima se desnaturaliza (Fig. 3b). En la Figura 3(c) se muestra la regresión lineal de los logaritmos de las constantes de velocidad de reacción específicas versus el inverso de la temperatura, el valor de la energía de activación (E<sub>a</sub>) se obtiene de la pendiente ( $m = E_a/R$ ). Por último, en la Fig. 3(a) también se muestra la predicción del modelo cinético (Ec. 8) en función de la [E<sub>0</sub>], [S] y T, se observa que el modelo es capaz de predecir el comportamiento experimental de forma satisfactoria.

En la Figura 4 se observa que a un pH de 9.1 la enzima se inactiva y el pH óptimo de la reacción se encuentra en pH = 8.0 (Fig. 4b). En la Fig. 4(a) se presenta la predicción del modelo (Ec. 5), se observa que el modelo aproxima de forma satisfactoria los datos experimentales en todo el intervalo de pH estudiado.





**Figura 4.** (a) Concentración de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (carbonato de amonio) vs tiempo a diferentes valores de pH inicial (6.18, 7.6, 8.15 y 9.1). (b) velocidades iniciales de reacción en función del pH. Datos experimentales (●), modelo matemático (○).

En la Tabla 1 se reporta el valor de los parámetros encontrados del modelo cinético no competitivo con inhibición por producto de la hidrólisis de la urea en función de la  $E_0$ , S, T y pH.

**Tabla 1.** Parámetros del modelo cinético no competitivo con inhibición por producto (Ec. 5).

parámetro	valor	unidades
$v_{max}$	0.0116	$\text{min}^{-1}$
$K_m$	3.252	[mM]
$K_p$	12.624	[mM]
$E_a$	35.3	kJ/mol
$K_{E1}$	7.57E-7	[mM]
$K_{E2}$	1.27E-8	[mM]

## Conclusiones

En el presente trabajo se estudió la cinética enzimática de la hidrólisis de la urea en presencia de la ureasa, se observó que los valores de los parámetros del modelo cinético encontrados concuerdan con los reportados en la literatura. La metodología aquí implementada se puede realizar en una práctica de laboratorio utilizando material y equipo convencional de bioquímica o química, cada variable de estudio (concentración, T y pH) requiere un tiempo de experimentación de 2 a 3 h. Los resultados experimentales permiten al alumno desarrollar habilidades para determinar los parámetros cinéticos tanto de M-M como aquellos que involucran efecto de inhibición.





### Agradecimientos

La presente investigación se realizó gracias al financiamiento otorgado por PAPIME de la UNAM, proyecto PE104122 “Prácticas experimentales y virtuales para la obtención de habilidades en el desarrollo de bioprocesos”

### Referencias

Filadeo M. Lavecchia R., (2003), Kinetic Study of Enzymatic Urea Hydrolysis in the pH Range 4–9, Chem. Biochem. Eng. Q. 17, 4, 311–318.

Krajewska B., Chudy M., Drozdek M., Brzózka Z., (2003), Potentiometric Study of Urease Kinetics over pH 5.36 ± 8.21, Electroanalysis, 15, 5 - 6.





# CONSTRUCCIÓN DE UN CUADRICÓPTERO PARA EL ANÁLISIS DE SUPERFICIES MEDIANTE FOTOGRAMETRÍA CON APLICACIONES EN TOPOGRAFÍA

*Williams de Jesús Martínez Ramírez<sup>1</sup>, Mario Oscar Ordaz Oliver<sup>1\*</sup>, Justo Fabian Montien*

*Hernández<sup>2</sup>, Jesus Patricio Ordaz Oliver<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Escuela de Ingeniería, Ingeniería Mecatrónica, Universidad La Salle Pachuca, México,*

<sup>2</sup> *Escuela Superior Ciudad Sahagún, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México,*

[williams.martinez@lasallep.mx](mailto:williams.martinez@lasallep.mx), [mordaz@lasallep.mx](mailto:mordaz@lasallep.mx), [jordaz@lasallep.mx](mailto:jordaz@lasallep.mx),  
[justo\\_montiel@uaeh.edu.mx](mailto:justo_montiel@uaeh.edu.mx)

## Resumen

El uso de vehículos no tripulados ha revolucionado diversas áreas, desde la exploración marina con submarinos hasta la investigación en Marte. Los vehículos aéreos como los drones también son populares en ingeniería civil, arquitectura e ingeniería ambiental. Este proyecto busca construir un cuadricóptero para realizar levantamientos topográficos eficientes en tiempo y costos, en comparación con los métodos tradicionales como el uso de una estación total. Se propone el uso del vehículo aéreo no tripulado tipo cuadricóptero para capturar fotografías de zonas específicas, utilizando aplicaciones como Google Earth u otro software que proporcione datos georreferenciados para marcar áreas y realizar posteriormente recorridos automáticos con el cuadricóptero aplicando fotogrametría, y obtener de esta manera las fotografías suficientes que puedan ser procesarlas y así obtener modelos 3D.

**Palabras clave:** UAV's, topografía, fotogrametría, procesamiento, georreferencia.

## Antecedentes

En los últimos años el uso de vehículos aéreos no tripulados (UAVs por sus siglas en inglés) mejor conocidos como drones, ha sido cada vez más recurrente en aplicaciones de la



actividad humana en distintos ramos. Por ejemplo, el potencial uso de drones para topografía aérea genera gran impacto al reducirse el costo y tiempo en la ejecución de estas tareas e incrementando la calidad y precisión de dichos estudios. En (Acosta-Ochoa, Jimenez-Delgado, 2013), se estudió el tema fotogrametría y topografía mediante drones, desde la perspectiva de la arqueología, planteando una serie de ventajas respecto a los métodos tradicionales, entre las ventajas que menciona, enfatiza la reducción del costo y el tiempo en la ejecución de estas tareas.

La topografía no ha presentado cambios drásticos en los últimos años, sin embargo, se ha visto ampliamente modificadas las técnicas, métodos e instrumentos de medida con los cuales se efectúan este tipo de tareas. En métodos tradicionales, los levantamientos topográficos se realizan con cinta métrica, con teodolitos y finalmente con la estación total (Del Río-Santana, et al, 2019). En el trabajo antes mencionado, también se abordan métodos recientes, como la fotogrametría a partir de un dron, las imágenes captadas con el vehículo aéreo no tripulado se compararon con los métodos tradicionales antes mencionados. Por consiguiente, aborda el error de medición, los errores en los levantamientos topográficos son considerablemente menores cuando se implementa la fotogrametría con drones que con la cinta métrica, siendo la estación total el método más cercano a las medidas exactas. Por otra parte (Ferreira MR, Aira VG, 2017), aborda el tema “Aplicaciones Topográficas de los Drones” menciona las tareas y aplicaciones de la ingeniería civil que pueden realizarse aplicando la técnica de fotogrametría, también aborda el tema desde el punto de vista de seguridad personal, debido a que, con el uso de drones, es posible obtener y realizar estudios topográficos zonas peligrosas o de difícil acceso, además de evitar poner en riesgo a operadores humanos.

Por otra parte (Rico-Quintero, F.I, 2019) aborda el tema de los drones para fotogrametría, desde la perspectiva ambiental, en donde se utilizan los vehículos aéreos no tripulados para obtener ortofotos que ayuden a identificar zonas afectadas por incendios haciendo implementación de sensores y mediante, dichos estudios ponen en práctica nuevas tecnologías como el internet de las cosas, y componentes en drones que permiten obtener fotográficas de alta calidad. En dicha investigación, los autores utilizaron una cámara Canon de 20 megapíxeles, con una configuración que permite tomar una gran cantidad de fotos por segundo. Ahora bien (Marchamalo, et al, 2021) aborda el tema de fotogrametría desde la ingeniería civil aplicado al control deformacional de estructuras y terrenos, mediante la técnica Structure From Motion, la cual permite generar ortofotos y modelos 3D sin necesidad de conocer posiciones y ángulos de incidencia. En dicha investigación emplean sistemas RTK en los vehículos aéreos no tripulados dichos sistemas permiten obtener resultados con más precisión. Por otro lado, en dicha investigación menciona las tecnologías aplicadas al control deformacional, las cuales están limitadas en zonas de difícil acceso y limitada visibilidad. Por consiguiente,





el autor llevó a cabo el estudio de una presa Arco-Gravedad, en el cual la precisión en deformaciones es de  $\pm 2 \text{ mm}$  para la estructura, de tal forma que el autor confirma que la fotogrametría cuenta con grandes posibilidades a la monitorización de grandes estructuras e infraestructuras. Por otra parte (Ibarra-Duarte, I.A, Ramos-Corella, M.A, 2021) aborda el tema de integración de fotogrametría para la elaboración de modelos digitales, que con ayuda de software especializados ha logrado incrementar su popularidad. Además de la perspectiva general y específica de los alcances con dicha práctica para realizar tareas en el ámbito de la construcción. Consecuentemente el autor realizó una serie de experimentos con los cuales obtuvo un modelo digital de la unidad centro de la Universidad de Sonora, mediante el cual se obtuvieron resultados de diferentes visualizaciones con fechas actualizadas lo cual le permitió realizar una comparativa de diversos factores entre ellos mediciones.

### Objetivo

Construir un vehículo aéreo no tripulado tipo cuadricóptero con la capacidad de realizar la identificación visual de superficies de manera autónoma y precisa, para de optimizar los levantamientos topográficos mediante el uso de la fotogrametría y utilizando software con la precisión (cm/píxel) de tal manera que permita la elaboración de modelos 3D mediante fotografías georreferenciadas tomando puntos en común.

### Plataforma experimental

En dicho proyecto de investigación se construye un vehículo aéreo no tripulado tipo cuadricóptero con el objetivo de realizar tareas de identificación visual en superficies. Buscando analizar, estudiar y segmentar gráficos topográficos. Por lo tanto, es necesario que el UAV implementado cuente con una serie de características de funcionamiento y componentes que le permitan realizar las actividades propuestas. Por consiguiente, se presenta una lista con los principales elementos constitutivos, que han sido seleccionados para la construcción de la plataforma experimental de este proyecto de acuerdo con las actividades o tareas a realizar:

1. Chasis F450 genérico, común en el mercado de fácil acceso y precio accesible.
2. Hélices de polímero 0945 9" pulgadas de extremo a extremo y  $45^\circ$  de ángulo de inclinación" lo que permite una mayor propulsión y empuje.
3. Motores sin escobillas de 4 ejes F-450 F-550, modelo 2212 de 980 Kv.
4. Controladores electrónicos de velocidad o variadores de velocidad ESC (Electronic Speed Controller) a 20A tipo opto-aislado (sin circuito eliminador de batería), su función principal es evitar el sobre calentamiento en casos de carga máxima.



5. Central emisora Radio Master Zorro de 2.4 GHz con 16 canales, con interfaz OpenTx, con un alcance aproximado de 1000 metros, con receptor de telemetría ELRS modelo EP1 y EP2 a 2.4 GHz.
6. Batería LiPo (Litio polimérico) de 14.8 V, 4 celdas, 1550 mAh.
7. Radiolink-Control de vuelo Mini PIX amortiguación de vibración mecánico y por Software.
8. TS100 GPS, para obtener las coordenadas de posición en tareas de seguimiento de trayectorias y en modos de vuelo, incluyendo modos a prueba de fallo.
9. Cámara digital modelo GoPro Hero 10 Black, video en 5.3K, fotografías de hasta 23MP, Cámara lenta 8X a 2.7K.
10. Módulo de telemetría, 3DR Radio de 915 MHz, compatible con Pixhawk, el cual permite la transmisión de datos de aire a tierra.
11. Soportes para dron Impresos en 3D en material PLA



**Figura 1:** Plataforma experimental tipo cuadricóptero con marco F450.

Como se mencionó anteriormente, el UAV debe ser ligero y contar con la capacidad de transportar una cámara de alta definición. Además, requiere estabilidad en vuelo estacionario para mejorar la calidad de captura de la cámara y obtener de esta manera una visualización



correcta de las superficies que se desean analizar. Esto brinda la capacidad de ejecutar tareas de levantamientos topográficos mediante la aplicación de fotogrametría con precisión. Adicionalmente, el vehículo aéreo no tripulado debe ser capaz de seguir trayectorias para definir correctamente los puntos en los que se realizará la captura de imágenes, respetando en todo momento los parámetros dados mediante el software como la altura y la velocidad, de tal manera que para controlar este tipo de parámetros utilizaremos el módulo de telemetría.

La selección de los componentes se realiza teniendo en cuenta la relación peso-potencia. Esta característica impacta en la selección del marco, los motores, las hélices y la cámara. La cámara debe ser ligera, compacta y capaz de capturar fotografías de alta definición.

En el proceso de ensamblaje de un cuadricóptero, se inicia instalando los componentes electrónicos, como la placa de alimentación, que se conecta en la parte inferior de la estructura del dron. Esto posibilita la alimentación de ciertos elementos, tales como el controlador de vuelo y los controladores electrónicos de velocidad (conocidos como ESC por sus siglas en inglés). Luego de soldar y ensamblar los elementos antes mencionados se procede a finalizar el ensamble del marco del dron uniendo los brazos con la placa superior del dron, brindando estabilidad y soporte estructural. La combinación de estos elementos esencialmente da forma y robustez al marco del dron, creando la plataforma básica sobre la cual se montarán y conectarán los demás componentes.

Como controlador de vuelo, se utiliza un MiniPix con FMU V2 de la marca Radiolink. Se instalan posteriormente los motores sin escobillas de 980 kv, particularmente seleccionados debido a su compatibilidad con el modelo genérico de marco de dron F450. Dichos motores desempeñan un importante papel en el manejo y la propulsión del cuadricóptero. Estos motores se conectan cuidadosamente a los controladores electrónicos de velocidad (ESC) Hobbywing Xrotor de 20A, permitiendo un control preciso del cuadricóptero durante el vuelo. La conexión se realiza con precisión a través de la placa inferior del dron, asegurando una alimentación efectiva y confiable de los motores. De igual manera se instala y solda un módulo regulador de voltaje UBEC de 5A de la marca Hobbywing. El UBEC, junto con los controladores electrónicos de velocidad (ESC), se conectan al controlador de vuelo Mini Pix para establecer una comunicación entre el controlador de vuelo Mini Pix Hawk y los motores, obteniendo un suministro de voltaje constante a un nivel de 5 volts, con la corriente eléctrica necesaria. Garantizando el control estable y seguro del dron, manteniendo una tensión constante para el correcto funcionamiento de todos los componentes del sistema. Posterior a la integración de todos los elementos, que incluyen componentes físicos, electrónicos, sensores y actuadores, se procede a instalar el sistema de posicionamiento global (GPS).



Por consiguiente, se procede a montar y conectar el receptor, el cual se configura y vincula con la central emisora. Para avanzar con la configuración y calibración, se emplea el software Mission Planner, que facilita la modificación de los parámetros y diversas propiedades necesarias en el dron para su vuelo. Por otra parte, dentro de Mission Planner, se llevó a cabo la programación del firmware en el controlador de vuelo. Se realiza la calibración precisa del GPS, se afinan los ESC y se ajustan cuidadosamente los canales de la central emisora, garantizando el alcance de sus valores máximos y mínimos de manera exacta. La interfaz principal del software Mission Planner es intuitiva, lo que permite su fácil acceso y manipulación.



**Figura 2:** Interfaz Principal del Software Mission Planner.

Como se muestra en la Figura (2), se puede apreciar la interfaz del software en uso y mediante las diferentes ventanas es posible realizar la configuración de las propiedades y los parámetros de los componentes principales de la plataforma experimental.

## Resultados y discusión

En esta sección, se brinda una breve descripción de los resultados obtenidos durante la fase de construcción y las pruebas de vuelo, realizadas con la plataforma experimental. Estas pruebas de vuelo se llevaron a cabo utilizando el controlador de vuelo mini Pix, que se programaron a través de Mission Planner, utilizando tanto el firmware original como su versión actualizada. Es importante mencionar que todas las pruebas de vuelo arrojaron resultados satisfactorios, destaca la robustez en vuelo lograda gracias a la correcta selección de los componentes, así como su construcción y puesta en marcha. Por otra parte, se presentan los resultados obtenidos mediante la toma de fotografías y videos con la cámara implementada, visualizando las tomas con buena resolución a una altura mayor a 30 metros.



La evidencia de estos resultados se puede apreciar en los videos asociados con los siguientes enlaces, mismos que permiten validar los objetivos propuestos para esta etapa del proyecto:

<https://youtu.be/J7xb5UIhKw8>

[https://youtu.be/IE\\_u29t60DA](https://youtu.be/IE_u29t60DA)

<https://youtu.be/LttHWyk5syA>

<https://youtu.be/Y9-SqRvhPFo>

Lograr los objetivos propuestos de vuelo.

Implementar el uso de la cámara para iniciar tomas fotográficas enfocadas en actividades topográficas.

## Conclusiones

La incorporación de vehículos aéreos no tripulados (UAV's) en la actualidad ha generado una gran cantidad de aplicaciones. Gracias a la continua innovación y desarrollo tecnológico, el uso de dichos dispositivos ha experimentado una creciente demanda, especialmente en el ámbito militar, debido a sus características y flexibilidad de software como de hardware. Esta adaptabilidad permite la configuración y modificación de aspectos como la cámara, sensores, entre otros componentes.

Al construir el dron, resulta esencial considerar de manera específica los materiales, componentes y sistemas requeridos para alcanzar los objetivos establecidos. Desde la selección correcta de motores y hélices para una propulsión adecuada, hasta el tipo de sistema de navegación y cámaras, cada etapa debe ser correctamente planificada y ejecutada.

Por otra parte, a medida que exploramos las diversas aplicaciones y ventajas de estos vehículos, es evidente que este tipo de vehículos aéreos no tripulados se han convertido en herramientas indispensables para la obtención de datos precisos, la mejora y eficiencia de la seguridad en topografía mediante la fotogrametría. Se han alcanzado finalmente los principales objetivos del proyecto, los cuales comprendieron la construcción de la plataforma experimental (UAV), así como las pruebas de vuelo para validar la construcción, poniendo en práctica todos los aspectos y características mencionados, para garantizar el correcto funcionamiento del UAV.

Cabe mencionar que a la plataforma experimental se le ha montado la cámara, misma que se encuentra funcional tomando fotografía y video de alta calidad. Dicho conjunto de fotografías será utilizado en la siguiente etapa para ser procesadas con técnicas de fotogrametría, permitiendo generar un modelo 3D acerca de la superficie sobre la cual se obtuvieron las fotos.





## Agradecimientos

Queremos expresar nuestra gratitud a Universidad La Salle Pachuca por brindarnos la oportunidad de trabajar en sus laboratorios y talleres para la construcción de la plataforma experimental, así como también espacios exteriores para realizar pruebas de vuelo. Estos entornos proporcionaron el escenario perfecto para evaluar y perfeccionar el desempeño de la plataforma, contribuyendo así de manera significativa al éxito de este proyecto de investigación. Estamos sinceramente agradecidos por la oportunidad de utilizar estos recursos y por el constante apoyo recibido por parte de la Universidad La Salle Pachuca.

## Referencias

- Del Rio-Santana, O., Espinoza-Fraire, T., Saenz-Esqueda, A. y Córtes-Martínez, F. (2019). Levantamientos Topográficos con drones, *Revista Ciencia, Ingeniería y Desarrollo, Tec. Lerdo*. Vol 1, p.p. 16-19.
- Ochoa, G. A., & Delgado, G. J. (2013). La fotogrametría digital mediante drone como alternativa en el registro topográfico y 3D de sitios arqueológicos.
- Rico-Quintero, F. I. (2019). Redes de sensores inalámbricos: ampliación de red de sensores de monitoreo ambiental del iteso. Drones para fotogrametría: utilización de vehículos no tripulados para fotogrametría; generación de ortofoto.
- Ferreira, M. R., & Aira, V. G. (2017). Aplicaciones topográficas de los drones. Obtenido de: [http://www.bibliotecacpa.org.ar/greenstone/collect/otragr/index/assoc/HASH0159/314a3cb\\_8\(11\)](http://www.bibliotecacpa.org.ar/greenstone/collect/otragr/index/assoc/HASH0159/314a3cb_8(11).).
- Gómez-Zurdo, R. S., Martín, D. G., González-Rodrigo, B., Sacristán, M. M., & Marín, R. M. (2021). Aplicación de la fotogrametría con drones al control deformacional de estructuras y terreno. *Informes de la Construcción*, 73(561), e379-e379.
- IBARRA DUARTE, I. A. (2021). Integración de la fotogrametría aérea con drones para la elaboración de un modelo digital del Campus Hermosillo Centro de la Universidad de Sonora (Master's thesis, IBARRA DUARTE, IVAN ARTURO).





# VEHÍCULO AUTÓNOMO PARA LA PREVENCIÓN DE ACCIDENTES EN CASA, CAUSADOS POR OBJETOS EN EL PISO

*Luis Fernando Ocampo Rodriguez<sup>1</sup>, Mario Oscar Ordaz Oliver<sup>1\*</sup>, Evelin Gutiérrez Moreno<sup>1\*</sup>, Jesús Patricio Ordaz Oliver<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Departamento de Mecatrónica, Universidad Politécnica de Pachuca,*

<sup>2</sup>*Área académica de Computación y Electrónica, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo,*

[lfor1908@micorreo.upp.edu.mx](mailto:lfor1908@micorreo.upp.edu.mx), [mario.ordaz@upp.edu.mx](mailto:mario.ordaz@upp.edu.mx), [evgutierrez@upp.edu.mx](mailto:evgutierrez@upp.edu.mx),  
[jesus\\_ordaz@uaeh.edu.mx](mailto:jesus_ordaz@uaeh.edu.mx)

## Resumen

El proyecto se enfoca en desarrollar un vehículo autónomo para mejorar la seguridad en el hogar al prevenir accidentes causados por objetos en el suelo. Utiliza la plataforma modular SMARS, que incorpora sensores ultrasónicos e infrarrojos para detectar objetos peligrosos y límites de seguridad. Los sensores ultrasónicos miden distancias con precisión para evaluar la proximidad de obstáculos, mientras que los sensores infrarrojos detectan cambios térmicos y reconocen los límites de la zona a proteger. La combinación de estos sensores permite al vehículo identificar la ubicación de objetos y áreas críticas de prevención. Cuando se detecta un objeto en la zona segura, el vehículo se mueve de manera autónoma para retirarlo, reduciendo así el riesgo de accidentes. La versatilidad de SMARS permite una construcción personalizada para adaptarse a diferentes configuraciones domésticas, mejorando la capacidad de detección y prevención de accidentes.

**Palabras clave:** vehículo autónomo, seguridad en el hogar, sensores, prevención de accidentes, SMARS

## Antecedentes

Los sistemas robóticos ensamblables modulares sin tornillos ofrecen varias mejoras significativas en comparación con los sistemas tradicionales que utilizan tornillos para el ensamblaje. Estas mejoras incluyen la facilidad y rapidez de ensamblaje, ya que, al eliminar



los tornillos, el proceso de unión de los módulos robóticos se vuelve más rápido y sencillo. Además, la flexibilidad y reconfigurabilidad se mejoran, ya que los módulos pueden ser fácilmente desmontados y reensamblados en diferentes configuraciones sin la necesidad de herramientas adicionales. La eliminación de los tornillos también reduce el riesgo de cometer errores durante el ensamblaje, ya que no es necesario ajustar o apretar los tornillos. Esto mejora la calidad y confiabilidad del robot resultante, evitando problemas asociados con uniones mal ajustadas o sueltas (Bluino Electronics, 2020). Los sistemas robóticos modulares sin tornillos fomentan un mayor modularidad en el diseño de robots, ya que los módulos individuales pueden ser intercambiados o actualizados fácilmente para adaptarse a las necesidades específicas de la aplicación (Kevin McAler, 2017). Además, el mantenimiento se simplifica, ya que los módulos defectuosos o dañados pueden ser reemplazados sin tener que desmontar todo el sistema. Esto reduce el tiempo y los costos asociados con el mantenimiento y reparación del robot. Por último, los sistemas robóticos ensamblables modulares sin tornillos mejoran la experiencia del usuario al hacer que la construcción y reconfiguración de robots sea más accesible (Kevin McAler, 2020). Al no requerir herramientas adicionales y simplificar el proceso de ensamblaje, la robótica modular se vuelve más intuitiva y fácil de usar, lo que permite una adopción más amplia en diversos entornos. Es importante tener en cuenta que estos beneficios son teóricos y se basan en el potencial de los sistemas robóticos ensamblables modulares sin tornillos (Kevin McAler, 2021). La implementación práctica y el estado actual de esta tecnología pueden variar y requieren una evaluación cuidadosa.

## Objetivos

Desarrollar un vehículo autónomo basado en la plataforma SMARS, equipado con sensores ultrasónicos e infrarrojos, con el propósito de prevenir accidentes en el hogar ocasionados por objetos en el piso y establecer límites de seguridad en áreas específicas, contribuyendo así a mejorar la seguridad y reducir el riesgo de lesiones en el entorno doméstico.

- Ensamblar el vehículo autónomo utilizando la plataforma SMARS, asegurando la modularidad y adaptabilidad necesarias para su funcionamiento en diferentes entornos domésticos.
- Seleccionar los componentes mecánicos y electrónicos necesarios para construir el robot, considerando factores como la resistencia, durabilidad y costo.
- Programar el vehículo para que, ante la detección de objetos peligrosos en la zona a asegurar, pueda moverse de manera autónoma hacia el objeto, retirarlo del área y restablecer la seguridad en esa zona.



- Realizar pruebas exhaustivas del vehículo en diversos escenarios y hogares, ajustando su funcionamiento para asegurar una detección y respuesta confiables.
- Evaluar la eficacia del vehículo autónomo en la prevención de accidentes y en el establecimiento de límites de seguridad, demostrando su utilidad en la mejora de la seguridad en el hogar.
- Documentar el proceso de diseño y construcción del robot, así como su funcionamiento y los resultados obtenidos en las pruebas realizadas.

### Descripción de la plataforma experimental

En el contexto de la seguridad en el hogar y la aplicación de tecnologías robóticas, la plataforma experimental del proyecto se destaca. Basada en la versátil plataforma modular SMARS, esta plataforma ha sido equipada con sensores ultrasónicos e infrarrojos para abordar problemas de seguridad causados por objetos en el piso. La sección describe en detalle la composición de la plataforma, la funcionalidad de los sensores y cómo estos se combinan para detectar y prevenir situaciones de riesgo. Además, se resalta cómo estos sensores establecen límites de seguridad, brindando protección adicional en el hogar y demostrando el valor de la tecnología robótica en la mejora de la seguridad en el entorno doméstico.

### Diseño SMARS

La construcción y puesta en marcha del robot SMARS es un proceso complejo que requiere una planificación cuidadosa y el uso de herramientas especializadas.

- Elección de Componentes: Seleccionar cuidadosamente los componentes que formarán parte de la plataforma del vehículo autónomo. Esto incluye los módulos de la plataforma SMARS, los sensores ultrasónicos e infrarrojos, así como cualquier otro componente electrónico necesario para el funcionamiento del sistema.
- Ensamble de la Plataforma y sus Módulos: Realizar el ensamblaje de los módulos de la plataforma SMARS siguiendo las indicaciones y el diseño modular de esta plataforma. Hay que asegurar que los módulos se conecten correctamente y que el vehículo tenga la estructura adecuada para la movilidad y detección de obstáculos.
- Conexión de los Componentes Electrónicos: Realizar las conexiones eléctricas entre los componentes electrónicos esenciales, como los sensores ultrasónicos e infrarrojos, los motores y cualquier unidad de procesamiento. Establecer una conexión adecuada garantiza la comunicación y el funcionamiento sin problemas de los diversos elementos del vehículo.



Estos puntos de diseño son fundamentales para la construcción exitosa de la plataforma experimental del vehículo autónomo, asegurando que los componentes se integren de manera efectiva y que el sistema pueda operar de manera autónoma para la prevención de accidentes en el hogar, tal como se ha planteado en el proyecto.

### Elección de componentes

- **Módulos de locomoción:** Estos módulos son responsables de proporcionar el movimiento al robot. Pueden incluir ruedas, orugas u otros mecanismos de locomoción.
- **Sensores Ultrasónicos:** Los sensores ultrasónicos son una elección esencial para detectar objetos en el entorno. Utilizan ondas de sonido para medir distancias y determinar la presencia de obstáculos. Al montar estos sensores en diferentes partes del vehículo, se logra una detección 360 grados alrededor del vehículo, permitiendo una reacción rápida a la presencia de objetos en el piso.
- **Sensores Infrarrojos:** Los sensores infrarrojos complementan la detección al detectar cambios en la temperatura y la emisión de calor. Estos sensores son utilizados no solo para identificar objetos, sino también para establecer límites de seguridad y detectar bordes y límites de la zona a asegurar.
- **Placa de Control y Procesamiento:** Una placa de control y procesamiento es esencial para gestionar los datos recopilados por los sensores, tomar decisiones autónomas y coordinar los movimientos del vehículo. Placas como Arduino o Raspberry Pi son opciones populares y versátiles para esta función.
- **Fuente de Energía:** Un sistema de alimentación confiable es esencial para el funcionamiento continuo del vehículo autónomo. La elección de baterías o fuentes de energía adecuadas debe considerar la duración de la batería y el consumo de energía durante el uso.

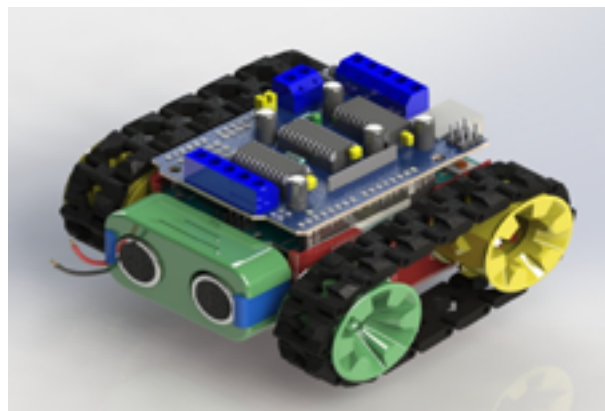
Es importante tener en cuenta que los componentes específicos pueden variar dependiendo del diseño y las necesidades del robot que se desea construir.

### Ensamblaje de la plataforma y sus módulos

El ensamblaje de la plataforma y sus módulos en el “Vehículo Autónomo para la Prevención de Accidentes en Casa” se lleva a cabo siguiendo un proceso organizado y metódico, aprovechando la versatilidad del Sistema Robótico Ensamblable Modular Sin Tornillos (SMARS) y la integración de sensores ultrasónicos e infrarrojos. A continuación, se presentan los pasos clave de este proceso (3DELWORLD, 2023):



- Preparar los Componentes: Reunir todos los componentes necesarios, incluyendo la estructura modular SMARS, los sensores ultrasónicos e infrarrojos, las ruedas y otros elementos electrónicos requeridos.
- Ensamblar la Base: Comenzar ensamblando la base del vehículo utilizando los módulos y conectores SMARS. Asegurarse de que los módulos encajan correctamente y estén asegurados sin tornillos.
- Instalar los sensores: Integrar los sensores ultrasónicos e infrarrojos en las plataformas de montaje designadas. Asegurarse de conectar los cables ordenadamente y que los sensores estén orientados adecuadamente.
- Conectar los componentes electrónicos: Conectar los componentes electrónicos adicionales, como la placa de control y los motores, siguiendo el esquema eléctrico y las instrucciones del proyecto.
- Verificar las Conexiones: Revisar todas las conexiones para asegurarse de que estén correctamente conectadas y ubicadas. Verificar la polaridad y asegurarse de que no haya cables sueltos o conexiones erróneas.
- Ajustar y Calibrar: Realizar ajustes en la orientación de los sensores y la configuración de los componentes electrónicos si es necesario, para asegurar un rendimiento óptimo.
- Cerrar y Asegurar: Una vez completadas las pruebas y ajustes, cerrar la cubierta protectora de manera segura, asegurándose de que los cables estén ordenados y acomodados adecuadamente.



**Figura 1.** Sistema SMARS (Kevin N, 2017).



El ensamblaje de la plataforma y sus módulos en este vehículo autónomo combina el modularidad del sistema SMARS que se muestra en la Figura 1, con la precisión de los sensores ultrasónicos e infrarrojos, creando una solución integral para la prevención de accidentes en el hogar causados por objetos en el piso.

### Conexión de los componentes electrónicos

La interconexión efectiva de los componentes electrónicos es fundamental para el funcionamiento fluido y autónomo del “vehículo autónomo para la prevención de accidentes en casa”. A través de una cuidadosa disposición y conexiones, se garantiza que los sensores ultrasónicos, sensores infrarrojos y otros elementos clave trabajen en conjunto para lograr una detección precisa y una respuesta rápida a los objetos en el piso como se indica en la Figura 2.



N.º DE ELEMENTO	N.º DE PIEZA	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
1	Chasis	Es la estructura base sobre la cual se ensamblan y conectan los componentes electrónicos del robot	1
2	Motor Pololu	Proporciona la fuerza necesaria y controla la tracción del robot	2
3	holding_board_9V	Soportes para conectar la batería	1
4	9V battery	Fuente de alimentación portátil para permitir su funcionamiento sin cables y de manera autónoma	1
5	9V Battery Clip Connector	Para hacer conexiones con la batería y la tarjeta de control	1
6	ultrasonic_1	Tapa para la cubierta del sensor	1
7	ultrasonic_2b_V2	Es la conexión entre la base del sensor y el chasis	1
8	Ultrasonic HC-SR04	Para medir distancias y evitar obstáculos	1
9	Arduino UNO	Tarjeta de control principal	1
10	Shield L293D	Tarjeta para controlar la dirección de los motores	1
11	Master_wheel	Ruedas maestras que se conecta con el chasis y los motores	2
12	Slave_wheel	Ruedas esclava unida por la oruga con la rueda maestra	2
13	mechanical_track	Eslabones que se correte para la oruga	32

Figura 2. Componentes del robot modular SMARS.



A continuación, se describe la conexión de los componentes electrónicos en este proyecto:

- **Sensores Ultrasónicos y Sensores Infrarrojos:** Los sensores ultrasónicos y los sensores infrarrojos están conectados a la placa de control y procesamiento (por ejemplo, Arduino o Raspberry Pi) a través de pines digitales y/o analógicos. Estos sensores proporcionan información sobre la distancia a objetos y cambios en la temperatura, respectivamente. Los datos recopilados por estos sensores se utilizan para tomar decisiones autónomas y coordinar los movimientos del vehículo.
- **Plataforma SMARS Modular:** La plataforma SMARS actúa como la base física para los componentes electrónicos. Los sensores se montan en puntos estratégicos de la plataforma para asegurar una cobertura completa alrededor del vehículo. Además, la estructura proporciona soporte para el sistema de propulsión y otros componentes esenciales.
- **Placa de Control y Procesamiento:** La placa de control y procesamiento juega un papel crucial en la interconexión de los componentes. Recopila los datos de los sensores ultrasónicos e infrarrojos, los procesa para determinar la presencia de objetos y la ubicación de los límites de seguridad. Luego, envía señales al sistema de propulsión para mover el vehículo de manera adecuada.
- **Fuente de Energía:** La fuente de energía, como baterías o una fuente de alimentación externa, se conecta al sistema de propulsión y la placa de control. Asegura que todos los componentes funcionen de manera continua y eficiente durante la operación del vehículo.
- **La conexión efectiva de estos componentes electrónicos** permite que el vehículo autónomo detecte objetos en el piso, establezca límites de seguridad y responda de manera autónoma para evitar colisiones. Esta armoniosa interacción es esencial para lograr la funcionalidad integral del vehículo y su capacidad para prevenir accidentes en hogares y áreas de juego.

## Resultados y discusión

La fase de resultados experimentales representa el corazón de la evaluación del “Vehículo autónomo para la prevención de accidentes en casa”. Esta etapa crucial brinda una visión detallada de cómo la plataforma desarrollada, basada en el proyecto SMARS con sensores ultrasónicos e infrarrojos, logra su objetivo de prevenir accidentes causados por objetos





en el piso y establecer límites de seguridad en el entorno doméstico. En esta sección, examinaremos los desafíos enfrentados, la metodología de prueba y los resultados obtenidos, para comprender cómo el vehículo autónomo demuestra su capacidad de mejorar la seguridad en el hogar de manera efectiva y confiable. Se evaluaron los resultados de un vehículo autónomo basado en el proyecto SMARS, equipado con sensores ultrasónicos e infrarrojos para prevenir accidentes domésticos. En experimentos, el vehículo detectó con precisión objetos en su camino, evitando colisiones y manteniéndose dentro de los límites de la zona predefinida. Los sensores mostraron una respuesta rápida y eficaz. Esto sugiere que este enfoque podría ser prometedor para aumentar la seguridad en el hogar al evitar accidentes causados por objetos en el piso.

La evaluación exhaustiva de los resultados experimentales refleja de manera concluyente el éxito y la efectividad del “Vehículo autónomo para la prevención de accidentes en casa”. La combinación de la plataforma SMARS, los sensores ultrasónicos e infrarrojos, y la programación autónoma ha demostrado ser una solución sólida para abordar el desafío de prevenir accidentes causados por objetos en el piso en entornos domésticos. Los experimentos han demostrado que el vehículo autónomo es capaz de detectar objetos de manera precisa y reaccionar de manera oportuna para evitar colisiones. La capacidad del vehículo para establecer límites de seguridad en la zona a asegurar se ha validado con éxito, lo que demuestra su versatilidad y adaptabilidad para diferentes configuraciones domésticas. Los resultados también han confirmado la eficiencia en la detección y prevención de riesgos, lo que resalta el potencial del vehículo autónomo para contribuir significativamente a la seguridad del hogar. Además, la combinación de sensores ultrasónicos e infrarrojos ha demostrado ser una elección acertada para lograr una detección precisa en diversas condiciones. En conjunto, los resultados experimentales respaldan la viabilidad y el impacto positivo del “Vehículo autónomo para la prevención de accidentes en casa”. Este proyecto representa una innovadora aplicación de la tecnología robótica en el ámbito de la seguridad doméstica, y sus resultados prometen una contribución valiosa a la prevención de accidentes y al bienestar de los habitantes del hogar. Esta fase experimental no solo valida la eficacia del vehículo autónomo, sino que también señala un horizonte prometedor de posibilidades para su mejora y evolución en busca de una seguridad aún más completa en los hogares.

## Conclusiones

El proyecto “vehículo autónomo para la prevención de accidentes en casa” representa una solución ingeniosa y efectiva para abordar los riesgos relacionados con objetos en el piso en entornos domésticos. La integración de tecnologías avanzadas como la plataforma SMARS, sensores ultrasónicos e infrarrojos, y la programación autónoma, demuestra cómo la robótica





puede marcar una diferencia tangible en la seguridad y bienestar en el hogar. Este proyecto no solo introduce un enfoque proactivo para prevenir accidentes al detectar y retirar objetos peligrosos, sino que también establece límites de seguridad en áreas críticas. La adaptabilidad de la plataforma SMARS garantiza que el vehículo autónomo pueda personalizarse para diferentes configuraciones domésticas, asegurando una solución aplicable a diversos entornos.

La utilización de sensores ultrasónicos e infrarrojos potencia la precisión y confiabilidad de la detección, permitiendo al vehículo identificar objetos y establecer zonas seguras con rapidez y eficacia. La respuesta autónoma del vehículo a situaciones de riesgo resalta cómo la tecnología robótica puede colaborar con los humanos para crear hogares más seguros y libres de peligros. En conclusión, el proyecto no solo muestra el potencial de la robótica en la vida cotidiana, sino que también ofrece una solución concreta para prevenir accidentes domésticos. Este proyecto demuestra cómo la innovación tecnológica puede marcar una diferencia significativa al reducir riesgos y proporcionar tranquilidad a los habitantes del hogar, reforzando así la importancia de la seguridad en nuestros entornos más cercanos.

### Agradecimientos

Queremos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a la UPP por su generoso apoyo al permitirnos trabajar en sus diversas instalaciones, como talleres y laboratorios, para construir y probar este prototipo SMARS. Su compromiso inquebrantable con la promoción de la innovación y el acceso a recursos de vanguardia ha sido fundamental en el desarrollo de este proyecto. Estamos verdaderamente agradecidos por las oportunidades y recursos invaluable que la UPP ha proporcionado, los cuales han desempeñado un papel crucial en la materialización de la visión de los autores de este trabajo.



## Referencias

- 3DELWORLD. (2023, 11 de febrero). *3D printing meets robotics: How to make your own SMARS robot #3dprinting* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=mft36w5Hl1I>
- Bluino Electronics. (2020, 3 de agosto). *DIY arduino bluetooth car | SMARS robot arduino car tank bluetooth* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=Vu8FWGOOkw>
- Instructables. (2020, 5 de agosto). *How to build SMARS robot - arduino smart robot tank bluetooth.* <https://www.instructables.com/SMARS-Robot-Arduino-Smart-Robot-Tank-Bluetooth/>
- Kevin McAleer. (2020a, 25 de julio). *SMARS TCRT5000 line following module & arduino - programming robots* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=u9VT32q7ero>
- Kevin McAleer. (2020b, 14 de septiembre). *3D print the SMARS parts* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=JpG0nKY4wM4>
- Kevin McAleer. (2020c, 21 de septiembre). *Assembling the SMARS parts & soldering* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=t8yl0TS4qHA>
- Kevin McAleer. (2020d, 28 de septiembre). *Wiring up the SMARS Electronics* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=RqoC1wNR7no>
- Kevin McAleer. (2020e, 11 de octubre). *SMARS next steps & recap* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=pkXVYTFfwkU>
- Kevin McAleer. (2021a, 5 de enero). *How to 3d print a SMARS robot* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=CnqgSRkvhZw>
- Kevin McAleer. (2021b, 7 de enero). *What can a SMARS robot do?* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=aXW4dqvjFx0>
- Kevin N. (2017, 2 de diciembre). *SMARS 3D Printed modular robot* [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=JCqkuDWNzIg>
- SMARS fan.* (s.f.). SMARS Fan. <https://www.smarsfan.com/>
- SMARS modular robot by tristomietitoredeituit.* (s.f.). Thingiverse - Digital Designs for Physical Objects. <https://www.thingiverse.com/thing:2662828>





# UN ANÁLISIS DIFUSO BASADO EN PROCESOS ANALÍTICOS PARA PRIORIZAR LAS BARRERAS EN EL DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS DE ENERGÍA RENOVABLE EN ALINEACIÓN CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LAS NACIONES UNIDAS: EVIDENCIA DE GUAJIRA/COLOMBIA

Christian Manuel Moreno Rocha<sup>1,2</sup>, Jorge D. Pertuz Ortiz<sup>2</sup>, Neyder A. Rodríguez Ibáñez<sup>2</sup>,  
Christian Camilo Sarabia Hadechini<sup>1</sup>, Luisana Mercado Vega<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de electrónica y Computación, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain,

<sup>2</sup>Departamento de Energía, Universidad de la Costa CUC, Barranquilla, Colombia

<sup>1</sup>[christianmanuel.moreno.rocha@usc.es](mailto:christianmanuel.moreno.rocha@usc.es)

## Resumen

Colombia es un país que se caracteriza por ser potencial en muchas fuentes de energías renovables y sostenibles. En este país el valor de crecimiento de la energía renovable (ER) aún no ha alcanzado un punto de referencia, esto debido a la existencia de varias barreras o limitaciones que han dificultado el camino de investigación e implementación. Resulta difícil el poder identificar el impacto de estas barreras que en su mayoría obstaculizan el crecimiento en la calidad de vida de alguna población en específico. De la misma forma, este estudio tiene como objetivo reconocer y clasificar barreras según su impacto en el desarrollo de tecnologías de energía renovable, así mismo demostrar la no relación que puede existir entre un territorio rico en potencial energético y la buena calidad de vida de sus habitantes. Por lo tanto, este estudio consta de cuatro fases vistas más adelante.

**Palabras clave:** Métodos de decisión, lógica difusa, energías renovables, limitantes de las energías renovables, potencial energético.



## Antecedentes

Cuando se habla de barreras o limitantes en la investigación e implementación de las energías renovables, por lo general la literatura muestra solo algunos factores base los cuales se definen de la siguiente manera (Haykir et al., 2023):

### *Escasez de recursos renovables:*

Las fuentes de energía renovables son intrínsecamente inestables, razón principal por la que no se utilizan ampliamente, las redes de distribución eléctrica renovable existentes compensan esta situación con instalaciones e implementación a base de combustibles fósiles o de uranio para asegurar y garantizar el suministro (Isah et al., 2023). Siempre que la participación de las energías renovables en un mercado eléctrico represente alrededor del 20-30 % del total, los costos adicionales del sistema para compensar el consumo son en general aceptables, especialmente para evitar los recortes de energía y así favorecer la reducción de CO<sub>2</sub> y las importaciones de combustible se consideran no económicos (Nasirov et al., 2023). Sin embargo, si las renovables aportan la mayor parte de la energía a la red, se necesitan otras medidas para asegurar el suministro cuando no hay viento y en días nublados cuando no hay radiación solar, por colocar estos dos ejemplos (Bax et al., 2023). Considerando la situación anterior, los países de la Comunidad Europea suelen utilizar el intercambio de electricidad entre países para equilibrar la diferencia de recursos y generación renovable entre localidades o regiones; Por ejemplo, en el caso particular de España, esta elección es muy limitada debido al tamaño de sus vínculos energéticos con Francia, lo que la convierte en una verdadera isla energética (Carolli et al., 2022).

Si se es aprovechado adecuadamente los recursos renovables no convencionales de este país, además que se logren mitigar las barreras que impiden la investigación e implementación de tecnologías con fuentes renovables, se podría esperar para el 2050 se habría no solo suplido la demanda nacional, sino que también la superaríamos en un 40% (Rosso Cerón et al., 2017). Ante la idea anterior el estado colombiano ha empezado a darse cuenta de este potencial, por lo que llevo a cabo en el año 2014 con la implementación de la Ley 1715 para impulso y desarrollo de energías renovables no convencionales, como se expresó anteriormente; lo que conllevaría aprovechar estos recursos por lo que se han trazado una serie de proyectos alrededor de las diferentes regiones que conforman a este país. Todas las estrategias ya generadas y las próximas que se logren generar, tiene la necesidad de explorar nuevas vías para utilizar esta fuente de energía para apoyar la energía limpia y asequible, y la acción climática, tal y como se indica en la Declaración de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible través de los Objetivos de Desarrollo Sostenible establecidos en el año 2015 (Pereira et al., 2023).



Este documento se basa en un proceso de investigación, recolección e interpretación con base a la recopilación de datos sobre el desarrollo de las tecnologías en una zona específica teniendo como punto de enfoque uno de los departamentos más empobrecidos y con mayor potencial como lo es La Guajira. Este trabajo pretende revisar las pruebas que apoyan la generación de energía utilizando la radiación solar, y su impacto a esta comunidad, identificando y jerarquizando esas barreras y/o limitaciones que no permiten la sabia explotación e implementación de fuentes de energías renovables.

**Tabla 1:** Nuevos Proyectos de generación eólica en La Guajira (SIEL, 2021) Elaboración autor

Municipio	Nombre	Capacidad (MW)	Entrada de operación
Uribia	Proyecto de generación de energía eólica kappa	500	31/12/2024
Maicao	Parque Eólico Guajira II	414	1/06/2024
Uribia	Andre Jusayu (antes cerrito)	378	30/06/2025
Maicao	Proyecto de generación de energía eólica Omega	300	31/12/2023
Maicao	Proyecto de generación de energía eólica Elipse	200	31/12/2023
Uribia	Proyecto eólico Wakuaipa	200	1/01/2024
Uribia	Parque eólico Carrizal	195	28/02/2023
Manaure	Parque eólico Musichi	194	31/12/2022
Uribia	Parque eólico Casa electrica	180	28/02/2023
Uribia	Jouttalein SAS	150	1/07/2026
Fonseca	San Juan eólico	103	31/07/2022
Uribia	Parque eólico Irraipa	99	28/02/2023
Uribia	Parque eólico Apotolorry	75	28/02/2023
Rioacha	Parque eólico El Ahumado	50	1/04/2022
Maicao	Planta eólica NOE	9,9	30/12/2023
Maicao	Planta eólica Manita	9	31/12/2023
Maicao	Planta eólica Jehova	9,9	1/01/2024
Uribia	Parque eólico Jotomana - Apotolorry II	99	28/02/2023
Maicao	Beta	280	1/12/2022
Uribia	Eólico Camelias	268	27/12/2023
Maicao	Alpha	212	1/11/2022
Uribia	EO200i	201	28/02/2023

En la Tabla 1 se observan los proyectos a futuro de la generación eólica en el departamento de la Guajira, donde se puede apreciar la potencia de generación que se espera que para la mitad del 2025 sea un total de 4126,8 MW, solo en energía eólica, mientras que en la tabla 2 se aprecia la capacidad de generación de los futuros proyectos en generación solar que se estima que para a inicios del 2026 de posea una generación total de 1225 MW, evidenciando así el alto potencial en fuentes renovable de la zona de estudio.



Acorde a la literatura consultada tales como, literatura científica, bases de datos como Dialnet, Scielo, Google Scholar, Scopus, WOS, IEE, repositorio de universidades, libros, informes de fundaciones e informes del Departamento Administrativo Nacional de Estadística de Colombia “Dane”, se lograron establecer algunos criterios y subcriterios de gran relevancia nacional e internacional actuantes como limitadores y/o barreras en la investigación e implementación de las energías renovables, para mejor comprensión ver tabla 3

**Tabla 2. Nuevos Proyectos de generación solar en La Guajira (SIEL, 2021) Elaboración autor**

Municipio	Nombre	Capacidad (MW)	Entrada de operación
El Molino	Planta fotovoltaica solar Guardientera	181	6/03/2023
Uribia	Parque eólico Trupillo	100	31/12/2025
Maicao	Parque Solar Cuestecitas	600	1/10/2024
San Juan del Cesar	San Juan Solar	100	31/12/2021
San Juan del Cesar	Planta solar fotovoltaico WIMKE	76	31/12/2023
El Molino	PSFV Potreritos	168	31/12/2023

**Tabla 3 Clasificación de criterios acorde a sus subcriterios**

Barreras sociales y económicas (BSE)	Falta de conciencia social BSE1
	Falta de aceptación social BSE2
	Alto costo de capital BSE3
	Falta de acceso a créditos/fondos BSE4
Política y barreras políticas (BPP)	Falta de un proceso de decisión transparente BPP1
	Falta de una política de energía renovable BPP2
	Corrupción y nepotismo BPP3
	Inestabilidad política BPP4
	Inseguridad y/o Terrorismo BPP5
Barreras técnicas (BT)	Falta de personal calificado BT1
	Escasez de institutos de formación BT2
	Falta de instalaciones de investigación BT3
	Falta de emprendedores e innovaciones BT4
	Uso de tecnologías no adecuadas y/o no actualizadas BT5
Barreras administrativas y de mercado (BAM)	Falta de capacidad institucional BAM1
	Falta de coordinación entre instituciones BAM2
	Tamaño insuficiente del mercado BAM3
	Falta de competencia en el mercado BAM4
	Falta de tratados y/o convenios internacionales BAM5
Barreras geográficas y ambientales (BGA)	Disponibilidad de energía renovable BGA1
	Condiciones geográficas climáticas BGA2
	Requerimiento de tierras BGA3
	Necesidad de eliminación de residuos BGA4
	Ocupación de tierras indígenas BGA5





Por otro lado, esta investigación busca aportar y simplificar en los procesos de tomas de decisiones, convirtiéndose en una herramienta poderosa para las futuras investigaciones donde se desee encontrar la mejor solución u opción frente a un grupo de alternativas referentes a la mitigación o eliminación de las barreras en la implementación de fuentes de energías renovables. De manera inherente en esta investigación se abordaron una serie de preguntas, que fueron utilizadas para el plasmar los objetivos abordados, las inquietudes fueron:

**¿Cuáles son los criterios más adecuados para evaluar las limitaciones en la investigación e implementación de fuentes de energías renovables en un territorio?**

**¿Qué criterios de sostenibilidad y cuales son relevantes para la estructura de evaluación? ¿Cuál es la importancia relativa de los criterios y/o subcriterios que se identifiquen?**

**¿Qué subcriterio cuenta con más o menos importancia absoluta y relativa en cada criterio?**

Estas preguntas fueron respondidas a través de un enfoque de estudio estadístico que involucró a expertos en el campo de las energías renovables, para validar y consolidar los criterios identificados para la identificación y jerarquización, provenientes de la literatura existente. Por último, esta investigación hace un doble tributo a la planificación en la investigación e implementación de las distintas fuentes de energías renovables que podrían utilizarse en alguna zona en específico al abordar las preguntas de investigación plasmadas anteriormente, en primer lugar, proporciona una estructura de evaluación para evaluar la viabilidad de diferentes medidas, lo que permite a las zonas de estudios cualquier que sea el poder identificar aspectos en los que se requieren cambios o seleccionar una medida óptima en este caso para la implementación de vehículos eléctricos. En segundo lugar, presenta criterios y subcriterios igualmente importantes que a menudo no se tienen en cuenta en la planificación de las medidas de la política de las energías renovables.

## Metodología

Esta sección presenta los conceptos fundamentales que guiaron este estudio. La intención no es cubrir todos los temas, sino proporcionar información de apoyo esencial para comprender de muy buena forma el objetivo de la investigación, el contexto y los resultados, en esta investigación inicialmente se una caracterización de una población en específico, le busco evidenciar la realidad social, económica, ambiental y energética de esta. Para llevar a cabo esta caracterización se procedió a consultar en las diferentes bases de datos gubernamentales e investigativas existentes.





Sucede que las caracterizaciones de naturaleza poblacional logra obtener como resultados información sobre la estructura y gran cantidad de atributos identitarios de diversos colectivos de personas con continuidad evolutiva en el tiempo, que según sus diferencias configuran formas particulares de ser y estar en un territorio, en esta investigación se tomó al departamento de la Guajira en el país de Colombia, por ser esta zona un territorio muy rico en recursos naturales, que la hacen ser un potencial en implementación de fuentes de energías renovables, sin embargo pese a esta disposición natural, esta zona de dicho país, es una donde sus habitantes padecen una mala calidad de vida (Christian Manuel Moreno Rocha et al., 2022) among them the inadequate selection of criteria and sub-criteria for assessing the relevance and credibility of the implemented projects, which is very important today, causing huge losses from many points of view. It is proposed to implement a multicriteria methodology (MMCM. Estos estudios de caracterización de una población vs sus potenciales energéticos posibilitan, además, focalizar la atención en el garantizar o en reestablecer el goce efectivo de derechos de los grupos poblacionales, el reconocimiento de su diversidad y multiculturalidad como una riqueza social, las particularidades y desigualdades que obstaculizan o posibilitan su acceso a las dinámicas y beneficios del desarrollo social y territorial (Thomasi et al., 2022). La importancia de dirigir de forma correcta, las formas adecuadas, los ejercicios de caracterización poblacional, radica en que permiten fundamentar el diseño, ajuste e implementación de políticas públicas con miras a transformar situaciones consideradas como problemáticas, y ofrecer bienes y servicios que respondan satisfactoriamente a las necesidades e intereses de los grupos poblacionales (Zhu et al., 2022).

Por otro lado, se procedió con la implementación del método analítico jerárquico con lógica difusa con el objetivo de priorizar las barreras que se pueden presentar en la implementación de energías con fuentes renovables, en la zona de estudio anteriormente mencionada (Christian M. Moreno Rocha et al., 2022) as well as evidence the current challenges and development prospects. The high demand for electricity in Colombia is increasing due to the great increase in population, industry and commerce, which generates greater energy consumption and as a consequence economic, social and environmental problems. The objective of this study was to analyze the behavior of the energy projects submitted to the Mining Energy Planning Group (UPME, para la explicación de esta metodología se procedió a separarlas por secciones para su mejor entendimiento.





## 2.1 Operaciones con conjuntos difusos

- El conjunto complementario  $A^c$  de un conjunto difuso  $A$  es aquel cuya función característica viene definida por (Díaz et al., 2022):

$$m_{A^c}(x) = 1 - m_A(x)$$

- La unión de dos conjuntos difusos  $A$  y  $B$  es un conjunto difuso  $A \cup B$  en  $U$  cuya función de pertenencia es:

$$m_{A \cup B}(x) = \max(m_A(x), m_B(x))$$

- La intersección de dos conjuntos difusos  $A$  y  $B$  es un conjunto difuso  $A \cap B$  en  $U$  con función característica:

$$m_{A \cap B}(x) = \min(m_A(x), m_B(x))$$

Los principales operadores que cumplen las condiciones para ser t-conormas son el operador máximo y la suma algebraica

$$m_{A \cup B}(x) = m_A(x) + m_B(x) - m_A(x) m_B(x)$$

y los principales operadores que cumplen las condiciones para ser t-normas son el operador mínimo y el producto algebraico

$$m_{A \cap B}(x) = m_A(x) m_B(x)$$

## 2.2 Relaciones difusas

$$R(U, V) = \{(x, y), m_R(x, y) \mid (x, y) \in U \times V\}$$

Supongamos

$$R(x, y) \quad S(x, y)$$

Son relaciones en el mismo espacio producto  $U \times V$  La intersección o unión entre  $R$  y  $S$ , que son composiciones entre las dos relaciones, se definen como (Yang et al., 2022):

$$m_{R \cap S}(x, y) = m_R(x, y) * m_S(x, y)$$

$$m_{R \cup S}(x, y) = m_R(x, y) \sqcup m_S(x, y)$$



Si  $R \circ S$ ,  $R$  y  $S$  pertenecen a universos discretos de discurso. Se define como una relación difusa en  $U \times W$  cuya función de pertenencia viene dada por:

$$m_{R \circ S}(x, z) = \sup_{y \in V} [\mu_R(x, y) * \mu_S(y, z)]$$

dónde el operador sup es el máximo y el operador  $*$  puede ser cualquier t-norma. En función de la t-norma elegida podemos obtener distintas composiciones; las dos composiciones más usadas son la composición máx-min y la composición máx-product:

- La composición máx-min de las relaciones difusas  $R(U, V)$  y  $S(V, W)$ , es una relación difusa  $R \circ S$  en  $U \times W$  definida por la función de pertenencia

$$\mu_{R \circ S}(x, z) = \max_{y \in V} \min[\mu_R(x, y) * \mu_S(y, z)]$$

Donde

$$(x, z) \in U \times W$$

- La composición máx-product de las relaciones difusas  $R(U, V)$  y  $S(V, W)$ , es una relación difusa  $R \circ S$  en  $U \times W$  definida por la función característica

$$\mu_{R \circ S}(x, z) = \max_{y \in V} [\mu_R(x, y) * \mu_S(y, z)]$$

Donde

$$(x, z) \in U \times W$$

### 2.3 Implicación difusa

Como ya hemos visto, en términos de teoría de lógica difusa la proposición “Si  $u$  es  $A$ , entonces  $v$  es  $B$ ” donde  $u \in U$  y  $v \in V$ , tiene asociada una función característica  $m_{A \rightarrow B}(x, y)$  que toma valores en el intervalo. Ejemplos de posibles funciones características asociadas, extraídas de aplicar las analogías entre operadores y la tautología antes mencionada, son (Maity et al., 2022):

$$m_{A \rightarrow B}(x, y) = 1 - \mu_{A \cap B}(x, y) = 1 - \min[\mu_A(x), 1 - \mu_B(y)]$$

$$m_{A \rightarrow B}(x, y) = \max[1 - \mu_A(x), \mu_B(y)]$$

$$m_{A \rightarrow B}(x, y) = 1 - \mu_A(x), \mu_B(y)$$

En lógica difusa el Modus Ponens se extiende a lo que se llama Modus Ponens Generalizado y que puede resumirse de la siguiente forma:





Premisa 1: “u es A\*”

Premisa 2: “SI u es A ENTONCES v es B”

Consecuencia: “v es B\*”

En dónde el conjunto difuso A\* no tiene por qué ser necesariamente el mismo que el conjunto difuso A del antecedente de la regla y el conjunto difuso B\* tampoco tiene por qué ser necesariamente el mismo que el conjunto difuso B que aparece en el consecuente de la regla.

Así pues, el Modus Ponens generalizado es una composición difusa en la que la primera relación difusa es el conjunto difuso A\* y que puede expresarse:

$$\mu_{B^*}(y) = \sup_{x \in A^*} [\mu_{A^*}(x) * \mu_{A \rightarrow B}(x,y)]$$

teniendo en cuenta que, en las aplicaciones de la lógica difusa a la ingeniería la función característica de la implicación se construye con los operadores mínimo y producto, que además de ser los más simples conservan la relación causa-efecto, tendremos dos opciones a elegir:

$$\mu_{A \rightarrow B}(x,y) = \min[\mu_A(x), \mu_B(y)]$$

$$\mu_{A \rightarrow B}(x,y) = [\mu_A(x), \mu_B(y)]$$

### 2.4 Métodos de des-difusión

- Método del máximo: se elige valor para la variable de salida aquel para el cual la función característica del conjunto difuso de salida es máxima. En general no es un método óptimo, ya que este valor máximo puede ser alcanzado por varias salidas.
- Método del centroide: utiliza como salida del sistema el centro de gravedad de la función característica de salida. Matemáticamente (Kabir et al., 2022):

$$y = (\int y \mu_A(y) dy) / (\int \mu_B(y) dy)$$

Es el método más utilizado en aplicaciones de la lógica difusa a la ingeniería ya que se obtiene una solución única, aunque a veces es difícil de calcular.

- Método de la altura: se calcula para cada regla el centro de gravedad del conjunto difuso de salida Bm y después se calcula la salida del sistema como la media ponderada:

$$y_b = (\int y_m^- \mu_{B_m}(y_m^-) dy) / (\int \mu_{B_m}(y_m^-) dy)$$



### 2.5 Análisis con lógica difusa

Si  $X = \{x_1, x_2, x_3, \dots, x_n\}$  es un conjunto de objetos y  $U = \{u_1, u_2, u_3, \dots, u_n\}$  un conjunto de objetivos, de acuerdo con el método de análisis extendido de Chang (1996), se desarrolla el análisis ampliado para cada uno de los valores de los objetos; de este modo se pueden obtener para cada objetivo (Manuel, Rocha, Domíngue, et al., 2022). Por lo tanto, los valores de análisis extendido de  $m$  se pueden obtener con la siguiente notación (He et al., 2022):

$$M_{g^1}^1, M_{g^2}^2, \dots, M_{g^i}^m = 1, 2, 3, \dots, n.$$

Donde  $M_{g^j}^i$  ( $j = 1, 2, 3, \dots, m$ ) todo son números difusos triangulares.

Pasos clave del modelo propuesto por Chang (1996) (Moreno Rocha et al., 2022):

Paso 1: El valor del objeto  $i$  –ésimo del análisis extendido se define como:

$$S_i = \sum_{j=1}^m M_{g^i}^j \otimes \left[ \sum_{l=1}^n \sum_{j=1}^m M_{g^i}^j \right]^{-1}$$

Para obtener  $\sum_{j=1}^m M_{g^i}^j$ , se realiza la operación de adición borrosa de  $m$  valores del análisis extendido para una matriz particular, de tal manera que:

$$\sum_{j=1}^m M_{g^i}^j = \left( \sum_{j=1}^m l_j \sum_{j=1}^m m_j \sum_{j=1}^m u_j \right)$$

Para obtener  $\left[ \sum_{l=1}^n \sum_{j=1}^m M_{g^i}^j \right]^{-1}$ , se realiza la operación de adición borrosa de los valores  $M_{g^i}^j$  ( $j = 1, 2, 3, \dots, m$ ), de modo que:

$$\sum_{l=1}^n \sum_{j=1}^m M_{g^i}^j = \left( \sum_{l=1}^n l_l \sum_{l=1}^m m_l \sum_{l=1}^m u_l \right)$$

Luego se calcula el vector inverso de la ecuación, de la siguiente manera:

$$\left[ \sum_{l=1}^n \sum_{j=1}^m M_{g^i}^j \right]^{-1} = \left( \frac{1}{\sum_{l=1}^n u_l}, \frac{1}{\sum_{l=1}^n m_l}, \frac{1}{\sum_{l=1}^n l_l} \right)$$





Paso 2: El grado de posibilidades de que  $M_2 = (l_2, m_2, u_2) \geq M_1 = (l_1, m_1, u_1)$  se define como:

$$V(M_2 \geq M_1) = \sup_{y \geq x} [\min(\mu_{M_1}(x), \mu_{M_2}(y))]$$

Y puede ser expresado de forma equivalente de la siguiente manera:

$$V(M_2 \geq M_1) = \text{hgt}(M_1 \cap M_2) = \mu_{M_2}(d) = f(d)$$

Si  $m_2 \geq m_1$

$$\text{Si } l_1 \geq u_2 = \begin{cases} 1, & \text{si } l_1 \geq u_2 \\ 0, & \text{si } l_1 < u_2 \\ \frac{l_1 - u_2}{(m_2 - u_2) - (m_1 - l_1)} & \text{si } l_1 < u_2 < m_1 - l_1 \end{cases}$$

Donde d es la ordenada del punto de intersección más alto D situado entre  $\mu_{M_1}$  y  $\mu_{M_2}$  Para comparar  $M_1$  y  $M_2$  se requiere los valores de:

$$V(M_2 \geq M_1) \text{ y } V(M_1 \geq M_2)$$

Paso 3: El grado de posibilidad de que un número difuso convexo sea mayor que k números convexos se define como:

$$V(M \geq M_1, M_2, \dots, M_k) = V[(M \geq M_1) \text{ y } (M \geq M_2) \text{ y } (M \geq M_k)] = \min V(M \geq M_i), i = 1, 2, 3, \dots, k$$

Entonces, suponiendo que:

$$d'(A_i) \text{ min } V(S_i \geq S_k)$$

Para  $k = 1, 2, 3, \dots, n; k \neq i$ . El peso del vector está dado por:  $W' = (d'(A_1), d'(A_2), \dots, d'(A_n))^T$

Donde  $A_i (i = 1, 2, 3, \dots, n)$  son n elementos

Paso 4: La normalización del vector que se presenta de la siguiente forma:

$$W = (d(A_1), d(A_2), \dots, d(A_n))^T$$

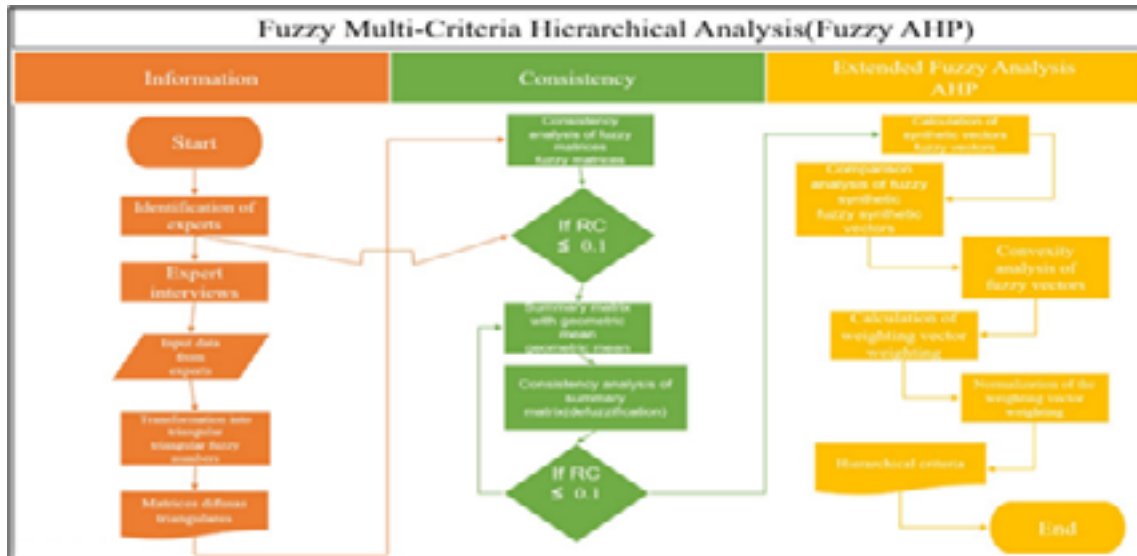
Donde W no es un número difuso sino el conjunto de pesos para cada matriz.

Para este caso se debe tener presente que W ahora no son números difusos, si no vectores con los pesos finales. La tabla 4 representa los valores utilizados en la conversión de la sintaxis lingüística utilizada por los expertos y su respectiva valoración en números triangulares y

triangulares difusos. Por último, en la figura 1 se presenta un esquema a modo de explicación de cómo puede implementarse o desarrollarse el proceso analítico jerárquico con lógica difusa, con este esquema se pretenden brindar una herramienta explicativa de dicho proceso para futuras investigaciones.

**Tabla 4** Triangular fuzzy conversion scale

Linguistic scale	Triangular fuzzy scale	Triangular fuzzy reciprocal scale
Just equal	(0,0,0)	(0,0,0)
Weakly important	(0,1,3)	(-3,-1,0)
important	(1,3,5)	(-5,-3,-1)
Strongly more important	(3,5,7)	(-7,-5,-3)
Very strongly more important	(5,7,9)	(-9,-7,-5)
Absolutely more important	(7,9,9)	(-9,-9,-7)



**Figura 1.** Esquema de implementación de FAHP

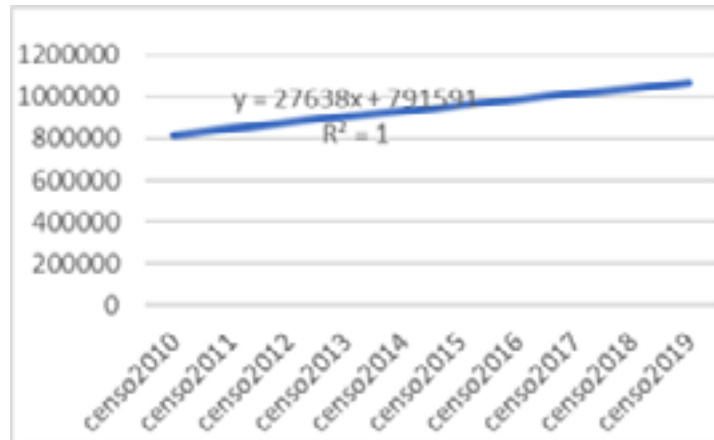
### Resultados y discusión

La estratificación social corresponde a la forma en que se clasifican los hogares según distintos criterios que no dependen de los ingresos del individuo o de la familia, sino de la condición de la vivienda en la que vive el grupo familiar y del entorno escolar o de la localidad. Por clase social se determina el costo de los servicios domésticos, ciertos impuestos y la provisión de alguna ayuda económica a ciertos hogares. Según el Departamento de Planeación Nacional de Colombia, existen seis clases socioeconómicas en las que se puede dividir la vivienda o propiedad: El estrato 1 significa Bajo-bajo, El estrato 2 significa Bajo, El estrato 3 significa Medio-bajo, El estrato 4 significa Medio, El estrato 5 significa Medio – Alto, El estrato 6 significa Alto. Los niveles 1, 2 y 3 corresponden a los de menores recursos que reciben





subsidios por parte del gobierno nacional de vivienda y servicios públicos; Los niveles 5 y 6 corresponden a de ingresos mayores con grandes recursos económicos que incurren en costos adicionales (contribuciones) por costos de servicios públicos del hogar. Mientras que los de niveles 4 no es un concesionario y no paga los costos excesivos, paga exactamente lo que la empresa de servicio público identifica como el costo de realizar el servicio. En concordancia a lo explicado y los resultados obtenidos, se puede apreciar en la figura 5 que para esta zona de estudio solo se encuentran 3 estratos socioeconómicos los de nivel 1, 2 y 3, esto da de que hablar sobre las condiciones y calidad de vida de la población como tal. Así mismo se logra apreciar el incremento significativo de la población en el nivel uno paso de un 20% en el año 2010 a un 43% del total de la población para el año 2019 y un incremento leve de la población en nivel socioeconómico 2, paso de un 20% en el 2010 a un 27% en el año 2019.



**Figura 2.** Evolución del crecimiento poblacional



**Figura 3.** Consumo por estratos socioeconómicos



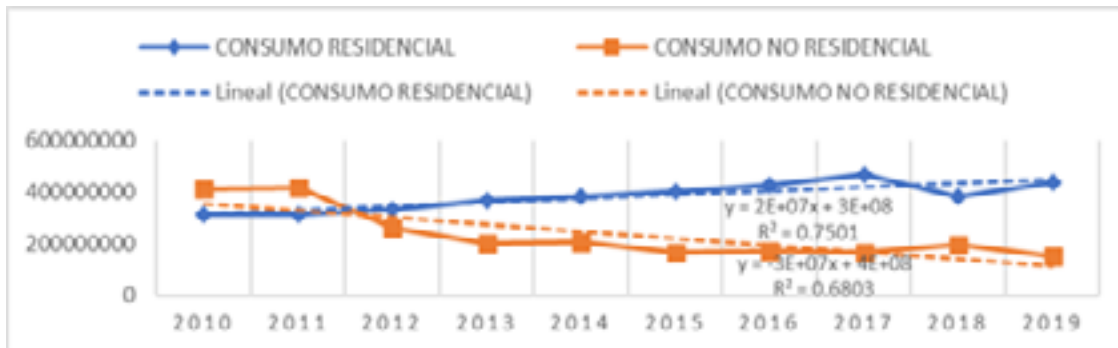


**¿Existe suficiente potencial en esta zona para suplir la demanda actual y futura?**

Teniendo en cuenta la información proporcionada por los diferentes medios, el promedio diario de consumo de energía en la zona de estudio, en el día tres de mayo del 2022 presento un pico de 27.900.000.000,00 Wh (27,9 GWh). Además, que según la información presentada anteriormente se presenta una potencia base de 5.391.300.000,00 W (5.391,3 GW), solo en energía solar, en esta investigación no se caracterizó el potencial energético renovable con otras fuentes de energías. Con esta información presente se puede responder a la siguiente pregunta ¿La producción de energía podría satisfacer la demanda actual?

Primero se calcula la potencia base generada en el día, para esto se realiza la siguiente operación:

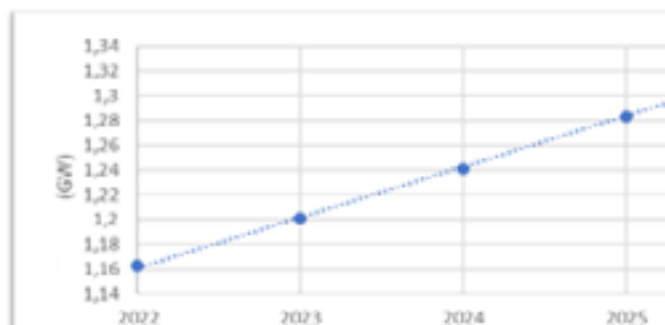
$$\frac{27,9 \text{ GWh}}{24h} = 1.162.500.000,00 \text{ W}$$



**Figura 4.** Evolución del consumo residencial vs el no residencial

Esto restado a la proyección de generación para el 2026 se podría deducir que la demanda podría llegarse a satisfacer y con un margen de reserva del 78,43% en un caso ideal.

Con respecto a las proyecciones futuras en el artículo de la Unidad de planeación minero energético “UPME “proyecciones de demanda la tasa de crecimiento de la demanda energética estará entre los 2,22% y el 3,35%. Por lo cual el comportamiento del consumo energético se vería representada en la Figura 5:

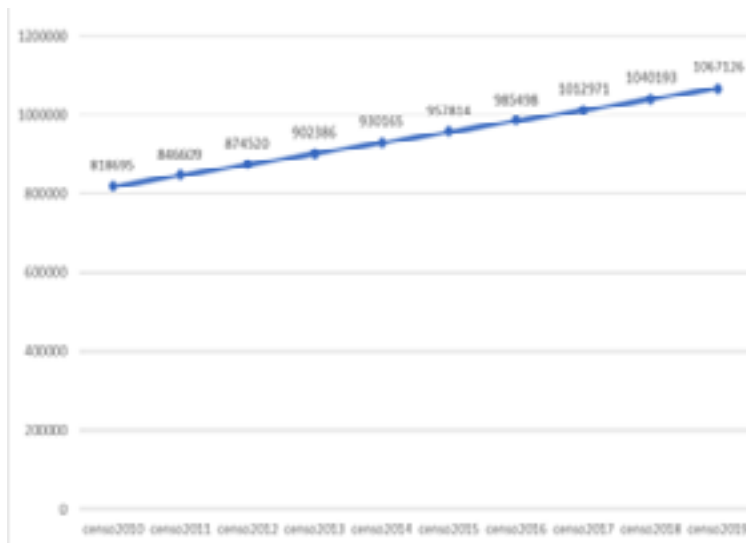


**Figura 5.** Estimación del crecimiento de la demanda de la energía

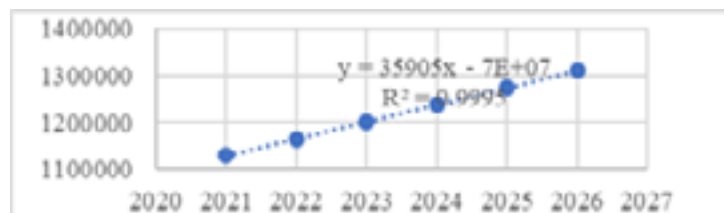


Observando la Figura 7, es evidenciante el porcentaje promedio del crecimiento poblacional el cual es de 2,98870178 %; con este valor aproximado se puede predecir a cierta medida el crecimiento de la población.

La Figuras 6 y 7 evidencian el progresivo crecimiento poblacional del departamento, lo cual es de evidenciar que el consumo de energía eléctrica también aumentaría al haber más personas. Con lo anterior aclarado se procede a realizar una comparativa entre los estimados de demanda y las sumatorias de las capacidades de potencia eléctrica de los diferentes proyectos respecto a cada año.

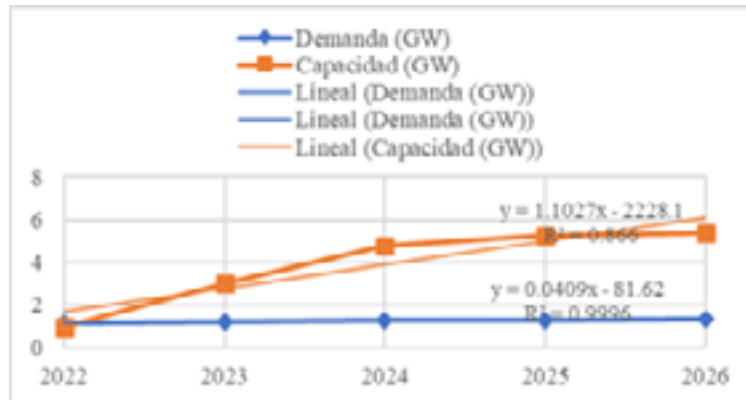


**Figura 6.** Estimación del crecimiento poblacional



**Figura 7.** Estimación del crecimiento poblacional





**Figura 8.** Comparación de estimación de la demanda vs capacidad de generación de energía

### Sugerencias a la zona de estudio

Se podría hablar también de que, a pesar del alto potencial de energía, y las altas expectativas que se guardan con los proyectos (si todos funcionan); se podría evidenciar un contratiempo en el almacenamiento de energía, ya que en especial la energía solar solo estaría en funcionamiento cierta cantidad de horas al día y podría llegar a ser una limitante.

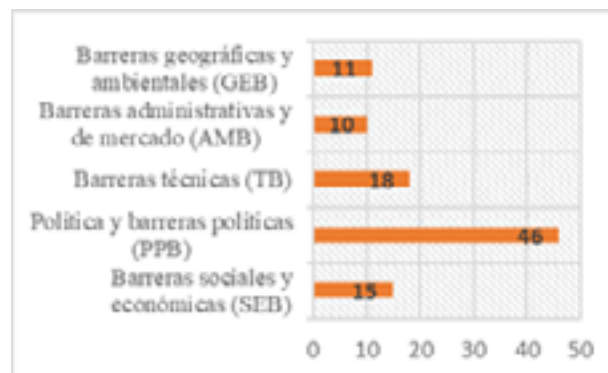
Uno de los objetivos de esta investigación es lograr evidenciar pero también cuantificar lo que está sucediendo desde hace mucho tiempo en una zona rica y con un gran potencial de energía emergentes, es el departamento de la Guajira-Colombia la tierra donde en los últimos años se han posado los ojos de todo un país en pro de la implementación de grandes proyectos energéticos, este territorio durante toda la historia de Colombia ha sido una de las poblaciones más golpeada por la pobreza y la extrema pobreza, esto ha sucedido y sigue sucediendo a pensar que en esta zona cuenta con el potencial energético para aliviar grandemente los desafíos que la sociedad Colombia requiere en temas de energización. Pese a que en el departamento de la Guajira se ha implementado algunos proyectos de energización a base de fuentes renovables, estos proyectos no han tenido el impacto que se desea, ejemplo de esto se puede observar que en la figura 6 un decaimiento en el consumo de energía y no precisamente por un aumento en la eficiencia o buenos hábitos energéticos de la población, este decaimiento hace referencia al cierre de industrias y desplazamiento masivo de su población a otras zonas, sin embargo el consumo de esta zona esta jalonado por 3 ciudades principales como se aprecia en la figura 3, las actividades económicas de estas ciudades son el comercio en general, explotación de carbón y zona de descanso de la población que labora en las minas de carbón. Así mismo resulta llamativo observar que mientras en la figura 5 se ve un decrecimiento del consumo de energía, en la figura 5 se puede evidenciar la tendencia al alza de su población, a primera vista resulta muy contradictorio



ya que lo primero que se piensa es que a más personas más consumo de energía, esa sería la lógica, esto lleva a preguntar inicialmente, que es lo que está ocurriendo en esta zona tan rica y acta para la implementación de proyectos energéticos.

### Resultados de FAHP

Si bien los resultados sobre la caracterización de la zona de estudio mostraron una zona rica y apta para el desarrollo de nuevas fuentes de energías renovables, existen unas barreras o limitantes que no están permitiendo esto, estas barreras o limitantes se jerarquizaron y los resultados obtenidos en la implementación del método analítico jerárquico con lógica difusa se obtuvieron los siguientes resultados; en primera instancia se jerarquizaron los criterios que pueden ocasionar barrera o limitaciones en la investigación o implementación de fuentes de energías renovables, en la Figura 9 se logra apreciar que según el grupo de experto consultados estos consideran que la mayor barrera o limitación frente a las energías renovables es el criterio político con un grado de importancia equivalente al 46%, seguido en un segundo lugar con un 18% de importancia las barreras derivadas al criterio técnico y en un tercer lugar se encuentra el criterio referente a las barreras sociales y económicas con un 15% de importancia. Estos resultados demuestran que la mayor limitante a la investigación e implementación de fuentes de energías renovables en un territorio es la voluntad política de un gobierno, si bien muchos son los acuerdos internacionales y los compromisos que cada país han adquirido acorde al cumplimiento de los objetivos de desarrollo sostenible, algunos países pese a estos compromisos son pocas las acciones que en la práctica han tomado



**Figura 9.** Criterios barrera en implementación de energías renovables

Si bien el criterio de barreras políticas fue el de mayor importancia según los expertos consultados, este criterio cuenta con 5 subcriterios que también se sometieron a juicio y jerarquización, en la figura 16 se evidencia que el mayor subcriterio predominante en el criterio de barreras políticas hace referencia a la corrupción y nepotismo con un 38% de



importancia, en esta jerarquización el subcriterio falta de un proceso de decisión transparente ocupa el segundo lugar con un 22% de importancia y para un tercer lugar el subcriterio inseguridad y/o terrorismo con un 17%, esto demuestra que las malas acciones y el poco o casi nulo compromiso de un gobierno por la investigación o implementación de fuentes de energías renovables son el mayor obstáculos para el avance de las mismas, así mismo las acciones de inseguridad y /o terrorismo que se puedan presentar en una zona, son causales de la no inversión en investigación o implementación de fuentes de energías renovables.



**Figura 10.** *Importancia en Barreras Políticas*

Así mismo el criterio de barreras técnicas ocupó el segundo puesto en el grado de importancia, sin embargo llama la atención que para este criterio el subcriterio de mayor ponderación fue la falta de instalaciones de investigación con un 58% según el grupo de expertos consultados como se aprecia en la figura 11, este es algo que se vive en los países en vía de desarrollo como por ejemplo Colombia, son muy pocos o casi nulos los centros de investigación que se tienen para la implementación o innovación en fuentes de energías renovables, ocasionando la dependencia siempre de países de primer mundo, los cuales aparte de dotar con el material también deben suministrar el conocimiento para futuros mantenimientos, es decir se debe tener personal calificado de cualquiera que sea la tecnología a aplicar, a su vez esto origina una inflación en la implementación ya que se debe adquirir en el extranjero y hacer todo un proceso para el ingreso y puesta en marcha dentro del territorio.



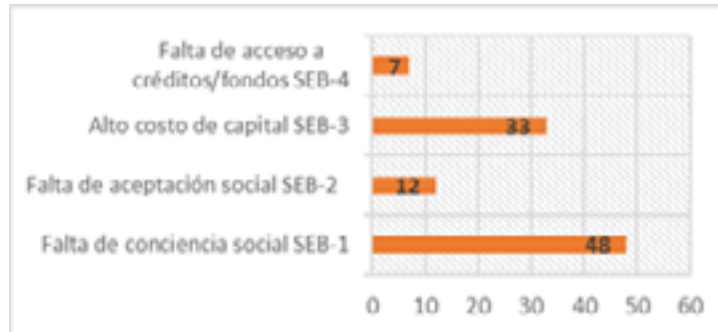


**Figura 11.** *Importancia en Barreras Técnicas*

En la figura 12 se observa el comportamiento jerárquico de los subcriterios asociados a las barreras sociales y económicas, para esta investigación el subcriterio de mayor ponderación fue el correspondiente a la falta de conciencia social con un 48%, este resultado da a conocer que quizás dentro de las políticas que un gobierno por cumplir sus compromisos de objetivos de desarrollo sostenible o que simplemente quiera suplir las necesidades de una población, brinde las herramientas debidas, brinde las oportunidades que ser requieras, pero todas estas herramientas y oportunidades se pierdan debido a que quizás no existe en la población afecta o población en general un interés en el estudio, en la investigación, en la implementación de fuentes de energía alternativas, es decir se carece de una conciencia social que ayude en la mitigación de una situación problema como puede ser la carencia de servicio energético sobre su territorio. Por otro lado otro limitante en la implementación o investigaciones de fuentes de energías renovables es el alto costo de su capital inicial, esto sucede con mayor frecuencia en los países que dependen de la compra de material al extranjero y no solo de la compra, sino que también existe una cadena de dependencia en el proceso de instalación, puesta en marcha y capacitación a personal local, todo esto conjunto de factores terminan afectando e incrementando el valor de un proyecto o investigación. Las faltas de coordinación entre las instituciones de un gobierno y la falta de tratados y/o convenios internacionales como se aprecian en las figuras 13 y 14, también son subcriterios que alimentan ya la lista de barreras o limitantes en la ejecución de investigaciones o implementación de fuentes de energías renovables y es que al no existir una buena comunicación y un objetivo en común por parte de todas las instituciones de un gobierno, si no que cada una tiene una política diferentes sobre el tema de las energías renovable ocasiona que sea imposible el lograr avanzar frente a esta política de interés nacional e internacional, además los gobiernos en especial los de países emergentes deben velar por la firma de convenios con las grandes empresas o laboratorios



internacionales referente a la temática de fuentes de energía alternativas, esto con el fin de llegar a acuerdos que posibiliten algún tipo de descuento en la compra de productos, capacitaciones a personal en pro de tener personal calificado, seguimientos a proyectos en ejecución, etc.



**Figura 12.** Importancia De los Subcriterios de Barreras Sociales y Económicas (%)



**Figura 13.** Importancia en Barreras Administrativa y de Mercado (%)

Referente a las barreras geográficas y ambientales, quizás el subcriterio de mayor relevancia fue el requerimiento de tierras, no es un secreto que cualquier que sea la tecnología de fuente de energías renovables a implementar en una zona, este proyecto requiere de la utilización de grandes cantidades de tierras, algunas de estas tierras son de reserva indígenas lo que dificulta la implementación del proyecto, otras tierras son de carácter privado o se encuentran en reservas protegidas lo que ocasiona el hacer de procesos gubernamentales para poder usarlas, otra dificultad referente a las tierras es que se requieren de grandes extensiones y estas tierras podrían implementarse para otros proyectos como la agricultura, ganadería o construcción de viviendas familiares, por estas razones como se observa en la figura 15 los expertos consideraron este subcriterio como el más importante.





Si bien en esta investigación se jerarquizaron los criterios y subcriterios asociados a cada criterio, también se logró ponderar cual de todos los subcriterios fue el de mayor relevancia al grupo de expertos consultados, en la Figura 10 se muestra que los tres subcriterios de mayor relevancia fueron los Corrupción y nepotismo, Falta de instalaciones de investigación y Falta de un proceso de decisión transparente con 17.48%, 10.44% y 10.12% respectivamente, demostrando que definitivamente el mayor impulsor en una nación en la investigación e implementación fuentes de energías renovables son los compromisos y acciones que tome el gobierno de turno.



Figura 14. Importancia en Barreras Geográficas y Ambientales (%)

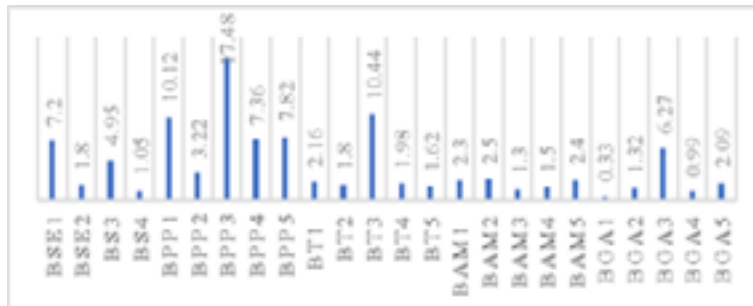


Figura 15. De Importancia general de los Subcriterios

Es importante conocer las barreras o limitantes en las investigaciones e implementaciones de las energías renovables porque esto permite identificar los desafíos y oportunidades para mejorar y expandir el uso de estas fuentes de energía en el futuro. Se puede concluir que entre las barreras más comunes se encuentran los costos de instalación y mantenimiento, la falta de políticas y regulaciones favorables, la limitada capacidad de almacenamiento de energía, la dependencia de las condiciones climáticas y ambientales, la falta de infraestructura adecuada y la resistencia al cambio por parte de algunos sectores.





Conocer estas barreras permite a los investigadores, ingenieros y planificadores desarrollar soluciones innovadoras y prácticas para superar estos desafíos y mejorar la eficiencia y la rentabilidad de las energías renovables. Además, puede ayudar a fomentar la adopción de políticas y regulaciones más favorables que permitan una mayor inversión y desarrollo de las energías renovables en el futuro. En resumen, comprender las barreras y limitaciones en las investigaciones e implementaciones de las energías renovables es esencial para impulsar el desarrollo sostenible y promover una transición hacia un futuro más limpio y sostenible.

## Conclusiones

Colombia es un país que prospera en el campo de las fuentes de energía renovables como la solar, eólica, biomasa e hidroeléctrica, muchas de estas fuentes de energías ofrecen importantes oportunidades de empleo en el futuro y están preparadas para a futuro lograr construir o ensamblar localmente la mayoría de los equipos, sin embargo, para lograr este objetivo, se deben eliminar varias barreras para mejorar la adopción y aceptación en el mercado de la totalidad o parte de la tecnología de energía limpia, este estudio identificó y priorizó las barreras para el despliegue de energía renovable.

Teniendo presente los resultados obtenidos del FAHP, se propone crear una agencia gubernamental que tenga por objeto único el regular y promover las energías renovables, facilitar el otorgamiento de licencias y desarrollar políticas nuevas o actualizadas acorde al mercado internacional y por último actualizar las políticas existentes. Por otro lado, se debe brindar apoyo financiero e investigativo para facilitar el acceso al crédito/financiamiento tanto a los desarrolladores de tecnología como a los usuarios finales, además, el gobierno debe garantizar un equilibrio entre las fuentes de energía renovables y convencionales a través de subsidios para las fuentes de energía renovables. Se propone la creación y dictado de cursos/capacitación vocacional para desarrollar habilidades. Crear un sistema cognitivo social que fuese lo suficientemente flexible para hacer frente a cualquier nueva barrera que pudiera surgir en el transcurso del tiempo. En última instancia, este estudio proporciona un marco analítico y teórico para que muchos legisladores/políticos y partes interesadas comprendan mejor las barreras para el desarrollo de energías renovables, además abre nuevos horizontes para superar el impacto de las barreras que limitan el desarrollo de tecnologías de energía renovable en cualquier zona de estudio.

En el mundo y en Colombia como nación emergente, existen algunos obstáculos para la investigación y el desarrollo de las energías renovables, en Colombia este fenómeno se presenta con mayor intensidad debido a malos manejos políticos, alta corrupción, los altos costos de producción, falta de tamaño de mercado, falta de conciencia pública y falta de centros de investigación, sin embargo estos obstáculos deben ser superado para poder hacer





crecer rápidamente y utilizar ampliamente estas tecnologías sobre todo en los territorios que más lo requieren por las condiciones que están sus habitantes. El hecho de superar o quizás mitigar estas barreras o limitaciones ayudarán a desarrollar los mercados locales de energía renovable y limitarán el uso tradicional de energía no renovable, lo que traerá como consecuencia el mejoramiento en la calidad de vida de cada uno de los territorios, además el cumplimiento de los compromisos internacionales adquiridos como lo son los objetivos de desarrollo sostenibles, a continuación, se mencionan algunas propuestas que ayudaran al cumplimiento de la idea anterior.

Mayor apoyo a la investigación y desarrollo: Fortalecimiento de la capacidad de investigación y desarrollo en el campo de la energía limpia, esto es extremadamente importante ayudar a las empresas de energías renovables con un alto potencial de innovación, ampliar la cantidad de financiación de energías renovables y aumentar la financiación de I+D para las empresas privadas de energías renovables.

Mitigación a la corrupción: el proyecto de política o plan de acción para el crecimiento exponencial del mercado renovable cubre todos los aspectos clave. Los planes de acción se desarrollarán en consulta con diferentes entidades gubernamentales asociada únicamente con las energías renovables. Los objetivos y planes de acción deben ser realistas y mensurables deben ser herramientas útiles para ayudar a los formuladores de políticas a enfocar la acción y mejorar la eficiencia de la implementación de estas.

Banco de financiación: Las instituciones financieras apropiadas son esenciales ya que la falta de fácil acceso a los gastos de capital es un problema grave para las clases más bajas. El mecanismo financiero en Colombia necesita ser cambiado/mejorado para fomentar el desarrollo de energía renovable y no depender tanto del exterior.

Mitigar compras internacionales y exhortar la construcción local: Al reducir los costos de inversión inicial de los proyectos renovables, se espera que las empresas e instituciones académicas mejoren sus capacidades de I+D, esto también es viable si existen políticas de financiación.

Políticas claras de energía renovable: Esto incluye el reconocimiento de la planificación y los enfoques urbanos a través de estrategias específicas de crecimiento basadas en la energía que crean un entorno propicio para la aplicación de tecnologías de energía renovable. Resolver problemas requiere herramientas de planificación, leyes, reglamentos y normas, conocimiento público, además de optar métodos de decisión y prácticas de la ciudad.

Trabajo Social: Presentaciones de campo, conferencias, cursos, programas de educación y capacitación con el fin de inspirar a las personas a implementar tecnologías de energía renovable

$$T=2\pi\sqrt{\frac{l}{g}}$$



$$kx^2/2$$

$$E_n$$



$$P=m \cdot V \quad T=2\pi\sqrt{\frac{l}{g}}$$





en Colombia. Se alentará a las personas a instalar luces solares en oficinas gubernamentales, parques y aceras, así como en otras áreas relacionadas con la energía renovable.

## Referencias

- Angel-sanint, E., García-orrego, S., & Ortega, S. (2023). Energy for Sustainable Development Refining wind and solar potential maps through spatial multicriteria assessment . Case study : Colombia. 73(January), 152–164. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2023.01.019>
- Barbosa-granados, S., Rojas, N., Stansfield, K. E., Colmenares-quintero, J. C., Ruiz-candamil, M., & Cano-perdomo, P. (2022). Learning and Teaching Styles in a Public School with a Focus on Renewable Energies.
- Bax, V., van de Lageweg, W. I., Hoosemans, R., & van den Berg, B. (2023). Floating photovoltaic pilot project at the Oostvoornse lake: Assessment of the water quality effects of three different system designs. *Energy Reports*, 9, 1415–1425. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.12.080>
- Carolli, M., Garcia de Leaniz, C., Jones, J., Belletti, B., Hudek, H., Pusch, M., Pandakov, P., Börger, L., & van de Bund, W. (2022). Impacts of Existing and Planned Hydropower Dams on River Fragmentation in the Balkan Region. *SSRN Electronic Journal*, 871(October 2022). <https://doi.org/10.2139/ssrn.4246824>
- Díaz, H., Teixeira, A. P., & Guedes Soares, C. (2022). Application of Monte Carlo and Fuzzy Analytic Hierarchy Processes for ranking floating wind farm locations. *Ocean Engineering*, 245(December 2021), 110453. <https://doi.org/10.1016/j.oceaneng.2021.110453>
- Ejeh, J. O., Roberts, D., & Brown, S. F. (2023). Exploring the value of electric vehicles to domestic end-users. *Energy Policy*, 175(December 2022), 113474. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113474>
- Fournier, E. D., Federico, F., Cudd, R., & Pincetl, S. (2023). Building an interactive web mapping tool to support distributed energy resource planning using public participation GIS. *Applied Geography*, 152(December 2022), 102877. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2023.102877>
- Garces, E., Franco, C. J., Tomei, J., & Dyner, I. (2023). Sustainable electricity supply for small off-grid communities in Colombia : A system dynamics approach. *Energy Policy*, 172(June 2022), 113314. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2022.113314>
- González. (2015). Integración de las Energías Renovables No Convencionales en Colombia. In Unidad de Planeación Minero-Energética. [http://www1.upme.gov.co/DemandaEnergetica/INTEGRACION\\_ENERGIAS\\_RENOVANLES\\_WEB.pdf](http://www1.upme.gov.co/DemandaEnergetica/INTEGRACION_ENERGIAS_RENOVANLES_WEB.pdf)
- Guignard, N., Cristofari, C., Debusschere, V., & Garbuio, L. (2022). Micro Pumped Hydro Energy Storage : Sketching a Sustainable Hybrid Solution for Colombian Off-Grid Communities. 1–18.
- Hartvigsson, E., Nyholm, E., & Johnsson, F. (2023). Does the current electricity grid support a just energy transition? Exploring social and economic dimensions of grid capacity for residential solar photovoltaic in Sweden. *Energy Research and Social Science*, 97(May 2022), 102990. <https://doi.org/10.1016/j.erss.2023.102990>



Haykir, N. I., Nizan Shikh Zahari, S. M. S., Harirchi, S., Sar, T., Awasthi, M. K., & Taherzadeh, M. J. (2023). Applications of ionic liquids for the biochemical transformation of lignocellulosic biomass into biofuels and biochemicals: A critical review. *Biochemical Engineering Journal*, 193(November 2022), 108850. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.108850>

He, S., Lu, Y., & Li, M. (2022). Probabilistic risk analysis for coal mine gas overrun based on FAHP and BN: a case study. *Environmental Science and Pollution Research*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18474-3>

Hernández, J. C. B., Moreno, C., Ospino-Castro, A., Robles-Algarín, C. A., & Tobón-Perez, J. (2021). A HYBRID ENERGY SOLUTION FOR THE SUSTAINABLE ELECTRICITY SUPPLY OF AN IRRIGATION SYSTEM IN A RURAL AREA OF ZONA BANANERA, COLOMBIA. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 11(4), 521–528. <https://doi.org/10.32479/ijcep.11014>

Isah, A., Dioha, M. O., Debnath, R., Abraham-Dukuma, M. C., & Butu, H. M. (2023). Financing renewable energy: policy insights from Brazil and Nigeria. *Energy, Sustainability and Society*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13705-022-00379-9>

Jesus, G. M. K., Jugend, D., Paes, L. A. B., Siqueira, R. M., & Leandrin, M. A. (2021). Barriers to the adoption of the circular economy in the Brazilian sugarcane ethanol sector. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 25(2), 381–395. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02129-5>

Kabir, G., Ahmed, S. K., Aalirezai, A., & Ng, K. T. W. (2022). Benchmarking Canadian solid waste management system integrating fuzzy analytic hierarchy process (FAHP) with efficacy methods. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19492-5>

Kell, N. P., van der Weijde, A. H., Li, L., Santibanez-Borda, E., & Pillai, A. C. (2023). Simulating offshore wind contract for difference auctions to prepare bid strategies. *Applied Energy*, 334(November 2022), 120645. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2023.120645>

Maestre-gongora, G., Baquero-almazo, M., Stansfield, K. E., & Colmenares-quintero, J. C. (2022). Data Analysis of Electricity Service in Colombia ' s Clustering Techniques.

Maity, B., Mallick, S. K., Das, P., & Rudra, S. (2022). Comparative analysis of groundwater potentiality zone using fuzzy AHP, frequency ratio and Bayesian weights of evidence methods. *Applied Water Science*, 12(4), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s13201-022-01591-w>

Manuel, C., Rocha, M., Domíngue, E. D. F., Castillo, D. A. D., Vargas, L., Alfredo, A., & Guzman, M. (2022). Evaluation of Energy Alternatives through FAHP for the Energization of Colombian Insular Areas. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 12(4), 1–12. <https://doi.org/10.32479/ijcep.13056>

Manuel, C., Rocha, M., Santiago, L., & Jotty, S. (2022). Design of strategies for an efficient and applicative transition from the linear economy to the circular economy , Colombia case. 2018, 1–11.

Moreno, C., Ospino-castro, A., Robles-algarín, C., Costa, U. De, Magdalena, U., & Marta, S. (2022). Decision-Making Support Framework for Electricity Supply in Non-Interconnected Rural Areas Based on FAHP. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 12(5), 79–87.



Moreno Rocha, C. M., Alvarez, J. R. N., Castillo, D. A. D., Domingue, E. D. F., & Hernandez, J. C. B. (2022). Implementation of the Hierarchical Analytical Process in the Selection of the Best Source of Renewable Energy in the Colombian Caribbean Region. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 12(2), 111–119. <https://doi.org/10.32479/ijep.12537>

Nasirov, S., Gonzalez, P., Opazo, J., & Silva, C. (2023). Development of Rooftop Solar Under Netbilling in Chile: Analysis of Main Barriers from Project Developers' Perspectives. *Sustainability*, 15(3), 2233. <https://doi.org/10.3390/su15032233>

Núñez-Jimenez, A., Mehta, P., & Griego, D. (2023). Let it grow: How community solar policy can increase PV adoption in cities. *Energy Policy*, 175(March 2022). <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113477>

Opperman, J. J., Carvalho, J. P., Kelman, R., Schmitt, R. J. P., Almeida, R., Chapin, E., Flecker, A., & Goichot, M. (2023). Balancing renewable energy and river resources by moving from individual assessments of hydropower projects to energy system planning. January, 1–26. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.1036653>

Pereira, A. O., Morais, R. C., Cunha, B. S. L., Bernadete, M., Pereira, G., Gutierrez, S., Jorge, M., & Mendonça, C. De. (2023). Allocative Efficiency towards Energy Transition : The Cases of Natural Gas and Electricity Markets.

Poshnath, A., Rismanchi, B., & Rajabifard, A. (2023). Adoption of Renewable Energy Systems in common properties of multi-owned buildings: Introduction of 'Energy Entitlement.' *Energy Policy*, 174(September 2022), 113465. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113465>

Prokopenko, O., Kurbatova, T., Khalilova, M., Zerkal, A., Prause, G., Binda, J., Berdiyrov, T., Klapkiy, Y., Sanetra-Pólgrabi, S., & Komarnitskiy, I. (2023). Impact of Investments and R&D Costs in Renewable Energy Technologies on Companies' Profitability Indicators: Assessment and Forecast. *Energies*, 16(3), 1021. <https://doi.org/10.3390/en16031021>

Restrepo-herrera, D., Martinez, W., Trejos-grisales, L. A., & Restrepo-cuestas, B. J. (2023). applied sciences A Holistic Approach for Design and Assessment of Building-Integrated Photovoltaics Systems.

Río, D. A., Caballero, J. A., Muñoz, J. T., Parra-rodriguez, N. C., Nieto-londoño, C., Vásquez, R. E., & Escudero-atehortua, A. (2023). Design of a Self-Supporting Liner for the Renovation of a Headrace Tunnel at Chivor Hydropower Project. 1–18.

Robles-algarín, C., Olivero-ortíz, V., Restrepo-leal, D., Magdalena, U., & Marta, S. (2022). Techno-Economic Analysis of MPPT and PWM Controllers Performance in Off-Grid PV Systems. 12(6), 370–376.

Rocha, Christian M. Moreno, Boiler, J. D. M., Pizarro, S. M. M., Higuera, L. M. M., & Conde, W. R. I. (2022). Evolution, Challenges, and Perspective in the Implementation of Projects with Renewable Energy Sources: Colombia Case. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 12(6), 230–236. <https://doi.org/10.32479/ijep.13460>



Rocha, Christian Manuel Moreno, Perez, D. F., Retamoza, J. R., Ortega, J. S., Bohorquez, D. B., & Catalan, L. T. (2022). Evaluation, Hierarchy and Selection of the best Source of Energy by using AHP, as a Proposed Solution to an Energy and Socio-economic Problem, in the case of Colombia's Pacific Zone. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 12(5), 409–419. <https://doi.org/10.32479/ijcep.13448>

Rosso Cerón, A. M., Kafarov, V., & Latorre-Bayona, G. (2017). A fuzzy logic decision support system for assessing sustainable alternative for power generation in non-interconnected areas of Colombia-case of study. *Chemical Engineering Transactions*, 57, 421–426. <https://doi.org/10.3303/CET1757071>

Santos, D. M. F. (2022). Green and Blue Hydrogen Production : An Overview.

Sarker, A. K., Azad, A. K., Rasul, M. G., & Doppalapudi, A. T. (2023). Prospect of Green Hydrogen Generation from Hybrid Renewable Energy Sources: A Review. *Energies*, 16(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/en16031556>

Shadman, M., Roldan-carvajal, M., Pierart, F. G., Haim, P. A., Alonso, R., Silva, C., Osorio, A. F., Almonacid, N., Carreras, G., Amiri, M. M., Arango-aramburo, S., Rosas, M. A., Pelissero, M., Tula, R., Estefen, S. F., Pastor, M. L., & Saavedra, O. R. (2023). A Review of Offshore Renewable Energy in South America : Current Status and Future Perspectives. 1–34.

Thomasi, V., Cezar, J., Siluk, M., Rigo, P. D., Rosa, C. B., Garcia, E. D., Cassel, R. A., & Fernando, C. (2022). A Model for Measuring the Photovoltaic Project Performance in Energy Auctions. 12(4), 501–511.

Yang, M., Ji, Z., Zhang, L., Zhang, A., & Xia, Y. (2022). A hybrid comprehensive performance evaluation approach of cutter holder for tunnel boring machine. *Advanced Engineering Informatics*, 52(January), 101546. <https://doi.org/10.1016/j.aei.2022.101546>

Yao, W., Lu, J., Taghizadeh, F., Bai, F., & Seagar, A. (2023). Integration of SiC Devices and High-Frequency Transformer for High-Power Renewable Energy Applications. *Energies*, 16(3), 1–27. <https://doi.org/10.3390/en16031538>

Younis, A., & Wolf, M. De. (2022). Scrutinizing the Intermittency of Renewable Energy in a Long-Term Planning Model via Combining Direct Integration and Soft-Linking Methods for Colombia ' s Power System.

Zhu, Y., Tan, J., Cao, Y., Liu, Y., Liu, Y., Zhang, Q., & Liu, Q. (2022). Application of Fuzzy Analytic Hierarchy Process in Environmental Economics Education: Under the Online and Offline Blended Teaching Mode. *Sustainability*, 14(4), 2414. <https://doi.org/10.3390/su14042414>





# EASYPower, SOFTWARE PARA LA ENSEÑANZA DE LA INGENIERÍA ELÉCTRICA

*Ángel Isaías Lima-Gómez, Jesús Jatzel Olvera-Lopez, Isaías Rafael Espinosa-Moreno*

*Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM*

[ligaz@comunidad.unam.mx](mailto:ligaz@comunidad.unam.mx)

## Resumen

La utilización de las TIC (Tecnologías de la Información y Comunicación) y las posibilidades que ofrecen los softwares en las diferentes áreas del conocimiento, proporcionan a los docentes nuevas posibilidades de crear materiales didácticos virtuales que motiven el aprendizaje de los estudiantes.

El presente trabajo describe la aplicación y análisis del software “EasyPower”, como laboratorio virtual para apoyar el proceso de enseñanza-aprendizaje de las asignaturas Instalaciones Eléctricas (asignatura obligatoria de plan de estudios de Ingeniería mecánica eléctrica plan 2012) (cuautitlan.unam.mx, 2023), Control y Monitoreo de la Energía y Sistemas de Distribución (asignaturas del módulo terminal de utilización de la energía), el cual es utilizado especialmente en los cálculos de selección y características de los conductores eléctricos, diseño, selección y coordinación de protecciones eléctricas así como el análisis de corrección del factor de potencia. En la aplicación es posible ingresar distintos tipos de protecciones normalizadas más utilizadas, obtener diagramas eléctricos bajo norma IEC o ANSI y análisis de flujo de carga y cortocircuito que son importantes para el estudio de los sistemas eléctricos.

**Palabras clave:** TIC, EasyPower, software, IEC, ANSI.

## Antecedentes

La carrera de ingeniería mecánica eléctrica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM en conformidad con las necesidades expuestas en sus planes de estudios en asignaturas como Instalaciones Eléctricas (asignatura obligatoria), Sistemas de Distribución y Control y Monitoreo de la Energía (asignaturas del módulo terminal de utilización de la energía), refieren la necesidad de utilizar software en los temas de estudios pues permite



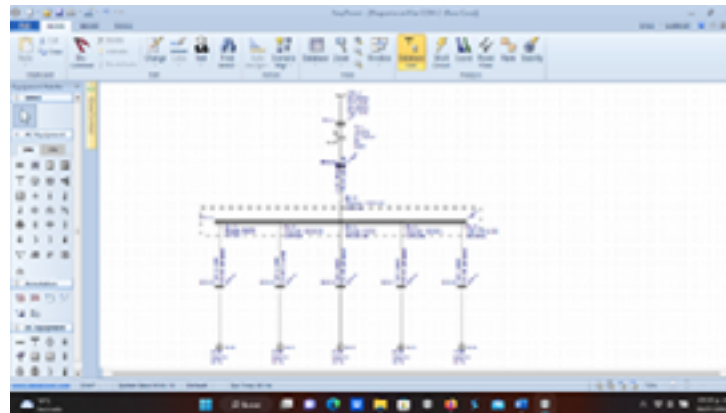


facilitar el análisis de cálculos y obtener respuestas en muy cortos períodos de tiempo de resultados de estudio de diagramas de sistemas eléctricos, además de insertar y aplicar en las temáticas de estudio el análisis a través de laboratorios virtuales en los planes expuestos.

EasyPower es una herramienta de ingeniería asistida por computadora para el análisis y diseño de sistemas eléctricos de potencia industriales, pues integra completamente las funciones de cortocircuito, flujo de potencia, coordinación de dispositivos de protección y base de datos bajo el control interactivo gráfico del diagrama unifilar, le permite trabajar directamente desde el diagrama unifilar, también tiene una interfaz interactiva y fácil de utilizar diseñada para el análisis eficiente y preciso de sistemas y diagramas eléctricos.

El software es de diseño eléctrico, el cual, nos permite el diseño, análisis y monitoreo de sistemas eléctricos de potencia; este cuenta con diferentes herramientas que apoyan al diseño y análisis de sistemas eléctricos que pueden ser añadidas desde la instalación o después de esta; el paquete básico de herramientas del software cuenta con los siguientes módulos.

Diagrama unifilar: permite modelar sistemas trifásicos, monofásicos y de corriente directa en diagramas unifilares con símbolos y textos personalizables.

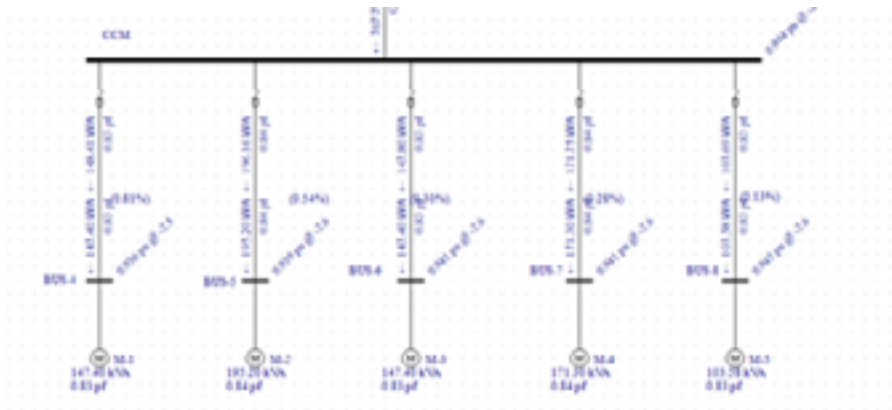


**Fig. 1** Diagrama realizado en la clase de instalaciones eléctricas FES Cuautitlán

El análisis de flujo de potencia está diseñado para el análisis de flujos de potencia trifásicos y caídas de tensión en sistemas de potencia, se puede utilizar para calcular flujos de MW y MVAR, caídas de tensión, infracciones de sobrecarga y tensión, pérdidas y otros parámetros de estado estacionario.

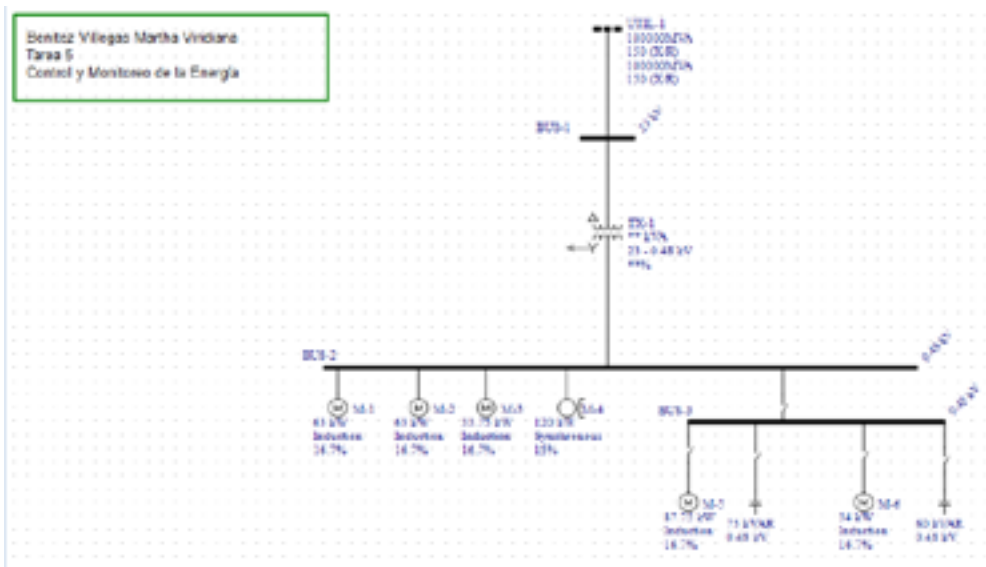
También se puede utilizar para estudiar la optimización del sistema, el impacto del arranque de motor, y corrección del factor de potencia.





**Fig. 2** Análisis de CCM realizado en FES Cuautitlán

En EasyPower el análisis armónico, (Das, 2002) es una herramienta indispensable que ayuda al ingeniero a evaluar el nivel armónico en la red eléctrica y los diferentes métodos de mitigación. El módulo incluye el cálculo de barrido en frecuencia, de la distorsión armónica de la tensión y de la corriente, el dimensionamiento de los condensadores y de los filtros y el cálculo del factor K y del factor-K del transformador. El módulo permite al alumno modelar cargas no lineales y otras fuentes de corrientes armónicas como convertidores y hornos de arco y detectar fácilmente las frecuencias resonantes debidas a los bancos de condensadores. Gracias a estas funcionalidades de modelado y de análisis el módulo de análisis armónico puede evaluar con precisión el impacto de las cargas no lineales en la red de análisis, el software se basa en el cumplimiento de la norma IEEE 519. ((ANSI), 1981).



**Fig.3** Dimensionamiento y análisis de factor de potencia, FES Cuautitlán



El Factor de potencia real y reactiva de un sistema de energía eléctrica de CA proporciona una relación entre la potencia real y reactiva que fluye hacia una carga con respecto a la potencia aparente en el circuito. En EasyPower, el factor de potencia real se puede definir entre los valores de 1 y (-1) donde, un valor negativo representa un factor de potencia de avance y un valor positivo representa un factor de potencia de retardo (Harper, 2012). Esto se puede entender con mayor profundidad aplicando el ángulo de referencia entre tensión y corriente para encontrar el factor reactivo (FR) para encontrar el VAR total (volt amperes reactivos) en el mismo circuito.

### Objetivo

Utilizar EasyPower en la Carrera de Ingeniería Mecánica Eléctrica

Resolver ejercicios con el software EasyPower

Diseñar diagramas unifilares en sistemas ANSI e IEC

### Metodología

*Para el desarrollo de este proyecto, se utilizó una metodología experimental.*

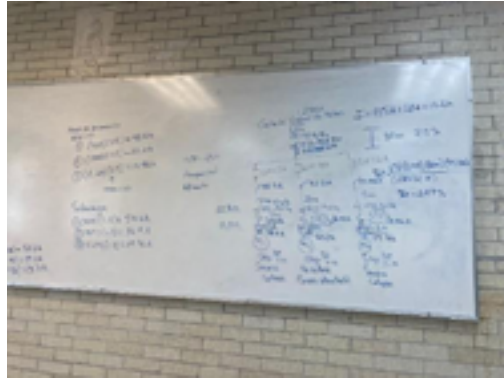
1.- Solicitar de acuerdo con la asignatura de la carrera de ingeniería mecánica eléctrica plan 2012 de la facultad de estudios superiores Cuautitlán UNAM, el permiso para descargar e instalar el software para uso institucional con el acuerdo con EasyPower, LLC. (EasyPower, 2023)



**Fig.4** Formato de contrato de licencia para universidades.

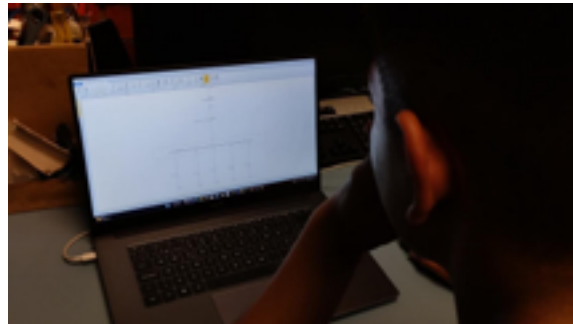
2.- Realizar ejercicios en clase donde se analizan diferentes situaciones en sistemas eléctricos y encontrar las características más idóneas para su operación, por ejemplo:

Instalaciones eléctricas de octavo semestre de la carrera de ingeniería mecánica eléctrica plan 2012 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, donde se realiza el dimensionamiento de conductores, por ampacidad, caída de tensión y cortocircuito, donde se constatan con el software las características de los sistemas en la ejecución del análisis de flujo, Power Flow (flujo de carga).



**Fig. 5** Ejercicio de CCM en clase instalaciones eléctricas FESC.

3.- Estudiantes diseñarán y resolverán ejercicios con el uso del software EasyPower en diferentes situaciones como son dimensionamiento de banco de capacitores para corrección del factor de potencia, diseño de filtros en presencia de armónicos en sistemas eléctricos de potencia, selección y coordinación de protecciones en baja y media tensión, así como diseño de diagramas eléctricos en formato ANSI e IEC

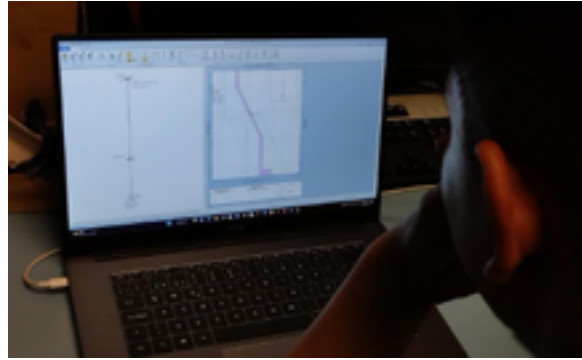


**Fig.6** Estudiantes de FESC realizando diagramas en EasyPower.

4.- Generar cursos intersemestrales para estudiantes, realizar manuales de prácticas para un laboratorio virtual de apoyo en el área eléctrica y realizar trabajos de titulación para alumnos de ingeniería mecánica eléctrica.

## Resultados

1.- Manuales con el software EasyPower con ejercicios de temas de las asignaturas como instalaciones eléctricas en selección y dimensionamiento de conductores, caída de tensión, coordinación de protección y selección de las protecciones de acuerdo con catálogos normalizados de proveedores.



**Fig. 7** Alumnos utilizando EasyPower FES Cuautitlán.

2.- Solucionario de ejercicios de dimensionamiento de filtros armónicos para corregir problemas de armónicos en sistemas eléctricos, así como analizar sistemas con la función de flujo de carga para inspeccionar el factor de potencia en los diagramas unifilares que ayudarán a los temas que se abordan en las asignaturas de control y monitoreo de la energía y sistemas de distribución del módulo terminal de utilización de la energía.



Figura 1.1.96 Distorsiones armónicas del sistema cuando se conecta el segundo filtro.

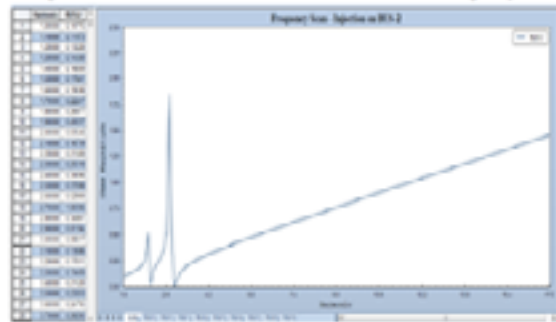


Figura 1.1.97 Presencia de resonancia con el segundo filtro conectado.

**Fig.8** Diseño de filtro armónico para atenuar armónicos (tesis).

3.- Estructurar y organizar ejercicios para poder ser presentados en congresos y exposiciones para dar a conocer los resultados, análisis y diseños generados con el uso del software en asignaturas del área eléctrica que puede ser aplicado en el plan de estudios y utilizarlo como una herramienta computacional para generar un laboratorio virtual en donde se puedan



complementar los conocimientos adquiridos en la parte teórica con el apoyo de EasyPower. (unam.mx, 2023).



**Fig. 9** Cartel para participación en educatic2023 de alumnos de FES Cuautitlán

4.-Generar trabajos de tesis con los ejercicios y diseños generados en clase y demostrar comparativamente los resultados obtenidos.



**Fig. 10** Tesis de alumno de FES Cuautitlán 2023.

### Discusión

Los ingenieros eléctricos requieren varias herramientas para desarrollar sus habilidades, por lo que no hay una sola herramienta que se ajuste a sus necesidades dentro de su formación académica. El estudiante de ingeniería eléctrica necesita una caja de herramientas (laboratorios, libros, espacios etc.), así como una caja de herramientas virtuales para completar de manera efectiva y eficiente su formación y un ejemplo claro es el uso de EasyPower.



Por el lado humano, tenemos que mejorar y fortalecer la formación de los estudiantes para una mejor consolidación en su formación profesional, ayudando en cualquier campo tecnológico donde dicho potencial humano sea instalado. Para lograr esto es necesario la participación en diferentes eventos, la difusión y exposición de los trabajos realizados y demostrar la capacidad y alcance que tienen en su formación y preparación.

## Conclusión

En este trabajo se ha presentado la implementación en la enseñanza y aprendizaje en ingeniería con la utilización de software (EasyPower). Se presenta y demuestra la importancia de incorporar en el aula de clases como apoyo a los cursos y planes de estudios, la aplicación de estrategias didácticas para la enseñanza en ingeniería con el uso de Software.

Se ha validado la hipótesis según la cual es fundamental para el desarrollo de nuevas metodologías, identificar qué estrategias de aprendizaje se pueden aplicar y qué temáticas presentan los estudiantes dificultad para aprender, con base en esto se puedan abordar y estructurar como estrategias enseñanza-aprendizaje dentro del aula de clase, para garantizar una formación efectiva a estudiantes con habilidades y tipos de aprendizaje diferentes.

## Agradecimientos

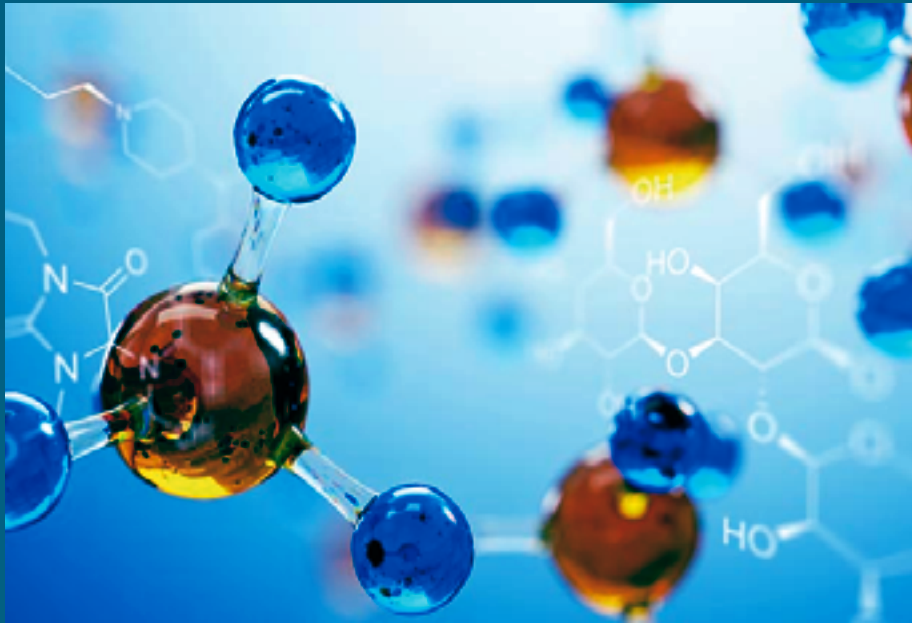
Los autores agradecen a la UNAM-DGAPA por el financiamiento para el proyecto: PAPIIT IA102323, PAPIME PE103223, PAPIME PE103023, PIAPIME 1.31.01.23

## Referencias

- (ANSI), A. N. (1981). IEEE Recommended Practices and Requirements for Harmonic Control in Electrical Power Systems. New York, NY 10017-2394, USA: Printed in the United States of America. cuautitlan.unam.mx. (05 de agosto de 2023). Obtenido de FES CUAUTITLAN UNAM: [https://www.cuautitlan.unam.mx/licenciaturas/ime/plan\\_estudios.html](https://www.cuautitlan.unam.mx/licenciaturas/ime/plan_estudios.html)
- Das, J. C. (2002). Power System Analysis short circuit load flow and harmonics. New York: Marcel Dekker, Inc.
- EasyPower. (05 de agosto de 2023). EasyPower Student Registration. Obtenido de <https://www.easypower.com/student>
- Harper, E. (2012). El ABC de la calidad de la Energía Eléctrica. México D.F.: LIMUSA. unam.mx. (05 de agosto de 2023). Encuentro #educatic2023 UNAM, Obtenido de <https://encuentro.educatic.unam.mx/educatic2023/galeria-carteles/index.htm>



# CIENCIAS



# QUÍMICAS



# DESARROLLO DE LIPOSOMAS FLEXIBLES CARGADOS CON AZUL DE METILENO PARA MEJORAR LA TERAPIA FOTODINÁMICA CONTRA BACTERIAS RESISTENTES

Norma Angélica Villanueva Martínez<sup>1\*</sup>, Omar Molina Alejandre<sup>1</sup>, Laura Abril Pérez Carranza<sup>2</sup>, Andrea Ángela Becerril Osnaya<sup>2</sup>, Gonzalo Hedain López<sup>3</sup>, Mera, Raúl Dalí Cruz Morales<sup>3</sup>, Diego Sánchez García<sup>3</sup>, Adriana Ganem Rondero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México,

<sup>2</sup>Bacteriología diagnóstica, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, México,

<sup>3</sup>Departamento de Ingeniería, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México,

<sup>1</sup>[angelynca1024@gmail.com.mx](mailto:angelynca1024@gmail.com.mx), <sup>1</sup>[omar.alej@hotmail.com](mailto:omar.alej@hotmail.com), <sup>1</sup>[ganem@comunidad.unam.mx](mailto:ganem@comunidad.unam.mx),  
<sup>1</sup>[ganemq@hotmail.com](mailto:ganemq@hotmail.com), <sup>2</sup>[lpc.bqd@gmail.com](mailto:lpc.bqd@gmail.com), <sup>2</sup>[andreabecerril1002@hotmail.com](mailto:andreabecerril1002@hotmail.com),  
<sup>3</sup>[ghlopez@comunidad.unam.mx](mailto:ghlopez@comunidad.unam.mx), <sup>3</sup>[rdcruz@comunidad.unam.mx](mailto:rdcruz@comunidad.unam.mx), <sup>3</sup>[dgosanchez@comunidad.unam.mx](mailto:dgosanchez@comunidad.unam.mx)

## Resumen

La terapia fotodinámica resulta una alternativa prometedora ante el incremento de infecciones ocasionadas por microorganismos resistentes a antibióticos. En este estudio se evaluó la eficacia de la terapia fotodinámica mediada por liposomas flexibles cargados con azul de metileno para eliminar bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, MRSA) y gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* multirresistente). Los liposomas se prepararon por el método de hidratación de película y la formulación se optimizó modificando el tipo de lecitina y de activador de superficie. Se evaluó la capacidad de los sistemas para inhibir el crecimiento de los organismos de prueba, causantes de queratitis, utilizando dos concentraciones de azul de metileno y dos dosis radiantes. Mediante la incorporación del azul de metileno en los sistemas, se consiguió incrementar su capacidad para inhibir el crecimiento de MRSA, en comparación con el fotosensibilizador libre.

**Palabras clave:** terapia fotodinámica, azul de metileno, liposomas flexibles, queratitis, resistencia bacteriana





## Antecedentes

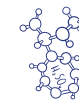
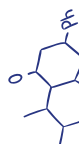
La queratitis bacteriana es una infección de la córnea causada por bacterias (Shoji, 2016). Las enfermedades de la córnea son la principal causa de ceguera monocular en todo el mundo, y afectan especialmente a poblaciones marginadas (Austin, Lietman y Rose-Nussbaumer, 2017). El tratamiento de primera elección es la aplicación tópica de antibióticos. Sin embargo, varias especies de bacterias han desarrollado resistencia, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA, por sus siglas en inglés) (Su et al., 2020). Adicionalmente, microorganismos tales como *Pseudomonas aeruginosa*, han desarrollado mecanismos complejos de resistencia, sistemas de eflujo que bombean a los antibióticos fuera de las células y la producción de enzimas que inactivan los antibióticos, entre otros (Pang, Raudonis, Glick, Lin, y Cheng, 2019).

Actualmente la terapia fotodinámica representa una opción prometedora para el tratamiento de una amplia variedad de patologías. Se basa en la administración de un fotosensibilizador no tóxico, capaz de absorber energía de una fuente de luz con determinada longitud de onda e irradiancia, que permite su transición a estados de mayor energía, desencadenando reacciones fotoquímicas, que en presencia de oxígeno forman especies reactivas de oxígeno (ROS) capaces de combatir microorganismos (Boccalini et al., 2017).

El azul de metileno es un derivado de la fenotiazina que ha demostrado poseer efectos analgésicos, antibacterianos y antitumorales. Adicionalmente, en comparación con otros fotosensibilizadores, como el ácido aminolevulínico, posee un menor costo (Shen et al., 2020).

Los fotosensibilizadores pueden presentar tendencia a autoagregarse en formas no fotoactivas, lo que impide la producción de ROS. Una estrategia para superar estos inconvenientes es el uso de nanoacarreadores, tales como los liposomas, sistemas biocompatibles capaces de encapsular tanto moléculas lipofílicas como hidrofílicas y de mejorar la eficacia de los fotosensibilizadores desestabilizando la pared celular de las bacterias al entrar en contacto con ellas (Molinero et al., 2019).

Uno de los principales retos en el tratamiento efectivo de las enfermedades oculares es conseguir que la sustancia activa permanezca en la superficie del ojo el tiempo suficiente para ejercer su acción. El constante flujo lagrimal constituye un obstáculo que limita el tiempo de permanencia de los fármacos aplicados tópicamente en la córnea, una gran proporción del fármaco abandona rápidamente el ojo por efecto del flujo lagrimal y es arrastrado a la mucosa nasal por el conducto nasolagrimal. Con el objetivo de incrementar el tiempo de permanencia de los sistemas en el sitio de acción se han utilizado estrategias como la incorporación de polímeros que formen un gel (Siepmann, Siegel y Rathbone, 2012),





así como el recubrimiento de las vesículas utilizando polímeros mucoadhesivos (Bandi, Bhatnagar y Venuganti, 2021).

El objetivo de este proyecto es la encapsulación de azul de metileno en sistemas liposomales mucoadhesivos con el fin de mejorar la terapia para el tratamiento de queratitis causada por bacterias resistentes

### Objetivo general:

- Desarrollar liposomas flexibles cargados con azul de metileno capaces de mejorar el tratamiento fotodinámico de queratitis originada por bacterias resistentes a fármacos

### Objetivos particulares:

- Realizar un diseño de experimentos para definir las condiciones óptimas para la obtención de liposomas
- Caracterizar los liposomas por tamaño de vesícula, potencial zeta y eficiencia de encapsulación
- Incorporar los liposomas seleccionados a un gel de aplicación oftálmica
- Recubrir los liposomas con un polímero mucoadhesivo
- Determinar la cinética de liberación del azul de metileno a partir de los sistemas
- Evaluar la permanencia de los liposomas recubiertos con material mucoadhesivo y de los liposomas incorporados en un gel
- Medir la capacidad de los liposomas para inhibir el crecimiento de bacterias resistentes

## Parte experimental

### Preparación y caracterización de liposomas

Los liposomas se prepararon mediante el método de hidratación de película propuesto por Cerv y Blume (Cerv y Blume, 1992), con ligeras modificaciones. El proceso se muestra en la figura 1a.

Con el fin de optimizar la preparación de los liposomas se realizó un diseño de experimentos  $2^4$  (Figura 1b). Las respuestas a considerar fueron el tamaño de las vesículas, el índice de polidispersión (IPD) y el potencial zeta de los liposomas, dichas respuestas fueron medidas con ayuda de un Zetasizer-ZS90 (Malvern Instruments, Reino Unido).



**Figura 1a.** Procedimiento utilizado para la formación de vesículas liposomales; **1b.** Variables y niveles estudiados en el diseño de experimentos.

### Eficiencia de encapsulamiento (% EE)

Para determinar la eficiencia de encapsulamiento se eligieron los sistemas con las mejores características de tamaño e IPD, tales sistemas fueron preparados por triplicado y el fármaco libre se separó de las vesículas utilizando filtros para centrífuga Amicon Ultra-4 (Merck, Millipore), se aplicaron 3 mL de la suspensión de vesículas en el dispositivo de filtración y se centrifugó a 5,000 rcf durante 20 minutos (centrífuga Z326, Hermle, Alemania), el fármaco libre se recuperó en el tubo de centrífuga y se cuantificó mediante espectroscopía UV-Vis.

### Incorporación de los sistemas en un gel

La preparación se realizó por el método en frío (Escobar-Chávez et al., 2006), utilizando una mezcla de polímeros (23% de poloxámero 407 y 10% de poloxámero 188) (M.A. Fathalla et al., 2017), los cuales se hidrataron en agua o en la dispersión de vesículas a 4°C durante una noche, posteriormente se homogenizaron y se evaluó la viscosidad en un viscosímetro digital de plato (CAP200, Brookfield, EE. UU.) colocando 200 µL de muestra y utilizando la aguja #1, en un intervalo de temperatura de 5 a 40 °C, a una velocidad de 50 rpm. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### Recubrimiento de los sistemas con alcohol polivinílico

Los liposomas se recubrieron agregando 2.7 mL de una dispersión de alcohol polivinílico en solución amortiguadora, de fosfatos pH 7.0, a 0.7 mL de la suspensión liposomal en agitación constante. Posteriormente los sistemas se incubaron durante una noche a 4°C. Los sistemas fueron caracterizados mediante tamaño de vesícula, IPD, potencial zeta y eficiencia de encapsulamiento, utilizando el método descrito previamente.



## Evaluación de la cinética de liberación de los sistemas

El perfil de liberación del azul de metileno a partir de los liposomas (libres, recubiertos e incorporados en gel) y de una solución del fotosensibilizador se estimó utilizando celdas de Franz. Entre el compartimento receptor y el donador se montó una membrana de diálisis de celulosa con corte de 6000-8000 Da (Spectra/Por, Biotech CE tubing) previamente hidratada en solución amortiguadora a pH 7.0. El compartimento receptor se llenó con 1.8-2.0 mL de solución amortiguadora y se mantuvo en agitación. Un volumen de 100  $\mu$ L del sistema correspondiente se adicionó al compartimento donador. La temperatura del ensayo se controló a 34 ° C para imitar la superficie ocular humana. Se retiraron alícuotas a intervalos de tiempo fijos y se sustituyeron inmediatamente por un volumen igual de tampón fresco. La cantidad de fotosensibilizador liberado se determinó mediante un método espectrofotométrico UV-vis.

## Determinación de las propiedades mucoadhesivas de los sistemas

Para evaluar las propiedades mucoadhesivas de los sistemas recubiertos e incorporados en un gel se adaptó el método de plano inclinado propuesto por Jang (Jang Shih-Fan, 2013). Se fabricó un gel compuesto por agar y mucina de cerdo, se colocó sobre una superficie con inclinación de 45° y se mantuvo a una temperatura de 34  $\pm$  2°C, se adicionó un volumen conocido del sistema a evaluar y se lavó con solución isotónica a pH 7.0 a una velocidad de 2  $\mu$ L/min durante 30 min. Al término del tiempo se retiró el gel, se cuantificó la cantidad de fotosensibilizador arrastrada por el lavado y por diferencia se determinó el porcentaje de fotosensibilizador retenido.

## Evaluación de la inhibición de crecimiento de *S. aureus* y *P. aeruginosa*

Se utilizaron dos cepas bacterianas previamente caracterizadas como resistentes, MRSA (gram positiva) y *P. aeruginosa* (gram negativa). Los cultivos de bacterias se prepararon en agar nutritivo a 37°C. Tras 24 horas de incubación, las bacterias se suspendieron hasta obtener aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/mL en solución salina isotónica.

En un tubo de ensayo de vidrio se añadieron 500  $\mu$ L de suspensión bacteriana y 500  $\mu$ L de los sistemas cargados con azul de metileno (2  $\mu$ g/mL y 20  $\mu$ g/mL). Los sistemas se incubaron a dos periodos (12 y 24 minutos) con y sin fuente de luz (luz roja,  $\lambda$  = 600 nm, con irradiancia de 20 mW/cm<sup>2</sup>). Se trataron los siguientes grupos: sólo bacterias (referencia), bacterias tratadas con el fotosensibilizador libre y bacterias tratadas con el sistema HTEAM0.2.

Se realizaron diluciones seriadas (base 10) de las muestras líquidas originales y una alícuota conocida se sembró en un medio nutritivo en placa, el conteo de colonias se realizó 48 horas después de la incubación a 37°C.

## Resultados y discusión

De los diferentes sistemas formulados, se seleccionaron aquellos con las mejores características tecnológicas (Tabla 1).

El sistema HTEAM0.2 se utilizó para la realización de los estudios posteriores debido a que el sistema HTEAM0.5 presentó precipitación del principio activo después de tres meses de estabilidad.

Los estudios reológicos de los sistemas liposomales incorporados en un mezcla de agentes gelificantes (Figura 2) muestran un aumento en la viscosidad al ser comparados con el gel control (sin vesículas), probablemente debido a las interacciones de las vesículas coloidales con el polímero gelificante generando una mayor resistencia al flujo (Antunes, Gentile, Oliviero Rossi, Tavano, y Ranieri, 2011).

Tabla 1. Sistemas liposomales seleccionados a partir del diseño de experimentos

Sistema	Componentes	Disolvente	Concentración de azul en la solución	Tamaño (nm)	IPD	Potencial zeta (mV)	%EE
HTEAM0.2	Lecitina hidrosoluble y Polisorbato 80	Etanol	0.2 mg/mL	108.0 ± 5.6	0.397 ± 0.022	-12.5 ± 1.5	90.40 ± 0.8
HTEAM0.5			0.5 mg/mL	115.2 ± 17.8	0.470 ± 0.102	-12.4 ± 0.5	91.3 ± 0.4

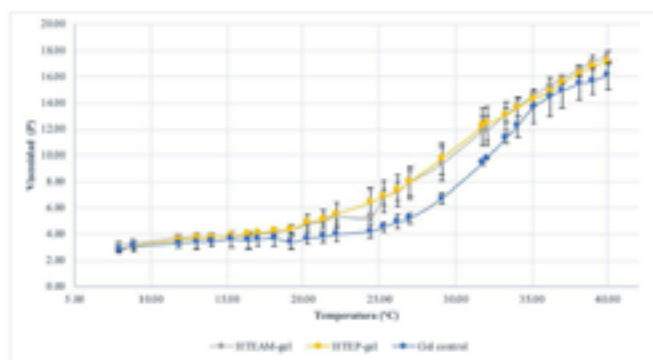


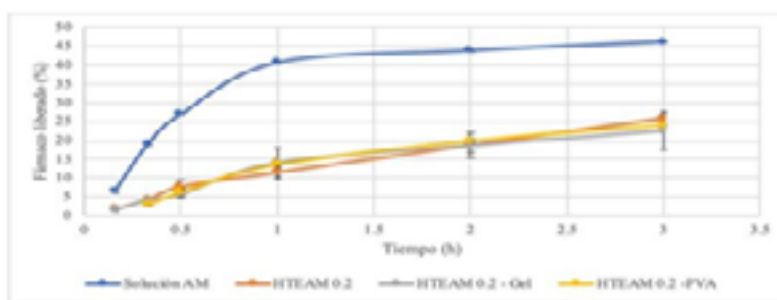
Figura 2. Comportamiento reológico de los sistemas liposomales incorporados en un gel termosensible; HTEAM: liposomas cargados con azul de metileno, HTEP: liposomas placebo

La caracterización de los liposomas recubiertos con PVA (HTEAM-PVA) se presenta en la tabla 2. Se observó un incremento en el tamaño debido a la formación de una capa de polímero en la superficie de la vesícula. Por otra parte, el potencial zeta de los sistemas recubiertos disminuyó de -12.5 a -7.6 mV. Lo que indica que la principal interacción entre los lípidos y el PVA es por atracción electrostática. El cambio en potencial zeta se atribuye al enmascaramiento de la carga superficial de los liposomas por la capa de polímero (Mu y Zhong, 2006).

**Tabla 2.** Sistemas liposomales recubiertos con PVA

Sistema	Concentración de dispersión de PVA	Tamaño (nm)	IPD	Potencial zeta (mV)	%EE
HTEAM-PVA	7% w/v	175.13 ± 10.79	0.480 ± 0.050	-7.58 ± 0.50	86.11 ± 1.06

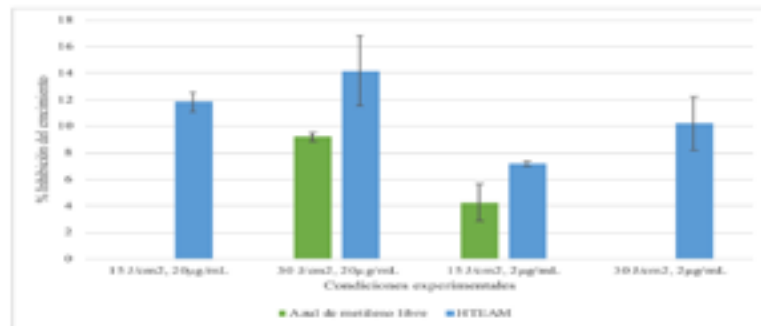
Los estudios de liberación del fotosensibilizador a partir de los sistemas se realizaron durante 3 horas (Figura 3), ya que el tiempo de residencia en la superficie ocular para aplicar TFD es relativamente corto. La solución del fármaco mostró la mayor velocidad de liberación, alcanzando casi el 50% a las 3 horas. La formulación de liposomas retrasó la liberación, ya que el fotosensibilizador necesita atravesar la membrana de la vesícula encontrándose un 22-25% de fotosensibilizador libre a las tres horas. La inclusión de vesículas en el gel termosensible y el recubrimiento de los liposomas con PVA no afectó la liberación del sistema, lo que puede explicarse por la alta solubilidad y el tamaño pequeño de la molécula del fotosensibilizador, que es capaz de abandonar el sistema una vez superada la barrera que representa la vesícula (Siepmann et al., 2012).

**Figura 3.** Perfiles de liberación de los sistemas cargados con azul de metileno

Utilizando el método de plano inclinado previamente descrito, se determinó el porcentaje de fármaco retenido de los liposomas cargados en el gel y de los recubiertos con PVA para conocer la capacidad de retención de los sistemas. Ambos sistemas presentaron más del 70% de fármaco retenido gracias a las características mucoadhesivas de los polímeros utilizados (Giuliano, Paolino, Fresta, y Cosco, 2018; Xu et al., 2013).

Se evaluó la inhibición de crecimiento en bacterias representativas de los patógenos humanos, una gram negativa, *P. aeruginosa* multirresistente, y una gram positiva, MRSA. Los microorganismos se trataron usando dos concentraciones de fotosensibilizador (2 y 20 µg/mL) y dos dosis radiantes (15 y 30 J/cm<sup>2</sup>). Se utilizaron como referencias las bacterias sin tratamiento. En el caso de MRSA, se observó mayor inhibición de crecimiento cuando se aplicaron los liposomas cargados con azul de metileno, al ser comparados con la aplicación del fotosensibilizador libre (Figura 4); probablemente debido a que el sistema liposomal facilita la liberación del azul de metileno en la membrana celular de los microorganismos

(Chen, Chen, Yang, y Tsai, 2013). Por otra parte, la cepa de *P. aeruginosa* no mostró inhibición bajo ninguna de las condiciones estudiadas.



**Figura 4.** Inhibición de crecimiento de MRSA bajo las condiciones experimentales estudiadas

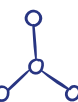
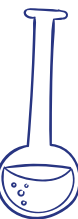
## Conclusiones

Se formuló y caracterizó un sistema liposomal flexible cargado con azul de metileno capaz de mejorar la inhibición de crecimiento de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina al ser comparado con el fotosensibilizador libre.

Los sistemas recubiertos con PVA e incorporados en un gel termosensible demostraron, a través de una evaluación *in vitro*, mantener en el sitio de acción al menos 70% del fotosensibilizador después de 30 minutos de su aplicación.

## Agradecimientos

Al programa “INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES COMECYT EDOMÉX”, Folio: CAT2021-0155 y a los proyectos PAPIIT IN204022 y Cátedra CI2209, por los recursos otorgados para la realización de este proyecto. Se agradece así mismo, al M. en C. Hugo Cuatecontzi por el apoyo brindado en el mantenimiento y calibración de diversos equipos e instrumentos.





## Referencias

Antunes, F. E., Gentile, L., Oliviero Rossi, C., Tavano, L., y Ranieri, G. A. (2011). Gels of Pluronic F127 and nonionic surfactants from rheological characterization to controlled drug permeation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 87(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.04.033>

Austin, A., Lietman, T., y Rose-Nussbaumer, J. (2017). Update on the Management of Infectious Keratitis. *Ophthalmology*, 124(11), 1678–1689. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2017.05.012>

Bandi, S. P., Bhatnagar, S., y Venuganti, V. V. K. (2021). Advanced materials for drug delivery across mucosal barriers. *Acta Biomaterialia*, 119, 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.10.031>

Boccalini, G., Conti, L., Montis, C., Bani, D., Bencini, A., Berti, D., ... Valtancoli, B. (2017). Methylene blue-containing liposomes as new photodynamic anti-bacterial agents. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(15), 2788–2797. <https://doi.org/10.1039/c6tb03367a>

Cerv, G., y Blume, G. (1992). Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration force. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1104, 226–232.

Chen, C. T., Chen, C., Yang, J.-C., y Tsai, T. (2013). Liposome-Encapsulated Photosensitizers Against Bacteria.pdf. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 8(2), 100–107.

Escobar-Chávez, J. J., López-Cervantes, M., Naik, A., Kalia, Y. N., Quintanar-Guerrero, D., y Ganem-Quintanar, A. (2006). Applications of thermo-reversible pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9, 339–358.

Giuliano, E., Paolino, D., Fresta, M., y Cosco, D. (2018). Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: An overview. *Pharmaceutics*, 10(3), 1–26. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030159>

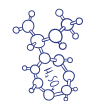
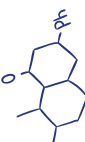
Jang Shih-Fan. (2013). *Development of a Lower Intestine Targeting Mucoadhesive Platform of Oral Drug Delivery*. University of Texas.

M.A. Fathalla, Z., Vangala, A., Longman, M., Khaled, K. A., Hussein, A. K., El-Garhy, O. H., y Alany, R. G. (2017). Poloxamer-based thermoresponsive ketorolac tromethamine in situ gel preparations: Design, characterisation, toxicity and transcorneal permeation studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 114, 119–134. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.01.008>

Molinaro, R., Gagliardi, A., Mancuso, A., Cosco, D., Soliman, M. E., Casettari, L., y Paolino, D. (2019). Development and in vivo evaluation of multidrug ultradeformable vesicles for the treatment of skin inflammation. *Pharmaceutics*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11120644>

Mu, X., y Zhong, Z. (2006). Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)-stabilized liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, 318(1–2), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.03.016>

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., y Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>







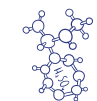
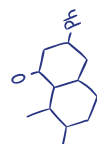
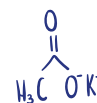
Shen, X., Dong, L., He, X., Zhao, C., Zhang, W., Li, X., y Lu, Y. (2020). Treatment of infected wounds with methylene blue photodynamic therapy: An effective and safe treatment method. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 32(October), 30–33. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102051>

Shoji, J. (2016). Bacterial keratitis. *Japanese Journal of Clinical Ophthalmology*, 70(11), 174–179.

Siepmann, J., Siegel, R. A., y Rathbone, M. J. (2012). Chapter 7. Swelling Controlled Drug Delivery Systems. In *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery* (pp. 153–170). <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0881-9>

Su, G., Wei, Z., Wang, L., Shen, J., Baudouin, C., Labbé, A., y Liang, Q. (2020). Evaluation of toluidine blue-mediated photodynamic therapy for experimental bacterial keratitis in rabbits. *Translational Vision Science and Technology*, 9(3), 1–10. <https://doi.org/10.1167/tvst.9.3.13>

Xu, Q., Boylan, N. J., Cai, S., Miao, B., Patel, H., y Hanes, J. (2013). Scalable method to produce biodegradable nanoparticles that rapidly penetrate human mucus. *Journal of Controlled Release*, 170(2), 279–286. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.05.035>





# DESARROLLO DE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO CON 2,2'-DITIOBIS(BENZOTIAZOL) PARA LA DETECCIÓN SELECTIVA DE $\text{Cu}^{2+}$

*José Manuel Flores-Álvarez\**, *Kayim Pineda-Urbina*, *Zeferino Gómez-Sandoval*

\* *Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Colima, México,*

[josemanuel@ucol.mx](mailto:josemanuel@ucol.mx), [kpineda@ucol.mx](mailto:kpineda@ucol.mx), [zgomez@ucol.mx](mailto:zgomez@ucol.mx)

## Resumen

Este estudio de investigación se enfocó en el desarrollo de un nuevo sensor con base en un electrodo de pasta de carbono modificado con 2,2'-Ditiobis(benzotiazol) (CPE-MBTS). Los resultados mostraron que el electrodo era capaz de detectar Cd, Cu y Pb; sin embargo, el sensor mostró una mayor afinidad por el Cu, por lo que posteriormente, el estudio se enfocó en aumentar la selectividad y sensibilidad del CPE-MBTS hacia el Cu, empleando principalmente, voltametría de redisolución anódica de onda cuadrada (SWASV). El sensor presentó un LOD y LOQ de 0.34 ppm y 1.02 ppm, respectivamente, con buena repetibilidad. Asimismo, el análisis de muestras reales, mostraron la confiabilidad de este electrodo para la detección de  $\text{Cu}^{2+}$  en distintos tipos de aguas.

**Palabras clave:** Electrodo de pasta de carbón, voltametría, metales pesados, MBTS, selectividad.

## Antecedentes

El cobre, debido a su versatilidad y propiedades, es uno de los metales más utilizados a nivel mundial, por lo que su demanda ha ido en aumento en los últimos años (Watari *et al.*, 2021). Aunque este metal es un bioelemento, también es considerado como un metal pesado junto con otros elementos, tales como el Cd, Hg, As, Pb, Co, Cr, etc. (Odobasić *et al.*, 2019). Tal es el impacto negativo que comienza a observarse debido a la contaminación por cobre, que han surgido iniciativas para reducir su uso (U. S. Environment Protection Agency, 2015).



Por lo anterior, es de suma importancia el monitoreo constante y confiable de metales pesados que puedan provocar serios daños a la salud humana y/o medio ambiente. Dentro de las técnicas empleadas para este fin, tales como espectroscopía de absorción atómica, UV-vis, ICP, etc., se encuentra el uso de sensores electroquímicos. Entre los diversos tipos de sensores electroquímicos que existen, se encuentran los electrodos de pasta de carbón (CPE). Este tipo de electrodos han sido ampliamente utilizados en la determinación cuantitativa y cualitativa de metales pesados (Ustabasi *et al.*, 2021). Esto se debe a que la superficie de dichos electrodos, pueden ser modificada agregando compuestos orgánicos y/o inorgánicos que les confieren una mayor sensibilidad y selectividad por algún analito en particular (Jayaprakash *et al.*, 2017).

Se han hecho considerables esfuerzos para determinar cobre en distintos tipos de muestras empleando CPE modificados con partículas de poliuretano dopadas con platino (El-Raheem *et al.*, 2020), etioporphirin I dihidrobromuro (Issa *et al.*, 2012), antimonio (Ashrafi y Vytrás, 2012) y nanotubos de carbono (Ghaedi *et al.*, 2017), biochar (Oliveira *et al.*, 2015), etc.

En un trabajo previo (Flores-Álvarez *et al.*, 2021), fue utilizado un CPE modificado con 2-mercaptobenzotiazole (MBT) utilizado para el monitoreo de Cu, ya que dicho compuesto presentó un sitio activo (tiol) que interaccionaba con el metal. Por lo tanto, en este trabajo se decidió utilizar un producto de oxidación del MBT (Goyal y Kumar, 1992), el 2,2'-Ditiobis(benzotiazol) (MBTS), ya que cuenta con el doble de sitios activos que el MBT, lo que aumentaría la sensibilidad y selectividad del CPE.

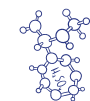
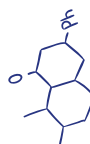
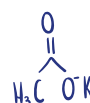
## Objetivo

Desarrollar un electrodo de pasta de carbón modificado con MBTS para la detección selectiva de  $\text{Cu}^{2+}$  en soluciones acuosas.

## Parte experimental

Para la preparación de todas las soluciones se empleó agua tridestilada y soluciones estándar de metales con una concentración de 1000 ppm. En los análisis electroquímicos fue utilizado un buffer de acetatos 0.1 M que además contenía 0.1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  o 0.1 M KCl como electrolito de soporte. El pH de la solución fue ajustado utilizando  $\text{HNO}_3$ , HCl y/o NaOH 3 M. El  $\text{HNO}_3$  y HCl se utilizaron cuando se empleaba  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  o KCl como electrolito de soporte, respectivamente. El 2,2'-Ditiobis(benzotiazol) fue adquirido de Sigma-Aldrich.

Todas las mediciones electroquímicas se realizaron con un potenciostato/galvanostato marca Voltalab, modelo PGZ100. Se utilizó una celda de tres electrodos con el CPE-MBTS o CPE-Blanco (CPE sin el MBTS) como electrodo de trabajo, una barra de grafito como



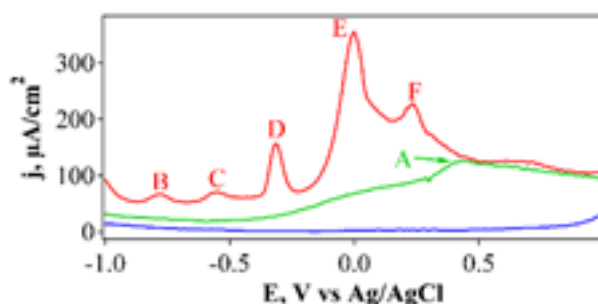
contraelectrodo y un electrodo de Ag/AgCl 3 M como referencia. Todos los potenciales se presentan en función de este electrodo.

El CPE-MBTS fue preparado mezclando 0.15 g de polvo de grafito, 0.01 g de MBTS y 52  $\mu\text{L}$  de aceite de silicón en un mortero de ágata. El procedimiento se hizo de acuerdo con (Flores-Álvarez *et al.*, 2021). El CPE-Blanco se preparó con el mismo procedimiento y cantidades que el CPE-MBTS, sin incluir el MBTS. Antes de cualquier uso, el electrodo se dejó reposar sumergiendo su superficie en agua tridestilada por 24 horas para permitir su “auto-homogeneización” (Svancara y Schachl, 2005).

Después de las 24 horas de reposo, la superficie del electrodo era renovada puliéndolo sobre una hoja de papel antes y después de cada análisis electroquímico. Después de la renovación, se comenzaba el análisis electroquímico mediante una voltametría de redisolución anódica de onda cuadrada (SWASV). Al finalizar la voltametría, el electrodo se renovaba y comenzaba de nuevo el ciclo. La secuencia utilizada en la SWASV se menciona a continuación, los datos específicos de cada punto fueron optimizados en experimentos anteriores:

1. Cronoamperometría aplicada de -1100 mV durante 1980 s para la acumulación/deposición del metal con agitación a 500 rpm.
2. Potencial de circuito abierto (OCP): 5 segundos, sin agitación.
3. Voltametría de onda cuadrada sin agitación: Duración del pulso de potencial 0.02 s, paso del pulso de potencial 10 mV y amplitud 50 mV.
4. OCP: 5 segundos con agitación a 500 rpm.
5. Cronoamperometría aplicada de 1000 mV durante 90 s para la limpieza de la superficie del electrodo con agitación a 500 rpm.

Cabe mencionar que se utilizó 1 ppm de bismuto para la detección del Cu en solución.

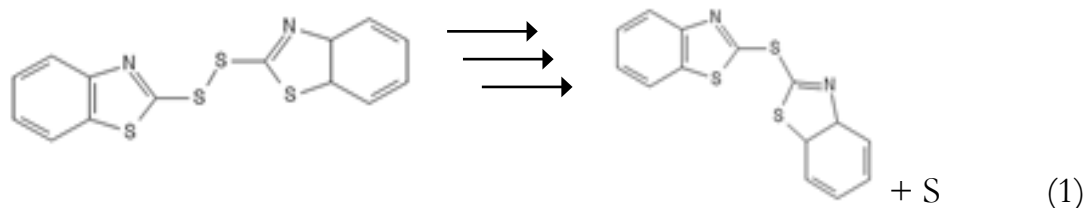


## Resultados y discusión

**Figura 1.** Voltamogramas de redisolución anódica obtenidos con el CPE-MBTS (línea verde) y CPE-Blanco (línea azul) en una solución buffer de acetatos 0.1 M, pH 5, KCl 0.1 M, sin metales y CPE-MBTS con metales (línea roja).

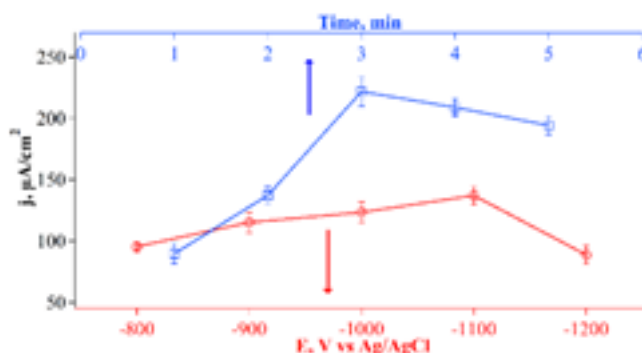
Los picos de corriente de redisolución anódica generados por el CPE-MBTS en presencia de distintos metales pesados se muestran en la figura 1, donde se observan tres voltamogramas obtenidos con el CPE-Blanco (línea azul), que se utiliza solo como referencia y el CPE-MBTS (línea verde) en una solución sin metales, así como el mismo electrodo en una solución con metales (línea roja). Cabe mencionar que los voltamogramas mostrados se obtuvieron con todos los parámetros de la SWASV optimizados y mencionados en la parte experimental.

En la figura en cuestión, al emplear el CPE-MBTS (línea verde) se puede apreciar claramente un pico de corriente A que, de acuerdo con Goyal y Kumar (1992), se debe a la formación del 2,2'-tiobis(benzotiazol) y azufre elemental por la electrooxidación del 2,2'-Ditiobis(benzotiazol) (Ec. 1).



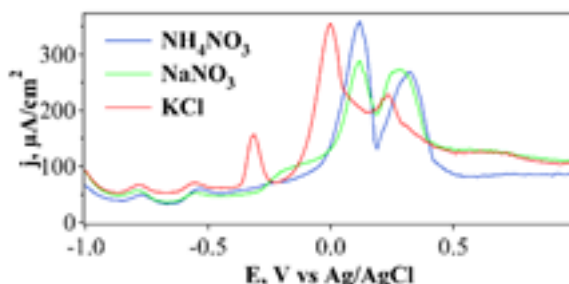
La identificación de picos de corriente del B al F se hizo agregando a la solución y estudiando un metal a la vez. Con esta estrategia se logró identificar el pico B, que corresponde a la oxidación de  $\text{Cd}^0 \rightarrow \text{Cd}^{2+} + 2e^-$ , C y D:  $\text{Pb}^0 \rightarrow \text{Pb}^{2+} + 2e^-$ , E y F:  $\text{Cu}^0 \rightarrow \text{Cu}^{2+} + 2e^-$ . Existen dos picos de oxidación para cobre y para plomo debido a que estos metales se depositan sobre la superficie del electrodo en ambientes diferentes (Flores-Álvarez et al., 2021). Cabe mencionar que la corriente de los picos de cobre son mayores que los observados para los otros metales, lo que demuestra que el electrodo tiene un carácter selectivo por el Cu.

En la figura 2, se muestra la influencia del potencial de acumulación (línea roja) y el tiempo de acumulación (línea azul) en la detección de cobre empleando el CPE-MBTS. Al igual que en los experimentos anteriores, la respuesta de corriente fue determinada por el pico de redisolución F de la figura 1. Con respecto al potencial de acumulación (línea roja), en la figura puede observarse un aumento de la corriente conforme el potencial de acumulación/reducción cambia de  $-800 \text{ mV}$  a  $-1100 \text{ mV}$ , para después comenzar a disminuir. Esto se debe a que la reacción de reducción del Cu se lleva a cabo con una mayor cinética conforme se aplica un potencial de reducción cada vez más negativo; sin embargo, la reducción del agua ( $2\text{H}_2\text{O} + 2e^- \rightarrow \text{H}_{2(g)} + 2\text{OH}^-$ ) comienza a un potencial aproximado de  $-0.8 \text{ V}$ , produciendo gas hidrógeno sobre la superficie del electrodo, lo que obstaculiza la reacción de reducción del Cu y cuyos efectos comienzan a ser evidentes a potenciales más negativos de  $-1100 \text{ mV}$ , ya que disminuye la corriente del pico del Cu.



**Figura 2.** Determinación del potencial de acumulación (línea roja) y tiempo de acumulación (línea azul).

Un aspecto importante observado en el pico de redisolución F de la figura 1, es la baja corriente que se generaba durante este proceso, lo que provocaba un traslape de este pico por la corriente de fondo generada por la oxidación del MBTS. Esto puede deberse a que el Cu puede formar complejos poco solubles con iones inorgánicos, como por ejemplo el  $\text{CuCl}$  ( $k_{sp} = 1.72 \times 10^{-7}$  (Speight, 2016)) durante su reducción (Flores-Álvarez et al., 2011). Esta formación de complejos es probable que haya inhibido la reducción del Cu, mermando su corriente; por tal razón, se procedió a estudiar la influencia del electrolito utilizado.

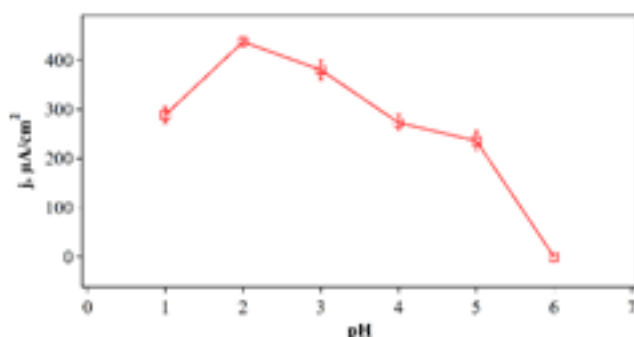


**Figura 3.** Influencia del electrolito sobre la corriente del pico F mostrado en la figura 1.

En la figura 3 se muestran ||| tres voltamogramas donde se observa la variación de la corriente del pico de redisolución de Cu a cambiar de electrolito de soporte. En la figura se hace evidente que la corriente del pico aumenta cuando se utilizan las sales de nitrato, siendo el  $\text{NaNO}_3$  con la que se genera una mayor corriente, apenas por encima del  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Esto demuestra la probable formación de complejos de Cu con el  $\text{Cl}^-$  al utilizar el KCl como electrolito, como se mencionó anteriormente.

El pH es uno de los parámetros más importantes en el monitoreo de metales pesados, pues este modifica la forma química en el que se encuentra el metal en solución por efecto de las reacciones de hidrólisis, precipitación, complejación, disociación y otras reacciones que ocurren entre el medio y los metales pesados (Cruz-Lopes et al., 2021; Ofomaja y Ho, 2007), afectando, asimismo, la química superficial del electrodo.

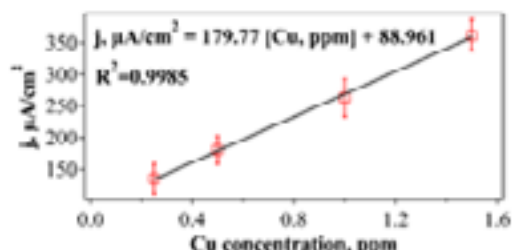
En la figura 4 se presenta un gráfico donde se observa la influencia que el pH de la solución tuvo sobre la corriente de pico de oxidación del Cu (ver pico a 0.3 V en la figura 3, línea azul). En la figura puede observarse un aumento de la corriente cuando el pH aumenta de 1 a 2, para después disminuir a partir de pH 3 hasta 6, donde ya no se observa claramente el pico de corriente del Cu.



**Figura 4.** Influencia del pH en el pico de corriente  $I_p$

Tomando como referencia el punto de corriente más alto a pH 2, existen varios fenómenos que pueden explicar el comportamiento observado en la figura 4. La disminución de corriente que se presenta a pH 1, se debe principalmente a la competencia entre los iones  $H^+$  y los cationes metálicos presentes en la solución por los sitios disponibles (Feng et al., 2011) de la superficie del electrodo, especialmente por los grupos funcionales (el grupo tiol, en este caso) que contiene el MBTS. Conforme el pH aumenta, la concentración de iones  $H^+$  disminuye, dejando más sitios disponibles para interactuar con el MBTS, lo que provoca un máximo de corriente a pH 2. La disminución de corriente a un pH > 2 puede deberse al comienzo de la hidrólisis de los metales y posterior precipitación de los metales a pH 6.

Un aspecto importante que debe de mencionarse es que a un pH  $\leq 2$  solo se presentaba un pico de corriente del Cu (resultados no incluidos), y no los dos característicos que pueden observarse en la figura 3. Por tal razón, los puntos de corriente a pH 1 y 2 mostrados en la figura 4 se obtuvieron de este único pico de redisolución. A pH 3, ya era posible distinguir claramente los dos picos característicos y debido a esto, el pH 3 fue tomado como parámetro ideal para posteriores experimentos.



**Figura 5.** Influencia de la concentración de Cu sobre el pico de corriente (ver pico a 0.3 V en la figura 3, línea azul) empleando el CPE-MBTS.

En la figura 5 muestra la curva de calibración que se obtuvo al aplicar todos los parámetros que se han establecido como adecuados a lo largo de este trabajo con una  $n = 5$  en un rango de concentración de Cu de 0.25 ppm a 1.5 ppm. Se calculó el LOD y el LOQ según Wenzl et al., (2016), obteniéndose un valor de 0.34 ppm y 1.02 ppm, respectivamente. De acuerdo con normas nacionales (Ministry of Health, 2019) e internacionales (U. S. Environmental Protection Agency, 2018; World Health Organization, 2017), el límite máximo permisible del Cu en agua potable varía entre 1.3 ppm y 2 ppm. Y aunque existen electrodos con límites de detección menores (ver tabla 1R), el CPE-MBTS es capaz de detectar concentraciones entre 4 y 6 veces menores al límite máximo permisible que se establece a nivel mundial, lo cual es suficiente para prevenir cualquier inconveniente que involucre la salud humana o daños al medio ambiente.

Si se compara el LOD (0.71 ppm) obtenido con un CPE modificado con MBT (Flores-Álvarez et al., 2021) con el LOD obtenido en este estudio, se puede observar que al aumentar al doble los moles de sitios activos con el MBTS, el LOD disminuyó a la mitad (0.34 ppm), aproximadamente mejorando la sensibilidad del CPE-MBTS frente al CPE-MBT.

En la tabla 1 se muestra el análisis efectuado a cinco muestras reales donde se les agregó 1 ppm de Cu con todos los parámetros óptimos que resultaron a lo largo de este trabajo. Puede observarse que existe una buena correlación entre la cantidad de Cu agregada y la detectada, con excepción de las muestras de agua de mar, donde no fue posible detectar el pico de cobre, probablemente debido a la formación de complejos entre los aniones encontrados en la muestra y el Cu, como se mencionó en la sección anterior. Aun así, el CPE-MBTS resultó ser un sensor adecuado para la detección de Cu en muestras de distintos tipos de aguas.



**Tabla 1.** Muestras reales analizadas con el CPE-MBTS. Buffer de acetatos 0.1 M, pH = 3,  $[Bi^{3+}] = [Cu^{2+}] = 1$  ppm, y  $NH_4NO_3$  0.1 M como electrolito de soporte, n = 5.

Muestra	Original, ppm	$Cu^{2+}$ agregado, ppm	$Cu^{2+}$ detectado, ppm	Recuperación, %	%RSD (n = 5)
Agua de grifo	ND*	1 ppm	1.09	109	7.1
Agua potable	ND	1 ppm	1.02	101	6.1
Agua de río	ND	1 ppm	1	100	4.7
Agua de lago	ND	1 ppm	1.03	103	5.3
Agua de mar	ND	1 ppm	-	-	-

\*No detectado

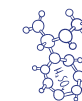
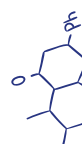
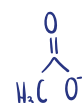
## Conclusiones

Se desarrolló un nuevo tipo de electrodo capaz de monitorear de forma cuantitativa y cualitativa  $Cu^{2+}$  en distintos tipos de aguas.

A lo largo de este estudio se establecieron las mejores condiciones de trabajo con la finalidad de aumentar el pico de redisolución del Cu obtenido con el CPE-MBTS para aumentar la sensibilidad y selectividad del electrodo, debido a la interacción del metal con los grupos funcionales del MBTS, especialmente el tiol.

El electrodo fue capaz de detectar Pb y Cd; sin embargo, el monitoreo de estos metales se hizo solo de forma cualitativa y no cuantitativa, ya que las concentraciones detectadas por el CPE-MBTS, siempre fueron mayores a los límites máximos permisibles que se estipulan en distintas normas internacionales.

El análisis de muestras reales demuestra que el electrodo puede usarse de forma confiable.





## Referencias

Ashrafi, A. M., y Vytřas, K. (2012). New procedures for voltammetric determination of copper (II) using antimony film-coated carbon paste electrodes. *Electrochimica Acta*, 73, 112–117. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2011.12.042>

Cruz-Lopes, L. P., Macena, M., Esteves, B., y Guiné, R. P. F. (2021). Ideal pH for the adsorption of metal ions Cr<sup>6+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> in aqueous solution with different adsorbent materials. *Open Agriculture*, 6(1), 115–123. <https://doi.org/doi:10.1515/opag-2021-0225>

El-Raheem, H. A., Hassan, R. Y. A., Khaled, R., Farghali, A., y El-Sherbiny, I. M. (2020). Polyurethane-doped platinum nanoparticles modified carbon paste electrode for the sensitive and selective voltammetric determination of free copper ions in biological samples. *Microchemical Journal*, 155, 104765. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2020.104765>

Flores-Álvarez, J. M., Cortés-Arriagada, D., Reyes-Gómez, J., Gómez-Sandoval, Z., Rojas Montes, J. C., y Pineda-Urbina, K. (2021). 2-Mercaptobenzothiazole modified carbon paste electrode as a novel copper sensor: An electrochemical and computational study. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 888, 115208. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2021.115208>

Flores-Álvarez, J. M., González, I., García-de la Rosa, L. A., Mancilla-Peña, F., y Reyes-Gómez, J. (2011). Carbon paste electrodes modified with biosolids, soils and biocomposites utilized to study the interaction between organic matter and copper. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 448–456. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2010.08.033>

Ghaedi, M., Naderi, S., Montazerzohori, M., Taghizadeh, F., y Asghari, A. (2017). Chemically modified multiwalled carbon nanotube carbon paste electrode for copper determination. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2934–S2943. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2013.11.029>

Goyal, R. N., y Kumar, A. (1992). Investigations on electrochemical oxidation of 2-mercaptobenzothiazole. *Indian Journal of Chemistry*, 31A, 237–242. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/46066>

Issa, Y. M., Ibrahim, H., y Shehab, O. R. (2012). New copper(II)-selective chemically modified carbon paste electrode based on etioporphyrin I dihydrobromide. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 666, 11–18. <https://doi.org/10.1016/J.JELECHEM.2011.11.024>

Jayaprakash, G. K., Swamy, B. E. K., Chandrashekar, B. N., y Flores-Moreno, R. (2017). Theoretical and cyclic voltammetric studies on electrocatalysis of benzethonium chloride at carbon paste electrode for detection of dopamine in presence of ascorbic acid. *Journal of Molecular Liquids*, 240, 395–401. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2017.05.093>

Ministry of Health. (2019). Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5581179yfecha=06/12/2019](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5581179yfecha=06/12/2019)

Odobašić, A., Šestan, I., y Begić, S. (2019). Biosensors for Determination of Heavy Metals in Waters. In T. Rincken y K. Kivirand (Eds.), *Biosensors for Environmental Monitoring*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84139>



Ofomaja, A. E., y Ho, Y. S. (2007). Effect of pH on cadmium biosorption by coconut copra meal. *Journal of Hazardous Materials*, 139(2), 356–362. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2006.06.039>

Oliveira, P. R., Lamy-Mendes, A. C., Rezende, E. I. P., Mangrich, A. S., Marcolino Junior, L. H., y Bergamini, M. F. (2015). Electrochemical determination of copper ions in spirit drinks using carbon paste electrode modified with biochar. *Food Chemistry*, 171, 426–431. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.09.023>

Speight, J. (2016). *Lange's Handbook of Chemistry* (17th ed.). McGraw Hill.

Svancara, I., y Schachl, K. (2005). Testing of unmodified carbon paste electrodes. *Chemické listy*, 93(8)

U. S. Environment Protection Agency. (2015). Copper-Free Brake Initiative. <https://www.epa.gov/npdes/copper-free-brake-initiative>

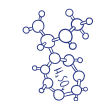
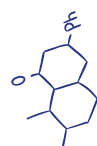
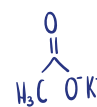
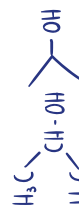
U. S. Environmental Protection Agency. (2018). 2018 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. EPA 822-F-18-001. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2018-03/documents/dwtable2018.pdf>

Ustabasi, G. S., Ozcan, M., y Yilmaz, I. (2021). Review—Voltammetric Determination of Heavy Metals with Carbon-Based Electrodes. *Journal of The Electrochemical Society*, 168(9), 97508. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac253c>

Watari, T., Nansai, K., y Nakajima, K. (2021). Major metals demand, supply, and environmental impacts to 2100: A critical review. *Resources, Conservation and Recycling*, 164, 105107. <https://doi.org/10.1016/J.RESCONREC.2020.105107>

Wenzl, T., Johannes, H., Schaechtele, A., Robouch, P., y Stroka, J. (2016). Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food. EUR 28099 EN. Publications Office of the European Union. <https://doi.org/10.2787/8931>

World Health Organization. (2017). Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum (Fourth). <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>





# APLICACIÓN DE TERAPIA FOTODINÁMICA Y SONODINÁMICA CONTRA PATÓGENOS RESISTENTES PARA INFECCIONES NOSOCOMIALES EN PIEL EMPLEANDO RB ENCAPSULADO EN TRANSFERSOMAS®

Omar Molina Alejandro<sup>1\*</sup>, Norma Angélica Villanueva Martínez<sup>1</sup>, Laura Abril Pérez Carranza<sup>2</sup>, Andrea Ángela Becerril Osnaya<sup>2</sup> Gonzalo Hedain López Mera<sup>3</sup>, Raúl Dalí Cruz Morales<sup>3</sup>, Diego Sánchez García<sup>3</sup>, Flora Adriana Ganem Rondero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322), FESC-UNAM, México,

<sup>2</sup>Bacteriología diagnóstica, FESC-UNAM, México, <sup>3</sup>Departamento de Ingeniería, FESC-UNAM, México,

<sup>1</sup>[omar.molina@cuautitlan.unam.mx](mailto:omar.molina@cuautitlan.unam.mx), <sup>1</sup>[angelynca1024@gmail.com.mx](mailto:angelynca1024@gmail.com.mx), <sup>1</sup>[ganem@comunidad.unam.mx](mailto:ganem@comunidad.unam.mx),

<sup>1</sup>[ganemq@hotmail.com](mailto:ganemq@hotmail.com), <sup>2</sup>[lapc.bqd@gmail.com](mailto:lapc.bqd@gmail.com), <sup>2</sup>[andreabecerril1002@hotmail.com](mailto:andreabecerril1002@hotmail.com)

<sup>3</sup>[dgosanchez@comunidad.unam.mx](mailto:dgosanchez@comunidad.unam.mx), <sup>3</sup>[rdcruz@comunidad.unam.mx](mailto:rdcruz@comunidad.unam.mx), <sup>3</sup>[ghlopez@comunidad.unam.mx](mailto:ghlopez@comunidad.unam.mx)

## Resumen

Las infecciones del sitio quirúrgico (ISQ) son la tercera infección nosocomial notificada con mayor frecuencia y representan de 14 al 16% de todas las infecciones nosocomiales entre sujetos hospitalizados. La mayoría de las ISQ son ocasionadas por bacterias multirresistentes de preocupación mundial, por lo que se deben de desarrollar metodologías y estrategias que permitan su ofensiva. Las terapias fotodinámica y sonodinámica consisten en la generación de especies reactivas de oxígeno que dañan las membranas bacterianas y las conducen a la muerte, por lo tanto, al usar Rosa de Bengala, como fotosensibilizador y/o sonosensibilizador, encapsulado en Transfersomas®, se mejoró su eficiencia contra *Staphylococcus aureus* meticilina resistente y *Pseudomonas aeruginosa*.

**Palabras clave:** Terapia fotodinámica, Terapia sonodinámica, Rosa de Bengala, Transfersomas®, infecciones



## Antecedentes

Las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS), se definen de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), como aquellas infecciones que afectan a un paciente durante el proceso de asistencia en un hospital o Centro Sanitario, que no estaba presente, ni en período de incubación al momento de su ingreso y que pueden inclusive llegar a manifestarse después del alta del paciente. Actualmente en México, la vigilancia epidemiológica de las IAAS está a cargo de la Red de Vigilancia Epidemiológica Hospitalaria (RHOVE). Dentro de los 5 principales servicios nosocomiales, la infección en piel y tejidos blandos se encuentra en 2 de ellos, siendo el servicio de cirugía general el que presenta mayor incidencia (SSA RHOVE, 2022).

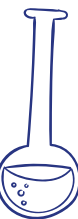
La piel es la principal barrera estructural del organismo, y todo proceso que produzca una alteración en la misma favorece el desarrollo de infección. Las infecciones de piel y partes blandas constituyen un motivo de consulta frecuente y originan gran parte de las prescripciones de antibióticos en la práctica médica diaria (SSA HGM, 2015).

Las infecciones de sitio quirúrgico (ISQ) se definen como aquella infección que ocurre dentro de los primeros 30 días del procedimiento quirúrgico, involucrando piel y tejido profundo en el sitio de la incisión. Además, puede presentar secreción purulenta en el sitio de la herida, identificación del microorganismo por cultivo y datos clínicos de inflamación (IMSS, 2018) (Solís-Téllez et al, 2017).

Esta infección suele contraerse durante la propia operación, ya sea en forma exógena o endógena (de la microbiota de la piel o del sitio de la operación). Los microorganismos infecciosos son variables, según los antecedentes del paciente, el tipo y sitio de la intervención quirúrgica, así como los antimicrobianos que recibe el paciente. Los microorganismos reportados con mayor frecuencia en México incluyen *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (SSA 2019).

Las ISQ son las complicaciones postoperatorias más frecuentes en ámbitos quirúrgicos y en muchos países; el impacto es mayor en países de medianos y bajos ingresos. Se estima que las ISQ representan entre el 15 y 30 % de todas las infecciones intrahospitalarias con una tasa de mortalidad entre 0.6 y 1.9%. Cada ISQ incrementa en promedio siete días de estancia hospitalaria, lo cual eleva significativamente los costos de atención (Martínez-Garduño et al, 2022).

De acuerdo con la lista de “patógenos prioritarios” resistentes a los antibióticos, publicada por la OMS, *P. aeruginosa* y *S. aureus* tienen una prioridad crítica y alta, respectivamente en cuanto a resistencia bacteriana ya que a lo largo del tiempo han desarrollado diversos





mecanismos de resistencia por lo que se busca urgentemente nuevos tratamientos para hacerles frente (OMS, 2021).

Los avances recientes en bioingeniería, medicina, química, nanotecnología y ciencias farmacéuticas han dado como resultado el desarrollo de numerosas estrategias innovadoras para minimizar las complicaciones o efectos secundarios que están asociados con el tratamiento y cicatrización de heridas. En particular, algunos investigadores se centran en nuevas terapias con el objetivo de mejorar el papel vital en muchos tratamientos complicados de heridas (Burillo et al, 2007) (Shanmugapriya et al 2019).

La terapia fotodinámica (TF) es un tratamiento clínico no invasivo para varias afecciones patológicas como cáncer, enfermedades infecciosas, degeneración macular relacionada con la edad, psoriasis y trastornos autoinmunes. Se ha propuesto el uso de TF en el tratamiento de heridas y trastornos de la piel, esto comprende la aplicación tópica de un fotosensibilizador (FS) en el sitio de la enfermedad de la piel, seguida de la aplicación de luz de una longitud de onda específica para generar Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) (Semeraro et al, 2018). Asimismo, desde hace algunos años se reporta con cada vez más frecuencia, la posibilidad de emplear fármacos capaces de activarse con energía de ultrasonido, en lugar de luz. Esta terapia, conocida como Terapia Sonodinámica (TS) ha surgido como una opción prometedora para el tratamiento mínimamente invasivo de tumores cancerosos sólidos e infecciones bacterianas (Abrahamse et al, 2016).

El rosa de bengala (RB) es un colorante xanteno aniónico soluble en agua que ha sido ampliamente estudiado a través del tiempo debido a su uso como reactivo en diferentes pruebas, así como por su fotoactividad, con aplicaciones antimicrobianas y anticancerígenas (Abrahamse et al, 2016).

El mayor desafío en el uso de la TF y TS tópica es la penetración insuficiente del FS y/o sonosensibilizador (SS) en la piel, lo que limita su uso. Por ello, se ha propuesto la inclusión de los FS y SS en sistemas nanoacarreadores que promuevan su penetración. Es evidente, a partir de estudios preclínicos y clínicos que los nanoacarreadores aumentan la eficacia terapéutica de los FS y SS. Por lo tanto, estos sistemas submicronicos podrían usarse como posibles sistemas de administración en TF y TS (Qidwai et al, 2020).

En este trabajo, se desarrolló y caracterizó una formulación a base de Transfersomas® conteniendo RB y se evaluó su eficiencia para disminuir o inhibir cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus* Meticilina Resistente (SAMR) de origen clínico.

## Objetivos

Desarrollar, caracterizar y evaluar Transfersomas® cargados con RB, como fotosensibilizador y sonosensibilizador, para el tratamiento de infecciones de heridas quirúrgicas mediante el uso de TF y TS.

- Preparar Transfersomas® cargados con RB, optimizando la formulación y el método de preparación, a través de un diseño de experimentos.
- Caracterizar los Transfersomas® mediante la medición del tamaño de partícula, índice de polidispersión, potencial zeta, eficiencia de carga, eficiencia de encapsulación y morfología.
- Llevar a cabo pruebas de liberación in vitro de RB, a partir de los sistemas nanoacarreadores preparados, empleando celdas tipo Franz.
- Efectuar pruebas microbiológicas para evaluar la actividad antimicrobiana del RB libre e incluido en Transfersomas®, empleando TF y TS, sobre cultivos bacterianos de *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

## Parte experimental

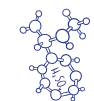
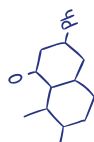
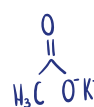
### Preparación de Transfersomas®

La preparación de los Transfersomas® cargados de RB se realizó mediante el método de Bangham o hidratación de película adaptado por Nava (Nava et al, 2011), optimizado mediante un diseño de experimentos  $2^4$  cuyos factores y respuestas de muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Diseño del experimento factorial  $2^4$  con 2 respuestas para Transfersomas® cargados con RB

Factor	Unidades	Tipo de factor	Low (-1)	High (+1)
Tipo de Estabilizante	N/A	Categorico	PF127	PP123
Fuente de fosfolípidos	N/A	Categorico	LSE	LSH
Disolvente	N/A	Categorico	Etanol	Isopropanol
Concentración de RB	mg/mL	Numérico	2	4
Respuesta 1: Tamaño de partícula en nm				
Respuesta 2: Índice de Polidispersión (IP)				

LSE = Lecitina estándar, LSH = Lecitina hidrosoluble, PF127 = Pluronic F-127, PP123 = Pluronic P-123





### *Medición del tamaño de Partícula, índice de polidispersión (IP) y potencial Z*

Se empleó un Zetasizer Nano-ZS90 Malvern Instruments (Worcestershire, West Midlands, United Kingdom) para determinar el tamaño de partícula y el IP mediante la técnica de dispersión dinámica de luz. El potencial zeta se determinó mediante el empleo del mismo equipo, por la técnica de dispersión de luz electroforética.

### *Determinación de la eficiencia de encapsulación y capacidad de carga*

Para el RB, se determinó el porcentaje de encapsulación de manera indirecta, mediante centrifugación diferencial empleando Tubos Amicon® Ultra 4 (Merck Millipore®), con un tamaño de poro de 100 kDa. Se tomaron 3 mL de la dispersión de Transfersomas® cargados con RB y se añadieron a un tubo Amicon®, centrifugándose a 5000 rcf por 20 minutos a 15°C (centrífuga Z326, Hermle, Alemania). Posteriormente, el filtrado se recuperó, y se cuantificó la cantidad de RB por espectrofotometría UV/Vis.

### *Análisis por espectroscopía de infrarrojo*

Los espectros infrarrojos fueron adquiridos por un equipo de FTIR Carry 630 (Agilent Technologies®, USA). Se colocaron muestras de materias primas, mezclas físicas y Transfersomas® liofilizados en una celda ATR de diamante horizontal para registrar el espectro infrarrojo. Las mediciones representaron un promedio de 150 escaneos con una resolución de 16 cm<sup>-1</sup>.

### *Análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido*

Las propiedades térmicas de las materias primas, mezclas físicas y Transfersomas® liofilizados fueron determinadas empleando un Calorímetro Diferencial de Barrido Q20 (TA Instruments, USA). Cada muestra fue pesada (aproximadamente 2 mg) en celdas de aluminio tzero. Las muestras se calentaron en un rango de temperatura de -10 a 395 °C con una rampa de calentamiento de 5 °C/min. Se usó una celda vacía como referencia, calibrando con In metálico. El nitrógeno fue usado como gas de transferencia a una velocidad de flujo de 50 mL/min.

### *Estudios de liberación in vitro*

Un volumen de 150 µL de las formulaciones (equivalente a 300 µg de RB) se colocaron en el medio donador de celdas tipo Franz. Como medio receptor se empleó Buffer de fosfatos pH 7.42, manteniéndolo a 32 °C, bajo agitación constante. Entre el compartimento receptor y el donador se colocó una membrana de diálisis con punto de corte de PM de 6-8 KDa (dialysis tube Spectrum Laboratories, Inc., Switzerland) de 2 cm de diámetro. Se tomó todo



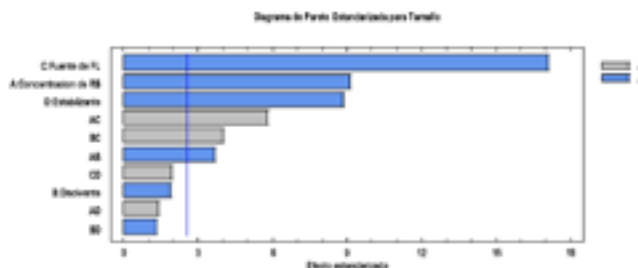
el volumen del medio receptor por intervalos de tiempo de 1 hora hasta completar 8 horas, reponiendo el volumen con medio fresco, asegurando las condiciones *sink*. Se determinó la cantidad de RB por espectrofotometría UV/Vis y, con fines comparativos, se realizó el mismo estudio empleando una solución de RB.

### Pruebas microbiológicas por cuenta viable

Para determinar la inhibición microbiológica de los Transfersomas® cargados con RB, así como del RB libre y placebos, se realizaron ensayos de cuentas viables de cultivos planctónicos de las cepas SAMR y *P. aeruginosa* de origen clínico, previamente identificadas, en presencia y ausencia de luz. Los cultivos bacterianos axénicos de ambas cepas se incubaron a 37 °C en agar chocolate por 24 horas previo a su uso. Posteriormente se tomaron colonias de cada una de las cepas trabajadas hasta igualar el grado de turbidez con una solución de BaSO<sub>4</sub> (referencia del nefelómetro de McFarland 0.5 equivalente a 1.5x10<sup>8</sup> UFC/mL). Una vez obtenido el nefelómetro para ambas cepas, los sistemas a evaluar (Placebos, Transfersomas® cargados con RB y RB libre) se mezclaron 1 a 1 con las bacterias y seguidamente se aplicó luz verde empleando una lámpara comercial modificada ( $\lambda = 532$  nm) y un baño de ultrasonido (40kHz y 50W) con concentraciones de RB de 1.75 y 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  por 15 y 30 minutos y se realizaron una serie de diluciones decimales hasta 7 diluciones. Finalmente, se tomaron 0.1 mL y se inocularon en cajas de Agar para métodos estándar y se incubaron por 48 h a 37°C. Cada determinación se realizó por duplicado.

## Resultados y discusión

Utilizando el software estadístico Statgraphics® Centurion XVI se determinaron los factores que influyen de manera significativa en el tamaño de partícula e IP.



**Figura 1.** Gráfico de Pareto para tamaño de partícula.





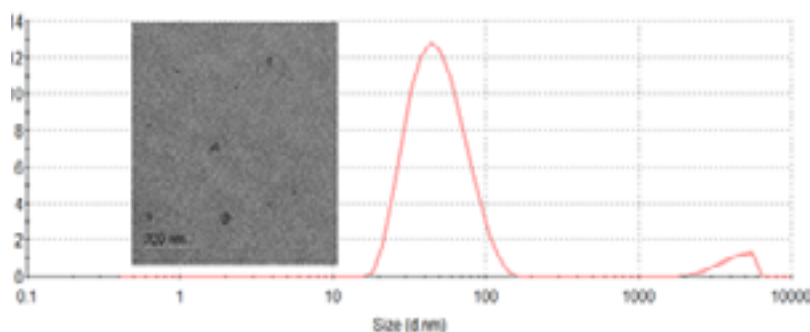
En la figura 1, los factores A, C, D, AB, AC y BC rebasan el valor límite de  $t$ , por lo tanto, son los factores que se consideran influyen en el tamaño de partícula, siendo la fuente de fosfolípidos (C) el que mayor impacto tiene, mientras que la interacción Concentración de RB- Disolvente (AB) es el que menor impacto presenta.

Así, de acuerdo con el diseño experimental, se seleccionó la formulación que contiene Lecitina de soya hidrosoluble (LH) como fuente de fosfolípidos, PF127® como estabilizante y una concentración de RB de 2 mg/mL (formulación LH-PF127). Las características de esta formulación se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** *Tamaño, IPD, Potencial Z, encapsulación y capacidad de carga (CC) de Transfersomas® cargados con RB (n=3)*

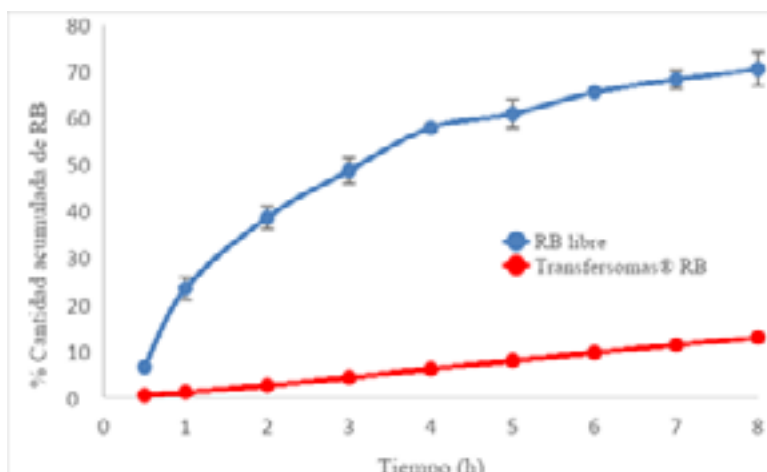
Experimento	Tamaño (nm)	IP	Pot Z (mV)	Encapsulación (%)	CC ( $\mu\text{g}$ RB/mg formulación)
LH	49.36 $\pm$ 2.3	0.210 $\pm$ 0.01	-31 $\pm$ 13.3	93.45 $\pm$ 0.06	61.0

El análisis por Espectroscopía de Infrarrojo y por Calorimetría diferencial de barrido muestran que el RB se encuentra en dispersión molecular dentro de los Transfersomas® de LH-PF127. La distribución de tamaño de vesícula es unimodal con valor de IP aceptable y una morfología esférica, como se muestra en la figura 2.



**Figura 2.** *Distribución de tamaño de vesícula y morfología de Transfersomas® cargados con RB.*

La prueba de liberación *in vitro* (figura 3) mostró que el RB se libera gradualmente a partir de los Transfersomas®, liberándose un 8-9% a las 8 h y ajustándose al modelo de Peppas-Korsmeyer con un valor de  $n$  cercano a 1, por lo que la cinética de liberación es de orden cero; mientras que el RB libre difunde más rápidamente (70% a las 8 h) siguiendo una cinética de primer orden.



**Figura 3.** Perfiles de liberación de RB (2 mg/mL) libre e incluido en la formulación de Transfersomas® LH-PF127 (n=3) (las barras de error indican la desviación estándar).

Las pruebas de inhibición microbiana contra SAMR mostraron que al usar el RB libre la inhibición máxima encontrada fue a los 15 minutos con una concentración de  $1.75 \mu\text{g/mL}$  ( $8.18_{\log_{10}}$ ), al incluir el RB en Transfersomas® y a las mismas condiciones se incrementó la inhibición ( $6.47_{\log_{10}}$ ), mientras que al aplicar una fuente de luz verde con la lámpara modificada la inhibición llega hasta  $5.82_{\log_{10}}$  a las mismas condiciones. Mientras que con TS, se necesita mayor tiempo y mayor concentración (30 min,  $3 \mu\text{g/mL}$ ) para inhibir hasta  $6.97_{\log_{10}}$ .

En cuanto a *P.aeruginosa*, se encontró que la inhibición máxima que presenta con  $2 \text{ mg/mL}$  de exposición a 30 minutos de RB libre fue de  $7.85_{\log_{10}}$  pero si se incluyen en Transfersomas® se tienen inhibiciones similares (pero bajando mucho la concentración ( $1.75 \mu\text{g/mL}$ )). Al aplicar luz verde no se pudo observar una gran inhibición a concentraciones de  $1.75$  y  $3 \mu\text{g/mL}$  mientras que al aplicar TS la inhibición con respecto a los Transfersomas® cargados con RB se incrementó hasta el 14%.

## Conclusiones

Fue posible, preparar, caracterizar y evaluar un sistema de Transfersomas® conteniendo RB para su estudio aplicando TF y TS en bacterias multirresistentes presentes en ISQ empleando TF y TS.

## Agradecimientos

Al CONACYT por la beca proporcionada para los estudios de este proyecto (CVU:956600), así como a los proyectos IN204022 y CI2209 por el apoyo financiero. Se agradece al TA Hugo Cuatecontzi Flores por el apoyo brindado en la calibración y mantenimiento de equipos e instrumentos.



## Referencias

Abrahamse, H., & Hamblin, M. (2016). New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem. J.*, 473, 347-364.

Burillo, A., Moreno, A., y Salas, C. (2007). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 25(9). 579-86.

Instituto Mexicano del Seguro Social (2018). Prevención y diagnóstico de la infección del sitio quirúrgico. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México [02/07/23]. Disponible <http://imss.gob.mx/profesionales-salud/gpc>

Martínez-Garduño, M. D., García-Ferrer, V., Gómez-Torres, D., & Ángeles-Ávila, G. (2022). Cuidado de enfermería para la prevención de infección en sitio quirúrgico en un hospital público de segundo nivel. *Revista Salud y Cuidado*, 1(3), 49-68.

Nava, G., Piñón, E., Mendoza, L., Mendoza, N., Quintanar, D., & Ganem, A. (2011). Formulation and in vitro, ex vivo and in vivo evaluation of elastic liposomes for transdermal delivery of ketorolac tromethamine. *Pharmaceutics*, 3(4), 954-970.

Organización Mundial de la Salud (2017). La OMS publica lista de bacterias para las que se necesitan con urgencia nuevos antibióticos. Recuperado el 01/07/23 de <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Qidwai, A., Annu., Nabi, B., Kotta, S., Narang, J., Baboota, S., & Ali, J. (2020). Role of nanocarriers in photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 30, 101782.

Secretaría de Salud. (2022). Boletín Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud. Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE). México [02/07/23] disponible: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/808320/BOLETINRHOVECIERRE2022\\_FINAL.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/808320/BOLETINRHOVECIERRE2022_FINAL.pdf)

Secretaría de Salud (2015). Guías de diagnóstico y tratamiento del servicio de infectología. Infecciones en tejidos blandos. Hospital General de México. México [02/07/23] disponible: [https://hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/area\\_medica/infecto/2\\_infecc\\_tejidos\\_blandos.pdf](https://hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/area_medica/infecto/2_infecc_tejidos_blandos.pdf)

Secretaría de Salud (2019). Manual de la Implementación de los paquetes de acciones para prevenir y vigilar las infecciones asociadas a la atención a la salud (IAAS). México [01/07/23] disponible: [http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/manual\\_IAAS.pdf](http://www.calidad.salud.gob.mx/site/editorial/docs/manual_IAAS.pdf)

Semeraro, P., Chimienti, G., Altamura, E., Fini, P., Rizzi, V., & Cosma, P. (2018). Chlorophyll a in cyclodextrin supramolecular complexes as a natural photosensitizer for photodynamic therapy (PDT) applications. *Materials Science & Engineering*, C 85, 47-56.

Shanmugapriya, K., & Kang, H. (2019). Engineering pharmaceutical nanocarriers for photodynamic therapy on wound healing: Review. *Materials Science & Engineering*, C 105, 110110.

Solís-Téllez, H., Mondragón-Pinzón, E. E., Ramírez-Marino, M., Espinoza-López, F. R., Domínguez-Sosa, F., Rubio-Suarez, J. F., & Romero-Morelos, R. D. (2017). Análisis epidemiológico: profilaxis y multirresistencia en cirugía. *Revista de Gastroenterología de México*, 82(2), 115-122.

# DETERMINACIÓN DE OCRATOXINA A EN BOLILLO DE CD. HIDALGO, MICHOACÁN

*Miriam Yuritz Gaspar Ruiz, Virginia Angélica Robinson Fuentes*

*Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo,*

[0850422x@umich.mx](mailto:0850422x@umich.mx), [virginia.robinson@umich.mx](mailto:virginia.robinson@umich.mx)

## Resumen

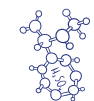
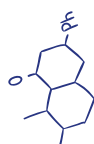
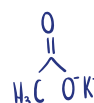
La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida principalmente por hongos de los géneros: *Penicillium* y *Aspergillus*. Su principal vía de exposición es por medio de la ingesta de cereales contaminados. Es difícil su eliminación mediante la cocción. Ha sido asociada con la enfermedad renal crónica de etiología no determinada (ERCEND) una enfermedad que ha tomado relevancia en la región oriente del estado de Michoacán.

Al ser el bolillo es un alimento derivado de trigo frecuente en nuestra mesa se tomó para su análisis de OTA. Las muestras fueron recolectadas de distintos puntos de Cd. Hidalgo, de acuerdo a lo indicado por el reglamento CE No 401/2006. Las muestras fueron analizadas mediante ELISA, el 100 % resultó positivo. El promedio de las concentraciones de OTA no rebasó lo establecido por la normativa europea (3 µg/kg) pero tres de las muestras estuvieron por encima de dicho límite.

**Palabras clave:** Ocratoxina A, ELISA, ERC, Cd. Hidalgo, bolillo.

## Antecedentes

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos filamentosos, que pueden entrar en la cadena alimentaria directamente a partir de alimentos de origen vegetal contaminados con micotoxinas o por contaminación indirecta; es decir, por el crecimiento de hongos toxigénicos en los alimentos para ganado con que se alimenta la población (Alshannaq y Yu, 2017). Se han identificado más de 500 micotoxinas entre ellas las aflatoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas, ocratoxinas y patulina (Haque et al., 2020).





La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina abundante en los alimentos ya que está presente en granos de cereales, frijoles, frutos secos, vino, café y té, entre otros alimentos. Esta toxina es comúnmente producida por varias especies de *Penicillium* y *Aspergillus*; casi no se elimina mediante el procesamiento de los alimentos y, además, posee propiedades carcinógenas, nefrotóxicas, teratogénicas e inmunotóxicas. Una preocupación importante es la nefrotoxicidad severa, que se caracteriza por la degeneración de las células epiteliales de los túbulos proximales y los intersticiales (Imaoka et al., 2020). En los países del mundo occidental, las causas más frecuentes de la nefropatía crónica son la diabetes mellitus y la presión arterial elevada (hipertensión); no obstante, cierto porcentaje de nefropatías no tienen un origen claro. Algunas han sido relacionadas con enfermedades infecciosas recurrentes, exposición a metales pesados tales como plomo, cadmio y arsénico (Chávez-Gómez et al., 2016) y micotoxinas (Alshannaq y Yu, 2017).

La enfermedad crónica renal es considerada un problema de salud pública, debido a su incremento en las últimas décadas, así como el de pacientes que evolucionan a enfermedad renal crónica terminal (ERCT). Se estima que del 9% al 13% de la población adulta en todo el mundo ha padecido ERC (British Medical Journal Best Practice, 2021). Por otro lado, en 2017, se reportó una prevalencia de ERC del 12.2% en México (Instituto Nacional de Salud Pública [INSP], 2020). Además, se estima que en Michoacán el 9 por ciento de la población la padece ERC en alguna de sus cinco etapas (Secretaría de Salud de Michoacán, 2019).

En estudios anteriores se ha observado la presencia de OTA en alimentos. Uno de ellos fue llevado a cabo en la ciudad de Morelia donde se muestreo maíz de diferentes mercados, el 100% de las muestras dieron positivo a OTA (Castillo Najar 2015), aunque el promedio de las muestras no rebasó el límite máximo establecido hay que tener en cuenta que el consumo frecuente de uno o varios alimentos contaminados puede aumentar el riesgo de exposición. De igual forma se analizó maíz de diferentes municipios, Querendaro, Tacambaro, Morelia, Indaparapeo y Cd. Hidalgo (Palacios Morales, 2015) en el que el 100% de las muestras dieron positivas.

Por último, el estudio más reciente llevado a cabo por el grupo de trabajo del laboratorio de desarrollo analítico en el posgrado de la facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” determinó la concentración de OTA presente en sangre de pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en el Hospital General “Dr. Miguel Silva”. Gran parte de los pacientes eran procedentes de Cd. Hidalgo, Michoacán. Además, se observó que pacientes con enfermedad crónica de etiología no determinada (ERCEND) presentaban concentraciones más elevadas de OTA que pacientes con ECR secundaria a diabetes (Reynoso Magaña, 2021).



Actualmente, las micotoxinas han cobrado interés y han sido ampliamente reguladas por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Sin embargo, sólo esta última establece un apartado específico para ocratoxinas y su regulación.

Las concentraciones máximas de micotoxinas permitidas en alimentos en la Unión Europea están reguladas por el Reglamento (EC) n° 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en alimentos. En dicho reglamento se establecen los niveles máximos permitidos de OTA para cereales sin procesar de 5 µg/kg y de 3 µg/kg para derivados de cereales.

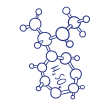
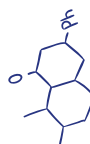
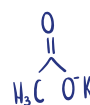
El ELISA es uno de los métodos más utilizados para la determinación de micotoxinas por proporcionar una detección rápida, con una gran variedad de kits disponibles comercialmente para la detección y cuantificación de todas las micotoxinas principales, incluidas AF, AFM1, OTA, ZEA, DON, fumonisinas y toxina T-2. El principio de ELISA se basa en las interacciones competitivas entre las micotoxinas (que actúan como un antígeno) y los anticuerpos asignados marcados con un conjugado de toxina-enzima para muchos sitios de unión. La cantidad de conjugado toxina-enzima unido al anticuerpo determinará el nivel de desarrollo del color. El ensayo directo, el ensayo directo competitivo y el ensayo indirecto competitivo, el ensayo directo competitivo es el más utilizado (Alhajj y Farhana, 2021; Alshannaq y Yu, 2017). El ELISA, es uno de los métodos más populares para la detección de micotoxinas contaminantes en el monitoreo de seguridad alimentaria, debido a su bajo costo y simple operación (Pei et al., 2018).

## Objetivo

Determinar si el bolillo consumido en Cd. Hidalgo está o no contaminado con ocratoxina y en las muestras positivas, cuantificar la concentración de esta.

## Parte experimental

La recolección de muestras fue llevada a cabo entre los meses de agosto a septiembre del 2022, tomando en cuenta las diversas panaderías y negocios ambulantes de Cd. Hidalgo. El muestreo se llevó a cabo de acuerdo con el reglamento CE No 401/2006 donde se establecen los métodos de muestreo. Para las muestras de derivados de trigo, el bolillo, se compraron de 3-4 piezas por diferente establecimiento. Las muestras fueron molidas y homogeneizadas con la finalidad de obtener una muestra representativa para su análisis. Para los objetivos de este estudio la muestra representativa seleccionada para la determinación de OTA en el laboratorio fue de 100 g. Las muestras se recolectaron en bolsas estériles de polipropileno





con cierre hermético. Cada muestra se trituró hasta la obtención de partículas finas usando un procesador de alimentos eléctrico y se almacenaron a 4 °C, en un lugar fresco y protegidas de la luz, hasta su análisis. Todos los reactivos y las muestras fueron puestos a temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de usarlos.

Para la extracción de las muestras, se tomó una muestra representativa de 20 g previamente triturada y cernida a través de un tamiz de abertura de malla N°20. Se preparó 100 mL de solvente de extracción que consiste en acetonitrilo al 80% en agua destilada y se incorporó la muestra. Se agitó en vortex en un contenedor con tapa por 5 min. La muestra se centrifugó (Thermo Fisher Scientific® modelo Sorvall™ ST8) a 1976 G por 5 minutos. Finalmente, con ayuda de un rotavapor se concentró el extracto, obteniendo volúmenes variables de entre 5 – 10 mL que se reservaron en refrigeración hasta su análisis en ELISA.

Se utilizó el Kit RIDASCREEN®FAST Ochratoxin A. Inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de ocratoxina A en maíz, cebada, avena (granos) y piensos, 48 pocillos. El método utilizado fue el ELISA competitivo, el cual se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. La detección y cuantificación de los valores de OTA en maíz y derivados se logró mediante un lector de la técnica ELISA. Los niveles de concentración de OTA en  $\mu\text{g}/\text{kg}$  se obtuvieron mediante una curva de calibración a partir de las concentraciones de soluciones estándar y la interpolación de datos de absorbancia.

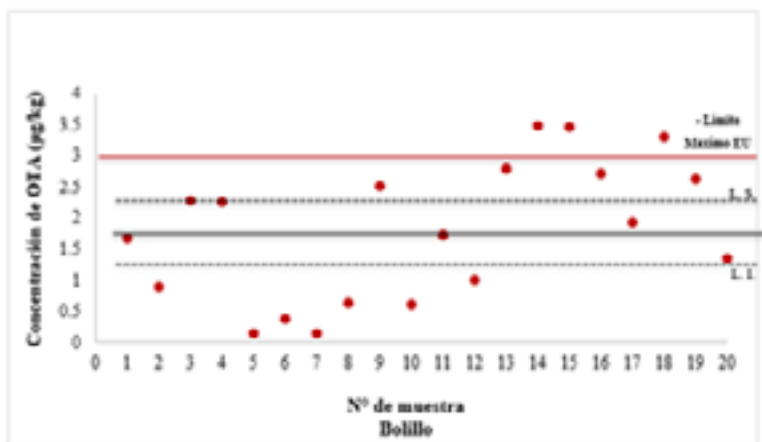
Se aplicó el modelo de regresión lineal tomando en cuenta 5 puntos para determinar las concentraciones de OTA presentes en los alimentos. A los datos obtenidos se les aplicó estadística descriptiva para conocer la diferencia entre las concentraciones en los alimentos analizados. Para la comparación entre grupos se aplicó la prueba T de Student para determinar si había diferencia entre grupos. Los valores se consideraron significativamente diferentes (LSD) si  $p \leq 0.05$ .

## Resultados y discusión

Se obtuvieron un total de 20 muestras de bolillo, procedentes del municipio de Hidalgo, Michoacán. Se obtuvo su respectivo extracto y las muestras fueron analizadas con el kit comercial de ELISA competitivo para el análisis cuantitativo de OTA de la marca RIDASCREEN®FAST. Se utilizó un kit de 48 pocillos. Para conocer la concentración de OTA presente, se realizó una curva de calibración para cada kit a partir de las concentraciones de soluciones estándar y la interpolación de los datos de absorbancia. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue de 0.9658. En la figura 1 pueden apreciarse las concentraciones de OTA obtenidas para cada muestra en base a su absorbancia, así como la variación en las concentraciones de las mismas.



Las concentraciones de OTA en el bolillo, representado en la figura 1, presentaron una desviación estándar de 1.11. La mayoría de las concentraciones obtenidas cayeron dentro del intervalo de 0.5 µg/kg – 3 µg/kg. Con dos muestras por debajo de este (muestras 5 y 7) y tres por encima (muestras 14, 15 y 18). Esta variación puede ser atribuida a que en el proceso de elaboración del bolillo existe una mayor exposición a sufrir contaminación por OTA, cómo es el almacenamiento del trigo, el almacenamiento de la harina, la inocuidad en los procesos de producción, entre otros.



**Figura 1.** Concentraciones de OTA en Bolillo obtenidas por ELISA.

Aunque, el promedio de las concentraciones de OTA no rebasan lo establecido por la EU de 3 µg/kg, tres muestras se encontraron sobre dicho límite (14, 15 y 18).

Los resultados mostraron la presencia de OTA en el 100% de las muestras analizadas, con una concentración de 0.13 µg/kg – 3.48 µg/kg y un promedio de 1.79 µg/kg. Tomando en cuenta el Reglamento (EC) N° 1881/2006 de la Comisión del 19 de diciembre de 2006, de la Unión Europea, el promedio de las concentraciones de OTA están dentro de los límites máximos establecidos, que son 3 µg/ kg (tabla 2); sin embargo, tres muestras de bolillo, es decir el 15 %, rebasaron dicho límite.

**Tabla 2.** Comparación entre las concentraciones promedio de OTA obtenidas y los niveles máximos de OTA establecidos por la Comisión Europea.

Alimento	Porcentaje muestras positivas (%)	Mínimo (µg/kg)	Máximo (µg/kg)	Concentración promedio (µg/kg)	Niveles máximos establecidos (µg/kg)
Bolillo	100	0.13	3.48	1.79	3.0

(Official Journal of the European Union, 2006).





El método de ELISA utilizado para la detección de micotoxinas se basa en la unión específica del antígeno al anticuerpo da como resultado la alta sensibilidad y especificidad que es adecuado para detectar un gran conjunto de muestras (Alhajj y Farhana, 2021; Alshannaq y Yu, 2017). El 100 % de las muestras analizadas por ELISA dieron positivo a OTA, de manera similar a lo obtenido por Daou et al. analizaron 312 muestras de trigo y productos derivados de trigo libaneses obteniendo el 100 % de las muestras positivas a OTA con un promedio de 2.28  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , valor ligeramente mayor al obtenido en el presente estudio (1.79  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) donde además sólo dos muestras (10%) rebasaron los niveles máximos establecidos para OTA por la Comisión Europea (3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), teniendo un valor máximo de 3.48  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; no así, Daou et al. que obtuvieron 55 muestras (17.6 %) por encima de la norma con un valor máximo de 69.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Resultados que contrastan con un estudio realizado en Egipto con 36 muestras de trigo por Hathout et al., 2020 con solo dos muestras positivas a OTA (1,37  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y 0,21  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) estando por debajo del límite establecido por la Comisión Europea para cereales sin procesar (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Estas diferencias se deben al número de muestras analizadas, a un mayor número de muestras, mayor es la probabilidad de obtener mayores concentraciones de OTA, además es conveniente tener presente, que las condiciones de cultivo, recolección, almacenamiento y procesamiento de los alimentos influye en que tan contaminados estarán (Marín et al., 2013; Kaushik, 2015). Por tanto, es adecuado un control durante sus diferentes etapas de producción para garantizar así niveles bajos de OTA. El promedio de las concentraciones de OTA en bolillo (2.20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) no rebasaron los límites establecidos por la Unión Europea establecidos como 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Official Journal of the European Union, 2006); sin embargo, es importante recordar que OTA ha sido asociada a una serie de efectos dañinos hacia la salud, destacando el daño renal por la acumulación de la misma en nuestro organismo, ya que posee una vida media muy larga y su eliminación es casi nula, tanto en el organismo vivo como la toxina presente en los alimentos (Pyo et al., 2021; Li et al., 2021).

## Conclusiones

Aunque las concentraciones de OTA en bolillo no rebasaron lo establecido (3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) esto no es indicativo de la ausencia de exposición. Hay que tener en cuenta que OTA se acumula en el organismo y los efectos de OTA se presentan ante su exposición crónica, entonces la exposición continua de pequeñas cantidades de esta puede producir un efecto tóxico en nuestro organismo. Así mismo nuestra alimentación no se basa únicamente en bolillo, sino en un conjunto de alimentos que pueden ser contaminados por OTA, dando de este modo, una mayor exposición a la ocratoxina, si no se tiene un control adecuado, aumentando el riesgo de padecer alguna de las afecciones atribuidas a OTA como es el caso de la ERCEND; el desarrollo de algún padecimiento dependerá del organismo en cuestión, de los hábitos alimenticios de la persona y la dosis de OTA a la que está expuesta.

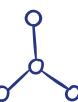
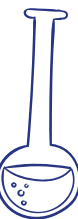


## Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Ciencia y Tecnología e Innovación (ICTI) del gobierno de Michoacán por haber financiado parte de este proyecto.

## Referencias

- Alhaji, M. y Farhana, A. (2021). Enzyme Linked Immunosorbent Assay. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. PMID: 32310382.
- Alshannaq, A., y Yu, J. H. (2017). Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *International journal of environmental research and public health*, 14(6), 632. doi: [10.3390/ijerph14060632](https://doi.org/10.3390/ijerph14060632)
- BMJ Best Practice. (2021). Enfermedad Crónica Renal. Disponible en: <https://bestpractice.bmj.com/topics/es-es/84>
- Castillo Najar. 2015. Determinación de Ocratoxina A en café, cerveza y maíz de Morelia Michoacán por un método E.L.I.S.A. [Tesis de Licenciatura].
- Chávez-Gómez, N.L., Cabello-López, A., Gopar-Nieto, R., Aguilar-Madrid, G., Marín-López, K.S., Aceves-Valdez, M., Jiménez-Ramírez, C., Cruz-Angulo, M.C., Juárez-Pérez, C.A. (2017). Enfermedad renal crónica en México y su relación con los metales pesados. *Revista Médica Instituto Mexicano Seguro Social*. 2017;55(6):725-34
- Daou, R., Joubrane, K., Khabbaz, L. R., Maroun, R. G., Ismail, A., & El Khoury, A. (2021). Aflatoxin B1 and ochratoxin A in imported and Lebanese wheat and -products. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 14(3), 227–235. doi: [10.1080/19393210.2021.1933203](https://doi.org/10.1080/19393210.2021.1933203)
- European Commission Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU Member States (2006). Report of the Scientific Cooperation, Task 3.2.7 Directorate-General Health and Consumer Protection, European Commission.
- Haque MA, Wang Y, Shen Z, Li X, Saleemi MK, He C. (2020). Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. *Microb Pathog*. doi: [10.1016/j.micpath.2020.104095](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104095)
- Hathout AS, Abel-Fattah SM, Abou-Sree YH, Fouzy ASM. (2020). Incidence and exposure assessment of aflatoxins and ochratoxin A in Egyptian wheat. *Toxicol Rep*. doi: [10.1016/j.toxrep.2020.07.003](https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.07.003)
- IARC. (2018). Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–123. Disponible en: [https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/09/ClassificationsAlpha\\_Order.pdf](https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/09/ClassificationsAlpha_Order.pdf)
- Instituto Nacional de Salud Pública. (2020). La Enfermedad Renal Crónica en México. Disponible en: <https://www.insp.mx/avisos/5296-enfermedad-renal-cronica-mexico.html#sup2>
- Marín, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., y Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218–237. doi: [10.1016/j.fct.2013.07.047](https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047)



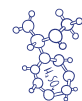
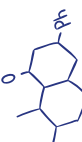


Reynoso Magaña A. (2021). Análisis de patrones alimentarios y su asociación con concentraciones séricas de ocratoxina A en pacientes con enfermedad renal en estadios 3, 4 y 5 de clasificación de KDIGO. [Tesis de maestría].

Secretaria de Salud del Estado de Michoacán. (2019). Busca SSM prevenir enfermedad renal crónica. Disponible en: <https://salud.michoacan.gob.mx/noticias/busca-ssm-prevenir-enfermedad-renal-cronica/.mx>

Pei, K., Xiong, Y., Xu, B., Wu, K., Li, X., Jiang, H., & Xiong, Y. (2018). Colorimetric ELISA for ochratoxin A detection based on the urease-induced metallization of gold nanoflowers. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 262, 102–109. doi: [10.1016/j.snb.2018.01.193](https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.01.193)

Pyo, M. C., Choi, I. G., y Lee, K. W. (2021). Transcriptome Analysis Reveals the AhR, Smad2/3, and HIF-1 $\alpha$  Pathways as the Mechanism of Ochratoxin A Toxicity in Kidney Cells. *Toxins*, 13(3), 190. doi: [10.3390/toxins13030190](https://doi.org/10.3390/toxins13030190)



# ESTUDIO SOBRE LA DEGRADACIÓN EXTRA- E INTRA-CELULAR DE BENZO(K)FLUORANTENO POR SELENASTRUM CAPRICORNUTUM

Manuel Méndez García, Martha Patricia García Camacho\*

Facultad de Química, UNAM, México

[m.mendezgarcia@quimica.unam.mx](mailto:m.mendezgarcia@quimica.unam.mx), [pgcllas@unam.mx](mailto:pgcllas@unam.mx)

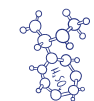
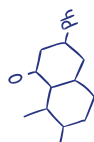
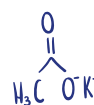
## Resumen

La degradación del benzo(k)fluoranteno ha sido estudiada en la microalga *Selenastrum capricornutum*, aunque la información sobre sus metabolitos es limitada. Por esta razón, se realizaron estudios de biodegradación de BkF en los componentes de sus cultivos con el objetivo de confirmar la capacidad degradativa por medio de la identificación de metabolitos dihidrodiol y la evidencia de la presencia de enzimas degradadoras de HAPs. En experimentos de exposición a BkF (8 - 72 h), se identificó cromatográficamente al 8,9-dihidrodiol-BkF, y éste co-eluyó con otro metabolito (21.5 min; **1**), de cinética de formación similar; asimismo, otras señales **2** (23.5 min) y **3** (25.5 min), presentaron la misma tendencia. Así, se confirmó la capacidad degradativa de extractos extra e intracelulares (Ee y Ei); demostrando que la biotransformación inicial del BkF ocurre a través de dioxigenasas. Un análisis por espectrometría de masas sería necesario para continuar con la identificación de metabolitos desconocidos.

**Palabras clave:** benzo(k)fluoranteno, biodegradación, metabolitos, oxigenasas, *S. capricornutum*.

## Antecedentes

El benzo(k)fluoranteno (BkF) es un hidrocarburo aromático policíclico de alto peso molecular (HAP APM) formado por cuatro anillos bencénicos fusionados estructuralmente con un ciclopenteno; el cual, está ampliamente distribuido en el medio ambiente debido





a que es producto de la combustión incompleta de materia orgánica (Sahoo, Ravi Kumar, Banik y Borah, 2020). Con base en su estructura, el BkF es hidrofóbico y persistente; factores que contribuyen a su bioacumulación en el medio ambiente (Sun, Song, He, Jing, Tang y Liu, 2021). Es importante mencionar, que el BkF es potencialmente cancerígeno para los humanos, según lo reportado por la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ASTDR en inglés; Sampaio, Guizellini, Pinaffi-Langley, Rogero, Camargo y Torres, 2021); asimismo, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC en inglés; Zhang, Chen y Zhang, 2021) ha clasificado al BkF y a otros HAPs APM como posibles carcinógenos. En este sentido, las técnicas de degradación microbiana han demostrado ser una excelente alternativa para eliminar a este tipo de contaminantes del medioambiente (Premnath, Mohanrasu, Guru, Dinesh, Prakash, Ananthi, Ponnuchamy, Muthusamy y Arun, 2021). Entre los microorganismos capaces de biodegradar HAPs APM, las especies de bacterias y hongos son las más reportadas (Ismail, Kasmuri y Hamzah, 2022) en comparación con las microalgas, cuya literatura es escasa (Srivastava y Kumar, 2019). En este contexto, se ha reportado que *Selenastrum capricornutum* es la microalga que degrada más eficientemente a varios de los HAPs APM (Méndez García y García de Llasera, 2021); sin embargo, el BkF es un HAP cuya degradación ha sido poco estudiada por esta microalga, y por lo cual la información de sus metabolitos también es muy limitada. No obstante, de acuerdo con la literatura, se ha reportado que los primeros metabolitos formados durante la degradación microalgal de los HAPs APM, parecen ser monohidroxilados y dihidrodioles; lo que sugiere que la biodegradación de este tipo de contaminantes podría llevarse a cabo a través de las vías monooxigenasas y dioxigenasas (Méndez García, García de Llasera, 2023). Por lo tanto, el estudio de este tipo de metabolitos formados durante la degradación individual de los HAPs APM en medios de cultivo microalgales, son de suma importancia en el entendimiento de las rutas metabólicas de degradación catalizadas por enzimas intra- y extra-celulares de las microalgas. Por esta razón, uno de los objetivos en el presente trabajo fue realizar estudios de biodegradación de BkF en distintos componentes de los cultivos de *S. capricornutum*, tales como biomasa (BM), medio líquido (ML) y lisado celular (LC). Para este propósito, se utilizaron técnicas analíticas de cromatografía de líquidos de alta resolución con detección de fluorescencia y ultravioleta (CLAR-DF-UV) en combinación con técnicas de extracción en fase sólida (EFS) y dispersión de matriz en fase sólida (DMFS). En este contexto, se priorizó el monitoreo de metabolitos tipo dihidrodiole y la identificación de señales cromatográficas con cinéticas de degradación que evidencien la formación de otro tipo de metabolitos. Asimismo, se planteó la obtención de extractos intracelulares y extracelulares (Ee y Ei) a partir de fracciones microalgales que demuestren degradar eficientemente al BkF. Por lo tanto, el objetivo principal del presente trabajo es confirmar la capacidad degradativa de los extractos Ee y Ei mediante su exposición individual a BkF, y por la identificación



en éstos de metabolitos tipo-dihidrodiol; que permita relacionarlos con la presencia de enzimas intra- y extra-celulares degradadoras de HAPs del tipo oxigenasas.

## Objetivo

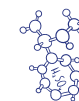
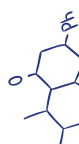
Encontrar las condiciones adecuadas para la obtención de extractos intracelulares y extracelulares de cultivos de *Selenastrum capricornutum* que permitan potencializar su capacidad degradativa en la exposición individual a BkF con el fin de evaluar la cinética de biodegradación del BkF por EFS/DMFS-CLAR-DF-UV. Asimismo, relacionar la presencia de metabolitos en los extractos, con la presencia de enzimas degradadoras de HAPs del tipo oxigenasas.

## Parte experimental

Medios de cultivo de *Selenastrum capricornutum*. Esta microalga fue adquirida de una colección de cultivos de algas de la Universidad de Austin, Texas (UTEX, EUA); un stock de este cultivo se mantuvo en medio sólido compuesto por agar bacteriológico (MCD LAB, Tlalnepantla, México) y medio Bristol. Para preparar cultivos en medio líquido, *S. capricornutum* fue cultivada en matraces Erlenmeyer (300 mL) con 150 mL de medio Bristol suplementado con proteosa-peptona (MCD LAB, Tlalnepantla, México) en condiciones axénicas, con agitación orbital (100 rpm; 2h x día) y ciclos de iluminación (luz/oscuridad;16/8 h). Medios de cultivos en su fase exponencial de crecimiento A ( $\lambda_{\max}$  clorofila: 685 nm)  $\approx 1 \pm 0.2$  ( $\approx 5 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup>) fueron apropiados para realizar ensayos de exposición a BkF.

Exposición de cultivos de *S. capricornutum* a BkF. Alícuotas de 15 mL de cultivos de *S. capricornutum* (3 réplicas) en fase de crecimiento exponencial fueron colocadas en matraces Erlenmeyer (50 mL) para realizar las pruebas de exposición individual a BkF. En este sentido, estudios preliminares realizados por Hernández Blanco y García de Llasera (2016) permitieron establecer las condiciones iniciales de exposición de cultivos microalgales con el HAP de estudio: i) 266  $\mu\text{g L}^{-1}$  en 15 mL de medio de cultivo; ii) tiempos de incubación entre 8 – 72 h; y iii) condiciones óptimas de incubación: agitación orbital continua (50 rpm), luz amarilla (20 W) y temperatura de 34 °C. Asimismo, se consideraron controles de cultivos microalgales sin exposición a BkF. Después de completar estos ensayos de exposición, la biomasa (BM) y el medio líquido (ML) de cada cultivo fue separado mediante centrifugación (3,900 rpm, 15 min), y se aplicaron diversos procedimientos de extracción: i) extracción asistida por sonda ultrasónica (EAU), ii) extracción en fase sólida (EFS); y iii) dispersión en matriz en fase sólida (DMFS).

Preparación de muestras: biomasa, medio líquido y lisado celular. Para obtener extractos de metabolitos y HAP remanente, cada muestra se preparó de manera diferente; en este sentido, el ML de cada muestra se utilizó para obtener extractos por EFS, la BM se procesó ya sea por





secado al aire en donde se utilizó para obtener extractos mediante DMFS; o mediante una sonda de ultrasonido para obtener un lisado celular (LC), el cuál fue posteriormente llevado a un cartucho EFS.

Extracción de metabolitos y HAP de la BM por DMFS. La BM seca obtenida de cada muestra (5-7 mg) se homogenizó en un mortero de ágata con 100 mg de sílice C18 previamente acondicionado ( $3.5 \text{ mL MeOH g}^{-1}$ ); esta mezcla homogénea se empacó en un cartucho de 1 mL con filtros de polietileno, al cual se le agregaron 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , seguido de mezclas de ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL ACN 10% y 5 mL ACN 20 %) usadas como disolventes de limpieza. Finalmente, los metabolitos y el BkF remanente se eluyeron del cartucho en dos fracciones diferentes: i) 1.5 mL ACN 40 % (metabolitos) y ii) 1 mL ACN 90 % (BkF).

Extracción de metabolitos y HAP del ML por EFS. El procedimiento de EFS se realizó empacando cartuchos de polipropileno (6 mL) con 300 mg de sílice C18 y filtros de polietileno; cada cartucho se activó y acondicionó con 1 mL de MeOH y 15 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . Enseguida, el ML de cada muestra se mezcló con 3.75 mL de isopropanol (obteniéndose una mezcla con isopropanol al 20 %). Esta mezcla se pasó a través del cartucho EFS y enseguida, se aplicó una secuencia de lavados: 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , 10 mL ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  10 %, 3 mL ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  20 % y 1 mL ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  30 %. Finalmente, los metabolitos y el BkF remanente se eluyeron del cartucho en dos fracciones diferentes: i) 3 mL ACN 55 % (metabolitos) y ii) 4.0 mL ACN 100 % (BkF).

Obtención del LC mediante EAU y la extracción de metabolitos por EFS. El lisado celular (LC) se obtuvo utilizando la BM recolectada para cada muestra; la cual, se lavó previamente con 3 mL de solución tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7.5) para eliminar al BkF y sus metabolitos de la superficie celular. Después, la BM se re-suspendió en 5 mL del mismo tampón (Tris-HCl, pH 7.5) y se enfrió ( $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , 15 min) en un baño de hielo; para llevar a cabo la lisis celular asistida por una sonda ultrasónica con pulsos de ultrasonido automatizados (10 s pulsos/5 s pausas; amplitud 40 %; 50-60 kHz) hasta completar 5 min, en un equipo Cole Palmer con un procesador ultrasónico modelo CPX 130 PB con micropunta de 1/8 de pulgada. El lisado obtenido se centrifugó (3900 rpm, 15 min) para eliminar los residuos celulares. El sobrenadante se recuperó y se llevó a un volumen de 15 mL con solución tampón Tris-HCl 50 mM (pH 7.5); este lisado celular (LC o extracto intracelular) se utilizó para obtener los extractos de metabolitos mediante el procedimiento de EFS descrito en la sección anterior para el ML.



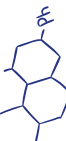
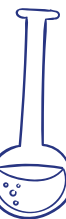


Análisis de extractos de metabolitos de BkF por CLAR-FD. Los extractos de metabolitos de BkF se analizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Lab Alliance Serie II, con una columna Perkin Elmer Spheri-5ODS (250 mm x 4.6 ID, 5  $\mu\text{m}$ ) a 30 °C (horno de columna Phenomenex modelo TS-130), y acoplado a un detector de fluorescencia modelo LC; las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de detección de los metabolitos tipo dihidrodiol fueron  $\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$  y  $\lambda_{\text{em}} = 430 \text{ nm}$ . La separación cromatográfica se realizó en una fase móvil de MeOH:H<sub>2</sub>O (65:35, v/v); una velocidad de flujo de 1 mL min<sup>-1</sup> y 20  $\mu\text{L}$  de volumen de inyección. El procesamiento de los datos se realizó con el software Clarity Chromatography Station 2.8.1.584.

Análisis de extractos de BkF remanente por CLAR-UV. Los extractos del BkF remanente se analizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Varían modelo 210, con una columna Thermo Scientific Hypersil ODS (150 mm x 4.6 mm ID, 5  $\mu\text{m}$ ), acoplado a un detector policromo DAD/UV modelo 9065; la  $\lambda_{\text{max}}$  de adsorción para el BkF fue de 234 nm. La separación cromatográfica se realizó en una fase móvil de MeOH:H<sub>2</sub>O (85:15, v/v); una velocidad de flujo de 1 mL min<sup>-1</sup> y 20  $\mu\text{L}$  de volumen de inyección. Los datos se procesaron utilizando el software Varían Star Chromatography Workstation versión 6.01989-2003.

Obtención y evaluación de la capacidad degradativa de extractos Ee y Ei. Las mejores condiciones involucradas en la obtención de extractos Ee y Ei, se determinaron preliminarmente mediante el análisis por CLAR-FD de los extractos de metabolitos obtenidos de los distintos componentes de los cultivos microalgales (BM, ML y LC). En este contexto, los extractos Ee y Ei se obtuvieron mediante el siguiente procedimiento: los cultivos (15 mL) previamente expuesto a BkF fueron centrifugados (3900 rpm, 15 min), separando el ML de la BM; enseguida, se adicionaron 375  $\mu\text{L}$  de solución tampón Tris-HCl 2 M (pH 7.5) a los 15 mL del ML para obtener una solución tampón Tris-HCl 50 mM; este extracto se denominó extracto extracelular (Ee). Asimismo, se obtuvieron 15 mL de extracto intracelular (Ei) mediante el procedimiento descrito para la obtención de lisado celular de la BM por una sonda ultrasónica.

Para evaluar la capacidad degradativa de los extractos Ee y Ei, estos fueron expuesto a BkF (266  $\mu\text{g L}^{-1}$  en 15 mL de cada extracto); estas exposiciones fueron realizadas bajo luz natural con agitación orbital (50 rpm) y temperatura ambiente; asimismo, también se realizaron controles de los extractos Ee y Ei sin exposición al HAP de estudio (control de remanentes, CR); además, se consideraron otros controles correspondientes a los extractos Ee y Ei procedentes de cultivos microalgales sin previa exposición a BkF (controles sin BkF). Finalmente, todos los extractos y controles fueron analizados por EFS-CLAR-DF.



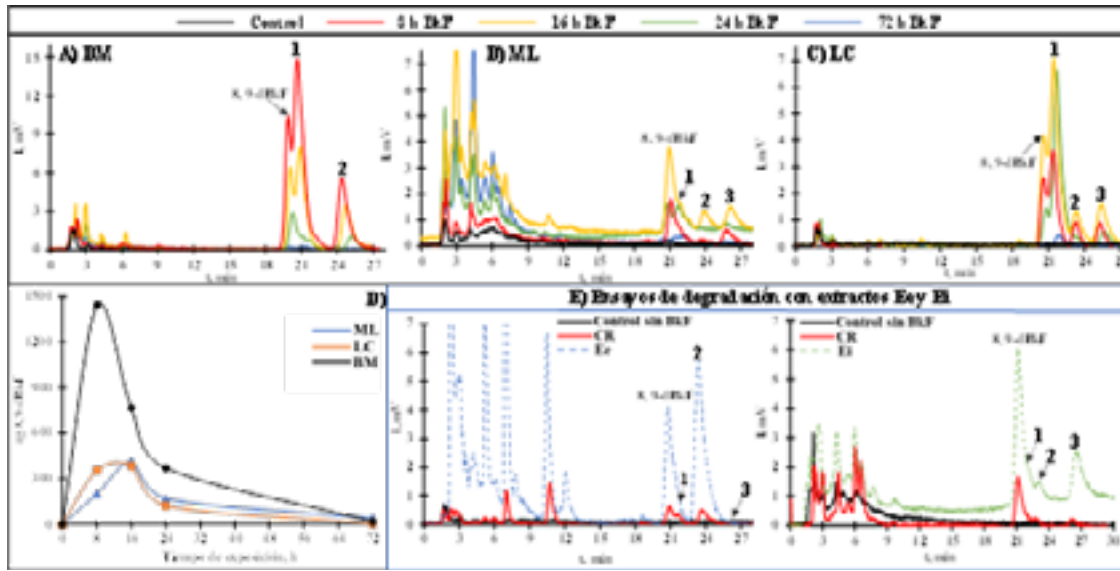


## Resultados y discusión

Análisis por CLAR-DF de extractos obtenidos en BM, ML y LC. Las pruebas preliminares de exposición a BkF (8 – 72 h) permitieron identificar por CLAR-DF la formación del metabolito 8,9-dihidrodiol BkF (8,9-dBkF; 21.0 min) por el metabolismo de *S. capricornutum*; en este sentido, fue posible monitorear la cinética de formación del 8,9-dBkF en BM, ML y LC obtenidos de medios de cultivo expuestos a BkF en diferentes tiempos: 8, 16, 24 y 72 h (**Fig. 1A-D**); estos resultados muestran que este metabolito tipo dihidrodiol aumenta rápidamente de 8 a 16 h, lo que es un indicativo de que la biotransformación inicial del BkF podría realizarse a través de enzimas oxigenasas producto del metabolismo microalgal. La máxima producción del 8,9-dBkF fue a las 8 h en BM y 16 h en ML y LC; en este contexto, la formación de este metabolito fue consistente con la disminución del BkF en cada una de las fracciones microalgales (**Fig. 2**; BM, ML y LC). Después de 16 h, el 8,9-dBkF comenzó a disminuir y desapareció por completo en 72 h. Estos resultados preliminares permitieron establecer las condiciones iniciales de exposición que prepararon a las células de la microalga *S. capricornutum* en la producción de enzimas degradadoras del HAP ( $266 \mu\text{gBkF L}^{-1}$  en 15 mL de medio de cultivo, 24 h de exposición con agitación orbital a 50 rpm, ciclos de iluminación de luz/oscuridad 16/8 h y temperatura de 34 °C). Para confirmar la presencia de la enzima activa, se emplearon estos cultivos estimulados para la degradación de BkF en la obtención de los extractos Ee y Ei, los cuales se expusieron a BkF ( $266 \mu\text{g L}^{-1}$  en 15 mL de extracto) por 16 h con agitación orbital a temperatura ambiente. La capacidad degradadora de estos extractos se confirmó mediante la identificación de metabolitos dihidrodiol por EFS-CLAR-DF (**Fig. 1E**).

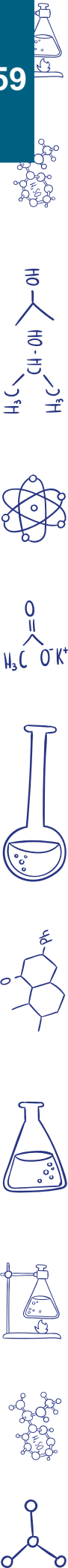
Asimismo, los cromatogramas que evidencian la biotransformación del BkF a diferentes tiempos de exposición (**Fig. 1 A-C**) muestran información relevante sobre posibles nuevos metabolitos:

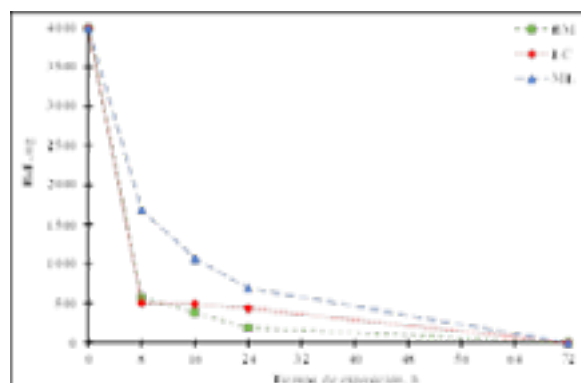
- i) La presencia de picos cromatográficos (tiempo de retención ( $t_r$ ): 21 – 27 min; metabolitos desconocidos asignados como: **1, 2 y 3**) próximos a la señal del 8,9-dBkF; muestran que estas señales cromatográficas presentan una cinética similar a la del 8,9-dBkF (**Fig. 1D**), la cual inicialmente aumenta (8–16 h) y luego disminuye considerablemente (24–72 h), y por lo tanto, se podría sugerir preliminarmente la formación simultánea de diferentes metabolitos del BkF.
- ii) Las señales cromatográficas, entre 3 – 8 min, presentes en los extractos obtenidos del ML (**Fig. 1B**) aumentan con el tiempo de exposición (8 – 72 h); lo cual podría ser indicativo de la formación de productos finales de la biodegradación del BkF.



**Figura 1.** Cromatogramas de los extractos de metabolitos de BkF en fracciones microalgales A) BM, B) ML y C) LC obtenidas de cultivos de *S. capricornutum* expuestos a BkF por 8, 16, 24 y 72 h; D) cantidad del metabolito 8,9-dBkF extraída en función del tiempo de exposición a BkF. E) Cromatogramas de extractos de metabolitos obtenidos de ensayos de degradación del BkF en los extractos Ee y Ei.

Análisis por CLAR-DF de la capacidad degradativa de extractos Ee y Ei. Para sustentar la validez de la obtención de la enzima degradadora activa en los extractos, la identificación del 8,9-dBkF, junto con las señales de interés próximas (tr: 21 – 27 min; **1-3**) a este metabolito tipo dihidrodiol, en los Ee y Ei podrían ser evidencia de que la biotransformación inicial del BkF ocurre a través de dioxigenasas. En este sentido, la **Fig. 1E** muestra el perfil cromatográfico de los metabolitos extraídos en Ee y Ei, comparándolos con sus controles (sin BkF y remanentes), y confirmando: i) la formación del 8,9-dBkF junto a la co-elución de otro compuesto desconocido (posible metabolito dihidrodiol; tr: 20 – 22 min; **1**), ii) la presencia de señales cromatográficas desconocidas y próximas al 8,9-dBkF, que podrían ser otros metabolitos (monohidroxilados y/o dihidrodiolos) en Ee (tr: 24 min; **2**) y Ei (tr: 23 y 26 min; **2 y 3**), y iii) el incremento de intensidad en las señales cromatográficas iniciales en Ee (tr: 3 – 12 min), podrían indicar la formación de productos finales durante la biodegradación de BkF en los extractos microalgales extracelulares; lo que es de suma importancia ya que se estaría confirmando que esta microalga es capaz de excretar enzimas o complejos enzimáticos desde el interior de sus células para realizar la degradación del BkF, lo cual, recientemente ha sido evidenciado para el benzo(a)pireno (BaP) por la misma microalga (García de Llasera, et al 2022); y por lo cual, se podría sugerir, que existen similitudes en el metabolismo de degradación enzimática de HAPs APM, particularmente los HAPs formados por 5 anillos aromáticos.





**Figura 2.** Cantidad de BkF en BM, LC y ML de cultivos de *S. capricornutum* expuestos a este HAP.

## Conclusiones

La degradación enzimática del BkF en extractos intra- y extra-celulares de cultivos de *S. capricornutum* fue confirmada mediante la formación e identificación por EFS-CLAR-DF del metabolito tipo dihidrodiol 8,9-dBkF.

Las pruebas preliminares de exposición a BkF permitieron estudiar la cinética de formación del 8,9-dBkF y otros metabolitos de interés, extraídos del medio líquido, biomasa y lisado celular de cultivos microalgales por DMFS/EFS-CLAR-DF; sin embargo, un análisis complementario por CLAR con detección por espectrometría de masas es necesario para confirmar la identidad de los metabolitos desconocidos.

La degradación de BkF en los extractos microalgales extracelulares, confirma que *S. capricornutum* es capaz de excretar enzimas o complejos enzimáticos desde el interior de sus células a su medio exterior para realizar la biotransformación del BkF.

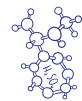
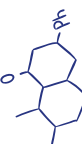
La identificación del 8,9-dBkF junto con la formación de otros metabolitos (posibles monohidroxilados y dihidrodiol) en extractos Ei y Ee permiten sugerir que la biotransformación inicial del BkF ocurre a través de oxigenasas producto del metabolismo enzimático de la microalga *S. capricornutum*.

## Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca posdoctoral otorgada a Manuel Méndez García en el marco de la convocatoria 2022(1) “Estancias Posdoctorales por México”. Los autores también agradecen al CONACYT por el proyecto CB 283377 y al proyecto PAIP 50009034 de la Facultad de Química, UNAM.

## Referencias

- García de Llasera, M. P., Fuentes Pérez, A. C., Peralta Marín, G., Beltrán Calva, E. G. (2022). First evidence of extracellular enzymatic degradation of benzo(a)pyrene by the phytoplankton species *Selenastrum capricornutum* and the influence of temperature. *Environmental Advances*, 8, 100246. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100246>.
- Hernández Blanco, F. J., García de Llasera, M. P. (2016). Monitoring dihydrodiol polyaromatic hydrocarbon metabolites produced by the freshwater microalgae *Selenastrum capricornutum*. *Chemosphere*, 158, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.065>.
- Ismail, N. A., Kasmuri, N., Hamzah, N. (2022). Microbial Bioremediation Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs)—a Review. In *Water, Air, and Soil Pollution*. 233(4), 333-366. <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05598-6>.
- Méndez García, M., García de Llasera, M. P. (2023). Electrophoretic characterization of cellular and extracellular proteins from *Selenastrum capricornutum* cultures degrading benzo(a)pyrene and their identification by UPLC-ESI-TOF mass spectrometry. *Chemosphere*, 139284. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139284>.
- Méndez García, M., García de Llasera, M. P. (2021). A review on the enzymes and metabolites identified by mass spectrometry from bacteria and microalgae involved in the degradation of high molecular weight PAHs. *Science of The Total Environment*, 797, 149-165. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149035>.
- Premnath, N., Mohanrasu, K., Guru Raj Rao, R., Dinesh, G. H., Prakash, G. S., Ananthi, V., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., Arun, A. (2021). A crucial review on polycyclic aromatic Hydrocarbons - Environmental occurrence and strategies for microbial degradation. *Chemosphere*. 280(2), 130-116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130608>.
- Sahoo, B. M., Ravi Kumar, B. V., Banik, B. K., Borah, P. (2020). Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs): Structures, Synthesis and their Biological Profile. *Current Organic Synthesis*, 17(8), 625–640. <https://doi.org/10.2174/1570179417666200713182441>.
- Sampaio, G. R., Guizellini, G. M., da Silva, S. A., de Almeida, A. P., Pinaffi-Langley, A. C. C., Rogero, M. M., de Camargo, A. C., Torres, E. A. F. S. (2021). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Biological Effects, Legislation, Occurrence, Analytical Methods, and Strategies to Reduce Their Formation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 6010. <https://doi.org/10.3390/ijms22116010>.
- Sun, K., Song, Y., He, F., Jing, M., Tang, J., Liu, R. (2021). A review of human and animals exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: Health risk and adverse effects, photo-induced toxicity and regulating effect of microplastics. *Science of the Total Environment*, 773(3), 776-788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145403>.
- Srivastava, S., Kumar, M. (2019). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A sustainable approach. *Sustainable Green Technologies for Environmental Management*. 1(2), 111–139). [https://doi.org/10.1007/978-981-13-2772-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-13-2772-8_6).
- Zhang, Y., Chen, X., Zhang, Y. (2021). Analytical chemistry, formation, mitigation, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons: From food processing to in vivo metabolic transformation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 20(2) 1422–1456. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12705>.





# DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES REOLÓGICAS EN DISPERSIONES DE CARBOPOL APLICANDO EL MODELO MATEMÁTICO DE OSTWALD

*José Gerardo Mejía Hernández, Graciela Martínez Cruz, Rafael Villalobos García\**

*Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México,*

[gerardo.mejia.h.j@gmail.com](mailto:gerardo.mejia.h.j@gmail.com), [gracigmc9@gmail.com](mailto:gracigmc9@gmail.com), [rafaelf2f@gmail.com](mailto:rafaelf2f@gmail.com)

## Resumen

El estudio de las propiedades reológicas de los materiales ha llevado a la identificación de características útiles para la industria, en particular, los materiales poliméricos, como el Carbopol, son esenciales en la producción farmacéutica, utilizados en productos como ungüentos, geles y tabletas debido a sus propiedades viscosantes y su bajo contenido residual. Este proyecto se centra en el estudio de las propiedades reológicas del Carbopol, especialmente en la determinación de su índice de tixotropía. Se realizaron experimentos con diferentes concentraciones de Carbopol y mediante la construcción de curvas de esfuerzo cortante frente a velocidad de cizalla y ajustando los datos al modelo reológico de Ostwald se obtuvo, por ejemplo, un índice de tixotropía de 4.8752% para una concentración de 1.0% a 25°C. Estos hallazgos son relevantes en la comprensión de las propiedades del Carbopol y pueden servir como recurso educativo en reología, demostrando la metodología de medición y procesamiento de datos.

**Palabras clave:** Reología, Carbopol, Tixotropía, Ostwald, Polímeros.

## Antecedentes

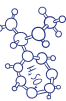
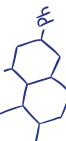
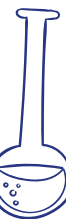
El estudio de las propiedades reológicas de los materiales ha permitido identificar algunas características particulares que pueden ser aprovechadas por la industria, por ejemplo, este material polimérico presenta propiedades reológicas útiles para el sector farmacéutico y es empleado como materia prima en la elaboración de diversos productos como lo pueden ser: ungüentos, geles, pomadas, tabletas etc. En particular, el carbopol es un material polimérico reticular constituido por una cadena de ácido acrílico, por lo que esta sustancia es sintética y

presenta un alto peso molecular, dentro de su estructura contiene muchos grupos carboxílicos, los cuales son polares y por ende atraen moléculas de agua, cambiando su configuración para formar una red tridimensional, lo que tiene como consecuencia un incremento en la viscosidad. Esto lo hace candidato en la fabricación de productos líquidos o semisólidos actuando como agente espesante, esta propiedad es aprovechada. Además, debido a su bajo contenido residual, es también utilizado en la fabricación de tabletas como aglutinante. Así pues, dada su importancia en el sector farmacéutico, se considera imperante profundizar en la exploración de sus propiedades reológicas. Es por lo que este proyecto se centra en este estudio, incluyendo la designación del tipo de conducta del Carbopol por medio de pruebas experimentales y ajustes a modelos reológicos conocidos, particularmente al modelo de Ostwald (Ecu. 1) y haciendo especial énfasis en la determinación de su índice de tixotropía.

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Específicamente, la tixotropía implica una disminución constante de la viscosidad aparente a medida que aumenta el tiempo de cizallamiento a temperatura constante, seguida de una recuperación de la viscosidad cuando cesa el flujo. Una gran cantidad de sustancias que presentan este comportamiento son de naturaleza coloidal, con tendencia a la formación de geles. Este fenómeno es atribuido a la agregación de partículas suspendidas que interactúan por fuerzas de atracción de Van der Waals principalmente. En particular, la disminución de la viscosidad del sistema con el aumento de la velocidad de cizalla se atribuye a la ruptura de enlaces entre partículas, es decir, el número de enlaces es menor a altas velocidades de cizalla, por lo que, la dependencia con el tiempo de la viscosidad de un fluido tixotrópico dar lugar a una tixotropía apreciable siempre y cuando la recuperación de la estructura sea lo suficientemente lenta. En particular, estamos interesados en determinar en qué proporción éste fenómeno se encuentra presente en disoluciones de Carbopol, pues al ser una sustancia empleada principalmente para la elaboración de geles lo hace un buen candidato para demostrar la tixotropía (Hernández, 1996).

En particular, el estudio titulado “Análisis reológico de soluciones poliméricas de carboximetil celulosa,” realizado por Puente Córdova y su equipo, sentó las bases para la metodología empleada en esta investigación. En particular, Puente Córdova y sus colaboradores se enfocaron en explorar las propiedades reológicas de la CMC mediante la utilización de dispersiones de este polímero en diferentes concentraciones (0.5%, 1%, 1.5%, 2%). Evaluaron la viscosidad y estudiaron cómo se comportaba frente a tasas de esfuerzo cortante utilizando un viscosímetro rotacional Rheolab QC. Además, llevaron a cabo modelos experimentales que se ajustaron a modelos como el de Ostwald y Cross, así como a modelos empíricos, que constituyen una extensión del modelo de Ostwald. Estos modelos empíricos permiten





predecir la viscosidad en función de la tasa de corte y la concentración de CMC, así como describir la viscosidad en relación con la temperatura y la tasa de corte. En última instancia, los resultados obtenidos en este estudio ofrecen una metodología sistemática para la evaluación de soluciones poliméricas de CMC y de los derivados de celulosa relacionados (Puente Córdova et al., 2022). En particular, se emplea la metodología propuesta en el trabajo anterior para la obtención de un modelo mediante el ajuste a la ecuación de Ostwald. Dicho modelo es clave para la obtención del área del anillo de histéresis y así obtener el índice de tixotropía.

Así mismo, se han llevado a cabo investigaciones profundas en el campo de las propiedades reológicas del Carbopol. Estas investigaciones, en particular, se han centrado en el estudio de su índice de tixotropía. Un ejemplo notable de esto se encuentra en el trabajo realizado por Priscila R. y su equipo de colaboradores, cuyo estudio lleva el título de “Rheological Characterization of Carbopol® Dispersions in Water and in Water/Glycerol Solutions.” Este estudio se enfoca en la influencia del tipo de solvente en las propiedades reológicas de las dispersiones de Carbopol® NF 980 en agua y en soluciones de agua/glicerol. En el análisis de los resultados, se observa que, para ambos tipos de solventes, se manifiesta un comportamiento tixotrópico. Entre los hallazgos más significativos, destaca que, para una concentración dada de Carbopol, las dispersiones en el solvente más viscoso muestran un límite elástico más marcado, módulos más bajos, un índice de ley de potencia más alto y un tiempo más prolongado requerido para alcanzar el estado estacionario. Estos resultados contribuyen al entendimiento más profundo de las propiedades reológicas del Carbopol y su relación con el tipo de solvente empleado (Vargas et al., 2019).

Aunque investigaciones como la de Priscila R y su equipo han contribuido significativamente al estudio de las características del Carbopol, es relevante subrayar que uno de los propósitos fundamentales de este trabajo es crear una metodología valiosa para la instrucción en la realización de pruebas reológicas y en el análisis de datos para su posterior ajuste a modelos matemáticos que expliquen el comportamiento de los fluidos. Particularmente, existen estudios donde se ha determinado la energía de activación del Carbopol en condiciones particulares, tal es el caso de un estudio desarrollado en 2001 por Fresno Contreras y colaboradores, dicho estudio se enfocó en analizar las propiedades de los geles etanólicos mediante el estudio del flujo a diferentes temperaturas, pH y bajas concentraciones de polímero. Los resultados mostraron que, al aumentar la temperatura, la viscosidad disminuyó y el índice de flujo mejoró, según lo predicho por el modelo de Ostwald. Se observó una relación entre las energías de activación del flujo ( $E_\gamma$ ) y el pH de los geles hidroalcohólicos. Sin embargo, no se encontraron correlaciones significativas entre la energía de activación y la concentración del polímero en el rango evaluado. En resumen, los geles Carbopol®





Ultrez™ 10 mostraron una estabilidad en la viscosidad bajo las variaciones de temperatura típicas de su uso y almacenamiento, lo que minimiza posibles cambios no deseados en las propiedades del producto (Fresno Contreras et al., 2001).

En conclusión, se plantea el desarrollo de un estudio reológico al Carbopol centrándose en la metodología para la obtención de su índice de tixotropía y energía de activación, de tal forma que sea posible determinarlas mediante análisis matemático empleando el modelo de Ostwald y software libre para análisis de datos (Python 3), así como métodos tradicionales (uso del Reómetro Rheolab MC 120) para la obtención de los datos. Su aplicación está centrada en la docencia para la formación de estudiantes de la Licenciatura en Farmacia y en aquellos requieran conocer esta prueba como parte de su formación.

## Objetivo

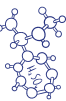
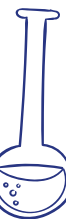
El objetivo principal de este estudio se centra en la caracterización reológica de las dispersiones de Carbopol, con un enfoque específico en la determinación del tipo de comportamiento reológico de estos sistemas. Adicionalmente, buscamos identificar y comprender el fenómeno de tixotropía y fenómenos fundamentales en el área.

Como parte de nuestra contribución académica, también se plantea el desarrollo de una metodología que sirva como herramienta educativa para la enseñanza de la determinación de las propiedades reológicas, lo que permitirá una comprensión más profunda de estos sistemas.

## Metodología

En la primera etapa, se prepararon dispersiones de Carbopol a diferentes concentraciones, 0.5%, 1.0%, 1.5% y 2.0% (w/v) a 25 °C. La fase de preparación consistió en disolver el polímero en 70 mL de agua, agregándole lentamente y con agitación vigorosa sin generar vortex. Por otra parte, en 20 mL de propilenglicol a 40 °C, se disolvieron 0.02 g de ácido ascórbico y propilparaben 0.05 g con agitación suave, se deja enfriar. Finalmente, se vertió la mezcla de carbopol en agua en esta última disolución y se aforó a 100 mL. Posteriormente, mediante el empleo de un Reómetro Rheolab MC 120 de la marca Physica, se obtuvieron las curvas de ascenso y descenso (donde  $\tau$  es el esfuerzo cortante o Shear Stress y  $\dot{\gamma}$  es la velocidad de cizalla o Shear Rate) así como los datos para la determinación de la viscosidad y su comportamiento (donde  $\eta$  es la viscosidad) con una tasa de velocidad de 10 a 200 y con un gradiente de velocidad 10 .

Los datos se generan y almacenan automáticamente mediante el software de control del reómetro, y luego se procesan con Python 3, un lenguaje de programación de código abierto





ampliamente conocido por sus bibliotecas útiles en el procesamiento de datos. El proceso de análisis de datos se divide en tres etapas clave. En primer lugar, se realiza la organización de los datos, que involucra la eliminación de especificaciones del instrumento y caracteres innecesarios que podrían afectar la interpretación del software, mientras se mantienen intactas las mediciones esenciales del instrumento. Posteriormente, los datos se almacenan en hojas de cálculo con formato .xlsx para facilitar su manejo. Una vez que la información está en un formato legible y libre de datos redundantes, se procede al procesamiento utilizando Python. Se hacen uso de estructuras de datos conocidas como *Dataframes*, que permiten segmentar y clasificar la información según el tipo de medición. Esta etapa marca el comienzo de la modelación, donde se aplica el logaritmo natural a los datos (necesarios para la etapa de linealización). Utilizando la función *LinearRegression*, se ajustan los datos a una línea recta, lo que permite la aplicación de la ecuación de Ostwald linealizada (Ecu. 3). Esta linealización proporciona los parámetros necesarios para construir un modelo de tendencia que describe la información de manera efectiva.

$$\ln \ln (\tau) = \ln \ln (k) + n \ln (\gamma) \quad (2)$$

Una vez obteniendo el valor de los parámetros mediante la aplicación de la regresión lineal a los datos tanto de subida como de bajada para cada concentración, se procedió a la construcción del modelo de Ostwald original aplicando exponenciales y acomodando las variables según el modelo. Obtenidos los modelos (para los datos de subida y bajada) se obtuvo el área bajo la curva de ambos modelos, de acuerdo con la siguiente ecuación:

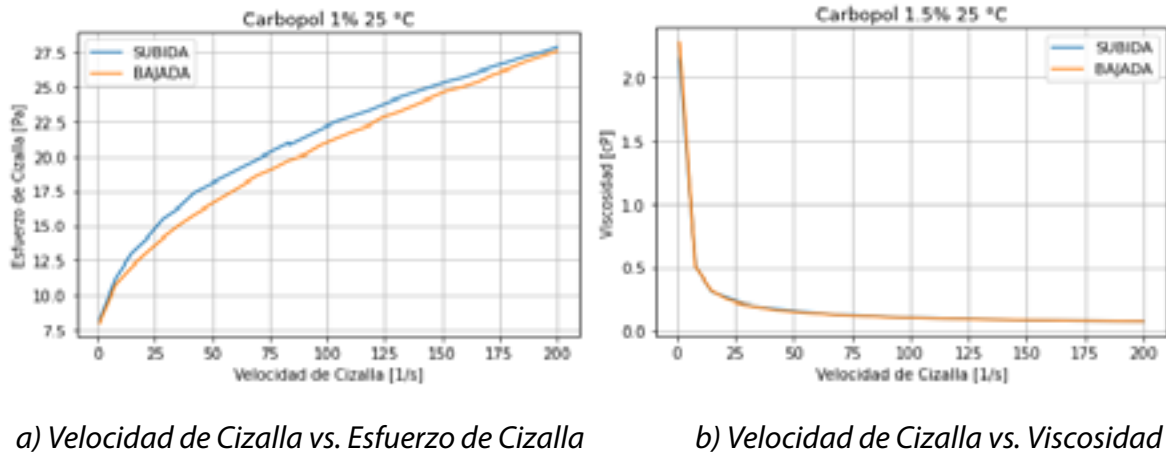
$$I = (A_u - A_d) / A_d \cdot 100 \quad (3)$$

Donde  $A_u$ , es el área bajo la curva del modelo de subida y  $A_d$  corresponde al área de bajada, de la forma que la diferencia  $A_u - A_d$  corresponde al área del anillo de histéresis empleado para el cálculo del índice de tixotropía como método tradicional.

## Resultados y discusión

Se procedió al análisis estadístico aplicando regresión lineal a los datos mediante los software Python 3, dichas regresiones se ajustaron al modelo reológico de Ostwald (Ley de la potencia), para luego, mediante métodos computacionales y analíticos poder determinar el índice de tixotropía calculando el área bajo la curva del anillo de histéresis formado por las curvas obtenidas de los modelos de los datos. Como parte de los hallazgos presentados en este proyecto se presenta el análisis realizado al Carbopol a una concentración 1.0% y 1.5% p/v a 25°C (Figura 1) a las condiciones experimentales planteadas anteriormente y ajustada

al modelo de Ostwald, para la cual se obtuvo un grado de tixotropía del 4.85% y 1.54 % respectivamente, lo cual es esperado dado que en general los geles de carbopol presentan una baja tixotropía.



**Figura 1.** Carbopol a una concentración del 1.0% p/v a 25 °C.

Para la gráfica, se obtuvieron los modelos ajustados a la ecuación de Ostwald. Ecuación de potencia a la subida:

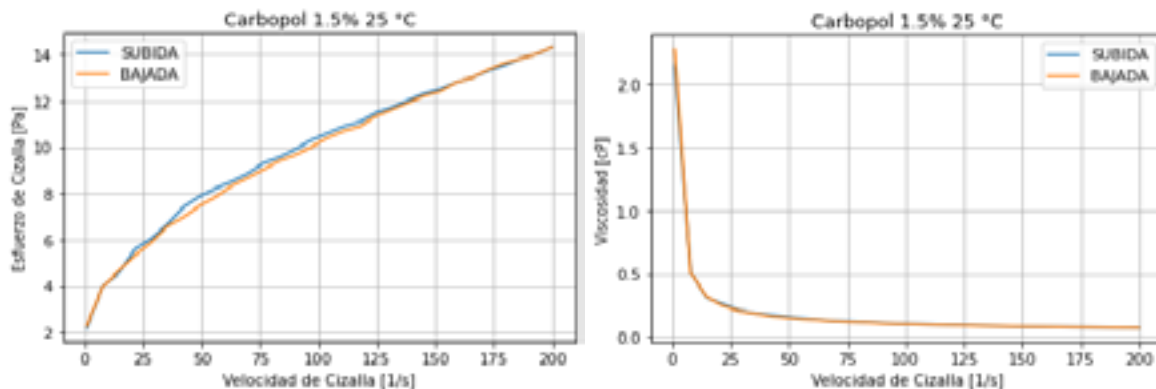
$$\tau = 6.9369\gamma^{0.2536} \tag{4}$$

Ecuación de potencia a la bajada:

$$\tau = 6.3837\gamma^{0.2613} \tag{5}$$

Para las cuales se obtuvo un grado de tixotropía igual a 4.8752 % para el Carbopol a una concentración de 1% p/v. Por su parte, se observa en la figura 2, claramente que las dispersiones de esta sustancia presentan una conducta refluidizante (pseudoplástica).





a) Velocidad de Cizalla vs. Esfuerzo de Cizalla

b) Velocidad de Cizalla vs. Viscosidad

**Figura 2.** Carbopol a una concentración del 1.5% p/v a 25 °C

Para la gráfica, a una concentración de 1.5% se obtuvieron los modelos ajustados a la ecuación de Ostwald. Ecuación de potencia a la subida:

$$\tau = 1.8600 \gamma^{0.3751} \quad (6)$$

Ecuación de potencia a la bajada:

$$\tau = 1.8576 \gamma^{0.3720} \quad (7)$$

Para las cuales se obtuvo un grado de tixotropía igual a 1.5346 % para el Carbopol a una concentración de 1% p/v. Por otra parte, se observa claramente en las figuras 1 b) y 2 b), que las dispersiones de esta sustancia presentan una conducta refluidizante (pseudoplástica), ya que disminuye la viscosidad conforme se incrementa la velocidad de cizalla.

## Conclusiones

Las dispersiones de Carbopol presentan una conducta refluidizante, es decir, muestran un comportamiento pseudoplástico en el cual su viscosidad disminuye a medida que aumenta la velocidad de cizalla. Este hallazgo es relevante, especialmente en la fabricación de productos farmacéuticos como geles, ungüentos y pomadas que contienen sustancias activas destinadas al uso cutáneo. La presencia de un índice de tixotropía, aunque pequeño, resulta beneficioso, ya que cuando se aplica el producto, su viscosidad disminuye, permitiendo una mejor absorción por la piel. Esto puede traducirse en una experiencia más cómoda y efectiva para el usuario final. Además de su aplicación práctica en la industria farmacéutica, estos resultados tienen

un potencial educativo valioso. Los datos obtenidos pueden utilizarse como antecedentes en la enseñanza de la Reología en el curso de Tecnología Farmacéutica II. Los estudiantes tienen la oportunidad de reproducir el experimento en condiciones similares y comparar sus resultados con los del proyecto actual. Esto proporciona a los estudiantes una plataforma para adquirir nuevas habilidades técnicas, matemáticas y tecnológicas relacionadas con el estudio de propiedades reológicas, preparándose de manera efectiva para enfrentar desafíos en su futura carrera profesional. En resumen, este estudio no solo aporta a la industria, sino también a la formación de futuros profesionales en el campo farmacéutico.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo al Programa Interno de Apoyo para Proyectos de Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PIAPIME). “Elaboración y actualización de material didáctico para uso en el proceso de enseñanza-aprendizaje del curso de Tecnología Farmacéutica II”. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM. Clave ID 2.13.18.23. Así mismo, se agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por su generoso apoyo en la realización de este proyecto.

### Referencias

- Fresno Contreras, M. J., Ramírez Diéguez, A., & Jiménez Soriano, M. M. (2001). Viscosity and temperature relationship in ethanol/water mixtures gelified with Carbopol® Ultrez™ 10. *Farmaco*, 56(5–7). [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01058-8](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01058-8)
- Hernández, María. (1996). *Caracterización reológica de hidrogeles de MCC-NaCMC + almidón. Tixotropía y sinergismo*. Universitat de Valencia.
- Puente Córdoba, J. G., Hernández Ramírez, C. L., Reyes Melo, M. E., Rentería Baltiérrez, F. Y., & Miranda Valdez, I. Y. (2022). Estudio reológico de soluciones poliméricas de carboximetil celulosa. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 23(2). <https://doi.org/10.22201/ifi.25940732e.2022.23.2.012>
- Vargas, P. R., Costa, C. M., Fonseca, B. S., Naccache, M. F., & De Souza Mendes, P. R. (2019). Rheological characterization of carbopol® dispersions in water and in water/glycerol solutions. *Fluids*, 4(1). <https://doi.org/10.3390/fluids4010003>





# PROPUESTA METODOLÓGICA PARA LA CONSTRUCCIÓN DE SUPERFICIES DENOTANDO LA VARIACIÓN DE CONSTANTES APARENTES DE FORMACIÓN EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y LA FUERZA IÓNICA

*Ricardo Galdino Martínez Pérez<sup>1\*</sup>, Jorge Ruvalcaba Juárez<sup>1</sup>, Arturo de Jesús García Mendoza<sup>1</sup> Esperanza Elizabeth Vilchis Barrera<sup>2</sup>, José Alejandro Baeza Reyes<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, México,

<sup>2</sup>Instituto de Limnología y Ciencias del Mar, Universidad Nacional Autónoma de México, México,

<sup>3</sup>Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México,

<sup>1</sup>[ricard.mtz.p@gmail.com](mailto:ricard.mtz.p@gmail.com), <sup>1</sup>[ruvalcaba@quimica.unam.mx](mailto:ruvalcaba@quimica.unam.mx), <sup>1</sup>[arturogm@unam.mx](mailto:arturogm@unam.mx)

<sup>2</sup>[elivilchis.95@gmail.com](mailto:elivilchis.95@gmail.com), <sup>3</sup>[baeza@unam.mx](mailto:baeza@unam.mx)

## Resumen

En el presente trabajo se desarrolló una metodología para la construcción de superficies, en donde se presenta la variación del valor del logaritmo para una constante aparente de un equilibrio químico particular en función de distintas condiciones de temperatura y salinidad, empleando el programa Microsoft Excel®. A manera de ejemplo, se detalla la construcción de la superficie del logaritmo de la constante de formación de agua, para los intervalos de temperatura ( $4.0 \leq T[^\circ\text{C}] \leq 44.0$ ) y salinidad ( $5.0 \times 10^{-5} \leq Sp[\text{PSU}] \leq 70.0$ ).

**Palabras clave:** Van't Hoff, Debye-Hückel, equilibrio químico, constantes de formación, fuerza iónica.

## Antecedentes

Las constantes de equilibrio o constantes de formación son de gran relevancia en diversos aspectos de la química, siendo cruciales en el campo de la química analítica por la importancia que tienen en la cuantificación o en el diseño y optimización de sistemas químicos. Su

conocimiento y uso adecuado son esenciales para avanzar en la comprensión y aplicación de la química en diversos campos, desde la investigación científica hasta la industria; por este papel que desempeñan se debe tener presente que las constantes se encuentran reportadas a una temperatura y salinidad particulares (valores usualmente detallados en la literatura junto con el valor de la constante en cuestión). Congruentemente, el empleo de estos valores en alguna metodología, diseño experimental o tratamiento de datos requiere el cuidado de conocer y controlar durante el experimento las condiciones de temperatura y salinidad; de la misma manera que se requiere conocer los valores de una constante de formación a las condiciones de trabajo. En busca de una propuesta de solución a este problema se plantea una metodología para la construcción de una superficie que denote la variación del valor de una constante aparente ante estas variables.

### Objetivos

Presentar una metodología que permita la construcción de superficies donde se presente la variación del valor del logaritmo para una constante aparente, de un equilibrio químico particular, en función de distintas condiciones de temperatura y salinidad, empleando el programa Microsoft Excel®.

Mediante la metodología propuesta generar la superficie para el equilibrio de formación del agua en un intervalo de temperatura ( $4.0 \leq T[^\circ\text{C}] \leq 44.0$ ) y salinidad ( $5.0 \times 10^{-5} \leq Sp[\text{PSU}] \leq 70.0$ ).

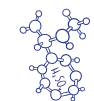
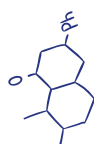
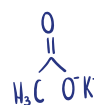
### Metodología

En este apartado se detallan las ecuaciones para generar una de las superficies planteadas en este trabajo.

① Ecuación de **Van't Hoff**: En la (ecuación 1) se muestran dos equivalencias para el cambio en la energía estándar de Gibbs,  $\Delta_r G^\circ$ , que permiten relacionar la variación de las constantes de equilibrio termodinámicas,  $K^\circ_{eq}$ , con la temperatura, T (McQuarrie y Simon, 1997).

$$\Delta_r G^\circ = -RT \ln K^\circ_{eq} = \Delta_r H^\circ - T\Delta_r S^\circ \quad [\text{kJ mol}^{-1}] \quad (1)$$

Donde R es la constante de los gases ( $1.987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$  ó  $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ), T es la temperatura en [K] y el superíndice ( $^\circ$ ), en los términos  $\Delta_r G^\circ$ ,  $\Delta_r H^\circ$  y  $\Delta_r S^\circ$ , se refiere a componentes en estado estándar. Despejando en términos del logaritmo de la constante de equilibrio termodinámica se obtiene la (ecuación 2).



$$\log K^{\circ}_{eq} = \frac{-\Delta_r H^{\circ}}{RT \ln(10)} + \frac{\Delta_r S^{\circ}}{R \ln(10)} = \left( \frac{-\Delta_r H^{\circ}}{R \ln(10)} \right) \left( \frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta_r S^{\circ}}{R \ln(10)} \quad (2)$$

$$y = (m) x + (b) \quad (3)$$

Con la (ecuación 2) es posible la interpolación del valor del logaritmo de una constante de formación termodinámica particular para un intervalo de temperaturas. Graficando el  $\log K^{\circ}$  contra el inverso de la temperatura,  $(1/T)$ , se obtiene una relación típica para una regresión lineal (ecuación 3); donde la pendiente,  $(m)$ , y la ordenada de origen,  $(b)$ , presentan correspondencias simples. La pendiente es positiva para procesos exotérmicos y pendiente negativa para los procesos endotérmicos (Butler y Cogley, 1998).

Despejando de la pendiente y de la ordenada de origen se logra obtener el valor para el cambio en la entalpia estándar,  $\Delta_r H^{\circ}$ , (ecuación 4) y para la entropía estándar,  $\Delta_r S^{\circ}$ , (ecuación 5), para la constante en cuestión.

$$\Delta_r H^{\circ} = - m R \ln(10) \quad [J \text{ mol}^{-1}] \quad (4)$$

$$\Delta_r S^{\circ} = b R \ln(10) \quad [J \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}] \quad (5)$$

Donde  $R$  es la constante universal de los gases ( $8.314472 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $T$  es la temperatura en  $[K]$ ,  $m$  es la pendiente en  $[K]$ , y  $b$  es la ordenada de origen la cual es adimensional.

② Ecuación extendida de **Debye-Hückel**. Esta expresión (ecuación 6) relaciona la temperatura y la contribución de la fuerza iónica del medio con los coeficientes de actividad de las especies químicas contempladas en el equilibrio que se desea analizar (Gagliardi & et. Al., 2007). Modificando estas dos variables, siempre y cuando se conozcan los valores del logaritmo de la constante de equilibrio termodinámica para cada una de las temperaturas evaluadas, es posible conocer los valores de los logaritmos de las constantes aparentes a las condiciones seleccionadas. Esta ecuación es apta para disoluciones con valores de fuerza iónica elevada (Helgeson & Kirkham, 1974; Fegley, 2013; Khan & et. al. 2016).



$$\log \gamma_i = \frac{(-1.824829238 \times 10^6) (\rho_{(T,S,0)})^{\frac{1}{2}} (\epsilon_r T)^{-\frac{3}{2}} (z_i)^2 \sqrt{I}}{\left(1 + \frac{(50.29158649) (\rho_{(T,S,0)})^{\frac{1}{2}}}{\sqrt{\epsilon_r T}} (A_i \sqrt{I})\right)} \quad [\text{adimensional}] \quad (6)$$

Donde  $\gamma_i$  es el coeficiente de actividad de la  $i$ -ésima especie química que participa en el equilibrio,  $T$  es la temperatura en [K],  $I$  es la fuerza iónica en [ $\text{mol L}^{-1}$ ],  $\epsilon_r$  es la permitividad relativa del agua,  $\rho_{(T,S,0)}$  es la densidad en [ $\text{g mL}^{-1}$ ], es el tamaño del ion solvatado en [ $\text{Å}$ ] y  $z_i$  es la carga del ion en cuestión.

Para resolver la (ecuación 6) es necesario obtener los valores de algunas variables adicionales, para ello se detallan las ecuaciones para calcular cada una de ellas en los apartados (3-6).

③ Fuerza iónica. Dentro del marco de la teoría de Debye-Hückel, este concepto vincula la influencia del medio altamente iónico, los coeficientes de actividad ( $\gamma_i$ ) y la concentración molar efectiva con la actividad,  $a_i = \gamma_i [i]$  (Butler y Cogley, 1998). De manera general, la fuerza iónica de una disolución,  $I$  [ $\text{mol L}^{-1}$ ], es una medida de la ionicidad del medio y es una función de la concentración molar efectiva de todos los iones presentes al equilibrio (ecuación 7).

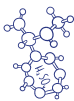
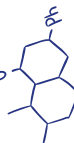
$$I = \frac{1}{2} \sum [i^z] z^2 = 0.722627 \frac{\text{mol}}{\text{Kg}_{\text{H}_2\text{O}}} \left( \rho_{(T,S,0)} \frac{\text{Kg}_{\text{H}_2\text{O}}}{\text{L}_{\text{H}_2\text{O}}} \right) \left( \frac{Sp}{35.0} \right) \quad [\text{mol L}^{-1}] \quad (7)$$

La segunda equivalencia en la (ecuación 7) denota el cálculo para la fuerza iónica a partir de la salinidad,  $Sp$  [PSU]; para términos de conversión de unidades  $1 \text{ PSU} = 0.02113168 \text{ mol L}^{-1}$  (@  $T=25^\circ\text{C}$ ). El valor de la fuerza iónica es de interés para evaluarlo en los intervalos de temperatura,  $T$ , y salinidad,  $Sp$ , empleados en la (ecuación 6).

④ Dependencia de la constante dieléctrica con la temperatura. La constante dieléctrica de un disolvente está asociada a su capacidad para disolver moléculas de un soluto que se encuentra inmerso en él mediante su polarización. Mientras más grande sea la constante dieléctrica de un disolvente su carácter polar se incrementará, es decir, el disolvente es más polarizante. La dependencia de esta variable con la temperatura está dada por la (ecuación 8), donde la temperatura debe ser evaluada en [K]. (Catenaccio, Daruich y Magallanes, 2003).

$$\epsilon_r = 5321(T)^{-1} + 233.76 - 0.9297(T) + 0.1417 \times 10^{-2}(T)^2 - 0.8292 \times 10^{-6}(T)^3 \quad (8)$$

[adimensional]





Este valor es de interés para evaluarlo en los intervalos de  $T$  y  $S_p$  empleados en la (ecuación 6).

⑤ **Dependencia de la densidad del agua con la temperatura y la salinidad.** La densidad del agua fue estimada mediante la expresión empleada por la UNESCO y es calculada en dos pasos. Inicialmente se determina la densidad del agua, (ecuación 9), en donde se ha omitido la determinación del módulo de compresibilidad debido a considerar una presión atmosférica normal, es decir  $P_{\text{atm}} = 1 \text{ atm}$  (Massel, 2015).

$$\rho_{\text{H}_2\text{O}} = a_0 + a_1 T + a_2 T^2 + a_3 T^3 + a_4 T^4 + a_5 T^5 \quad (9)$$

Donde:  $a_0 = + 999.842594$        $a_1 = + 6.793953 \times 10^{-2}$        $a_2 = 9.095290 \times 10^{-3}$   
 $a_3 = + 1.001685 \times 10^{-4}$        $a_4 = - 1.120083 \times 10^{-6}$        $a_5 = + 6.536332 \times 10^{-9}$

El valor de  $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$  se obtiene en  $[\text{kg m}^{-3}]$  y se sugiere dividir entre 1000 ( $1000 \text{ kg m}^{-3} = 1 \text{ g mL}^{-1}$ ) para obtener la propiedad en  $[\text{g mL}^{-1}]$ . Para incluir la influencia de la salinidad se emplea la (ecuación 10); esta consiste en una serie de coeficientes de ajuste que son funciones, a su vez, de la temperatura (Massel, 2015).

$$\rho(T,S,0) = \frac{\rho_{\text{H}_2\text{O}} + B_1 S + C_1 S^{1.5} + d_0 S^2}{1000} \quad (10)$$

Donde:

$$B_1 = b_0 + b_1 T + b_2 T^2 + b_3 T^3 + b_4 T^4$$

$$C_1 = c_0 + c_1 T + c_3 T^2$$

En síntesis, primero se determinó la variación de la densidad del agua con la temperatura, (ecuación 9), para posteriormente realizar la corrección de la densidad del agua considerando su dependencia con la salinidad,  $\rho(T,S,0)$ , mediante la (ecuación 10). Este último valor se debe considerar para evaluar la (ecuación 6) a las condiciones de trabajo.

⑥ **Radios iónicos.** Los radios iónicos solvatados de las especies involucradas se seleccionan dependiendo del equilibrio a analizar (Marcus, 2001). Para el ejemplo de la superficie del equilibrio de formación del agua se muestran los valores de los radios iónicos correspondientes en la Tabla 1 (Jenkins & Thankur, 1979)



Ión	Radio iónico solvatado (Å)
$H^+$	1.41
$HO^-$	1.33

**Tabla 1.** Colección de valores de radios iónicos para los iones presentes en las disoluciones de agua de mar simulada.

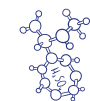
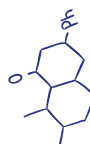
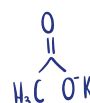
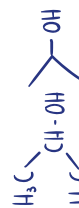
Estos valores se emplean en la resolución de la (ecuación 6), donde se evalúa esta ecuación para cada una de las especies que conforman el equilibrio analizado en los intervalos de  $T$  y  $Sp$  de interés. Para el ejemplo se usan  $H^+$  y  $HO^-$ .

⑦ Definición de constante aparente. Para todo equilibrio químico existe una correlación entre una constante aparente (válida para un valor concreto de fuerza iónica,  $I > 0 \text{ mol L}^{-1}$ ) y la constante termodinámica (válida para un valor de fuerza iónica nula,  $I = 0 \text{ mol L}^{-1}$ , y correspondiente a una situación límite). Mediante los logaritmos de los coeficientes de actividad obtenidos para las especies involucradas en la constante de interés (obtenidos mediante la ecuación 6), y conociendo el valor de la constante de equilibrio termodinámica para cada temperatura analizada (obtenidas mediante la ecuación 2), se puede denotar la variación del valor de la constante de equilibrio termodinámica en condiciones de ionicidad diferentes de cero (ecuación 11).

$$K^{\circ}_{eq} = (K_{HB}^{H^+})|_{I=0} = (K_{HB}^{H^+}|_{I>0}) \prod ((\gamma_i)^{\nu_i})|_{I>0} \quad (11)$$

Donde  $\nu_i$  corresponden respectivamente al coeficiente estequiométrico y al coeficiente de actividad del  $i$ -ésimo componente del equilibrio químico. Con la intención de generalizar, las especies del par conjugado acido-base correspondientes a las constantes se denominaron como ( $H^+$ ) para la especie ácida y ( $HB$ ) para la especie básica. La expresión anterior puede ser reescrita en términos de sus logaritmos por facilidad (ecuación 12).

$$\log K^{\circ}_{eq} = \log(K_{HB}^{H^+})|_{I=0} = \log(K_{HB}^{H^+}|_{I>0}) + \sum \nu_i \log(\gamma_i|_{I>0}) \quad [\text{adimensional}] \quad (12)$$



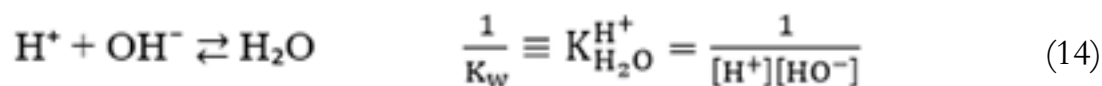


Con esta última ecuación, mediante el modelo de van't Hoff (ecuación 2) y la ecuación extendida de Debye-Hückel (ecuación 6), es posible determinar el valor de la constante aparente,  $\log \log \left( \left[ \frac{K_{HB}^{H^+}}{I} \right] - (I > 0) \right)$  del equilibrio químico analizado a una temperatura y fuerza iónica concretas (ecuación 13).

$$\log(K_{HB}^{H^+}|_{I>0}) = \log(K_{HB}^{H^+})|_{I=0} - \sum v_i \log(\gamma_i|_{I>0}) \quad [\text{adimensional}] \quad (13)$$

## Resultados y discusión

Como ejemplo de la metodología propuesta, se llevó a cabo la elaboración de la superficie para el logaritmo de la constante de formación del agua,  $pK_w$ . Así, el equilibrio y las especies involucradas son las siguientes (ecuación 14).



En la Tabla 2 se presentan los valores de los logaritmos de las constantes termodinámicas (a una  $I = 0 \text{ mol L}^{-1}$ ) para el equilibrio de formación del agua reportadas a distintos valores de temperatura (Fegley, 2013; Bandura, 2006).

Temperatura (°C)	$pK_w \equiv K_{(H_2O)}^{(H^+)}$
0.0	14.950
10.0	14.535
20.0	14.167
25.0	13.997
30.0	13.830
40.0	13.535
50.0	13.262

**Tabla 2.** Colección de valores de logaritmo de la constante de formación del agua,  $pK_w$ , a fuerza iónica nula.

A partir de estos valores de los logaritmos de la constante termodinámica se realizó el ajuste lineal para el modelo de van't Hoff mediante la (ecuación 15).

$$\log \left( K_{H_2O}^{H^+} \Big|_{I=0} \right) = \left( \frac{-\Delta_r H^\circ}{R(10)} \right) \left( \frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta_r S^\circ}{R(10)} \quad (15)$$

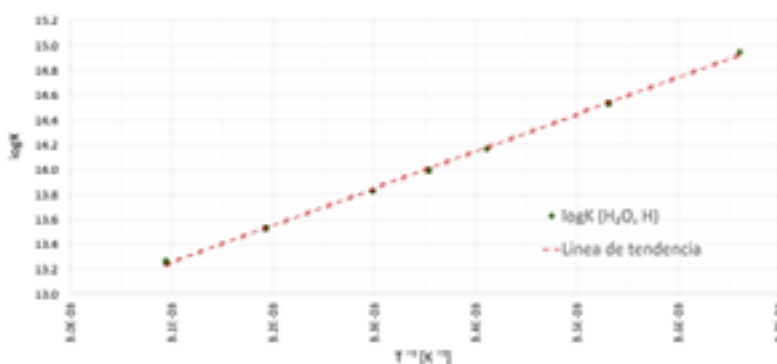
A partir de esta ecuación se obtuvieron los valores de  $\Delta_r H^\circ$  y de  $\Delta_r S^\circ$  para el equilibrio de formación del agua, como se detalla a continuación (los valores para la pendiente y la ordenada de origen se detallan en la Figura 1).

$$\Delta_r H^\circ = -m R \ln(10) = -(2\,979.01 \text{ K}) \left( 8.314472 \frac{\text{J}}{\text{mol K}} \right) \ln(10) = -57\,032.46 \frac{\text{J}}{\text{mol}}$$

$$\Delta_r S^\circ = b R \ln(10) = (4.02) \left( 8.314472 \frac{\text{J}}{\text{mol K}} \right) \ln(10) = 76.95 \frac{\text{J}}{\text{mol K}}$$

La relación lineal de van't Hoff para el equilibrio de formación del agua (ecuación 15) presenta una pendiente positiva, lo que sugiere un valor de  $\Delta_r H^\circ$  negativo y en consecuencia la reacción es un proceso exotérmico. Esto indica que el equilibrio se desplazará hacia el sentido de los productos a medida que se incremente la temperatura y en consecuencia el pH del agua químicamente pura (cuando se cumple que  $[\text{OH}^-] = [\text{H}^+]$ ) se recorrería de 7.38 a 6.28 a medida que la temperatura aumente en los intervalos correspondientes de temperatura de  $4.0 \leq T[^\circ\text{C}] \leq 44.0$ .

En la Figura 1 se muestra la relación lineal de van't Hoff obtenida para los valores de las constantes de formación del agua (a una fuerza iónica nula) para un intervalo de temperatura de (0.0-50.0)  $^\circ\text{C}$ , este intervalo se seleccionó para maximizar el coeficiente de determinación para la función lineal.



**Figura 1.** Variación del logaritmo de la constante de formación (a una  $I = 0 \text{ mol L}^{-1}$ ) para el equilibrio  $\text{H}^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$  de acuerdo con un modelo lineal para la función de van't Hoff.

Mediante la regresión lineal obtenida se determinaron las constantes termodinámicas, a una fuerza iónica nula, en el intervalo de temperatura ( $4.0 \leq T[^\circ\text{C}] \leq 44.0$ ). También se determinaron las variables necesarias para resolver la (ecuación 6). Y finalmente, se



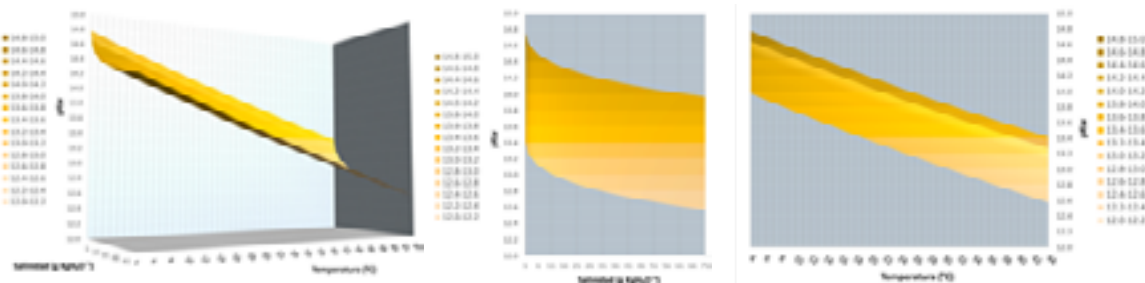
obtuvieron los valores para la constante aparente a cada una de las condiciones de trabajo.

Así, a influencia del medio iónico queda descrita por la (ecuación 16). Como se mencionó previamente, en esta ecuación se hace necesaria la determinación de los coeficientes de actividad de las especies químicas involucradas en este equilibrio y sobre ellos se considera la influencia de la temperatura y la fuerza iónica.

$$\log(K_{H_2O}^{H^+}|I>0) = \log(K_{H_2O}^{H^+}|I=0) - (v_{H_2O} \times \log(\gamma_{H_2O}|I>0)) - (v_{H^+} \times \log(\gamma_{H^+}|I>0)) - (v_{HO^-} \times \log(\gamma_{HO^-}|I>0)) \quad (16)$$

Finalmente se construyó la superficie deseada mostrada en la Figura 2 a partir de los valores del  $\log(K_{H_2O}^{H^+}|I>0)$  para los intervalos de salinidad de  $(5.0 \times 10^{-5} \leq Sp[PSU] \leq 70.0)$  y de temperatura de  $(4.0 \leq T[^\circ C] \leq 44.0)$ .

Equilibrio de formación:  $H^+ + OH^- \rightleftharpoons H_2O$



**Figura 2.** Superficie de respuesta obtenida para el equilibrio de formación del agua a las condiciones de  $(4.0 \leq T[^\circ C] \leq 44.0)$  y una  $(5.0 \times 10^{-5} \leq Sp[PSU] \leq 70.0)$ .

En la superficie obtenida (Figura 2, panel izquierdo), se logra observar que el proceso de formación del agua sigue un decaimiento exponencial conforme incrementa la salinidad de acuerdo al plano de fondo ( $\log K_{eq}$  vs. Sp); mientras que presenta un decaimiento lineal conforme incrementa la temperatura según el plano de fondo ( $\log K_{eq}$  vs. pH) (Figura 2, panel medio y derecho). Donde cada punto sobre la superficie corresponde a un conjunto de condiciones de salinidad y temperatura concretas en el que el agua presenta un valor particular para su valor de constante ( $pK_w$ ), y en consecuencia se determina la limitación sobre el comportamiento ácido-base en disolución acuosa a las condiciones de T y Sp de trabajo.

En la Tabla 2 se presentan los parámetros obtenidos por el ajuste lineal de la ecuación de van't Hoff, donde también se anexa la comparación con los datos reportados en literatura (Martell & Smith, 1982).

**Tabla 3.** Parámetros termodinámicos para el equilibrio  $H^+ + OH^- \rightleftharpoons H_2O$  obtenidos por dos modelos de la ecuación de van't Hoff y su confrontación con lo reportado.

	$\Delta_f H^\circ$ ( $J mol^{-1}$ )	$\Delta_f S^\circ$ ( $J mol^{-1} K^{-1}$ )	Coefficiente de determinación
Función lineal	- 57 032.46	76.95	$R^2$ 0.99906
Intervalo de temperatura: ( $0.0 \leq T [^\circ C] \leq 50.0$ )			
Reportado (Martell & Smith, 1982)	- 55 814.56	80.75	N/A
Error porcentual (%)	2.18	4.71	N/A

Mediante la metodología planteada se obtuvo un valor de error porcentual para el  $\Delta_f H^\circ$  de 2.18 %, y de 4.71 % para  $\Delta_f S^\circ$ , con respecto a los reportados en la literatura. A manera de perspectiva se pretende disminuir el margen de error de estos parámetros empleando un ajuste no lineal de la ecuación de van't Hoff, la cual sí considera al  $\Delta C_p$  como una variable en función de la temperatura.

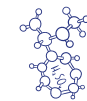
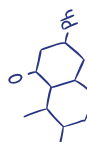
## Conclusiones

Se generó una metodología para la construcción de una superficie que denota la variación de una constante aparente de formación particular a distintas condiciones de temperatura y salinidad, estas superficies se generaron mediante el empleo del programa Excel<sup>®</sup>.

Mediante la metodología planteada se logró la construcción de la superficie para el equilibrio de formación del agua para los intervalos ( $4.0 \leq T [^\circ C] \leq 44.0$ ) y una ( $5.0 \times 10^{-5} \leq Sp[PSU] \leq 70.0$ ). Esta herramienta permite conocer por interpolación los valores de la constante a las condiciones de temperatura y salinidad deseadas; y obteniendo unos errores porcentuales menores al 5.0 % con respecto los parámetros de  $\Delta_f H^\circ$  y  $\Delta_f S^\circ$  reportados en la literatura.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al programa UNAM-DGAPA por el financiamiento del proyecto PAPIIME PE209023 y PAPIIT IA202122. Los autores, Ricardo G. Martínez Pérez (No.





de CVU 1201856) y E. Elizabeth Vilchis Barrera (No. de CVU 1161847), agradecen a CONAHCYT por el apoyo otorgado.

## Referencias

Bandura, L.S. (2006). The Ionization Constant of Water over Wide Ranges of Temperature and Density, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 35, 15–30. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1928231>

Butler, J.N., Cogley, D.R. (1998) *Ionic Equilibrium. Solubility and pH Calculations*, Wiley Interscience, 16-17.

Catenaccio, A., Daruich, Y., Magallanes C. (2003). Temperature dependence of the permittivity of water, *Chemical Physics Letters*. 367, 669–671

Fegley, R B. (2013). *Practical Chemical Thermodynamics for Geoscientists*, Elsevier, 566-567, 573-579.

Gagliardi, L.G., Castells, C.B., Ràfols, C., Rosés, M., Bosch, E. (2007). Static Dielectric Constants of Acetonitrile/Water Mixtures at Different Temperatures and Debye–Hückel And Parameters for Activity Coefficients, *Journal of Chemical & Engineering Data*. 52, 1103–1107.

DOI: <https://doi.org/10.1021/jc700055p>

Helgeson, H.C., Kirkham, D.H. (1974). Theoretical prediction of the thermodynamic behavior of aqueous electrolytes at high pressures and temperatures; II, Debye-Huckel parameters for activity coefficients and relative partial molal properties, *American Journal of Science*. 274, 1199 – 1261. DOI: <https://doi.org/10.2475/ajs.274.10.1199>

Jenkins, B., Thankur, K.P. (1979). Reappraisal of thermochemical radii for complex ions, *Journal of Chemical Education*. 56, 576–577.

DOI: <https://doi.org/10.1021/ed056p576>

Khan, M.N., Warriar, P., Peters, C.J., Koh, C.A. (2016) Mean activity coefficient of electrolytes: A critical evaluation of four physical models, *Journal of Natural Gas Science and Engineering*. 35, 1355–1361. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.03.092>

Marcus, Y. (2001). Ionic Radii in Aqueous Solutions, *Chemical Reviews*. 88, 1475 – 1498.

Martell, A. & Smith, R. (1982). *Critical Stability Constants, Volume 5: First Supplement*, Springer Science, 393. DOI: 10.1007/978-1-4615-6761-5

Massel, S.R. (2015). *Internal Gravity Waves in the Shallow Seas*, Springer, 153-156. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-18908-6>

McQuarrie, D.A., Simon, J.D. (1997). *Physical Chemistry: A Molecular Approach*, Sterling Publishing Company, 1063-1065, 1078-1082.





# DETERMINACIÓN DE MERCURIO COMO IMPUREZA EN SULFATO FERROSO MATERIA PRIMA MEDIANTE UNA VALORACIÓN POR RETROCESO

*Aneth Lorena Hernández Suárez, Juan Manuel Paramo Jurado,  
Alma Luisa Revilla Vázquez\**

*Laboratorio de desarrollo de métodos analíticos, Sección de Química Analítica, FES-C, UNAM*

*[anethl0r3na@gmail.com](mailto:anethl0r3na@gmail.com), [almarv@unam.mx](mailto:almarv@unam.mx)*

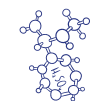
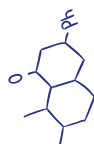
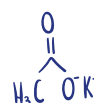
## Resumen

El mercurio es un metal pesado que dadas sus especies químicas resulta ser altamente tóxico para el ser humano. Existen varios mecanismos de acción que intervienen en la toxicidad del mercurio como: estrés oxidativo, alteraciones en la membrana, permeabilidad y disfunción mitocondrial, provocando diferentes fallas en el sistema nervioso e inmune. Es por ello la relevancia de su determinación en el sector farmacéutico a fin de emplear materias primas seguras en la fabricación de medicamentos. El objetivo del trabajo consiste en proponer una metodología de valoración por retroceso para determinar la concentración de mercurio como impureza en sulfato ferroso, como materia prima; con relación a la propuesta reportada en la FEUM 13.0 (MGA 0551: PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO), mediante la formación del ditizonato de mercurio en cloroformo (método I: quelometría). Los resultados obtenidos en la estandarización de la ditizona y la valoración en discontinuo sirvieron como base para proponer la valoración por retroceso y evaluar la factibilidad de seguirla espectrofotométricamente a 490 nm, para evidenciar de mejor forma el punto de equivalencia.

**Palabras clave:** mercurio, impureza, FEUM, valoración por retroceso, ditizona

## Antecedentes

El mercurio es un metal líquido, color plata brillante, soluble en líquidos polares y no polares. En la naturaleza, puede encontrarse de tres formas: como metal, especies orgánicas o formando sales inorgánicas. La exposición primaria en el humano se produce a través del consumo de pescados depredadores contaminados con MeHg (metil-mercurio). Dentro de la producción de medicamentos, sobre todo aquellos que involucran metales, pueden verse



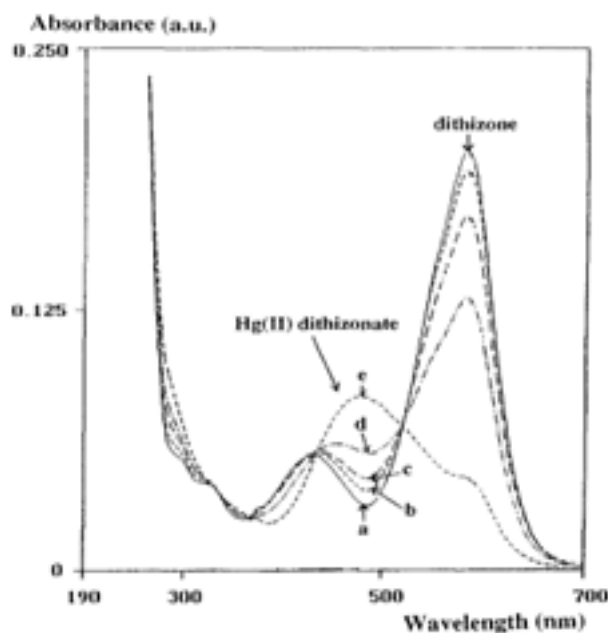


contaminados por metales pesados u otros. Por ello, la determinación de la presencia de mercurio en materia prima de ciertos compuestos es vital para evitar que el paciente sufra de una exposición tóxica al ser humano a nivel del sistema nervioso e inmune (Cadavid-Muñoz, Natalia, & Arango-Ruiz, Álvaro, 2020).

El sulfato ferroso tiene innumerables aplicaciones en el campo industrial y agrícola, es usado además para el tratamiento del agua cuando está contaminada ya que elimina la turbidez. También es indispensable en la fabricación de tintas indelebles, como suplemento alimentario y para el tratamiento de la anemia. Es una sal inorgánica altamente soluble en agua que al disolverse genera una solución de color verdoso. Por otro lado, se sabe que la ditizona (difentitio carbazona) es un agente quelante muy importante para la extracción de iones metálicos con disolventes. Estos complejos son altamente solubles en cloroformo y tetracloruro de carbono e insolubles en agua (Flores Porras Annelhy 2020).

De acuerdo con lo reportado en la FEUM 13.0 (CPFEUM, 2021), para la materia prima de sulfato y fumarato ferroso se determina mercurio como impureza (MGA 0551: PRUEBA LÍMITE DE MERCURIO) mediante la formación del ditizonato de mercurio en cloroformo, (método I: quelometría). La determinación reportada implica una valoración en discontinuo por extracción líquido-líquido. Siendo el límite máximo permisible de mercurio en materia prima de 3 ppm de Hg y hasta 10 ppm para algunos fármacos, el reto es la determinación de una cantidad tan pequeña de mercurio, por ello, se considera más adecuado plantear una titulación por retroceso, donde realmente se valora el exceso de titulante y por diferencia se determina la cantidad del analito presente en la disolución problema (Caballero Montesinos Luis Arturo, 2023).

La metodología se basa en la formación selectiva de un complejo (quelato) en fase orgánica (tetracloruro de carbono y/o cloroformo) llamado ditizonato de mercurio, que se produce al reaccionar el mercurio en solución acuosa (pH menor a 3.0) con ditizona en cloroformo; el quelato sirve como indicador del término de la reacción de valoración gracias a su color anaranjado brillante. La visualización del punto final no necesita la adición de un indicador debido a que la ditizona presenta un color verde y conforme avanza la valoración los cambios de color observados van de una tonalidad verde oscuro, a verde claro, café y finalmente el naranja brillante (Campo Serano Juana Del Pilar, 2023). Los espectros de absorción para ditizona (Dz) y el complejo (figura 1) indican que el máximo de absorción para el  $\text{Hg}(\text{Dz})_2$  está a 490 nm, por lo que es viable la detección espectrofotométrica. Aunque también la ditizona presenta cierta absorción en dicha longitud de onda, su máximo se visualiza alrededor de los 600 nm.



**Figura 1.** Espectros de absorción para Dz y  $Hg(Dz)_2$ ,  $Hg(II)$ : 0 a, 10 b, 25 c, 50 d, 100 e (pg).

Tomado de Théraulaz F., Thomas O. (1994)

## Objetivo

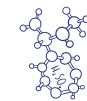
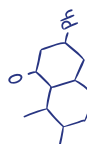
Evaluar la factibilidad de realizar la cuantificación de mercurio como impureza en sulfato ferroso materia prima con ditizona por medio de una valoración por retroceso en continuo como metodología alternativa a la reportada en la FEUM 13.0 mediante la formación del ditionato de mercurio en cloroformo.

## Parte experimental

Soluciones de ditizona: se pesaron 5.6 mg de ditizona en una balanza analítica y se afora a 25 mL (200 ppm). Se realizó una dilución de 4.0 mL en 50.0 mL (ditizona a 16 ppm).

Solución de mercurio estándar: A partir de un estándar comercial certificado de 1032 ppm se hace una dilución de 0.5 mL a 100 mL en ácido sulfúrico 0.5 M, (5.16 ppm  $Hg(II)$ ).

Se realiza la estandarización de la disolución de ditizona (16 ppm), empleando 5.0 mL de alícuota, en matraces Erlenmeyer de 25 mL, con agitación magnética vigorosa y la solución de  $Hg$  (5.16 ppm), como titulante en una bureta de 10.0 mL. Después de cada adición se agita y se deja reposar por 20 s para permitir la reacción entre las dos fases inmiscibles.





La valoración de una muestra de sulfato ferroso desecado (Alpharma), se realizó pesando por triplicado aproximadamente exacto 2 g de materia prima (Lote PT-DES-02/ALP-02), se le adicionan 5 mL de ácido sulfúrico 0.5 M y 5 mL de ditizona estandarizada a cada pesada, se realiza la valoración manteniendo una agitación mecánica constante y vigorosa.

Las mediciones de absorbancia se realizaron a 490 nm empleando un espectrofotómetro UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 18), celdas de vidrio; se empleó como blanco cloroformo. Se realiza la estandarización de la solución ditizona bajo las condiciones anteriores, pero empleando una dilución 1:5, es decir  $[Dz] = 3.2 \text{ ppm}$ , para obtener valores de absorbancia medibles en el instrumento. Para realizar la medición de la absorbancia, se separó la fase orgánica tras cada adición de titulante con una pipeta graduada.

### Resultados y discusión

Durante la estandarización por triplicado de la ditizona en cloroformo (tabla 1), se observó el cambio de coloración de verde a café y posteriormente a naranja. De acuerdo con la FEUM el método para la prueba límite de mercurio el ditizonato de mercurio tiene una coloración naranja brillante, por lo que el punto final se distinguió cuando la coloración en cada ensayo obtuvo ese color. Realizando los cálculos pertinentes se obtuvo que la concentración promedio de ditizona fue de  $5.92 \times 10^{-5} \text{ M}$  (15.17 ppm).

**Tabla 1.** Resultados para la estandarización de ditizona (16 ppm)

Ensayo	$V_{\text{peqv Hg}_{\text{std}}}$ (mL)	$[Dz] \text{ M}$
1	5.65	$5.81 \times 10^{-5}$
2	5.75	$5.92 \times 10^{-5}$
3	5.85	$6.02 \times 10^{-5}$
Promedio		$5.92 \times 10^{-5}$
DE		$1.03 \times 10^{-4}$
CV(%)		1.74 %

Se realiza la valoración por retroceso de tres muestras independientes de sulfato ferroso materia prima; los resultados se muestran en la Tabla 1. Cabe señalar que una valoración en retroceso se conoce así ya que se añade una cantidad en exceso de la especie reaccionante,

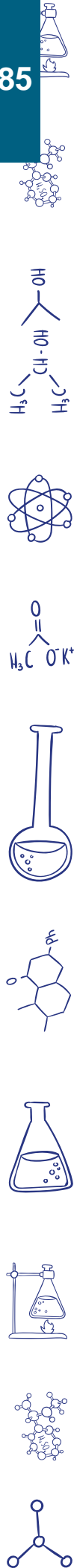
en este caso ditizona a la solución problema que contiene mercurio y la valoración es de la cantidad de ditizona que no reacciona con el mercurio presente en la solución problema. Para este caso, se adicionan 5 mL de ditizona  $5.92 \times 10^{-5}$  M para que reaccione todo el mercurio y se forme el correspondiente ditizonato de mercurio en fase clorofórmica. La valoración comienza con una mezcla de ditizonato de mercurio y exceso de ditizona en la fase orgánica, observándose un color verde. El exceso de ditizona se valora entonces con la disolución de mercurio estándar  $2.57 \times 10^{-5}$  M (5.16 ppm). Los resultados se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Valoración por retroceso de la materia prima

Ensayo	V <sub>Dz</sub> (mL)	V <sub>peqv Hg<sub>std</sub></sub> (mL)	FeSO <sub>4</sub> (g)	[Hg] (ppm)
1	5.0	5.75	2.2261	0
2	5.0	5.85	2.0504	0.25
3	5.0	5.80	2.1613	0.11
			<b>promedio</b>	<b>0.12 ppm</b>

La concentración promedio de mercurio para la muestra de sulfato ferroso materia prima está por debajo del límite permisible según lo indica la FEUM 13.0, que está establecido de 3.0 ppm, por tanto, se determina que la materia prima analizada cumple con la especificación sin problema. Durante los experimentos realizados, cabe mencionar que la detección del punto de equivalencia no es trivial para un analista poco experimentado y una pequeña diferencia en el volumen del punto de equivalencia incrementa significativamente la concentración determinada en la solución problema, como se observa en la tabla 2, una diferencia de 0.05 mL implica alrededor de 0.12 ppm de mercurio.

Por otro lado, se consideró la repetición de más ensayos con las condiciones anteriormente descritas para mejorar la habilidad visual para detectar el punto final de valoración. Para ello, se evaluó variar la concentración de las disoluciones de mercurio estándar para aumentar también el gasto de titulante. Se probó la valoración empleando 16 ppm de ditizona, con 10 y 5.16 ppm de mercurio, dado que la materia prima es una muestra que se supone tiene escasa presencia de mercurio. La valoración empleando 5.16 ppm de mercurio permitió visualizar mejor la coloración anaranjada del complejo en comparación con el uso de las otras concentraciones.





**Figura 2.** Estandarización de ditizona con mercurio estándar

A fin de corroborar el punto de equivalencia visual, se plantea realizar la determinación espectrofotométrica en el intervalo visible, a 490 nm, longitud de máxima absorción para el ditizonato de mercurio (figura 1). Para la estandarización de ditizona (aproximadamente 3.2 ppm) se utiliza una disolución de mercurio 5.16 ppm, y se mide la absorbancia en la fase orgánica (figura 2).

Los resultados obtenidos evidencian el cambio de pendiente de las rectas y el punto de equivalencia se estimó en 2.1 mL de mercurio, que corresponde a una concentración de ditizona de  $1.08 \times 10^{-5}$  M o bien 2.76 ppm.

Durante la valoración de la materia prima hubo complicaciones en la determinación espectrofotométrica debido a el polvo no disuelto, complicando la separación de las fases y presentando partículas en la fase orgánica, lo que altera la medición de la absorbancia; se siguen evaluando otras muestras.

## Conclusiones

Se evaluó la factibilidad de realizar la cuantificación de mercurio como impureza en sulfato ferroso materia prima con ditizona por medio de una valoración por retroceso en continuo mediante la formación del ditizonato de mercurio en cloroformo en pH ácido, realizando la detección del punto de equivalencia de manera visual.

Se evaluó realizar la determinación espectrofotométrica de la valoración por retroceso, siendo viable para la estandarización de la ditizona sin embargo, para la determinación de mercurio en la muestra de materia prima no fue posible debido a las interferencias del polvo no disuelto en ambas fases.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNAM FESC por el apoyo a la cátedra de investigación CI2244

## Referencias

Caballero, M. L. A. (2023). Determinación de mercurio en materia prima y medicamentos mediante la formación del ditizonato, en medio cloroformo. Tesis para obtener el título de Químico. Facultad de Estudios Superiores Campo 1, Cuautitlán.

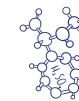
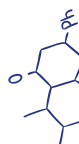
Cadavid-Muñoz, N. y Arango-Ruiz, A. (2020). El mercurio como contaminante y factor de riesgo para la salud humana. Revista Lasallista de Investigación, 17(2), 280-296. Epub August 24, 2021. <https://doi.org/10.22507/rli.v17n2a21>

Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (CPFEUM). Secretaría de Salud. 13 ed. COFEPRIS México; 2021.

Flores, P. A. (2020). Tesis "Obtención Del Sulfato Ferroso Por Lixiviación A Partir Del Oligisto (Óxido Férrico) Procedente De Las Canteras de la Carretera Iquitos-Nauta Km.65-Iquitos 2018 Lic. Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica Iquitos, Perú. DOI: [https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6849/Annelhy\\_Tesis\\_Titulo\\_2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6849/Annelhy_Tesis_Titulo_2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

López, Y. A. (2020). Tesis que para obtener el grado de doctor en Ingeniería de Procesos presenta: Recuperación de In y Sn a partir de paneles LCD residuales usando citrato como agente complejante. Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco DOI: [http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/8474/Recuperacion\\_de\\_In\\_y\\_Sn\\_Lopez\\_Yanez\\_A.pdf?sequence=1](http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/8474/Recuperacion_de_In_y_Sn_Lopez_Yanez_A.pdf?sequence=1)

Théraulaz, T. O. (1994). Complexometric Determination of Mercury(II) in Waters by Spectrophotometry of its Dithizone Complex. Austria: Mikrochimica Acta.





# IDENTIFICACIÓN POR UPLC-ESI(+)-TOF-MS/MS DE PROTEÍNAS CELULARES Y EXTRACELULARES DE *Selenastrum capricornutum* RELACIONADAS CON LA BIODEGRADACIÓN DE BENZO(A)PIRENO

Manuel Méndez García, Martha Patricia García Camacho\*

Facultad de Química, UNAM, México

[m.mendezgarcia@quimica.unam.mx](mailto:m.mendezgarcia@quimica.unam.mx), [pgcllas@unam.mx](mailto:pgcllas@unam.mx)

## Resumen

La degradación de benzo(a)pireno (BaP) es realizada eficientemente por la microalga *Selenastrum capricornutum*, pero existe escasa investigación sobre las proteínas participantes en su biodegradación. Por consiguiente, las proteínas celulares y extracelulares (PC y PE) fueron extraídas de cultivos de *S. capricornutum* y se concentraron en un gel SDS-PAGE durante una corrida electroforética. Posteriormente, se efectuó la digestión de proteínas en gel con tripsina; las mezclas de péptidos resultantes se analizaron por UPLC-ESI(+)-TOF-MS/MS, y sus espectros fueron analizados por el software PLGS y bases de datos para definir la identidad de proteínas. Se identificó una monooxigenasa (PC12) que presenta la mejor relación con la degradación de BaP, mientras que las rubredoxinas identificadas están involucradas en la transferencia de electrones durante su degradación. DLAT se encontró sobreexpresada debido al estrés inducido por BaP; DLAT y rubredoxinas confirman que *S. capricornutum* libera al exterior un complejo enzimático capaz de degradar al BaP.

**Palabras clave:** benzo(a)pireno, *Selenastrum capricornutum*, enfoque proteómico, proteínas celulares y extracelulares.

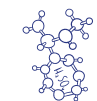
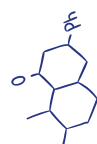
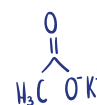
## Antecedentes

El benzo(a)pireno (BaP) es el hidrocarburo aromático policíclico de alto peso molecular (HAP APM) con mayor carcinogenicidad, y está clasificado como un contaminante prioritario por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA en inglés; USEPA, 2008; IARC, 2010); la cual, lo ha propuesto como parámetro de referencia para estimar





la toxicidad de otros HAPs. En este sentido, el BaP es el HAP APM más estudiado, y es considerado como un contaminante modelo para evaluar la eliminación y degradación de otros HAPs; principalmente mediante el empleo de estrategias de biorremediación con microorganismos, entre los cuales las microalgas han demostrado degradar eficientemente al BaP y otros HAPs APM (Méndez García y García de Llasera, 2021). Sin embargo, en comparación con las bacterias y hongos, pocos reportes se han centrado en la identificación de proteínas y/o enzimas relacionadas con las rutas metabólicas de degradación de este tipo de contaminantes, lo cual es de suma importancia, debido a que recientemente han emergido nuevas estrategias de biorremediación basadas en el empleo de las enzimas involucradas en las vías metabólicas microbianas de degradación de contaminantes medioambientales, mostrando ventajas respecto al uso de microorganismos vivos (Premnath et al, 2021; Sakshi, 2020), por ejemplo: i) el empleo de estas enzimas son una alternativa en el desarrollo de nuevos protocolos ecológicos de biorremediación, y ii) la producción biotecnológica de este tipo de enzimas ampliaría su aplicación en diferentes entornos contaminados. Por esta razón, es importante identificar a las proteínas y/o enzimas de microalgas que podrían estar asociadas con las vías de degradación de los HAPs APM (Méndez García y García de Llasera, 2023) y asimismo, extender el conocimiento sobre las rutas de biotransformación de estos contaminantes que aún no han sido completamente elucidadas para microalgas. En este contexto, *Selenastrum capricornutum* es la microalga que degrada BaP más eficazmente, y de acuerdo con la literatura, se ha reportado ampliamente que los principales metabolitos formados durante la degradación de BaP por esta microalga son del tipo dihidrodiol (Méndez García y García de Llasera, 2021); lo que ha sugerido que *S. capricornutum* podría degradar al BaP a través de las vías de dioxigenasas, aunque no se descartan que las vías monooxigenasas también estén involucradas, debido a que se ha reportado la identificación de metabolitos monohidroxilados por esta misma microalga para el BaP y otros HAPs APM (pireno y fluoranteno) (Chan et al, 2006; Ke et al, 2010). Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo fue analizar las proteínas celulares y extracelulares (PC y PE) de cultivos de *S. capricornutum* expuestos a BaP mediante un enfoque proteómico. Preliminarmente, se monitoreó la formación de metabolitos tipo dihidrodiol durante la exposición de cultivos de *S. capricornutum* a BaP en tiempos de 24, 48 y 72 h. Con esta información, se procedió a realizar la extracción y purificación de proteínas celulares y extracelulares (PC y PE) provenientes de la biomasa (BM) y del medio líquido (ML), en los cultivos expuestos a BaP (24 – 72 h) y sin su exposición (controles). Enseguida, los extractos de PC y PE se concentraron en un gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) y se aplicó un protocolo de digestión de proteínas en gel con tripsina; las mezclas de péptidos resultantes se analizaron por cromatografía de líquidos de ultra resolución (UPLC en inglés) acoplada a un espectrómetro de masas en tándem con ionización por electrospray en modo





positivo (ESI(+)-MS/MS) y con analizador de masas de tiempo de vuelo (TOF en inglés). Finalmente, los espectros de UPLC-ESI(+)-TOF-MS/MS obtenidos de la fragmentación de péptidos fueron analizados por el software PLGS (Servidor Global Protein Lynx) para definir la identidad y/o secuencia de una proteína comparándola con secuencias de datos conocidas y disponibles en la base de datos UniProt.

## Objetivo

Extraer y purificar proteínas celulares y extracelulares de cultivos de *S. capricornutum* expuestos a BaP en intervalos de 24, 48 y 72 h, con la finalidad de identificar por UPLC-ESI(+)-TOF-MS/MS a las proteínas y/o enzimas relacionadas con la biotransformación de BaP.

## Parte experimental

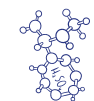
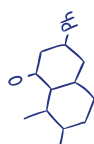
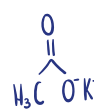
Elección del cultivo de microalgas y su exposición a BaP. Se seleccionó a la microalga *Selenastrum capricornutum* debido a su gran eficiencia para degradar BaP (García de Llasera et al, 2016). Esta microalga fue adquirida de una colección de cultivos de algas de la Universidad de Austin, Texas (UTEX, EUA); y fue cultivada, en condiciones axénicas, en medio Bristol con Proteosa-Peptona ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente, agitación constante (100 rpm; 2 h/día; agitador orbital), iluminados con luz blanca fluorescente (20 W; ciclos: luz/oscuridad; 16 h/8 h). Se monitoreo el crecimiento de los cultivos realizando mediciones espectrofotométricas a 685 nm ( $\lambda_{\text{max}}$  clorofila). Los medios de cultivo en su fase exponencial de crecimiento ( $A \approx 1 \pm 0.2$  equivalente a  $5 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ ) fueron adecuados para realizar ensayos de exposición a BaP (Chem Service; pureza > 99 %). En este contexto, alícuotas de 15 mL de cultivos de *S. capricornutum* en su fase de crecimiento exponencial fueron colocadas en matraces Erlenmeyer (50 mL) para realizar pruebas preliminares de exposición a BaP empleando las siguientes condiciones (García de Llasera et al, 2022); i)  $266 \mu\text{g L}^{-1}$  en 15 mL de medio de cultivo; ii) tiempos de incubación entre 24 – 72 h; iii) condiciones óptimas de incubación: agitación orbital continua (50 rpm), luz amarilla (20 W) y temperatura de  $34 \text{ }^\circ\text{C}$ , y iv) obtención de la BM y ML (centrifugación; 2,900 rpm x 15 min) de cada cultivo expuesto y no expuesto (control) al HAP de estudio para la extracción e identificación de sus metabolitos empleando técnicas de extracción en fase sólida (EFS) y dispersión en matriz en fase solida (DMFS), seguidas por un análisis cromatográfico con detección de fluorescencia. La identificación de metabolitos tipo

dihidrodiol sirvieron como un parámetro confirmatorio de la presencia de enzimas y/o proteínas de *S. capricornutum* relacionadas con la biotransformación del BaP.

Extracción y purificación de proteínas de cultivos de *S. capricornutum* degradadores de BaP. La BM y ML separado (2,900 rpm x 15 min) de 6 alícuotas independientes (15 mL de cultivos microalgales control y expuestos a BaP: 24 – 72h) se colectaron en tubos falcón (50 mL) e inmediatamente se realizó la extracción y purificación de proteínas:

Extracción y purificación de proteínas celulares de *S. capricornutum*. A la BM colectada de cada muestra y control se le adicionó 5 mL de fenol pH 8.8 y 5 mL de buffer de extracción (100 mM Tris-HCl, pH 8.8, 10 mM EDTA, 900 mM sacarosa y 0.4 % de 2-betamercaptoetanol); enseguida, se realizó la lisis celular mediante el uso de politrón (3 pulsos; 1 min) en hielo (4°C, 10 min), seguida de la centrifugación de cada muestra (4,000 rpm, 30 min); luego, se tomó la fase orgánica y se depositó en un tubo falcón (50 mL) y se precipitó a las PC, agregando 25 mL de acetato de amonio ( $\text{NH}_4^+\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) 100 mM en MeOH, se agitó, se dejó reposar (16 h, -20 °C) y posteriormente se centrifugó (4,000 rpm, 30 min) para obtener una pastilla del precipitado de las PC, la cual se purificó en tubos Eppendorf (2 mL) mediante una secuencia de lavados por centrifugación (10,000 rpm, 10 min): i) 1.5 mL de  $\text{NH}_4^+\text{CH}_3\text{COO}^-$  0.1 M/MeOH (2 veces), ii) 0.5 mL de acetona/MeOH (80:20; v/v; 2 veces) y iii) 0.5 mL de etanol/MeOH (70:30; v/v). Finalmente, la pastilla de PC purificada se re-suspendió en 350  $\mu\text{L}$  de buffer de enfoque isoelectrico, IEF (Urea 8 M, tiourea 2 M, 3-[(3-colamidopropil) dimetilamonio]propanisulfato (CHAPS) 4%, triton X100 2% y ditrioteitol 50 mM) (Görg, 2000).

Extracción y purificación de proteínas extracelulares de *S. capricornutum*. El ML separado de la BM y colectado de 6 alícuotas independientes (volumen colectado por control o muestra: 90 mL) se concentró hasta 3 mL mediante el uso de dispositivos de ultrafiltración (MilliporeSigma, Amicon®, Canadá) con un tamaño de poro de 30 kDa. Enseguida, los extractos concentrados se mezclaron con 500  $\mu\text{L}$  de una solución buffer Tris-HCl (pH 8.5) con Urea 6 M e inhibidores de proteasas al 1 %; estos extractos fueron sometidos a un procedimiento de limpieza mediante EFS con cartuchos SUPERCLEAN LN-4500 mg/3mL (Millipore Sigma, Supelco, Canadá), previamente acondicionados con 1 mL acetonitrilo (ACN) y 3 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Las PE se eluyeron de los cartuchos con 1.5 mL de ACN colectados en 3 tubos Eppendorf (2 mL) para su evaporación utilizando un concentrador de vacío (Eppendorf 5305, Vacufuge Plus; 30 °C, 6h) y luego se reconstituyeron a 100  $\mu\text{L}$  con tampón Tris-HCl (pH 8.5) que contenía urea 6 M. Finalmente, estos extractos de PE se purificaron utilizando un kit para la purificación de proteínas: 2-D Clean-Up kit Cytiva 80-6484-51 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.); brevemente, estos extractos de proteínas se mezclaron con 300  $\mu\text{L}$  de una solución precipitante del kit y se incubaron en hielo (4 - 5 °C, 15 min). Luego,





se agregaron 300  $\mu\text{L}$  de una solución co-precipitante, se mezcló, se centrifugó (10,000 rpm, 5 min) y se eliminó el sobrenadante; enseguida, se agregó a cada tubo 1 mL de tampón de lavado (pre-enfriado durante 1 h a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ) y 5  $\mu\text{L}$  de aditivo de lavado, que se incubó ( $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , 30 min) y se centrifugó (10,000 rpm, 5 min) para eliminar el sobrenadante. Los sedimentos finales de las PE purificadas se re-suspendieron en 50  $\mu\text{L}$  de buffer IEF y se concentraron en una sola muestra o control.

Preparación de muestras para el análisis de proteínas mediante UPLC-ESI(+)-TOF MS/MS. La estrategia utilizada en este procedimiento fue la aplicación de una metodología de identificación masiva de proteínas (“shotgun proteomics” en inglés). Primero, se concentró una cantidad total de proteínas (10  $\mu\text{L}$  de cada extracto purificado de PC y PE + 5  $\mu\text{L}$  de un buffer de carga) en un gel concentrador SDS-PAGE 4 % durante una corrida electroforética en una dimensión (SDS-PAGE 1D, 110 V, 30 min); finalizada esta, se desmontó el gel y se colocó en solución de tinción (azul de coomassie G-250 0.1 %; 16 h); luego, se cortaron y extrajeron del gel las bandas electroforéticas que contenían a las proteínas totales (PC y PE) de cada muestra y control; e inmediatamente después, se aplicó un protocolo de digestión de proteínas en gel con tripsina (Trypsin Gold, Mass Spectrometry Grade; Trypsin Digestion) de Promega ([www.promega.com](http://www.promega.com)). Rápidamente, las bandas extraídas del gel se colocaron en tubos Eppendorf (1.5 mL) para desteñirlas con  $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  (50 % v/v) y ácido acético (5 % v/v) durante 12 h. Luego las bandas se lavaron con  $\text{H}_2\text{O}$  y se incubaron con bicarbonato de amonio ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) 100 mM (15 min); estas fueron reducidas con TCEP (tris (2-carboxietil) fosfina 50 mM; 45 min a  $60\text{ }^\circ\text{C}$ ) y alquiladas con yodoacetamida 30 mM durante 2 h. Finalmente, i) se lavaron 3 veces con  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  100 mM, ii) se deshidrataron con ACN (100 % v/v) y iii) se secaron al vacío. La digestión en gel se llevó a cabo mediante incubación con 30  $\mu\text{L}$  de tripsina porcina modificada (20  $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ ) durante 18 h a  $37\text{ }^\circ\text{C}$ . Los péptidos se extrajeron con ACN (50 % v/v) y ácido fórmico (5 % v/v) mediante sonicación; posteriormente, los péptidos se secaron al vacío completamente y se re-suspendieron en 20  $\mu\text{L}$  de ácido fórmico (1% v/v). Luego, estos fueron: desalados, concentrados mediante Ziptip C18, eluidos con 12  $\mu\text{L}$  de fase móvil (97% agua, 3% acetonitrilo y 0,1% ácido fórmico) y finalmente colocados en viales para su análisis UPLC-ESI(+)-TOF MS/MS.

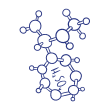
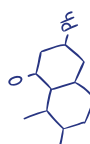
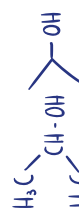
Análisis e identificación de proteínas por UPLC-ESI(+)-TOF MS/MS. El análisis de las mezclas de péptidos resultantes de la digestión con tripsina de proteínas se realizó en un cromatógrafo de líquidos de ultra resolución (UPLC, NanoAcquity, Waters) acoplado a un espectrómetro de masas en tándem con ionización por electronebulización (electrospray en inglés) con polaridad positiva (ESI(+)-MS/MS) y con un analizador TOF (tiempo de vuelo, Synapt G2S, Waters). Condiciones cromatográficas de análisis: i) columna: NanoAcquity UPLC 1.8  $\mu\text{m}$ , HSST3 C18, 75  $\mu\text{m}$  x 150 mm; ii) pre-columna: 2G nanoAcquity UPLC Trap



Column 5  $\mu\text{m}$  180  $\mu\text{m}$  x 20 mm; iii) temperatura de columna 35  $^{\circ}\text{C}$ ; iv) Fase móvil: A)  $\text{H}_2\text{O}$  con ácido fórmico 0.1 % y B) ACN con ácido fórmico 0.1 %; v) velocidad de flujo 0.45  $\text{nL min}^{-1}$ ; y vi) gradiente cromatográfico: 0 min (A 97%: B 3%); 45 min (A 60%: B 40%); 47 min (A 60%: B 40%); 50 min (A 20%: B 80%); 52 min (A 20%: B 80%); 55 min (A 97%: B 3%). Los cromatogramas UPLC-ESI-TOF MS muestran un perfil cromatográfico de la mezcla de péptidos obtenida para cada muestra y control; en este sentido, cada uno de estos péptidos puede ser fragmentado individualmente para obtener su espectro ESI(+)-TOF-MS/MS, el cual es una “huella digital” muy selectiva para definir la identidad o secuencia de una proteína de la que derivan mediante la búsqueda en una base de datos disponible. Sin embargo, *Selenastrum capricornutum* no cuenta con base de datos porque esta microalga es una especie no secuenciada. Por lo tanto, la estrategia utilizada para la identificación de proteínas fue la comparación con secuencias conocidas disponibles en bases de datos para otras especies. La base de datos UniProt (<https://www.uniprot.org/>) de los organismos analizados fueron: *Mycobicacterium vanbaalenii*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Rhodococcus sp.*, *Sphingomonas sp.* CHY-1, *Chlorella vulgaris* y *Micractinium pusillum*. El software utilizado para la comparación con las bases de datos es el PLGS (Protein Lynx Global Server, versión 2.5.3, ©Waters); este análisis se llevó a cabo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

## Resultados y discusión

Identificación de proteínas de *S. capricornutum* durante la degradación de BaP por UPLC-ESI(+)-TOF MS/MS. El análisis de las fracciones purificadas de proteínas por UPLC-ESI(+)-TOF MS/MS tuvo como principal limitante que la microalga *S. capricornutum* es una especie no secuenciada, y por lo tanto, la identificación de sus proteínas se llevó a cabo comparándola con bases de datos de organismos relacionados con la degradación de los HAPs APM. En este contexto, las especies analizadas que permitieron lograr la identificación de proteínas (PC y PE) en las fracciones purificadas fueron: *Mycobicacterium vanbaalenii* (PC10, PC11 y PE5), *Rhodococcus sp.* (PC1, PC2, PC4, PC6, PC9, PC12, PE1, PE2, PE4, PE6, PE8 y PE9) y *Chlamydomonas reinhardtii* (PC3, PC5, PC7, PC8, PC13, PE7 y PE3). La **Tabla 1** muestra a las PCs y PEs de *S. capricornutum* relacionadas con la degradación de BaP e identificadas por UPLC-ESI(+)-TOF-MS/MS. Asimismo, se presentan características de las proteínas y de sus parámetros de identificación tales como i) nombre, ii) función, iii) Peso Molecular (PM, kDa) con pH de su punto isoelectrico (pI), iv) localización sub-celular; v) valor PLGS (un valor alto indica mayor confiabilidad en la identificación) y código de acceso (código de las proteína en la base de datos uniprot).





**Tabla 1.** Similitud de las proteínas celulares y extracelulares de *S. capricornutum* identificadas durante la degradación de BaP.

Proteína	Código de acceso	Nombre de la proteína	Función	PM(kDa); pI(pH)	Localización subcelular	PLGS Score
PC1	Q93DN2_RHOSQ	Rubredoxina	-Cofactor: Fe <sup>2+</sup> .  -Interviene en el sistema de hidroxilación de hidrocarburos, que transfieren electrones de NADH a la rubredoxina reductasa y luego a través de la rubredoxina al alcano 1-monooxigenasa.	6.16; 3.78	-No reportada	701
PC2	A0A4P7S592_9NOCA			6.17; 3.79	-No reportada	806
PC4	A0A235G618_9NOCA			6.65; 3.78	-No reportada	710
PE1	A0A259ZWE4_9NOCA			5.98; 3.99	-No reportada	547
PE2	A0A0C2VQA5_RHOER			6.70; 3.91	-No reportada	1035
PC12	A0A370FW89_9NOCA	Proteína no caracterizada	-Cofactor: grupo Hemo  -Actividad monooxigenasa.  -Actividad oxidorreductasa, actuando sobre donantes apareados, con incorporación o reducción de oxígeno molecular.  -Unión de iones hierro.	45.68; 5.12	-No reportada	1303
PE3	A8J893_CHLRE	Proteína predicha	-No reportada	11.00; 10.37	-No reportada	2101
PC5						1156
PC11	A0A5S9NZJ1_MYCVN	Fosfatidilinositol manosido aciltransferasa	-Actividad aciltransferasa	35.76; 6.22	-Membrana plasmática.  -Componente integral de la membrana	841.7
PE9	A0A1Q9UCS4_9NOCA	Componente dihidrolipoamida acetiltransferasa del complejo piruvato deshidrogenasa		44.24; 5.26	-Citoplasma	633
PE6	A0A0Q6J5A6_9NOCA	Proteína no caracterizada		12.62; 5.88	-No reportada	639

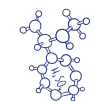
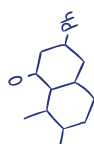
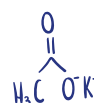
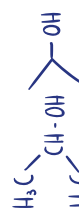
Identificación de proteínas celulares (PC1-13). Entre las PC identificadas, PC1, PC2 y PC4 son importantes ya que sus funciones están relacionadas con procesos enzimáticos de hidroxilación de hidrocarburos, principalmente, en la transferencia de electrones del cofactor nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) a la rubredoxina reductasa y luego a través de la rubredoxina alcano 1-monooxigenasa. Asimismo, otras PC identificadas con una relevante actividad enzimática fueron PC6 (actividad dioxigenasa; 13.59 kDa; pI: 4.22), PC9 (actividad oxidorreductasa; 28.93 kDa; pI:5.58) y PC12 (actividad monooxigenasa); la actividad de estas enzimas está relacionada con la función molecular oxidorreductasa, específicamente las que catalizan la transferencia de electrones sobre una molécula donante (NAD<sup>+</sup> o NADP<sup>+</sup> como aceptor), con incorporación o reducción de oxígeno molecular. Sin embargo, las principales funciones de la PC6 y PC9 no están directamente relacionadas con la degradación de HAPs; PC6 es una glioxalasa y PC9 es una 2,5-dideshidrogluconato reductasa. En este sentido,

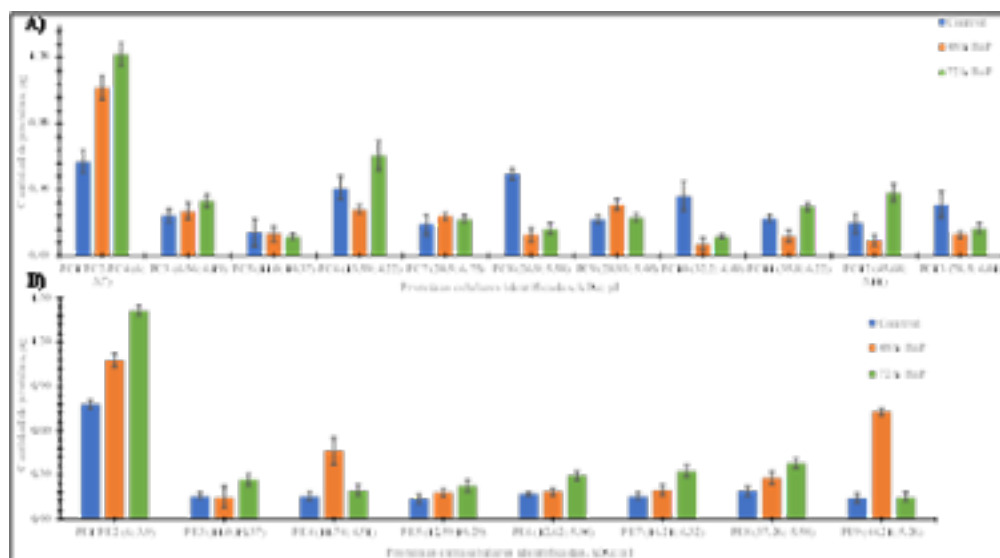


PC12 presenta una relación directa con la degradación de BaP, ya que pertenece a la familia del citocromo P450 con actividad monoxigenasa y función molecular oxidorreductasa. Además, esta proteína se une a un grupo Hemo; el cual es un cofactor del citocromo P450 y en las bacterias interviene directamente en estrategias adaptativas a compuestos tóxicos, como los HAPs, que permiten a las bacterias utilizar a estas moléculas como fuente de carbono para su metabolismo. Finalmente, también se identificaron proteínas con funciones específicas del metabolismo de *S. capricornutum*: PC7 (unión de ARN), PC8 (fotosíntesis), PC10 (metabolismo de carbohidratos), PC11 (actividad de aciltransferasa) y PC13 (unión de ATP).

Identificación de proteínas extracelulares (PE1-9). Similar a las PC identificadas (PC1-2 y PC4), PE1 y PE2 fueron identificadas como pequeñas subunidades proteicas relacionadas con la transferencia de electrones durante la hidroxilación de hidrocarburos. Asimismo, una importante PE identificada fue la dihidrolipoamida acetiltransferasa (DLAT; PE9), la cual se ha relacionado con la demanda energética que deben cubrir las células de las microalgas por el estrés inducido por un contaminante, como el pireno (Pyr) en *Chlorella sp.* MM3 (Subashchandrabose et al, 2017). Es de destacar, que la PE9 (DLAT) identificada, confirma que las células de *S. capricornutum* excretan complejos y/o subunidades enzimáticas mediante su exposición a un contaminante que las estrese como el BaP; este hallazgo es importante porque evidencia que un complejo enzimático está relacionado con la degradación extracelular del BaP. Además, la PE5 fue identificada como una proteína de membrana de multipaso, la cual podría auxiliar en el transporte de moléculas como enzimas desde el interior de la célula al exterior. Finalmente, otras PE identificadas, como PE4 (proceso catabólico proteico), PE6 (actividad aciltransferasa) y PE8 (actividad catalítica), están relacionadas con el metabolismo de *S. capricornutum*.

Es importante resaltar que la sobreexpresión e inhibición de PC y PE identificadas con funciones metabólicas y/o moleculares no relacionadas con la degradación del BaP, puede deberse precisamente al estrés inducido por este; el cual también se asocia con la sobreexpresión de aquellas proteínas involucradas directamente con la degradación de este HAP. En este sentido, en la **Fig. 1** se presenta la distribución, por PM y pI, de las PC y PE identificadas y cuantificadas en un geles de electroforesis SDS en 2 dimensiones (SDS-PAGE 2D); lo cual complementa de manera concisa el enfoque proteómico propuesto en el presente trabajo y permite correlacionar y confirmar los PM y pI de las proteínas identificadas por UPLC-ESI(+)-TOF MS/MS.





**Fig 1.** Distribución de PM y pI de proteínas celulares (A) y extracelulares (B) identificadas en extractos de cultivos de *S. capricornutum* degradadores de BaP; en función de su cantidad cuantificada en SDS-PAGE 2D.

## Conclusiones

PC12 es la principal proteína identificada en *S. capricornutum*, como citocromo monooxigenasa P450 que se puede unir a un grupo Hemo, lo cual permite relacionar a esta directamente con la degradación del BaP. Las rubredoxinas; pequeñas proteínas identificadas en *S. capricornutum*, a nivel extracelular y celular, sugieren que estas podrían estar relacionadas con la transferencia de electrones durante varias etapas de la degradación del BaP (similar a la ferredoxina y ferredoxina reductasa en bacterias).

Entre las proteínas extracelulares, la identificación y sobreexpresión de la DLAT se debe a la demanda energética que deben cubrir las células de *S. capricornutum* al estrés inducido por BaP. La identificación de DLAT y rubredoxinas en un entorno extracelular, indica que *S. capricornutum* liberar al ambiente exterior un complejo enzimático multicomponente capaz de degradar al BaP.

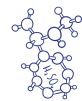
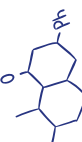
## Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca posdoctoral otorgada a Manuel Méndez García en el marco de la convocatoria 2022(1) "Estancias Posdoctorales por México". Los autores también agradecen al CONACYT por el proyecto CB283377 y al proyecto PAIP 50009034 de la Facultad de Química, UNAM.



## Referencias

- Chan, S.M.N., Luan, T., Wong, M.H., Tam, N.F.Y. (2006). Removal and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Selenastrum capricornutum*. *Environ. Toxicol. Chem. Int. J.* 25 (7), 1772–1779. <https://doi.org/10.2495/WM100351>.
- García de Llasera, M. P., Fuentes Pérez, A. C., Peralta Marín, G., Beltrán Calva, E. G. (2022). First evidence of extracellular enzymatic degradation of benzo(a)pyrene by the phytoplankton species *Selenastrum capricornutum* and the influence of temperature. *Environmental Advances*, 8, 100246. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100246>.
- García de Llasera, M. P., Olmos-Espejel, J. de J., Montaña-Montiel, A. (2016). Biodegradation of benzo(a)pyrene by two freshwater microalgae *Selenastrum capricornutum* and *Scenedesmus acutus*: a comparative study useful for bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(4), 3365–3375. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5576-2>.
- Görg, A. *Trends in Biotechnology*. 2000, 18, 3-6. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)00011-1](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)00011-1).
- IARC, (2010). Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. In: IARC, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans/World Health Organization. International Agency for Research on Cancer, pp. 1–853, 92. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK321712/>.
- Ke, L., Luo, L., Wang, P., Luan, T., Tam, N.F.Y., 2010. Effects of metals on biosorption and biodegradation of mixed polycyclic aromatic hydrocarbons by a freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. *Bioresour. Technol.* 101 (18), 6950–6961. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.011>.
- Méndez García, M., García de Llasera, M. P. (2023). Electrophoretic characterization of cellular and extracellular proteins from *Selenastrum capricornutum* cultures degrading benzo(a)pyrene and their identification by UPLC-ESI-TOF mass spectrometry. *Chemosphere*, 139284. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139284>.
- Méndez García, M., García de Llasera, M. P. (2021). A review on the enzymes and metabolites identified by mass spectrometry from bacteria and microalgae involved in the degradation of high molecular weight PAHs. *Science of The Total Environment*, 797, 149-165. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149035>.
- Premnath, N., Mohanrasu, K., Guru Raj Rao, R., Dinesh, G. H., Prakash, G. S., Ananthi, V., Ponnuchamy, K., Muthusamy, G., Arun, A. (2021). A crucial review on polycyclic aromatic Hydrocarbons - Environmental occurrence and strategies for microbial degradation. *Chemosphere*. 280(2), 130-116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130608>.
- Sakshi, Haritash, A. K. (2020). A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of PAH-degradation. *Archives of Microbiology*, 202(8), 2033–2058. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01929-5>.
- USEPA, (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). United States Environmental Protection Agency (EPA). (Issue January). <https://archive.epa.gov/epawaste/hazard/wastemin/web/pdf/pahs.pdf>.
- Subashchandrabose, S.R., Logeshwaran, P., Venkateswarlu, K., Naidu, R., Megharaj, M. (2017). Pyrene degradation by *Chlorella* sp. MM3 in liquid medium and soil slurry: possible role of dihydrolipoamide acetyltransferase in pyrene biodegradation. *Algal Res.* 23, 223–232. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.02.010>.





# DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO COMO IMPUREZA EN SUBSALICILATO DE BISMUTO MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR

Lizeth Isabel Hernández Santillán, Pablo Hernández Matamoros, Alma Luisa Revilla Vázquez\*

Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos, Sección Química Analítica, FES-Cuautitlán, UNAM.

[hernandez.santillan.lizethisabel@gmail.com](mailto:hernandez.santillan.lizethisabel@gmail.com), [pablohdez@unam.mx](mailto:pablohdez@unam.mx), [almarv@unam.mx](mailto:almarv@unam.mx)

## Resumen

Los niveles de ácido salicílico en diferentes medicamentos no deben de estar en niveles de concentración elevados ya que de ser así podría causar efectos adversos como salicilismo, alcalosis respiratoria y acidosis metabólica, por lo cual es importante monitorear la cantidad de ácido salicílico como impureza en la materia prima de subsalicilato de bismuto, el cual es el principio activo de un medicamento de venta libre y al alcance de la población (Peptobismol®). El objetivo principal de esta investigación radica en simplificar la prueba límite de ácido salicílico libre reportada en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), utilizando una técnica más económica y sencilla, de fácil acceso y que además sea más rápida y fácil de realizar. La determinación se planteó mediante una curva de adición patrón espectrofotométrica en el ultravioleta (305 nm) empleando acetonitrilo como disolvente. Los resultados demuestran la viabilidad para determinar el contenido de ácido salicílico como impureza en subsalicilato de bismuto cumpliendo el objetivo de la prueba que es comprobar que dicha materia prima cumpla con el límite señalado por la autoridad sanitaria para ser utilizado en la producción de medicamentos.

**Palabras clave:** espectrofotometría, FEUM, ácido salicílico, impureza, subsalicilato de bismuto.





## Parte experimental

Para los estudios de solubilidad se utilizaron diferentes disolventes: ácido acético (Sigma Aldrich), búfer de fosfatos (monofosfato y bifosfato de potasio JT Baker), búfer de boratos pH=9 (ácido bórico granular JT Baker e hidróxido de potasio JT Baker), acetonitrilo (Sigma Aldrich) y agua destilada pesando en cada estudio 20 mg de subsalicilato de bismuto materia prima o bien ácido salicílico y utilizando 15 mL de disolvente o mezcla de estos.

Todas las mediciones de absorbancia, así como la obtención de espectros de absorción se realizaron utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 18 utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. Una vez elegido al ACN como el disolvente óptimo, se evaluó la cuantificación por curva de adición patrón. Las concentraciones típicas de la disolución madre durante la construcción de la curva fueron de 10 ppm para ácido salicílico (JT Baker) y para subsalicilato de bismuto materia prima (Farmaquímica S.A. de C.V.) se emplearon dos muestras, 260 y 390 mg. Para cada solución problema de subsalicilato de bismuto, la cual se preparó disolviendo en 15 mL de acetonitrilo, la solución resultante se decantó y posteriormente se filtró a través de un acrodisco de 45  $\mu\text{m}$  para finalmente llevar a un volumen de aforo de 20 mL. Se prepararon seis sistemas para la curva adicionando 3 mL de solución problema de subsalicilato de bismuto materia prima más el volumen correspondiente de ácido salicílico estándar (10 ppm) a cada sistema siguiendo las indicaciones de la Tabla 1. La curva de adiciones patrón se preparó con dilución en sistemas independientes. Todas las soluciones se prepararon en acetonitrilo.

**Tabla 1. C.A.P con dilución**

Sistema	1	2	3	4	5	6
$V_{\text{Sol. Problema}}$	3 mL					
$V_{\text{Estándar AS (mL)}}$ (10 ppm)	0		2	3	4	5

## Resultados y Discusión

### -Estudios cualitativos de solubilidad.

Haciendo uso de los diferentes disolventes, mezclas de éstos y algunos medios acuosos seleccionados, se estudió cualitativamente la solubilidad del ácido salicílico y del subsalicilato de bismuto materia prima obteniéndose los siguientes resultados cualitativos (tablas 2 y 3).

**Tabla 2.** Solubilidad del ácido salicílico

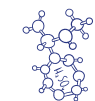
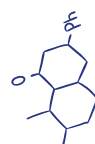
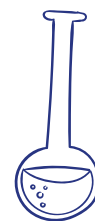
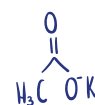
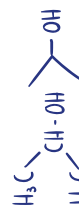
Disolvente, mezcla o medio	Observaciones
Etanol	Totalmente soluble
Agua	Baja solubilidad aparente
Ácido acético/agua 1:2	Totalmente soluble
Búfer de boratos pH=9	Baja solubilidad aparente
Búfer de fosfatos pH=2	Insoluble
Acetonitrilo/agua 1:1	Totalmente soluble
Acetonitrilo	Totalmente soluble

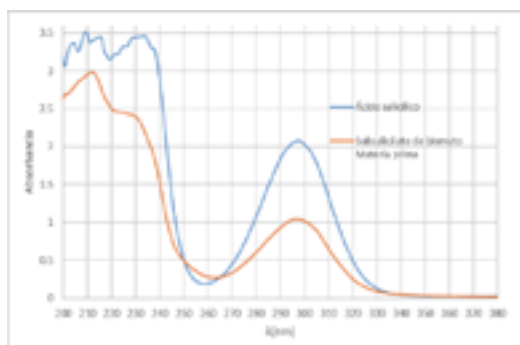
**Tabla 3.** Solubilidad del subsalicilato de bismuto

Disolvente, mezcla o medio	Observaciones
Etanol	Baja solubilidad aparente
Agua	Insoluble
Ácido acético/agua 1:2	Baja solubilidad aparente
Búfer de boratos pH=9	Aparentemente insoluble
Búfer de fosfatos pH=2	Ligeramente soluble
Acetonitrilo/agua 1:1	Aparentemente insoluble
Acetonitrilo	Baja solubilidad aparente

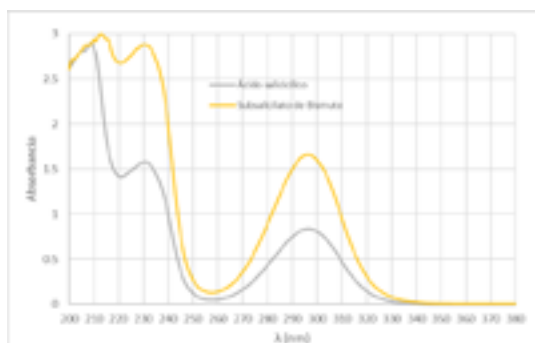
*-Selección del disolvente.*

A partir de las observaciones de las pruebas de solubilidad, se seleccionan los disolventes o mezclas de estos, en los cuales el ácido salicílico se observó totalmente soluble y el subsalicilato de bismuto insoluble o ligeramente soluble, estos son: mezcla ácido acético/agua 1:2, búfer de boratos pH=9, mezcla acetonitrilo/agua 1:1 y acetonitrilo.

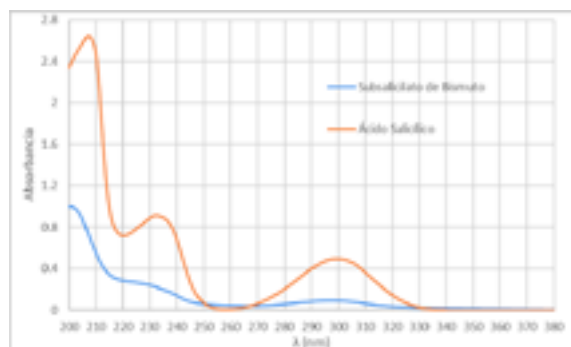




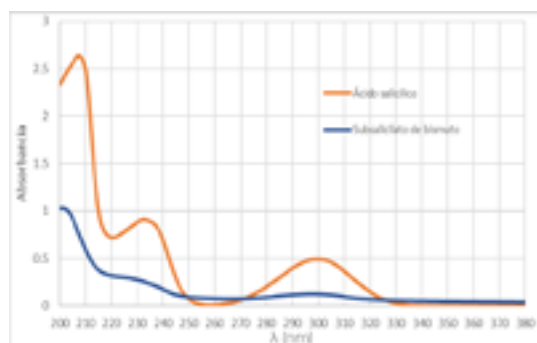
**Figura 1.** Espectros de absorción en mezcla ácido acético/agua 1:2 (AS 20 ppm y SSB 260 mg/50 mL).



**Figura 2.** Espectros de absorción en búfer boratos pH= 9 (AS 20 ppm y SSB 260 mg/50 mL).



**Figura 3.** Espectros de absorción en ACN/Agua 1:1 (AS 20 ppm y SSB 260 mg/50 mL).



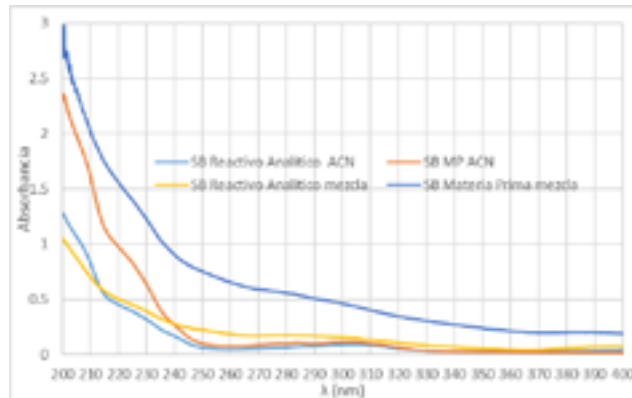
**Figura 4.** Espectros de absorción en acetoniitrilo (AS 20 ppm y SSB 260 mg/50 mL).

De acuerdo con el comportamiento observado en los espectros de absorción (figuras 1 a 4), el subsalicilato de bismuto (SSB) no se disuelve fácilmente en acetoniitrilo o en la mezcla acetoniitrilo/agua, mientras que el ácido salicílico (AS) sí se solubiliza; en los sistemas acuosos ambos compuestos se disuelven. Por ello, se selecciona al acetoniitrilo y a la mezcla acetoniitrilo/agua 1:1 para realizar una curva de adiciones patrón y determinar el contenido de ácido salicílico presente en subsalicilato de bismuto materia prima. Se elige la curva de adición patrón, debido a que es posible que alguna cantidad de subsalicilato de bismuto pueda disolverse e interferir en la determinación, debido a la gran proporción entre SSB con relación al AS presente 99.8:0.2 (%).

*-Comparación del contenido de ácido salicílico en subsalicilato de bismuto usando dos disolventes.*

Al realizar las curvas de adición patrón para la determinación de ácido salicílico libre en subsalicilato de bismuto se observó que al emplear como disolvente la mezcla acetoniitrilo/agua 1:1 se determinaba una concentración más alta de ácido salicílico libre con respecto a la obtenida al utilizar únicamente acetoniitrilo como disolvente; cabe mencionar que en ambos casos no rebasaban el contenido máximo indicado en la prueba límite reportada en la FEUM 13<sup>ra</sup> edición, pero sí difieren entre sí obteniéndose valores alrededor del 0.19% p/p usando la mezcla de disolventes, mientras que empleando únicamente acetoniitrilo se obtiene el 0.04 % p/p de ácido salicílico libre. A fin de determinar la causa de dicha diferencia, se obtuvieron los espectros de absorción de subsalicilato de bismuto materia prima y subsalicilato de bismuto grado reactivo analítico (130 mg en 25 mL) para comparar el comportamiento espectral al disolver en acetoniitrilo o bien, en mezcla acetoniitrilo/agua 1:1 (figura 5).

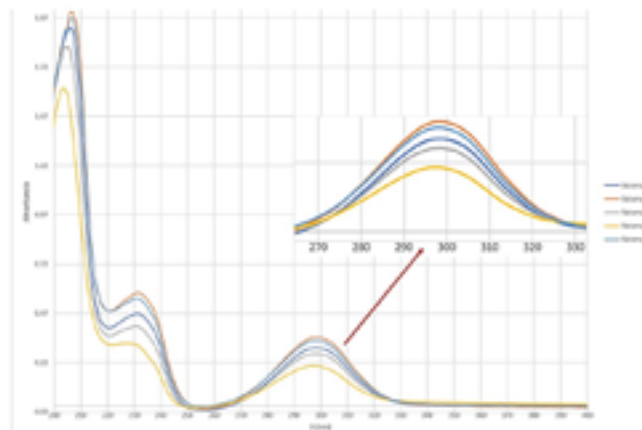




**Figura 5.** Espectros de absorción para subsalicilato de bismuto materia prima (SB MP) y reactivo analítico en:

1) ACN (acetonitrilo) y 2) Mezcla (ACN:Agua 1:1).

Como se observa en la figura 5, el espectro de absorción para el subsalicilato de bismuto cambia dependiendo del disolvente empleado para su disolución.



**Figura 6.** Espectros de absorción para los sistemas de la curva de adiciones patrón para la determinación de ácido salicílico en subsalicilato de bismuto materia prima.

La figura 6 muestra los espectros de absorción para los sistemas de la curva preparada disolviendo la muestra de subsalicilato de bismuto en acetonitrilo, filtrar y adicionar agua para tener una relación 1:1, ACN/Agua. Siendo que no se obtiene exactamente la misma relación 1:1 en cada punto, porque la cantidad necesaria para llegar al aforo puede variar, se observa un efecto batocrómico en los espectros de absorción obtenidos para ácido salicílico, debido a



la diferente polaridad en cada sistema. Este desplazamiento de las bandas de absorción hacia el rojo (desplazamiento batocrómico) sucede al aumentar la polaridad en los disolventes y el efecto contrario da lugar a un desplazamiento hipsocrómico (desplazamiento hacia el azul) (Lusha, Yang, Song, Xiaoyun, Yingyong, 2012).

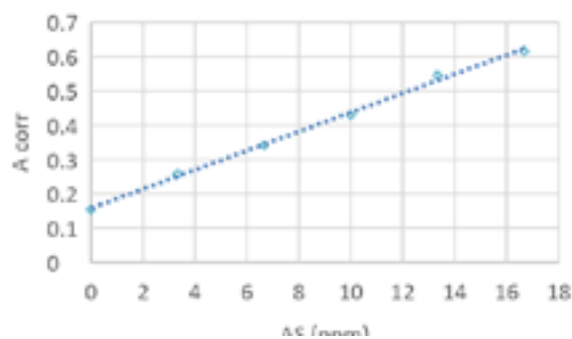
Ante estas observaciones, se determina que el acetonitrilo reactivo analítico es el disolvente adecuado para realizar la determinación de ácido salicílico en subsalicilato de bismuto materia prima.

Se selecciona como longitud de onda óptima de trabajo 305 nm pues de los tres máximos de absorción, es el que presenta menor cambio en los espectros de absorción de los sistemas, en contraste de los otros dos máximos, que se ven más influenciados por la polaridad.

*-Determinación de ácido salicílico en subsalicilato de bismuto materia prima usando acetonitrilo como disolvente a 305 nm mediante una curva de adición patrón.*

Se analizaron dos muestras de subsalicilato de bismuto materia prima, empleando 260.5 y 390.6 mg. La elección de la cantidad de muestra de materia prima se basa en la cantidad indicada en el método MGA: 0241 de la FEUM, donde indica pesar 260 mg. Se decide evaluar con una masa mayor (390 mg) para verificar si existe o no algún efecto en el contenido de ácido salicílico libre en al modificar la cantidad de muestra analizada.

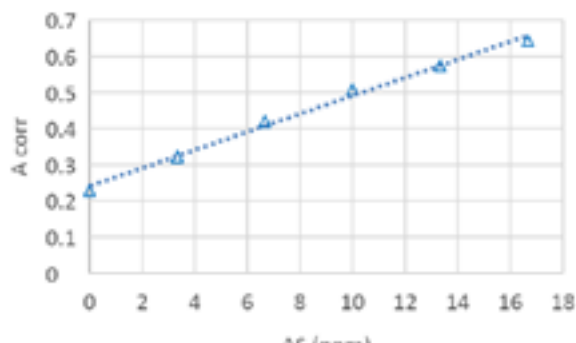
Se obtuvieron los parámetros estadísticos de cada curva inicialmente para la muestra de 260.5 mg de subsalicilato de bismuto (figura 7), en cada punto se determinó la absorbancia por triplicado y se graficó contra la concentración de cada sistema, una vez hecha la corrección por dilución. A partir de los parámetros de regresión lineal se realizan los cálculos para obtener la cantidad de ácido salicílico (AS) en la muestra y el porcentaje (p/p), tomando en cuenta la concentración de conocida de AS estándar y un aforo único de 20 mL para la muestra de subsalicilato de bismuto materia prima.



**Figura 7.** Curva de adición patrón (305 nm) para la muestra de 260.5 mg de subsalicilato de bismuto,  $n=3$ .



Al tratarse de una curva de adiciones patrón, la concentración de ácido salicílico obtenida a partir del producto del cociente de ordenada al origen entre la pendiente es la concentración correspondiente a los 3 mL de solución problema contenido en cada uno de los sistemas (independientes), por lo que al calcular el contenido de ácido salicílico ya no se toma en cuenta este volumen.



**Figura 8.** Curva de adición patrón (305 nm) para la muestra de 390.6 mg de subsalicilato de bismuto,  $n=3$ .

Para la muestra de 390.6 mg se calcularon los mismos parámetros estadísticos calculados para la primera muestra (Fig. 8) y también se calculó la cantidad de ácido salicílico libre en la misma:

$$\text{ppm de AS en la muestra de 390.6 mg} = 0.2406 / 0.025 = 9.62 \text{ ppm de AS}$$

$$((9.62 \text{ mg de AS}) / (1 \text{ L})) ((1 \text{ L}) / (1000 \text{ mL})) (20 \text{ mL}) = 0.1924 \text{ mg de AS libre}$$

$$0.1924 \text{ mg de AS} = 0.049 \% \text{ de AS libre en la muestra de 390.6 mg}$$

A partir de los resultados obtenidos se observa que en un rango de 260-390 mg de subsalicilato de bismuto materia prima, la cantidad de ácido salicílico libre como impureza permanece relativamente igual, por lo que se infiere, la cantidad de muestra analizada no resulta ser un factor que afecte a la cantidad de ácido salicílico libre a cuantificar.

## Conclusiones

Se logró implementar una metodología que permitió la determinación simple y económica de ácido salicílico como impureza en subsalicilato de bismuto materia prima, empleando una curva de adición patrón y espectrofotometría ultravioleta. Simplificando el análisis al no tener que emplear una técnica de separación instrumental de mayor costo.

Se determinó que el porcentaje de ácido salicílico en materia prima de subsalicilato de bismuto en las muestras analizadas cumplen con la especificación señalado por la FEUM, siendo menor al 0.2% por lo cual puede emplearse para la fabricación de medicamentos.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a UNAM FES-C por el apoyo brindado a la cátedra CI2244.

### Referencias

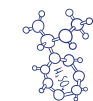
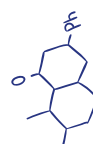
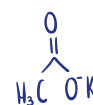
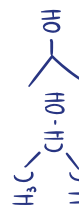
Bierer, D. (1990). Bismuth subsalicylate: history, chemistry, and safety. *Rev Infect Dis.*12 Suppl 1: S3-8. doi: 10.1093/clinids/12.supplement\_1. s3.

Phillips, M. (2008). Salicylate Poisoning. *Advanced Emergency Nursing Journal*, 30, pp. 75–86. doi: 10.1097/01.tme.0000311548.33774.18. <https://n9.cl/a210x>

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2021). Secretaría de salud. (13<sup>a</sup>. ed.).

Serrano, T. (2018). Operaciones de análisis químico. Editorial Síntesis.

Lusha, L; Yang, S; Song, W; Xiaoyun, H; Yingyong, H. (2012). Solvent effect on the absorption and fluorescence of ergone: Determination of ground and excited state dipole moments. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*86. pp.120-123. <https://n9.cl/n6ejy>





# METABOLÓMICA EN ALERGIAS ALIMENTARIAS CAUSADAS POR PROTEÍNAS DE TRANSFERENCIA LIPÍDICA (LTP)

*Andrea Araiza Saldaña<sup>1</sup>, Alma Cristina Villaseñor Solís<sup>\*2</sup>, Alma Luisa Revilla Vázquez<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab. de Desarrollo de Métodos Analíticos, FES-C, UNAM,

<sup>2</sup>Centro de Metabolómica y Bioanálisis (CEMBIO), Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU,

<sup>1</sup>[andearaiza@gmail.com](mailto:andearaiza@gmail.com), <sup>2</sup>[almarv@unam.mx](mailto:almarv@unam.mx), [almavillasenor@ceu.es](mailto:almavillasenor@ceu.es) -

## Resumen

Actualmente la incidencia de alergias alimentarias se encuentra en aumento y el horizonte terapéutico es limitado. Las pectinas han recibido especial atención en la búsqueda de tratamientos pues provocan cambios en la composición del microbioma que favorecen la respuesta inmune. Se realizó el tratamiento estadístico univariante y multivariante de diversos metabolitos relacionados con la respuesta alérgica, cuantificados a partir de muestras de suero de pacientes alérgicos antes y después de recibir dos tratamientos diferentes a base de pectinas durante dos meses. A partir del análisis univariante se pudo observar que ambos tratamientos ocasionaron cambios significativos en la abundancia de distintos metabolitos, ocasionando así cambios positivos en la salud del paciente. Por su parte, el análisis multivariante no mostró modelos con cambios significativos en ninguna de las comparaciones realizadas.

**Palabras clave:** alergia alimentaria, estadística, metabolito, pectina.

## Antecedentes

La alergia alimentaria (AA) es una enfermedad frecuente que afecta a niños y adultos de todo el mundo. La reacción adversa al alimento está mediada por la inmunoglobulina E (IgE) específica del alérgeno presente en el alimento (Boyce, et. al., 2010).

Diversos factores se ven implicados en el desarrollo de AA, tales como factores genéticos, ambientales y del desarrollo (Metcalf, et. al., 2015; Torres, et. al., 2022). Los factores ambientales como los cambios en la dieta dan paso a cambios epigenéticos en el huésped, lo cual puede influir en las reacciones alérgicas (Martino, et. al., 2010).

De forma general, la prevalencia de la AA es mayor en la infancia y disminuye con la edad. No obstante, en las últimas décadas el número de personas que padecen alguna AA ha aumentado de forma considerable, esto se atribuye, principalmente, a los factores ambientales (Tan, et. al., 2012).

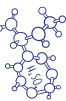
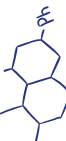
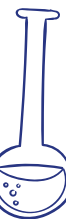
El horizonte terapéutico de la AA se encuentra ciertamente limitado, siendo la eliminación del alimento alérgico lo recomendado en primera instancia, no obstante, existen alternativas terapéuticas para la AA como la suplementación a través de la dieta para generar una mayor diversidad de metabolitos en el microbiota intestinal, pulmonar y cutánea que a su vez, desencadena modificaciones epigenéticas relacionadas, entre otras cosas, con la inmunomodulación la susceptibilidad a la inflamación alérgica. (Blanco-Pérez, et. al., 2021).

Las pectinas son prebióticos cuya fermentación selectiva por bacterias intestinales, proporciona diversos efectos benéficos a la salud como el aumento en la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en la microbiota intestinal, los cuales tienen propiedades inmunomoduladoras (Blanco-Pérez, et. al., 2021; Trompette, A., et. al., 2014). En este sentido, las pectinas se clasifican en dos tipos, según el grado de esterificación que presenta su cadena principal, compuesta de unidades monoméricas de ácido galacturónico. Se dividen en pectinas de alta metoxilación (esterificación), mejor conocidas como pectinas HMP (por sus siglas en inglés, *high methoxyl pectin*) y pectinas de baja metoxilación, mejor conocidas como LMP (por sus siglas en inglés, *low methoxyl pectin*). El grado de esterificación determina las propiedades de la pectina en los alimentos lo cual está relacionado con su función inmunomoduladora (Blanco-Pérez, et. al., 2021; Trompette, et. al., 2014).

La metabolómica está enfocada en el análisis del metaboloma, que es el conjunto de moléculas (metabolitos) intermedias y finales del metabolismo. Dado que la abundancia de los metabolitos cambia bajo cualquier alteración, la metabolómica permite conocer el estado biológico de un individuo, así como los procesos exactos asociados a la progresión de enfermedad. Por ello el análisis metabolómico es una importante herramienta para el diagnóstico precoz de enfermedades, así como para conocer la respuesta a un determinado tratamiento (Barber, et. al., 2019).

Esta investigación forma parte del proyecto DIFAMEM (abreviación del inglés para *Dietary Intervention in Food Allergy: Microbiome, Epigenetic and Metabolomic interactions*), que pretende aprovechar el potencial de una dieta enriquecida en pectina para tratar la AA y de forma conjunta, identificar qué tipo de pectina (HMP o LMP) ejerce los efectos benéficos más fuertes (Torres, et. al., 2022).

El trabajo expuesto se centra en el análisis estadístico univariante y multivariante de los datos generados por el proyecto, que consisten en tres grupos de metabolitos cuantificados





por separado que guardan relación con la inmunomodulación implicada en la AA: ácidos grasos de cadena corta (AGCC, n= 6), ácidos biliares (AB, n=25) y diversos metabolitos relacionados con la inflamación alérgica (MIA, n=36), analizados a partir de muestras de suero obtenidas de pacientes con AA antes y después de una intervención de 2 meses con pectinas de tipo HMP (llamada Herbapekt), LMP (llamada CU 901) y un grupo placebo, así como el análisis de un grupo control de sujetos no alérgicos.

Para ambas estadísticas se realizaron diversas comparaciones que permitieron identificar cambios significativos a lo largo del tiempo desde distintas perspectivas, lo que permitió observar la influencia de cada una de las variables implicadas en el ensayo clínico. En este sentido, las comparaciones fueron: 1) diferencias de los pacientes con AA del estudio frente a un grupo control no alérgico antes de recibir el tratamiento; 2) diferencias de los pacientes con AA antes y después de recibir el respectivo tratamiento (Herbapekt, CU 901); 3) diferencias de los pacientes con AA tras 2 meses de tratamiento (Herbapekt, CU 901, placebo); 4) diferencias de los pacientes con AA tratados con alguna de las 2 pectinas tolerantes frente a no tolerantes para observar la respuesta clínica a cada tratamiento.

## Objetivo

Realizar el tratamiento estadístico de los metabolitos cuantificados (AGCC, AB y MIA) a partir de tres análisis metabolómicos, basados en el uso de la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas con analizador de triple cuadrupolo (LC-QqQ-MS) en muestras séricas de pacientes con AA que recibieron diferentes tratamientos con pectinas y placebo y determinar si existe mejoría en su condición alérgica.

## Metodología

### Análisis estadístico univariante y su representación gráfica

Para el análisis estadístico univariante se utilizó el programa MATLAB R 2018, en donde se utilizaron “scripts” (códigos) desarrollados por el personal estadístico del Centro de Excelencia en Metabolómica y Bioanálisis (CEMPIO), Madrid, España.

Así mismo, la representación gráfica fue realizada a partir del programa GraphPad Prism versión 9.0 para Windows.

### Análisis estadístico multivariante

El análisis multivariante fue realizado con la finalidad de relacionar la causa-efecto de las múltiples variables que se tiene: tipo de tratamiento, tiempo, tolerancia, estado alérgico, pues la variación de los metabolitos en conjunto puede dar una idea de los cambios entre los grupos de forma global. Para ello se utilizó el programa SIMCA (v.17.0.2, Sartorius Stedim Data Analytics AB). Se realizaron las mismas comparativas que en la estadística univariante, utilizando un modelo de análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés *Principal Component Analysis*).

## Resultados y discusión

### Análisis univariante

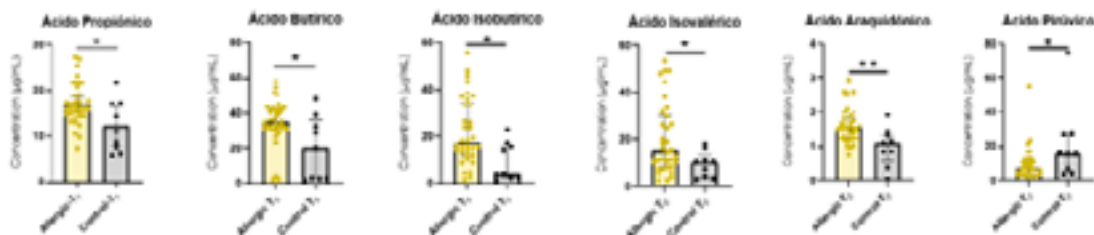
#### Comparativa alérgicos vs controles a $t = 0$ meses

La comparativa del metaboloma de pacientes alérgicos frente al grupo control antes del tratamiento mostró que en los pacientes alérgicos hay un aumento significativo de los AGCC: propiónico, butírico, isobutírico e isovalérico y el MIA: ácido araquidónico, y de forma disminuida frente a grupo control el ácido pirúvico. Los datos del valor  $p$  y la tasa de cambio de la concentración entre cada grupo se muestran en la tabla 1 y los gráficos correspondientes son ilustrados en la figura 1.

**Tabla 1.** Metabolitos significativos en la comparativa de grupo control vs grupo alérgico a  $t=0$  meses.

Metabolito	$p$ valor	$(\bar{X} \pm SD)$ (mg/mL) Alérgicos	$(\bar{X} \pm SD)$ (mg/mL) Controles	Tasa de cambio $\left(\frac{\bar{X}_{alérgicos}}{\bar{X}_{controles}}\right)$
Ác. Propiónico	0.0103	$(17.02 \pm 4.56)$	$(12.18 \pm 5.66)$	1.40
Ác. Butírico	0.0293	$(34.73 \pm 12.80)$	$(19.93 \pm 18.04)$	1.74
Ác. Isobutírico	0.0107	$(22.14 \pm 14.09)$	$(9.38 \pm 8.12)$	2.36
Ác. Isovalérico	0.0409	$(20.36 \pm 15.11)$	$(9.40 \pm 5.50)$	2.17
Ác. Araquidónico	0.0057	$(1.61 \pm 0.50)$	$(0.99 \pm 0.56)$	1.61
Ác. Pirúvico	0.0409	$(9.68 \pm 0.79)$	$(21.45 \pm 21.97)$	0.45

En este sentido, los valores de tasa de cambio mayor a 1 muestran un aumento en el grupo alérgico frente al grupo control y, por el contrario, los datos menores a 1 (únicamente el ácido pirúvico), que la concentración del metabolito es menor en el grupo alérgico.



**Figura 1.** Metabolitos significativos por estado alérgico antes de recibir tratamiento. (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ).

A partir de los valores  $p$  se observa que aquel metabolito que tiene una diferencia más significativa es el ácido araquidónico, implicado en procesos inflamatorios, razón que explica que este se encuentre en mayor proporción en pacientes alérgicos (Serrano-Mollar, et. al., 2005).

Comparativa de la abundancia de los metabolitos a través del tiempo por tratamiento

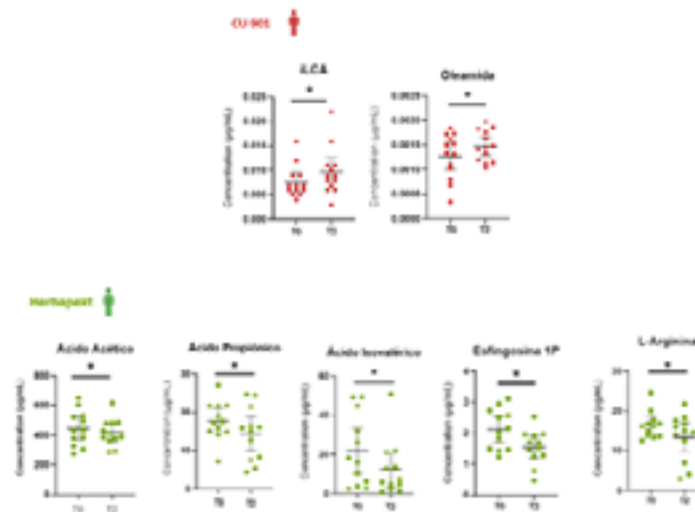
**Tabla 2.** Cambios en la concentración de los metabolitos a causa del tratamiento recibido.

Tratamiento	Metabolito	$p$ valor	$(\bar{x} \pm SD)(\text{mg/mL})$ $T_0$	$(\bar{x} \pm SD)(\text{mg/mL})$ $T_1$	Tasa de cambio $(\frac{T_1 - T_0}{T_0})$
CU 901	$\Delta$ CA	0.0333	$(0.008 \pm 3.3 \times 10^{-6})$	$(0.010 \pm 4.8 \times 10^{-6})$	1.27
CU 901	Oleamida	0.0285	$(0.001 \pm 4.5 \times 10^{-6})$	$(0.001 \pm 3.1 \times 10^{-6})$	1.16
Herbapekt	Ac. Acético	0.0468	$(445.99 \pm 118.33)$	$(418.05 \pm 91.52)$	0.94
Herbapekt	Ac. Propiónico	0.0468	$(17.81 \pm 5.06)$	$(14.40 \pm 6.94)$	0.81
Herbapekt	Ac. Isovalérico	0.0339	$(21.79 \pm 18.12)$	$(12.30 \pm 13.97)$	0.57
Herbapekt	L- Arginina	0.0475	$(16.43 \pm 3.32)$	$(13.40 \pm 5.85)$	0.82
Herbapekt	Estigoloina-1P	0.0234	$(2.13 \pm 0.64)$	$(1.55 \pm 0.58)$	0.73

Los cambios significativos que presentaron los pacientes tras culminar su respectivo tratamiento son sintetizados en la tabla 2, así mismo, la representación gráfica de este análisis estadístico se muestra en la figura 2. En este sentido, la representación gráfica corresponde a dispersión de los resultados obtenidos del grupo antes y después del tratamiento. Los valores de tasa de cambio mostrados en la tabla 2 muestran que cuando estos son mayores a 1, existió un aumento en los niveles del metabolito tras el tratamiento y, por el contrario, los valores menores a 1 reflejan una disminución.

Los resultados muestran que el número de cambios significativos son mayores en los pacientes que tomaron el tratamiento Herbapekt. Además, Herbapekt reflejó una tendencia a disminuir los niveles de AGCC, que puede traducirse en que los niveles de estos metabolitos se asemejan a los niveles del grupo control (figura 1).





**Figura 2.** Cambios significativos a través del tiempo en la concentración de los metabolitos con respecto al tratamiento recibido. (\* =  $p < 0.05$ ).

Las diferencias observadas para ambos tratamientos radican en las propiedades químicas de cada uno, en este sentido, el grado de esterificación de la pectina le confiere distintas propiedades químicas. Esto se puede ver de forma más clara en la comparativa realizada entre los tratamientos a  $t = 2$  meses, en donde se observó una única diferencia significativa en los niveles de ácido iso litocólico (iLCA) entre el grupo que tomó CU 901 frente al Placebo, existiendo en mayor cantidad en el grupo CU 901 (tabla 3, figura 3). De igual manera, aunque no de forma significativa ( $p = 0.051$ ), los niveles de iLCA en pacientes tratados con CU 901 se encuentran aumentados frente a los pacientes tratados con Herbapekt. Este aumento está asociado al aumento de la respuesta inmunológica de las células T reguladoras (Paik, D., et. al., 2022). Desde un punto de vista químico, las pectinas LMP (CU 901) contienen más grupos libres de ácido carboxílico, dando un mayor carácter hidrofílico a la pectina que entre otras cosas permite una mayor capacidad de absorción de líquidos. A nivel químico, un grupo éster resulta ser menos reactivo que el ácido carboxílico dado que el carácter electrofílico del carbono del grupo carbonilo se reduce por efecto de resonancia, mediante la donación de electrones de un grupo libre del heteroátomo, en este caso, del oxígeno. Al existir efecto de resonancia en una molécula, hay una mayor estabilidad que se traduce en una menor reactividad. Todas estas características podrían estar relacionadas con el aumento en el ácido biliar iLCA en los pacientes tratados con CU 901.

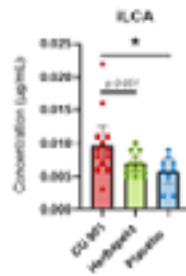




**Tabla 3.** Comparativa de los niveles de metabolitos entre grupos alérgicos a  $T = 2$  meses.

Comparación que presenta la diferencia (Trat. <sub>1</sub> vs Trat. <sub>2</sub> )	$p$ valor	$(\bar{X} \pm SD)$ (mg/mL) $T_1$	$(\bar{X} \pm SD)$ (mg/mL) $T_2$	Tasa de cambio $\left(\frac{T_2}{T_1}\right)$
CU 901 vs Placebo	0.0127	$(0.010 \pm 4.8 \times 10^{-3})$	$(0.006 \pm 2.4 \times 10^{-3})$	1.67
CU 901 vs Herbapekt	0.0509	$(0.010 \pm 4.8 \times 10^{-3})$	$(0.007 \pm 1.7 \times 10^{-3})$	1.43

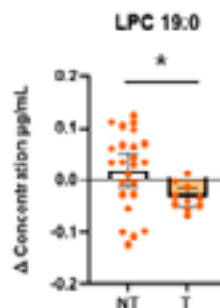
La tasa de cambio mayor a 1 muestra en efecto que los niveles de iLCA presentes en los pacientes alérgicos que tomaron CU 901 se encuentran aumentadas frente a los otros dos grupos.



**Figura 3.** Cambios significativos entre grupos de pacientes una vez terminado el tratamiento. (\* =  $p < 0.05$ ).

### Respuesta clínica del tratamiento

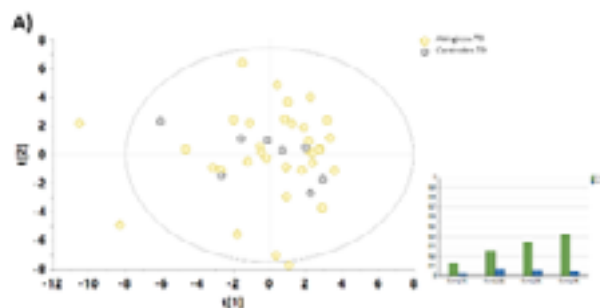
La comparativa de pacientes tolerantes frente a no tolerantes encontró una única diferencia significativa ( $p = 0.0332$ ) en los niveles de lisofosocolina 19:0 (LPC 19:0), en donde tras terminar el tratamiento los niveles de esta disminuyeron en los pacientes tolerantes y, por el contrario, aumentaron en los pacientes no tolerantes (figura 4). El incremento de los niveles de LPC en plasma está involucrado en el desarrollo de algunas enfermedades inflamatorias a través de la vasoconstricción (Knuplez, et. al., 2020). Esto podría explicar por qué los pacientes que presentan tolerancia tienen una tendencia general a disminuir los niveles de LPC 19:0.



**Figura 4.** Cambios significativos entre pacientes alérgicos tolerantes y no tolerantes. (\* =  $p < 0.05$ ).

## Análisis multivariante

Al realizar las mismas comparativas en el modelo de componentes principales (PCA), no se pudieron observar diferencias significativas en ninguno de los casos. En este sentido, se dice que hay diferencias significativas cuando de forma visual es posible diferenciar y separar a los grupos entre sí en el gráfico correspondiente (figura 5).

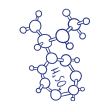
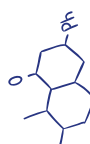
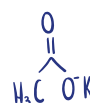


**Figura 5.** Modelo PCA para la diferenciación entre estado alérgico: pacientes alérgicos (amarillo) y grupo control (gris). Presentados junto a sus parámetros de calidad:  $Q^2$  (azul) y  $R^2$  (verde)

La figura 5 muestra el ejemplo de la comparativa entre el grupo alérgico versus el grupo control a  $t = 0$  meses, donde se observa un modelo PCA en donde los pacientes alérgicos y el grupo control se encuentran dispersos en todo el gráfico, lo que impide separar un grupo de otro. Este mismo comportamiento fue observado en todas las comparativas realizadas mediante la estadística multivariante, lo que se traduce en que no se tienen diferencias significativas entre grupos con este tipo de análisis.

## Conclusiones

El uso de análisis estadístico en la búsqueda de tratamientos resulta de gran ayuda pues permite analizar un ensayo de la forma más completa posible. En este sentido, a partir del análisis univariante se pudieron observar cambios positivos en la salud de los pacientes alérgicos, no obstante, se deberán aplicar ensayos posteriores en donde se realicen modificaciones en algunas variables tales como tiempo de tratamiento o concentración para unificar los resultados del análisis univariante con el análisis multivariante. No obstante, la futura consolidación de este proyecto permitirá que personas que padecen AA sean capaces de tener una mejor calidad de vida, pues los efectos adversos implicados en la AA, tanto nutricionales, sociales, fisiológicos y psicológicos serán disminuidos de manera significativa.





## Agradecimientos

Los autores agradecen al CEMBIO, USP, España y a la beca PITAAE, proporcionada por la UNAM, por el financiamiento de la movilidad estudiantil. También a la FES-C por el apoyo a la cátedra de investigación CI2244.

## Referencias

Barber, D., Villaseñor, A., & Escribese, M. M. (2019). Metabolomics strategies to discover new biomarkers associated to severe allergic phenotypes. *Asia Pacific Allergy*, 9(4), e37.

Blanco-Pérez, F., Steigerwald H., et. al. (2021). The Dietary Fiber Pectin: Health Benefits and Potential for the Treatment of Allergies by Modulation of Gut Microbiota. *Current Allergy and Asthma Reports*. 21:43.

Boyce J. A., Assaad A, et al. (2010). Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *Jour of Allergy and Clinical Immunology*, 126(6), S1-S58.

Knuplez, E., & Marsche, G. (2020). An Updated Review of Pro- and Anti-Inflammatory Properties of Plasma Lysophosphatidylcholines in the Vascular System. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4501.

Martino, D. J., & Prescott, S. L. (2010). Silent mysteries: Epigenetic paradigms could hold the key to conquering the epidemic of allergy and immune disease: Epigenetics in allergic disease. *Allergy*, 65(1), 7-15.

Metcalf, D. D., Sampson, H. A., Simon, R. A., & Lack, G. (Eds.). (2015). *Alergias alimentarias. Reacciones adversas a alimentos y aditivos alimentarios* (5th ed.). Elsevier.

Paik, D., Yao, L., Zhang, Y., et.al. (2022). Human gut bacteria produce TH17-modulating bile acid metabolites. *Nature*, 603(7903), 907-912.

Serrano-Mollar, A., & Closa, D. (2005). Arachidonic Acid Signaling in Pathogenesis of Allergy: Therapeutic Implications. *Current Drug Target. Inflammation & Allergy*, 4(2), 151-155.

Tan, T. H.-T., Ellis, J. A., Saffery, R., & Allen, K. J. (2012). The role of genetics and environment in the rise of childhood food allergy: Role of genetics and environment in food allergy. *Clinical & Experimental Allergy*, 42(1).

Torres, M., Barber, D., Vieths, S., et. al. (2022). Dietary Intervention in Food Allergy: Microbiome, Epigenetic and Metabolomic interactions: DIFAMEM, ERA HDHL - Nutrition & the Epigenome. <https://www.era-learn.eu/network-information/networks/era-hdhl/call-for-joint-action-nutrition-the-epigenome/dietary-intervention-in-food-allergy-microbiome-epigenetic-and-metabolomic-interactions>

Trompette, A., Gollwitzer E., Yadava K., et. al. (2014). Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nature Medicine*, 20(2), 159-166.

# EFECTO DE LA PRESENCIA DE HERBICIDAS TRIAZÍNICOS EN EL CRECIMIENTO DE CULTIVOS DE *Selenastrum capricornutum* Y EN LA REMOCIÓN DE BENZO(b)FLUORANTENO.

María Elena Lara Ruiz, Carlos Uriel Sevilla Agustin, Martha Patricia García Camacho, Manuel Méndez García\*

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México,

[314247340@quimica.unam.mx](mailto:314247340@quimica.unam.mx), [314345628@quimica.unam.mx](mailto:314345628@quimica.unam.mx), [pgcllas@unam.mx](mailto:pgcllas@unam.mx),

[m.mendezgarcia@quimica.unam.mx](mailto:m.mendezgarcia@quimica.unam.mx)\*

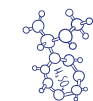
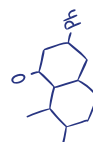
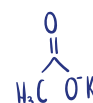
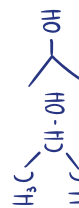
## Resumen

La remoción del benzo(b)fluoranteno (BbF) por la microalga *Selenastrum capricornutum* ha sido poco estudiada, menos aún en presencia de herbicidas triazínicos como la atrazina (ATR) y cianazina (CZ), contaminantes que comúnmente son arrastrados a los cuerpos de agua cercanos a zonas agrícolas. Por lo tanto, se efectuó el monitoreo del crecimiento de cultivos microalgales expuestos a mezclas de BbF/ATR y BbF/CZ en concentraciones variadas; también se evaluó la remoción del BbF durante 1.5 y 3 h. Se encontró que el crecimiento se vió afectado a partir de 200 ppb de ATR y de 80 ppb de CZ. La remoción del BbF sin herbicida fue de  $\geq 87\%$ , mientras que con herbicida fue de 85% y 89% con CZ a 80 ppb y de 91% y 87% con ATZ a 100 ppb, en tiempos de 1.5 y 3 horas.

**Palabras clave:** benzo(b)fluoranteno, atrazina, cianazina, remoción, *Selenastrum capricornutum*.

## Antecedentes

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son compuestos formados por anillos aromáticos fusionados y en algunos casos poseen en su estructura un anillo de ciclopenteno, pueden encontrarse en arreglos lineales, angulares o agrupados. Se clasifican como de bajo peso molecular (HAPs-BPM, con 2 o 3 anillos fusionados) y de alto peso molecular (HAPs-APM, con más de 3 anillos fusionados). La toxicidad y la persistencia en el medio ambiente de los HAPs aumenta al aumentar el peso molecular, ya que, con el aumento en el PM,





disminuye su solubilidad en agua, aumentan sus puntos de fusión, ebullición y disminuye su presión de vapor (Haritash y Kaushik, 2009). Los HAPs se producen por fuentes naturales: incendios forestales y de pastizales, las filtraciones de petróleo, las erupciones volcánicas y los exudados de los árboles y de forma antropogénica: quema de combustibles fósiles, alquitrán de hulla, madera, basura, desperdicios, aceites lubricantes usados y filtros de aceite (Haritash y Kaushik, 2009). En entornos costeros, la mayoría de los HAPs se derivan de derrames de petróleo, descargas industriales, deposición atmosférica y escorrentía urbana (Wang et al., 2014), por lo que es posible que se encuentren mezclados con otros contaminantes como los pesticidas. La Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (EPA, por sus siglas en inglés), ha considerado a 16 HAPs como contaminantes importantes (United States Environmental Protection Agency (EPA), 2014), entre ellos el HAP-APM benzo(b)fluoranteno (BbF), ha sido clasificado por la IARC como posiblemente carcinogénico para el ser humano 2B (International Agency for Research on Cancer (IARC), 2010). Por otro lado, las triazinas son compuestos heterocíclicos que se emplean principalmente como herbicidas en cultivos de hoja ancha como hortalizas, caña de azúcar, cítricos y cereales como el maíz, arroz y sorgo (Liang et al. 2018; Wang et al. 2014). Dentro de los herbicidas más empleados se encuentran la atrazina y la cianazina (Wang et al. 2014) y se sospecha que puedan generar problemas en la salud como cáncer, interrupción de funciones hormonales y defectos de nacimiento (Norouzi et al. 2012). Tras ser aplicados en cultivos, una parte de los herbicidas se pierde en los cuerpos de agua, ya sea por escorrentía o por lixiviación a través de aguas subterráneas hacia arroyos y lagos, causando estrés dentro de la vida acuática (Graymore et al., 2001). Tanto los HAPs como los pesticidas se pueden eliminar mediante métodos físicos, químicos y biológicos, dentro de los biológicos está la biodegradación y remoción. Se pueden utilizar bacterias, hongos, plantas o microalgas, siendo las bacterias y hongos los más estudiados, sin embargo, las microalgas han demostrado una gran capacidad para remover una gran variedad de contaminantes. Las microalgas son microorganismos unicelulares acuáticos que pueden encontrarse en sistemas marinos y en agua dulce (Coelho et al., 2019), son fotosintéticos, tienen tasas de crecimiento rápidas y capacidad para acumular o metabolizar contaminantes (Guedes et al., 2011). Las características mencionadas provocan que las microalgas tengan un alto potencial para realizar la biorremediación de suelos y agua. La microalga *Selenastrum capricornutum* ha demostrado buenos resultados al remover diferentes tipos de HAPs como son el fenantreno, fluoranteno y pireno (Chan et al., 2006). Además, se han comparado sus facultades degradadoras de HAPs con otras especies de microalgas como *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus platydiscus*, resultando ser la más eficiente (An-Ping et al., 2007; Lei et al., 2002). En cuanto a los pesticidas, también hay evidencia de que las microalgas remueven a una gran variedad, como la atrazina, simazina y molinato (Hussein et al, 2017). En cuanto a la cianazina hay evidencia de que presenta resistencia a la biodegradación microbiana, pero se

degrada con algunos tipos de hongos y bacterias (Aislable et al., 2005; Pacepavicius et al., 1996), pero en cuanto a las microalgas no se encontraron estudios en donde la cianazina sea bioremediada, tampoco se ha estudiado el crecimiento de las microalgas y la remoción microalgal de los HAPs en presencia de herbicidas triazínicos, por lo que en este trabajo se realizó el monitoreo del crecimiento de la microalga *S. capricornutum* en presencia de los herbicidas atrazina y cianazina, empleando espectroscopia de UV/vis y se evaluó la remoción del benzo(b)fluoranteno en medio líquido de microalgas expuestas a atrazina y cianazina, empleando Extracción en Fase Sólida (EFS) para la preparación de muestras y cromatografía de líquidos de alta resolución con detección ultravioleta (CLAR-UV).

## Objetivos

Monitorear mediante espectrofotometría UV/Vis, el crecimiento de la microalga *S. capricornutum* sin y con la presencia de los herbicidas triazínicos simazina y atrazina, así como la remoción del benzo(b)fluoranteno en presencia de simazina y atrazina a diferentes tiempos empleando Extracción en Fase Sólida (EFS) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR).

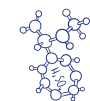
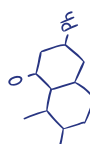
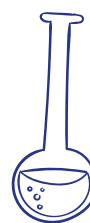
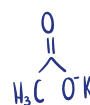
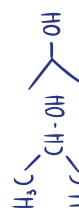
## Parte experimental

### 1. Reactivos

Metanol, acetonitrilo e isopropanol fueron obtenidos de J.T. Baker grado HPLC, el agua con resistividad igual a fue obtenida del desionizador Millipore Simplicity UV. Para preparar los medios de cultivo se empleó peptona proteosa y agar bacteriológico de MCD LAB. La microalga *S. capricornutum* proviene de The Culture Collection of Algae (UTEX) de la Universidad de Texas (Austin, TX, USA). El estándar de BbF fue comprado de Aldrich Chemistry, con pureza 98%, mientras que los estándares de ATZ y CZ fueron comprados de Chem ATService INC. con pureza de 98.7% y 99.5% respectivamente. Las disoluciones stock del estándar del BbF se prepararon en acetonitrilo a una concentración de 100 ppm, en cuanto a la atrazina y cianazina fueron preparados en metanol a una concentración de 100 ppm. El adsorbente empleado en las extracciones fue el Supelclean sílice LC-18 SPE Bulk packing adquirido de Sigma Aldrich.

### 2. Siembra de cultivos de microalgas

La siembra de los cultivos de microalgas se realizó en medio líquido Bristol el cual se preparó en un volumen de 1 L agregando 10 mL de stock 1, el cual contiene  $\text{NaNO}_3$  (2.94 mM),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.17 mM),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.30 mM),  $\text{NaCl}$  (0.43 mM), 10 mL del stock 2 que contiene  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1.29 mM) y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1.29 mM), 4.2 mL de  $\text{NaOH}$  0.1 M y 1 g de peptona





proteosa. Del medio Bristol se toman 150 mL y se añaden sobre matraces Erlenmeyer de 250 o 300 mL. La microalga se tomó empleando un asa bacteriológica de cultivo en medio sólido llevándola al medio líquido, posteriormente. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente bajo iluminación de lámparas de fluorescencia de luz fría con periodos de luz/oscuridad de 16/8 horas y agitación orbital constante.

### 2.1 Siembra de cultivos de microalgas con herbicidas triazínicos.

Se realizaron varias siembras de la microalga (como se describe en el punto 3) pero añadiendo distintas cantidades de disoluciones stock de ATR y CZ las concentraciones de trabajo para ATR fueron de 0.5, 1, 2, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 y 2000 ppb mientras que para la CZ fueron de 0.5, 1, 2, 10, 50, 80, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 y 2000 ppb. La concentración de BbF en todos los ensayos fue de 0.26 ppm. El monitoreo del crecimiento se realizó de acuerdo a lo descrito en el punto 3.2.

### 2.2 Seguimiento del crecimiento de las microalgas con y sin herbicidas triazínicos.

Tanto a los cultivos de microalgas con y sin contaminantes se les midió la absorbancia después de transcurrir tres días después de la siembra. Muestras de los cultivos de microalgas se depositaron en celdas de plástico, esto se realizó en medio estéril, y se introdujeron al espectrofotómetro UV/Vis, se registraron las absorbancias de los cultivos en un periodo de 3 a 30 días, se utilizó la longitud de onda de la máxima absorbancia de la clorofila de 685.0 nm.

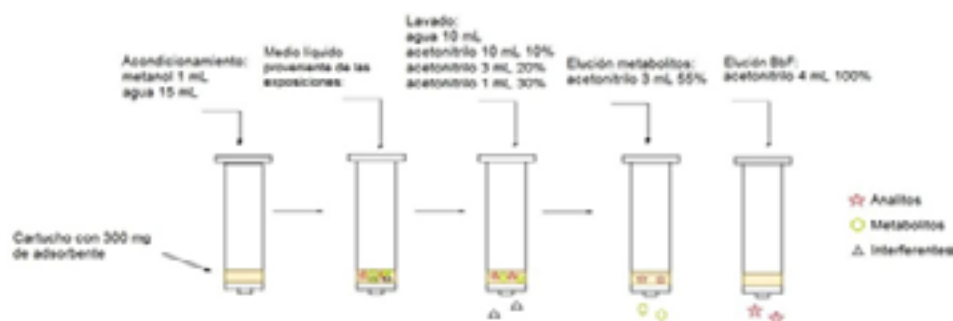
### 3. Ensayos de exposición con benzo(b)fluoranteno en presencia y ausencia de atrazina y cianazina.

Se realizaron dos etapas para evaluar la remoción del BbF en el medio líquido: la primera consistió en realizar los ensayos de exposición de los medios de cultivo, el segundo fue el aislamiento y concentración del BbF del medio líquido del cultivo por Extracción en Fase Sólida (EFS), para su posterior análisis por CLAR-UV.

La exposición de los medios de cultivo se realizó tomando 15 mL del cultivo con una absorbancia aproximada de 1, correspondiente a  $10^6$  y en condiciones de esterilidad se le agregaron 4 de BbF. En el caso de las exposiciones en presencia de ATR y CZ, se le agregaron además 1.5 de ATR, mientras que de la CZ fueron 1.2. Una vez homogeneizados los cultivos se introdujeron en una incubadora con una temperatura de 34°C, agitación orbital continua (50 rpm), bajo luz amarilla (20W). Los tiempos de exposición fueron de 1.5 y 3 h. Una vez concluidos los tiempos de exposición, las muestras fueron centrifugadas a 3,900 rpm x 15 min, y se separó la biomasa del sobrenadante (medio líquido), el cuál se llevó a



EFS, agregando 3.75 mL de isopropanol para facilitar la disolución del BbF. La Extracción en Fase Sólida (EFS) del medio líquido de incubación, se realizó en 300 mg de Supelclean LC-18 SPE Bulk packing como soporte empacados en cartuchos de 6 mL de capacidad, el procedimiento efectuado para las EFS se describe en la figura 1.



**Figura 1.** Procedimiento de EFS para la extracción del BbF en medio líquido en presencia/ausencia de atrazina y cianazina.

#### 4. Cromatografía de líquidos de alta resolución- UV.

Una vez obtenidos los extractos de la EFS de las muestras provenientes del medio líquido, se procedió a inyectarlos a un cromatógrafo de líquidos de alta resolución marca Varian. Las condiciones del cromatógrafo fueron las siguientes: cromatografía de fase reversa empleando una columna Thermo Scientific de dimensiones 150 x 4.6 mm empacada de sílice C18 como fase estacionaria, fase móvil de metanol: agua 90: 10, volumen de carga de 20.0  $\mu$ L con inyección manual, detección UV a una longitud de onda de 254 nm y tiempo de corrida de 9 minutos.

La remoción es calculada con la fórmula 1:  $Remoción = (Mi - MELiq) / Mi \times 100\%$

donde:  $Mi$  = 4 por ser la cantidad inicial de BbF agregado,  $MELiq$  = la cantidad de BbF en determinada en medio líquido después de cada tiempo de exposición.

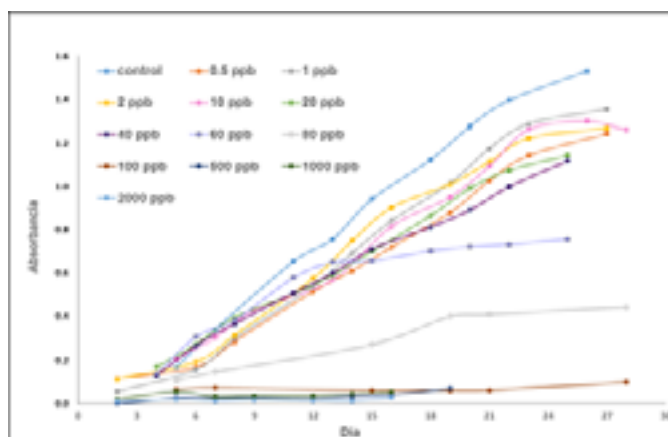
## Resultados y discusión

Crecimiento de la microalga *S. capricornutum* en presencia de cianazina y atrazina.

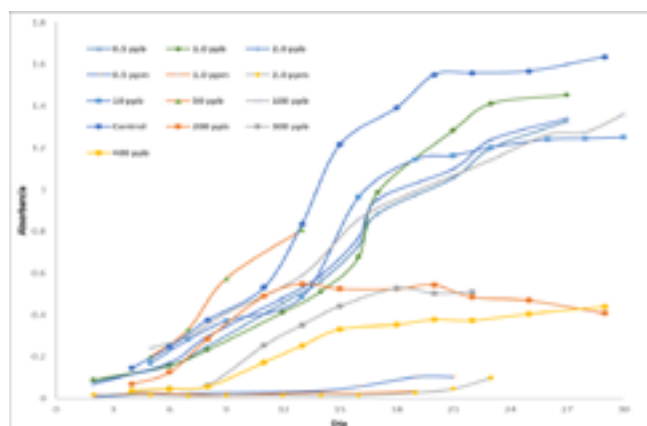
De acuerdo a lo observado en las figuras 2 y 3, el crecimiento de las microalgas se vio afectado en presencia de la ATR y CZ, ya que sus curvas de crecimiento fueron más lentas en presencia de los herbicidas. En el caso de la CZ (figura 2), en las concentraciones de



100 a 2000 ppb, ya se observa un crecimiento nulo con absorbancias cercanas al 0. Por otra parte, a concentraciones entre 0.5 y 40 ppb, el crecimiento es más lento que el control (microalgas sin ningún contaminante), porque tardan más días en alcanzar una absorbancia de 1. En cuanto a la ATR, ocurre un comportamiento similar, ya que se puede observar en la figura 3, a concentraciones bajas el crecimiento es similar al control (0.5 a 50 ppm), aunque las curvas van por debajo, es decir que el crecimiento es un poco más lento. Al hacer comparaciones entre las curvas de la fig 2 y 3, la única diferencia entre la exposición con CZ y la ATR radica en que a las microalgas parecen resistir concentraciones de ATR mayores, ya que a concentraciones entre 200 a 400 ppb aún hay crecimiento, mientras que con la CZ a una concentración de 80 ppb las microalgas parecen llegar a su límite. Las microalgas ya no crecen cuando la concentración de atrazina es de 1 y 2 ppm. Estas diferencias se deben a que la cianazina tiene un efecto alguicida además de herbicida.

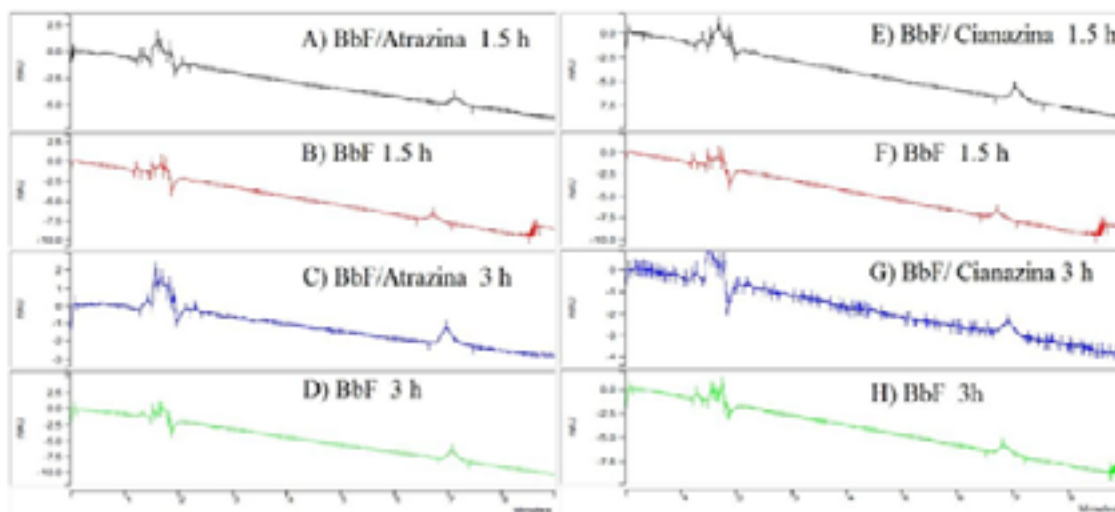


**Figura 2.** Monitoreo espectrofotométrico del crecimiento de la microalga *S. capricornutum* en presencia de cianazina.



**Figura 3.** Monitoreo espectrofotométrico del crecimiento de la microalga *S. capricornutum* en presencia de atrazina.

Evaluación de la remoción de BbF en mezcla con atrazina y cianazina



**Figura 4.** Cromatogramas correspondientes a extractos de exposiciones con 0.26 ppm de BbF, (A-D) con 100 ppb de ATR y (E-H) con 80 ppb de CZ en medio líquido.

En la figura 4 (A-D) se pueden observar los cromatogramas correspondientes a los extractos provenientes de las exposiciones con BbF solo y la mezcla BbF/ATR, y del (E-H) corresponden a exposiciones con BbF solo y la mezcla BbF/CZ, en exposiciones con las mezclas se puede observar que no hay diferencia significativa en las áreas con respecto a los controles, y se confirma que la presencia de los herbicidas no afecta al comportamiento degradativo de la microalga.

Cabe destacar que con la técnica de EFS se obtuvieron muestras libres de interferentes y al minuto siete se observó la presencia de BbF que aún se encontraba en el medio líquido.

**Tabla 1.** Áreas, masas y porcentajes de remoción obtenidos de muestras de medio de cultivo expuestas a BbF, BbF/ATR y BbF/CZ a 1.5 y 3 h.

	BbF solo		BbF-Atrazina		BbF-Cianazina	
	1.5	3	1.5	3	1.5	3
Tiempo (h)	1.5	3	1.5	3	1.5	3
área promedio (mUA*sec)	13.4	13.0	8.8	13.7	16.5	11.1
masa (g)	0.514	0.497	0.365	0.525	0.615	0.439
Remoción (%)	87	88	91	87	85	89





Como se puede observar en la tabla 1, los porcentajes de remoción entre las muestras expuestas solamente con el BbF y los de las mezcla BbF/ATR y BbF/CZ son parecidos, ya que a la hora y media, los cultivos en presencia de herbicidas presentan remoción  $\geq 85\%$  y aumenta levemente en el segundo tiempo de exposición ( $\geq 87\%$ ).

## Conclusiones

La microalga *S. capricornutum* muestra una adaptabilidad en su crecimiento cuando se encuentra en presencia de herbicidas triazínicos, siempre y cuando no se expongan a concentraciones tan altas, del orden del ppm. Se observó una mayor tolerancia en su crecimiento en presencia de ATR que con la CN. Esto porque la CN está catalogada como un agente alguicida, mientras que la atrazina no lo está. La concentración máxima de ATR que aún permite un crecimiento de la microalga *S. capricornutum* es de 400 ppb, aunque a esta concentración el crecimiento ya se muestra considerablemente afectado. Mientras que el límite máximo en el caso de la CN es de 80 ppb.

En cuanto a la remoción del BbF en mezclas de herbicidas a concentraciones que afectan el crecimiento, la mezcla con CN obtuvo una remoción del 85% a la 1.5 h y de 89% a las 3 h, mientras que con ATR obtuvo una remoción de 91% y 87% respectivamente, lo que significa que con los herbicidas se tiene un comportamiento similar al de las exposiciones con BbF sin herbicida con 87% y 88%. La eficiencia removedora de *S. capricornutum* no se ve afectada por la presencia de herbicidas en su medio. Lo anterior es positivo considerando que la microalga fuera utilizada en estrategias de remediación de cuerpos de agua o suelos cercanos a cultivos agrícolas en donde se utilizan los herbicidas triazínicos.

## Agradecimientos

Se agradece a la DGAPA-UNAM- por el financiamiento del proyecto PAPIIT IN207723, al proyecto PAIP 50009034 de la Facultad de Química, UNAM y al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el proyecto CB283377.

## Referencias

An-Ping, L.; Zhang-Li, H.; Yuk-Shan, W.; Nora Fung-Yee, T. (2007). Removal of fluoranthene and pyrene by different microalgal species, *Bioresource Technology*, 98, (2), 273-280. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.01.012>.

Aislabie, J.; Bej, A.K.; Ryburn, J.; Lloyd, N.; Wilkins, A. (2005). Characterization of *Arthrobacter nicotinovorans* HIM, an atrazine-degrading bacterium, from agricultural soil New Zealand. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, 52(2), 279-286. doi: <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.11.012>



Chan, S.M.N.; Luan, T.; Wong, M.H.; Tam, N.F.Y. (2006). Removal and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Selenastrum capricornutum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1772-1779. doi: <https://doi.org/10.1897/05-354R.1>

Coelho, D. D. F.; Tundisi, L. L.; Cerqueira, K. S.; Rodrigues, J. R. D. S.; Mazzola, P. G.; Tambourgi, E. B.; Souza, R. R. D. (2019). Microalgae: Cultivation Aspects and Bioactive Compounds. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180343>

Guedes, A.C.; Amaro, H.M.; Malcata, F.X. (2011). Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drugs*, 9(4), 625–644. doi: <https://doi.org/10.3390/md9040625>

Graymore, M.; Stagnitti, F.; Allinson, G. (2001). Impacts of atrazine in aquatic ecosystems, *Environment International*, 26, 7–8, 483-495. doi: [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00031-9).

Haritash, A. K.; Kaushik, C. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169 (1-3), 1-15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>

Hussein, M.H.; Abdullah, A.M.; Din, N.; Mishaqa, E. (2017). Biosorption Potential of the Microchlorophyte *Chlorella vulgaris* for Some Pesticides. *Journal of Fertilizers & Pesticides* 8: 177. doi: <https://doi.org/10.4172/2471-2728.1000177>

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2010). Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures, vol. 92, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.

Lei A.P.; Wong Y.S.; Tam N.F.Y. (2002). Removal of pyrene by different microalgal species. *Water Science and Technology*, 46(11-12), 195-201. doi: <https://doi.org/10.2166/wst.2002.0738>

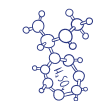
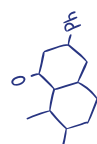
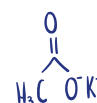
Liang, L.; Wang, X.; Sun, Y.; Ma, P.; Li, X.; Piao, H.; Jiang, Y.; Song, D. (2018). Magnetic solid-phase extraction of triazine herbicides from rice using metal-organic framework MIL-101(Cr) functionalized magnetic particles. *Talanta*, 179, 512 - 516. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.09.008>

Norouzi, P.; Larijani, B.; Ganjali, M.; Faridbod, F. (2012) Admittometric Electrochemical Determination of Atrazine by Nano-composite immune-biosensor using FFT- Square wave Voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 10414-10426. doi: [https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)16873-8](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)16873-8)

United States Environmental Protection Agency (EPA). 2014. Priority Pollutant List.

Wang, Y.; Sun, Y.; Xu, B.; Li, X.; Jin, R.; Zhang, H.; Song, D. (2014). Magnetic ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of triazine herbicides in vegetable oils by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1373, 9-16. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.11.009>

Wang, Z.; Liu, Z.; Xu, K.; Mayer, L. M.; Zhang, Z.; Kolker, A. S.; Wu, W. (2014). Concentrations and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface coastal sediments of the northern Gulf of Mexico. *Geochemical Transactions*, 15(1). doi: <https://doi.org/10.1186/1467-4866-15-2>





# SÍNTESIS DE UNA SERIE DE ÉTERES DEL TIPO ALQUIL NAFTIL Y CARACTERIZACIÓN DEL ESTADO DE TRANSICIÓN MEDIANTE EL EMPLEO DE LA QUÍMICA COMPUTACIONAL

José Guillermo Penieres Carrillo, José Guadalupe García Estrada, Rodolfo Gómez Balderas, León Daniel Ponce Pérez, Luis Antonio Martínez Arellano, Karina Franco Francisco, Perla Itzel Aguilar Vargas

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, México

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

## Resumen.

Una variedad de compuestos de éteres del tipo alquil-naftil son utilizados en la industria farmacéutica, como ejemplo, el 2-metoxinaftaleno ( $\beta$ -nerolina), un intermediario importante utilizado en la producción de naproxeno y considerado como un importante antiinflamatorio, analgésico y antipirético. Por otro lado, el método clásico en la preparación de éteres es la síntesis de Williamson, en el cual un ión alcóxido reacciona con un haluro de alquilo primario o un tosilato en una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular ( $SN_2$ ); en donde, el ión alcóxido se obtiene mediante la reacción de un alcohol en medio básico. Sin embargo, la preparación tradicional de la  $\beta$ -nerolina es a partir de naftol y metanol, ocurre a reflujo de 69 °C con  $H_2SO_4$ . Estas condiciones ácidas de reacción favorecen un mecanismo  $SN_1$ , vía carbocatión correspondiente, en contraste con el mecanismo  $SN_2$ , propuesto en las condiciones básicas de la síntesis de Williamson.

Se presentan los resultados obtenidos experimentales al hacer reaccionar  $\beta$ -naftol con una serie de alcoholes con el objetivo de determinar las condiciones de reacción y mostrar evidencia experimental que apoye un mecanismo de sustitución nucleofílica según las condiciones ácidas antes mencionadas. Así mismo, con el fin de determinar la energía del estado de transición que define la velocidad de reacción, se realizaron cálculos computacionales DFT con un nivel de teoría MP2/6-311G(d,p)//B3LYP/6-311G(d,p) y considerando la temperatura de reacción experimental. Los resultados de la química computacional indican que la vía  $SN_2$  se favorece con la participación de sulfato ácido de alquilo como intermediario de reacción, formado durante la reacción. Así mismo, las condiciones experimentales en la obtención de los éteres se favorecen con alcoholes no ramificados preferentemente.



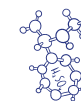
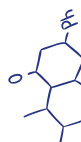
**Palabras clave:** Sustitución nucleofílica, Mecanismo teórico experimental.

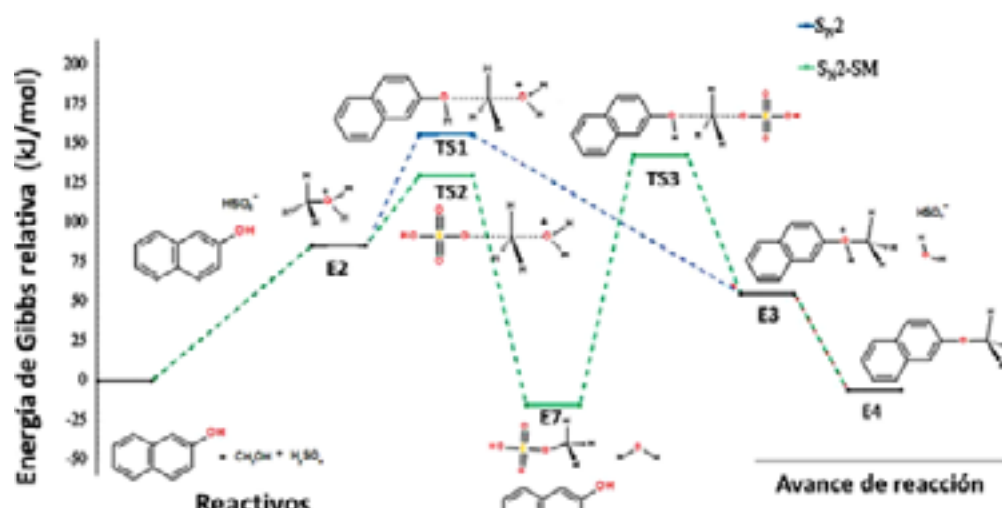
### Antecedentes.

Los éteres del tipo  $\beta$ - naftilalquil han mostrado una variedad de aplicaciones en perfumería, colorantes, química fina, precursores de fármacos, etc. Estos éteres se sintetizan tradicionalmente a partir de  $\beta$ -naftol y el alcohol correspondiente en presencia de ácido sulfúrico (Yadav, & Salunke, 2013). Por otro lado, el método clásico ha sido el propuesto por Williamson, en el cual un ión alcóxido formado previamente en medio básico y un alcohol, reacciona con un haluro de alquilo primario o un tosilato. Estas condiciones de reacción favorecen una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular ( $SN_2$ ). Sin embargo, la preparación de los ésteres a partir de  $\beta$ -nerolina y alcoholes alifáticos con  $H_2SO_4$ , favorecen un mecanismo  $SN_1$  vía carbocatión correspondiente, en contraste con el mecanismo  $SN_2$ , propuesto en las condiciones básicas de la síntesis de Williamson, (Diamanti et al., 2021). Además, las reacciones de sustitución compiten con las de eliminación según el nivel de ramificación del carbono alfa que se encuentra enlazado con el buen grupo saliente. Es decir, la dificultad para llevar a cabo una sustitución y las condiciones de reacción se presentan cuando mayor es el nivel de ramificación del carbono alfa, hay un efecto de impedimento estérico (Wharry, 2011).

Por otra parte, los métodos de la química cuántica permiten calcular las energías de reactivos, intermediarios de reacción, estados de transición y productos de una transformación química. Dichas energías se pueden utilizar para discriminar entre diferentes propuestas de mecanismos de una reacción (Sato, S. 1955). Así, el mecanismo de reacción propuesto dada las condiciones ácidas es un motivo de estudio tanto experimental como computacional.

En un trabajo previo (Penieres J. et al., 2021) reportamos el mecanismo propuesto en la síntesis de  $\beta$ -nerolina, habiendo determinado una trayectoria de reacción favorable para una  $SN_2$ . Así mismo, en el perfil energético se determinaron dos intermediarios de reacción formados en *insitu*, Figura 1. Siendo la ruta menos energética ( $SN_2$ -SM) para cuando el intermediario es metilsulfato (**E7**) y de ahí el paso determinante de la reacción.





**Figura 1.** Mecanismos de reacción de  $SN_2$  propuestos ( $SN_2$  y  $SN_2$ -SM), (Penieres J. et al., 2021).

Finalmente, se buscan condiciones de reacción más favorables al ambiente dado que la preparación de ésteres del tipo naftilalquil emplean  $H_2SO_4$ , los inconvenientes de tal proceso incluye la corrosión, riesgos de seguridad, procedimientos de separación y ambientales, problemas debido al ácido sulfúrico (Diamanti et al., 2021).

### Objetivos.

Llevar a cabo la síntesis de una serie de ésteres del tipo naftilalquil a partir de naftol y alcoholes alifáticos, determinar las condiciones de reacción, caracterizar y calcular el rendimiento de reacción. Así mismo, aplicar la química computacional con el fin de determinar la energía del estado de transición que define la velocidad de reacción, empleando cálculos computacionales DFT con un nivel de teoría MP2/6-311G (d,p)//B3LYP/6-311G(d,p) y considerando la temperatura de reacción experimental. Finalmente, correlacionar los resultados experimentales con los obtenidos de manera computacional en la búsqueda del mecanismo de reacción energéticamente más favorable.

### Metodología.

**Parte Experimental:** Se llevó a cabo la síntesis de una serie de ésteres tipo naftilalquil, colocando a reaccionar una mezcla de 0.5 mol de  $\beta$ -naftol con 2.5 ml del alcohol correspondiente y 0.5 ml de  $H_2SO_4$  concentrado, la mezcla de compuestos se colocó a reflujo durante 4 horas. Después del tiempo de reflujo se hizo precipitar el éter obtenido con agua helada, se filtró el producto y se lavó con una solución de NaOH al 10% obteniéndose así el éter, el cual finalmente se recrystalizó con etanol. Se determinaron los correspondientes puntos de fusión de los productos recrystalizados.

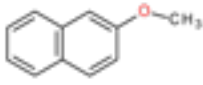
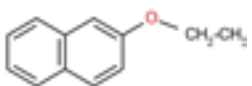
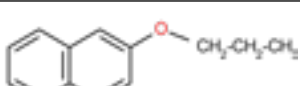
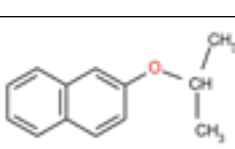
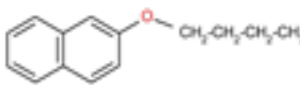
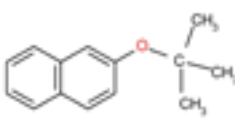


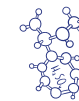
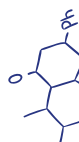
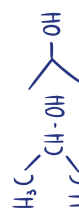
Parte computacional: En este trabajo se calcularon las energías de todos los mecanismos de reacción  $S_N2$ -SM para la serie de éteres, se ocupó el nivel de teoría MP2/6-311G(d,p), sobre geometrías B3LYP/6-311G(d,p), el efecto del disolvente (metanol) se incluyó implícitamente mediante la aproximación SMD. Todos los puntos estacionarios sobre las superficies de energía potencial, correspondientes a mínimos de energía y estados de transición, se caracterizaron mediante el cálculo de frecuencias correspondiente, empleando el software Gaussian 09. El efecto de la temperatura (69 °C) se incluyó en la energía libre de Gibbs dentro de la aproximación de gas ideal, rotor rígido y oscilador armónico. Todas las frecuencias vibracionales reales se trataron de la siguiente manera: para el cálculo de la energía vibracional de punto cero se empleó un factor de escala de 0.9887, para el cálculo de la contribución entálpica se usó un factor de 1.0102 y para la contribución entrópica un factor de escalamiento de 1.0161 (Merrick, et al. 2007).

## Resultados y discusión

Respecto a la síntesis se llevó a cabo con éxito los éteres correspondientes a los alcoholes metanol, etanol, propanol, *iso*-propanol y butanol; en el caso de *tert*-butanol no hubo reacción de sustitución. Los rendimientos y puntos de fusión se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Resumen de puntos de fusión y rendimientos de los éteres obtenidos

Eter	Punto de fusión (°C)	Rendimiento
	74-77	82
	35-37	80
	38-40	60
	35-37	57
	33-35	68
	—	—



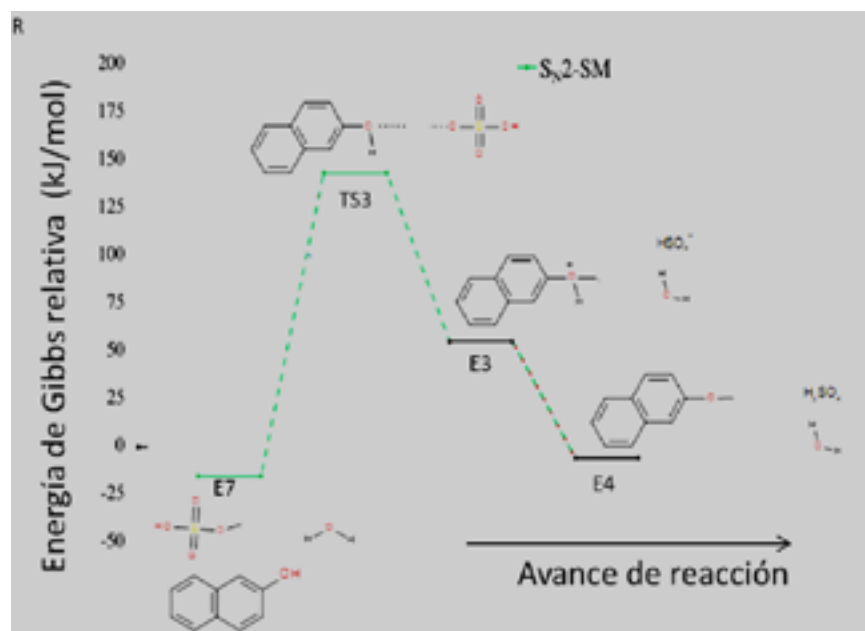


De la Tabla 1, se puede apreciar que el rendimiento de reacción es más favorable para cuando el alcohol es menos ramificado, siendo así, el mejor rendimiento es para el 2-metoxinaftaleno con un 82% de rendimiento. Sin embargo, cuando la cadena hidrocarbonada aumenta los rendimientos son más bajos. Con respecto a los resultados obtenidos de la parte computacional se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Resumen de puntos de fusión y rendimientos de los éteres obtenidos

Eter	Energía de activación	
	kJ/mol	kcal/mol
2-metoxinaftaleno	141.48	33.85
2-etoxinaftaleno	147.39	35.26
2-propoxinaftaleno	115.07	27.53
2-tertbutoxinaftaleno	141.48	33.85

Las energías de activación fueron determinadas a partir de intermediario de reacción **E7** al estado de transición **TS3**, coordenadas consideradas del mecanismo de reacción SN2-SM como se muestra en la Figura 2, la cual solo representa la etapa final de la reacción a partir de la formación del intermediario alquilsulfato.



**Figura 2.** Mecanismos de reacción SN2-SM y determinación de la energía de activación (Penieres J. et al., 2021).



En cuanto a los valores mostrados en la Tabla 1, se aprecia una energía de activación más elevada para alcoholes cuya cadena es más grande, en caso particular, el alcohol *tert*-butanol no ocurrió una reacción de sustitución, en las observaciones experimentales se detectó la formación de un gas, consideramos la posibilidad de la formación de un alqueno mediante una reacción de eliminación, recordando que esta ruta compite con la sustitución en las condiciones manejadas en este proyecto.

## Conclusiones

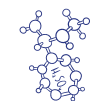
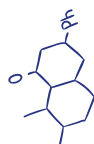
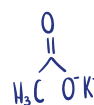
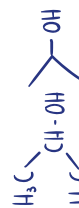
Se llevó a cabo la síntesis de una serie de éteres asimétricos naftilalquil con alcoholes alifáticos, concluyendo que para alcoholes con cadenas hidrocarbonadas los rendimientos son más bajos. Así mismo, las condiciones de reacción son más energéticas, esto mostrado en los resultados computacionales. Los estudios computacionales favorecen un mecanismo de reacción  $SN_2$  y la formación de un intermediario de reacción E7. Así mismo, se caracterizaron los éteres obtenidos mediante sus correspondientes puntos de fusión. Las condiciones de reacción no es favorable para alcoholes terciarios como lo fue para el *tert*-butanol por el impedimento estérico razón por la cual la reacción favorece más a una eliminación. Finalmente, hubo buena correlación entre los resultados experimentales con los de la química computacional, dado los bajos rendimientos de los alcoholes con mayor cadena y el impedimento estérico con el *tert*-butanol.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNAM-DGAPA por el financiamiento de los proyectos PAPIME-PE213223, LANCAD-UNAM-DGTIC-058 y PAPIIT-IN215723.

## Referencias

- Diamanti, A., Ganase, Z., Grant, E., Armstrong, A., Piccione, P. M., Rea, A. M., Richardson, J., Galindo, A., & Adjiman, C. S. (2021). Mechanism, Kinetics and selectivity of a Williamson ether synthesis: elucidation under different reaction conditions. *Reaction Chemistry and Engineering*, 6(7), 1195-1211. <https://doi.org/10.1039/d0re00437e>
- Gaussian 09, Revisión A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone.
- Merrick, J., Moran, D., & Radom, L. (2007). An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors. *Journal of Physical Chemistry A*, 111(45), 11683-11700. <https://doi.org/10.1021/jp073974n>
- Penieres, J. García, J. Martínez, L. Gómez, R. Ponce, León. (2021). Síntesis de  $\beta$ -Nerolina en Medio



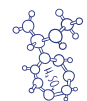
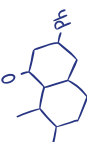


Acido, Análisis del Mecanismo de Reacción Mediante el Método Semiempírico AM1. *Revista Digital Innovación en Ciencia, Tecnología y Educación (ICTE)*. 5,5, 505-512. Disponible en: <http://masam.cuautitlan.unam.mx/RevistaICTE/>

Sato, S. (1955). A New Method of Drawing the Potential Energy Surface. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 28 (7): 450. [doi:10.1246/bcsj.28.450](https://doi.org/10.1246/bcsj.28.450)

Wharry, D. L. (2011). The study of substitution and elimination reactions using gas Chromatography: An examination of the effects of alkane and base structure on product distributions. *Journal of Chemical Education*, 88(12), 1720-1723. <https://doi.org/10.1021/ed1006019>

Yadav, G. D., & Salunke, J. Y. (2013). Selectivity engineering of solid base catalyzed o-methylation of 2-naphthol with dimethyl carbonate to 2-methoxynaphthalene. *Catalysis Today*, 207, 180-190. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2012.04.017>



# DETERMINACIÓN DE CAPTOPRIL MEDIANTE UNA TITULACIÓN CONDUCTIMÉTRICA

*Portillo Sandoval Byron Moyses, Pablo Hernández Matamoros Hernández,*

*Alma Luisa Revilla Vázquez\**

*Laboratorio de desarrollo de métodos analíticos, Sección de Química Analítica, FES-C, UNAM*

[316197698@cuautitlan.unam.mx](mailto:316197698@cuautitlan.unam.mx), [pablohdez@gmail.com](mailto:pablohdez@gmail.com), [almarv@unam.mx](mailto:almarv@unam.mx)

## Resumen

El captopril es el componente principal de varios medicamentos para evitar la hipertensión arterial esencial o renovascular, actuando como inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina. También se usa para tratar la insuficiencia cardíaca congestiva y la nefropatía. Este compuesto posee tanto propiedades ácido-base como electroquímicas por lo que se ha planteado su cuantificación potenciométrica utilizando hidróxido de sodio o bien algún agente oxidante. En este trabajo se planteó utilizar la conductimetría para la cuantificación ácido-base de captopril en materia prima y un medicamento comercial, a fin de evaluar la factibilidad de la determinación, ya que la conductimetría es bien conocida para este tipo de valoraciones, dada la elevada conductividad eléctrica de los grupos hidroxilo y protón, además para soluciones turbias. Los resultados demostraron que la cuantificación planteada es viable para ambos tipos de muestras.

**Palabras clave:** Conductimetría, captopril, valoración ácido-base.

## Antecedentes

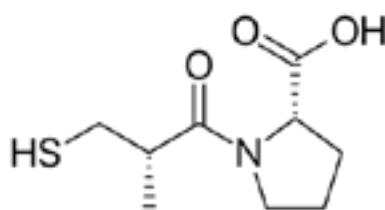
La conducción de una corriente eléctrica a través de una solución de un electrolito involucra la migración de especies cargadas positivamente hacia el cátodo y especies cargadas negativamente hacia el ánodo. La conductancia de una disolución, que es una medida del flujo de corriente que resulta de la aplicación de una fuerza eléctrica dada, depende directamente del número de partículas cargadas que contiene. Todos los iones contribuyen al proceso de conducción, pero la fracción de corriente transportada por cada especie está determinada por su concentración relativa y su movilidad inherente en el medio. (Brunatti, C., & De Nápoli, H., 2013)





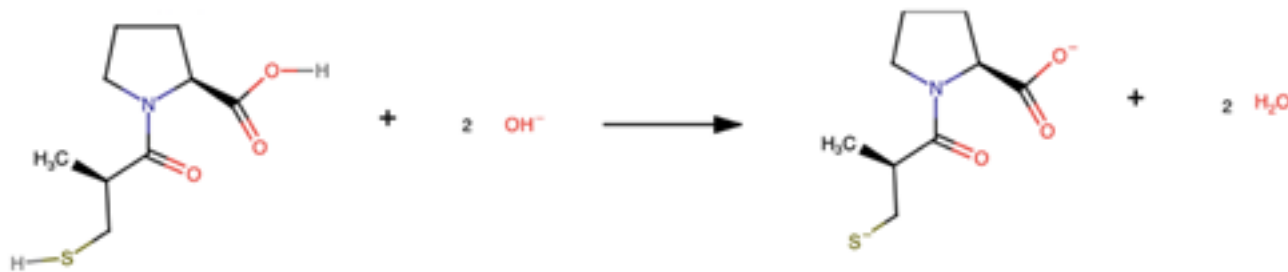
La conductividad de las disoluciones se mide con un conductímetro, el cual posee una celda que permite medir los cambios de esta magnitud física ante la adición continua y uniforme de reactivo titulante. La principal ventaja de las titulaciones con monitoreo conductimétrico es que pueden analizarse disoluciones muy diluidas y/o coloreadas, o sistemas en que la reacción no es suficientemente cuantitativa. (Cáñez-Carrasco, M., 2011)

El captopril (figura 1) es un medicamento que inhibe la enzima convertidora de angiotensina (IECA) que actúa bloqueando la proteína peptidasa del centro activo de la misma. El captopril inhibe la dipeptidasa de peptidil, una enzima convertidora que hidroliza la angiotensina I en angiotensina II e inactiva a la bradicina, un potente vasodilatador que actúa al menos en parte por estimulación de la secreción de óxido nítrico y prostaciclina. (Katzung, B, 2012). El captopril es un ácido dibásico formado por su grupo carboxilo y su grupo tiol y con valores de pka de 3.7 y 9.8 respectivamente. (Ribeiro, P. R., 2003) Se usa para tratar la presión alta (hipertensión). También se usa para ayudar a retrasar el mayor debilitamiento del corazón en algunos pacientes después de un ataque al corazón y para tratar problemas del riñón en algunos pacientes diabéticos y para tratar el fallo congestivo del corazón. (Katzung, B, 2012).



**Figura 1.** Estructura química del Captopril. (Vaccinationist, 2015)

En el caso del captopril, tiene dos valores de pKa, 3.7 y 9.4, indicándonos dos sitios donde la molécula se puede desprotonar, para su determinación, se toma en cuenta la siguiente reacción ácido-base (fig. 2):



**Figura 2.** Reacción ácido-base de captopril (Ribeiro, P. R., 2003)

## Objetivo

Determinar el contenido de captopril en un producto comercial mediante una valoración ácido-base con hidróxido de sodio, mediante un monitoreo conductimétrico, para comprobar el contenido real del principio activo con respecto al indicado en el marbete.

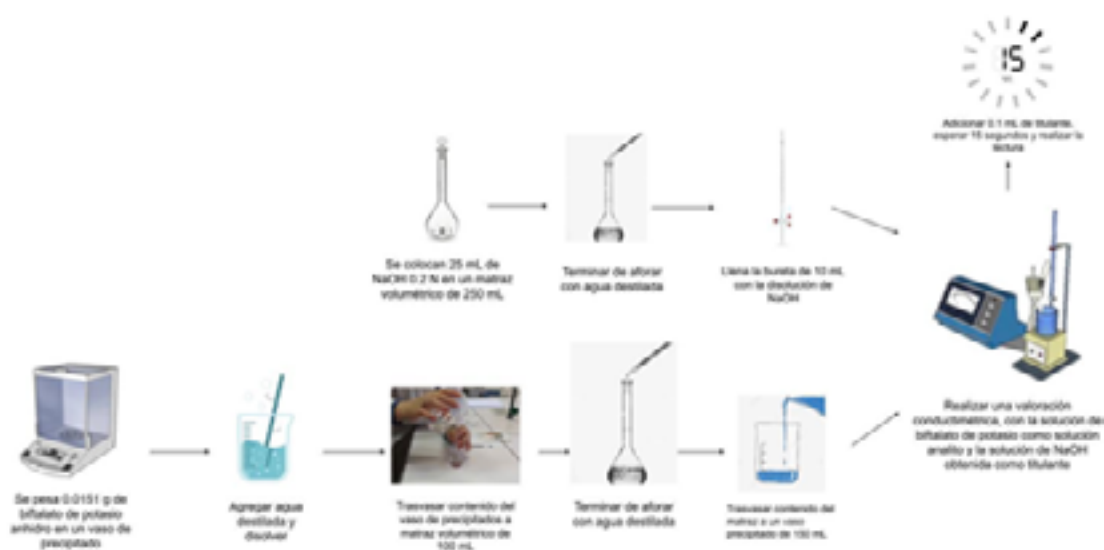
## Parte Experimental

**Tabla 1. Material, equipo y reactivos empleados**

Material	Equipo	Reactivos/Muestras
Vaso de precipitado: 30 y 150 mL	Conductímetro OHAUS modelo Starter 3100C	Captopril (materia prima)
Matraz volumétrico: 25, 50, 100 y 250 mL	Electrodo modelo STCON3 de 4 anillos	Captopril Marca Best de 25 mg
Bureta de 10 y 25 mL	Balanza Analítica BOECO	Solución estandarizada NaOH 0.2 N
Vasos tequileros	Agitador Magnético	Biftalato de potasio
Soporte universal con pinza	Sonicador	Agua destilada
Embudo de vidrio		

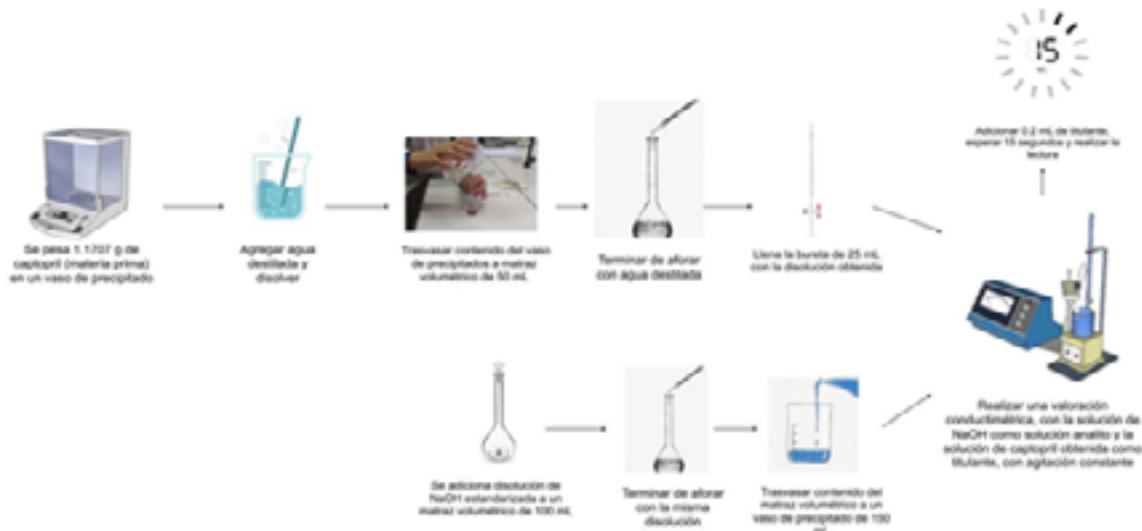
**Tabla 2. Datos del medicamento muestra**

Muestra	Captopril (BEST)
Presentación	Tableta
Peso promedio (tab)	89.3 mg
Principio activo	25 mg

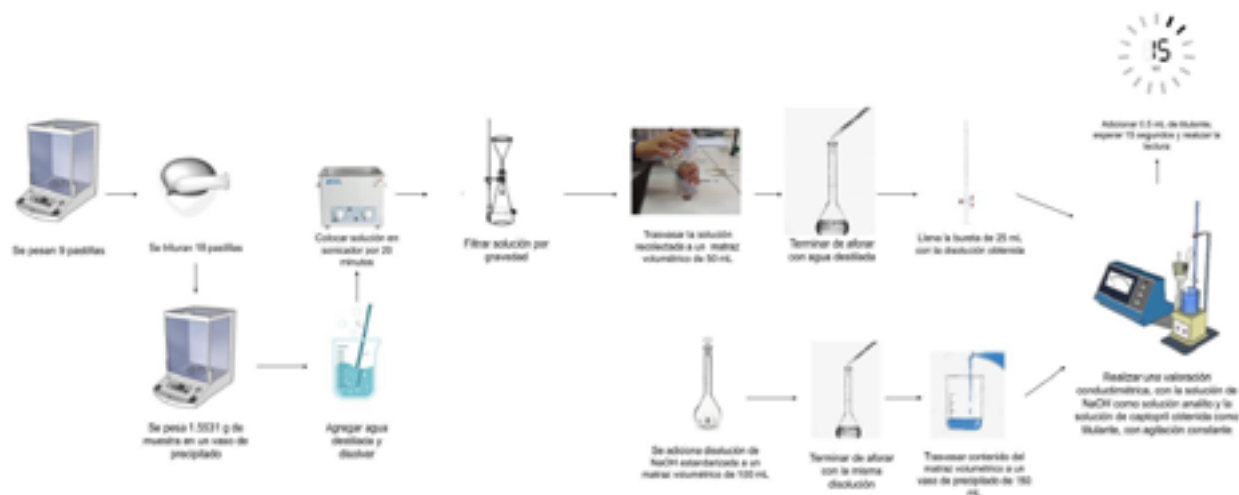


**Figura 3. Procedimiento realizado para la estandarización de hidróxido de sodio.**





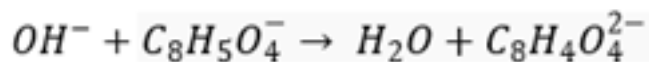
**Figura 4.** Procedimiento realizado para la valoración de captopril (materia prima).



**Figura 5.** Procedimiento realizado para la valoración de captopril (medicamento).

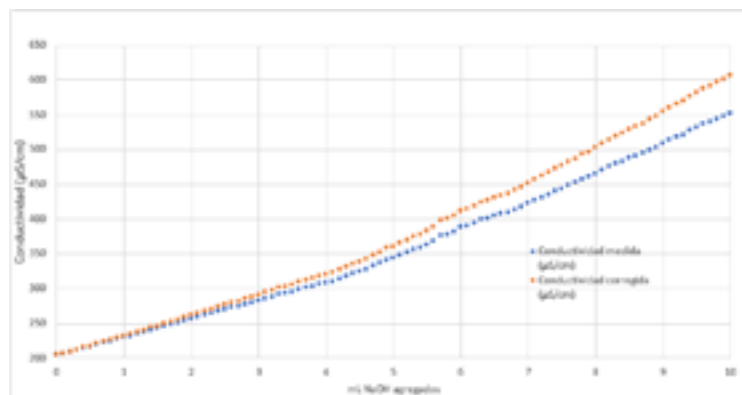
## Resultados y discusión

Estandarización de hidróxido de sodio. Se realizó una valoración conductimétrica utilizando la disolución de biftalato de potasio  $1.2437 \times 10^{-3}$  M en la posición del analito y la disolución de NaOH como valorante. Se midió la conductividad medida y la conductividad real del sistema con respecto a los mililitros de NaOH adicionados:



**Figura 6.-** Reacción entre NaOH y biftalato de potasio. (Skoog & West, 2014)





**Figura 7.** Curva de valoración conductimétrica de estandarización de NaOH con biftalato de potasio  $1.2437 \times 10^{-3}$  M.

**Tabla 3.** Regresión lineal de rectas para la estandarización de NaOH con biftalato de potasio.

Estandarización	APE (0 a 6ml)	DPE (6.2 a 10ml)
<i>Pendiente</i>	45.952	50.398
<i>Ordenada al origen</i>	132.54	99.375
<i>R<sup>2</sup></i>	0.9971	0.9993

En la figura 7 se observa la curva de valoración: 1) conductividad medida (azul) y 2) conductividad corregida por efecto de dilución (naranjada). Para determinar el punto de equivalencia se utiliza la curva de conductividad corregida, ya que como su nombre lo indica, toma en cuenta el efecto de dilución que sufre el sistema al momento de adicionar el volumen de titulante, para ello se igualan las ecuaciones de las dos rectas (tabla 3) y se despeja el valor de volumen agregado, que para este caso fue 7.45 mililitros. Conociendo dicho volumen en el punto de equivalencia se calcula la concentración real de la disolución de NaOH que fue de 0.0167 M.

Valoración conductimétrica de captopril (materia prima)

Para conocer la cantidad de captopril en materia prima, se realizó la valoración conductimétrica utilizando la disolución de NaOH 0.0167 M en la posición del analito y la solución de captopril (materia prima) como valorante. Se midió la conductividad y calculó la conductividad corregida, la cual se graficó (figura 8).



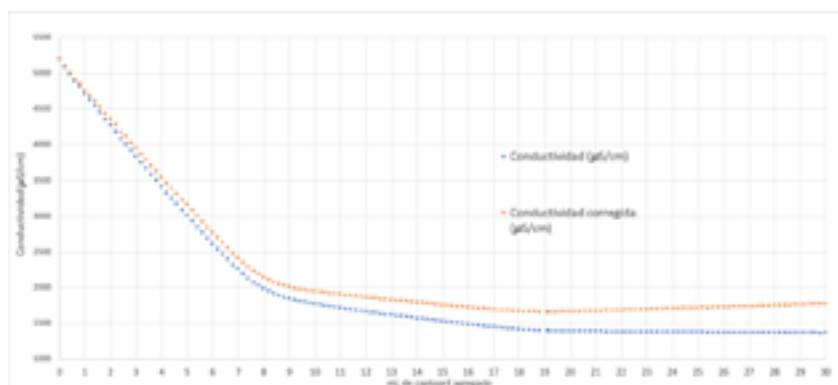


Figura 8. Curva de valoración conductimétrica de captopril (materia prima) con hidróxido de sodio 0.0167 M.

Como se observa en la figura 8, se tienen dos cambios de pendiente, correspondiente a los cambios de especie de captopril por pérdida de protón. Para la cuantificación se utiliza el primer cambio de pendiente. Esta desprotonación es debida a que el captopril es un ácido débil diprótico con valores de  $pK_a$  de 3.7 y 9.4 asociados a su grupo carboxilo

y tiol respectivamente (Ribeiro et al., 2003). Como se ilustra en la figura 9, al adicionar el captopril en la disolución de hidróxido de sodio sucede en primer lugar la desprotonación del grupo carboxilo, generando la primera especie desprotonada de captopril, pero en el momento que se genera dicha especie se produce la segunda desprotonación, del grupo tiol.

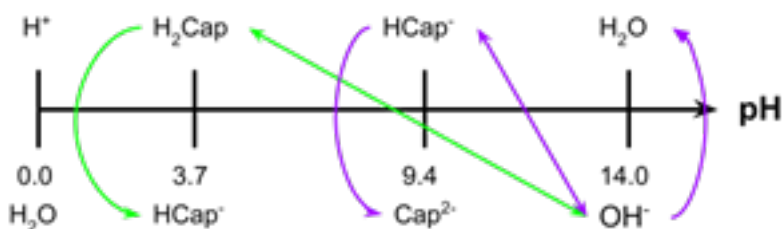


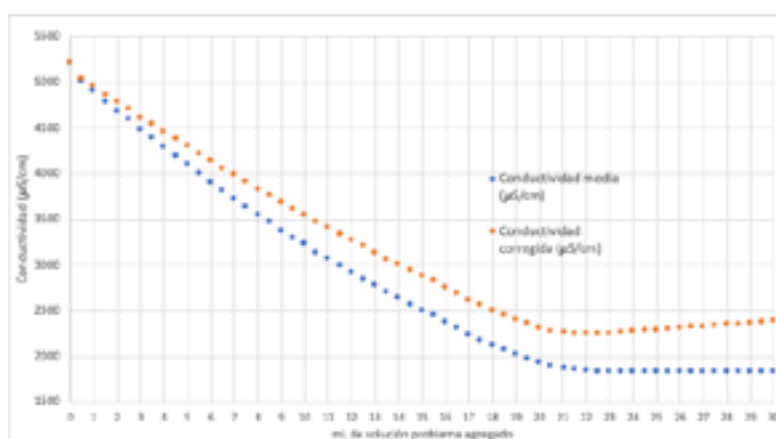
Figura 9. Escala de predicción de reacción para Captopril e hidróxido de sodio.

Tabla 4. Regresión lineal de las rectas de la curva de valoración conductimétrica de captopril con NaOH 0.0167 M.

Materia prima	APE (0 a 8.2mL)	DPE (8.4 a 17 mL)
<i>Pendiente</i>	386.77	37.325
<i>Ordenada al origen</i>	5123.7	2312.3
<i>R<sup>2</sup></i>	0.9979	0.9920

Para calcular el volumen al punto de equivalencia, se igualan las dos ecuaciones obtenidas (tabla 4) y se despeja el volumen de convergencia, el cual es de 8.045 mL. Con dicho volumen al punto de equivalencia se calcula la concentración real de la solución de captopril, la cual fue de 0.1038 M. Con la concentración de la solución y la cantidad de materia prima pesada se puede determinar la pureza de la materia prima, la cual es de 96.32%.

*Determinación de captopril en un medicamento.* Se realiza el mismo procedimiento mencionado para materia prima, pero ahora empleando un medicamento como muestra (Captopril Tensil, tabletas 25mg. Lote 2302136. Caducidad febrero 2025).



**Figura 10.** Curva de valoración conductimétrica de captopril (producto comercial) con hidróxido de sodio 0.0167 M.

La figura 10 muestra solamente dos rectas, debido a que como el primer punto de equivalencia presenta un cambio muy prominente de pendiente, es el que se utiliza para la cuantificación, por lo que no es necesario realizar la valoración completa de ambos protones, como ya se comentó en el apartado anterior.

Se igualaron las dos ecuaciones de recta obtenidas (tabla 5) y se obtuvo un volumen al punto de equivalencia de 20.73 mililitros. Con este volumen de equivalencia se determina la concentración de captopril en la solución problema, la cual fue de 0.0402 M. Con dicha concentración de la disolución, la cantidad de muestra medida y el peso promedio de las tabletas, se determina la cantidad de captopril por tableta, la cual es de 25.11 mg, el cual corresponde a un 100.45% con respecto al reportado en el marbete.





**Tabla 5.** Regresión lineal de las rectas para la valoración conductimétrica de captopril (medicamento).

Producto comercial	APE (0 a 20 ml)	DPE (21 a 30 ml)
<i>Pendiente</i>	114.9	18.31
<i>Ordenada al origen</i>	4592.6	1831
<i>R<sup>2</sup></i>	0.9926	0.9999

## Conclusiones

Se realizó la cuantificación de captopril mediante una valoración conductimétrica con base en sus propiedades ácido-base tanto en una muestra comercial como en materia prima. Se observó que es posible visualizar los dos puntos de equivalencia asociados a sus valores de pKa, siendo el primer punto de equivalencia el mejor para realizar la cuantificación debido a que el cambio de pendiente es más prominente.

Con respecto a la muestra comercial se obtuvo que contiene 25.11mg/tableta cumpliendo las especificaciones indicadas en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2018) que indican que el contenido debe estar en el intervalo de 90 % a 110 % al reportado en el marbete y este caso fue del 100.45 %. En cuanto a la materia prima, su pureza es elevada (96.32 %) por lo que sería adecuado su uso para la producción de medicamentos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNAM por el apoyo a la cátedra de investigación CI2244 (FESC) y al proyecto DGAPA PAPIME PE209023.

## Referencias

Brunatti, C., & De Nápoli, H. (2013). Titulaciones Conductimétricas. Recuperado de: [http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Titulaciones% 20Conductimetricas. pdf](http://materias.fi.uba.ar/6305/download/Titulaciones%20Conductimetricas.pdf)

Cáñez-Carrasco, M. G., García-Alegría, A. M., Bernal-Mercado, A. T., Federico-Pérez, R. A., & Wicochea-Rodríguez, J. D. (2011). Conductimetría y titulaciones, ¿cuándo, por qué y para qué? Educación química, 22(2), 166–169. [https://doi.org/10.1016/s0187-893x\(18\)30129-0](https://doi.org/10.1016/s0187-893x(18)30129-0)

Katzung, B; Masters, S; Trevor, A (2012). Farmacología básica y clínica. McGraw Hill.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2018). 12º Edición. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. México, Ciudad de México. Pág 1295,2207.



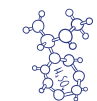
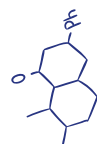
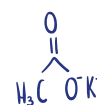
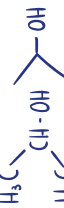
Oliveira Rossini, P., Felix, F., & Angnes, L. (2012). A simple and precise conductometric method for the determination of losartan in pharmaceutical products. *Open chemistry* 10(6), 1842–1849. <https://doi.org/10.2478/s11532-012-0110-6>

PubChem. (s/f). Captopril. Nih.gov. Recuperado el 11 de agosto de 2023, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Captopril>

Ribeiro, P. R. da S., Santini, A. O., Pezza, H. R., & Pezza, L. (2003). Potentiometric determination of captopril in pharmaceutical formulations. *Eclética Química Journal*, 28(1), 39–44. <https://doi.org/10.1590/s0100-46702003000100005>

Skoog, D., & West, D. (2014). *Fundamentos de Química Analítica*. Cengage Learning Editors.

Vaccinationist. (2015, diciembre 12). File: Captopril structure.svg. Wikimedia.org. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Captopril\\_structure.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Captopril_structure.svg)





# DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES EN MUESTRAS DE ORIGEN AGRÍCOLA

*Juan Carlos López Zárate<sup>1</sup>, Alma Luisa Revilla Vázquez<sup>1\*</sup>, Pablo Hernández Matamoros<sup>1</sup>, Mayte Stefany Jiménez Noriega<sup>2</sup>, Alejandro De la Rosa Tilapa<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Sección de química analítica, <sup>2</sup> Sección de morfológicas y agropecuarias, FES-C, UNAM, México.

[juan.lopez.zarate10@gmail.com](mailto:juan.lopez.zarate10@gmail.com), [almarv@unam.mx](mailto:almarv@unam.mx), [pablohdz@unam.mx](mailto:pablohdz@unam.mx), [mayte.jimenez@cuautitlan.unam.mx](mailto:mayte.jimenez@cuautitlan.unam.mx), [alejandrolarosatilapa@gmail.com](mailto:alejandrolarosatilapa@gmail.com)

## Resumen

Los plaguicidas son productos químicos utilizados para el cuidado de cultivos; la aplicación inadecuada de estos se ha convertido en una actividad altamente riesgosa. Se optimizó un método analítico para identificar cuatro plaguicidas mediante cromatografía de gases, para determinar la presencia y/o concentración de estos en muestras orgánicas, se establecieron condiciones de trabajo específicas, se realizaron aplicaciones de atrazina y glufosinato de amonio a muestras de zanahoria y de malatión y propamocarb a muestras de jitomate. Se realizaron estudios de recobro y se determinó el porcentaje aún presente de los analitos; se analizó las muestras reales para determinar el rango de concentraciones óptimo para la curva de calibración para atrazina y malatión. Se observó presencia de propamocarb y malatión en la muestra de jitomate, y glufosinato y atrazina en la de zanahoria; se encontró una concentración de atrazina de 6.10 ppm y una concentración de malatión de 4283 ppm.

**Palabras clave:** desarrollo de método, plaguicida, detección, cuantificación, agrícola, cromatografía.

## Antecedentes

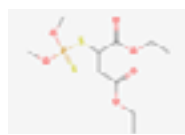
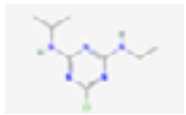
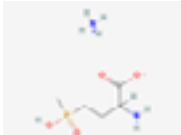
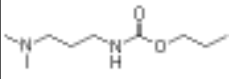
En la actualidad, existen pruebas abrumadoras de que el uso agrícola de los plaguicidas tiene efectos negativos en la calidad del agua y provoca serias consecuencias ambientales; además, los plaguicidas pueden tener importantes consecuencias en la salud humana (FAO, 1997). Los plaguicidas a su vez se pueden transformar, bajo diversas condiciones ambientales, en una gran cantidad de subproductos o productos de degradación, que pueden ser tan tóxicos y persistentes como los plaguicidas originales (Tang et al, 2014, Rodrigo Fernández, 2018).

El presente trabajo tiene como objetivo el desarrollo de un método cromatográfico adecuado para la separación, identificación y/o cuantificación de atrazina (ATZ), glufosinato de amonio (GLA), malatión (MLT) y propamocarb (PCB), ampliamente usados en la agricultura en México utilizando CG con FID en muestras de jitomate y zanahoria. Para esta investigación se realizó la búsqueda de muestras de origen agrícola que tuvieran como característica ser comunes en el consumo de la población mexicana, tener una fenología similar, y que fueran adecuadas para los plaguicidas seleccionados en base al uso de estos últimos. Es así cómo se optó por utilizar muestras de jitomate y de zanahoria, ya que ambos productos son altamente consumidos, cumplen con la característica de tener una fenología similar, siendo esta de 120-140 días para ambas, además de una aplicación de plaguicidas a los 60 días.

MLT es una sustancia química manufacturada de tipo insecticida que se encuentra en el ambiente solamente como resultado de su manufactura o uso; ATZ es el nombre común de un herbicida selectivo ampliamente usado, principalmente, en fincas; GLA es otro herbicida no selectivo con acción sistémica parcial; y PCB es un plaguicida de tipo fungicida que se aplica como inmersión.

En la técnica de cromatografía de gases (CG) se requiere que los compuestos analizados cumplan con dos características esenciales, tener un punto de ebullición menor a los valores de temperatura máximos permitidos por la columna cromatográfica (350°C), y que los compuestos sean termoestables. Los analitos cumplen con las características mencionadas en la tabla 1 (Chemnet, s.f.).

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas de los analitos

Plaguicida	MLT	ATZ	GLA	PCB
Estructura				
Punto de ebullición (°C)	156-157	205	117	256.8

## Objetivo

Desarrollar un método analítico, mediante cromatografía de gases, para identificar y/o cuantificar plaguicidas ampliamente utilizados en la agricultura mexicana, para establecer la concentración remanente en muestras agrícolas cultivadas en el jardín botánico de la FESC.



## Parte experimental

**Disolventes:** acetato de etilo (99.8% pureza), acetonitrilo (99.5% pureza), acetona (99.6% pureza), agua destilada.

**Productos comerciales:** Callisto Xtra® (34.52% equivalente a 383.6g de atrazina + 60g de mesotrione), Gesaprim Calibre 90® (90% equivalente a 900g/L de atrazina), Agrofusinato Forte® (18.40% equivalente a 200g/L de glufosinato de amonio), Malation 500® (48.6% equivalente a 500g/L de malatión), Previcur Energy® (47.20% equivalente a 530g/L de propamocarb).

**Estándares primarios:** Cafeína (Merck Millipore), ATZ 100 ppm en acetonitrilo, GLA 100 ppm en agua, MLT 1000 ppm en tolueno, PCB 1000 ppm en acetona.

**Reactivos para cultivo de las muestras:** Semillas de jitomate tipo Saladet (ERGO Standard), semillas de zanahoria (ERGO Standard), tierra preparada para cultivos (Ekologi).

**Equipos cromatográficos:** GC 910 con detector FID (Buck), columna DB-5GC-2010, peaksimple versión 3.2plus. CG-FID (Shimadzu) columna ZB-WAX, LabSolutions CS.

**Configuración para equipo cromatográfico Shimadzu:** Temperatura inyector = 240°C, modo inyección Splitless, Flujo de N<sub>2</sub> = 3.0 mL/min, flujo de purga = 3.0 mL/min, Temperatura detector = 240°C; flujo de H<sub>2</sub> = 40 mL/min, flujo de aire = 400 mL/min, flujo make-up (N<sub>2</sub>) = 30 mL/min.

Se evaluaron por separado diferentes condiciones para el análisis cromatográfico para obtener una correcta separación de los plaguicidas variando diversos parámetros fisicoquímicos, los cuales fueron: rango aceptable de concentración de los plaguicidas, equipo cromatográfico, columna cromatográfica, disolvente, volumen de inyección, gradiente de temperatura, estándar interno (EI), etc.

En la segunda parte se sembraron 12 lotes de jitomate y 4 lotes de zanahoria, de los cuales se dispuso 1 lote control por cada 3 lotes con plaguicida; se monitoreó los cultivos de jitomate y de zanahoria hasta la visualización de los primeros frutos/raíces para justo en seguida, aplicar los plaguicidas MLT y PCB a los 9 lotes de jitomate, y durante dos semanas ATZ y GLA a los 3 lotes de zanahoria. Se evaluó el mejor tratamiento de la muestra evaluando la cantidad absorbida y el tiempo empleado, además del disolvente de aforo donde una muestra de jitomate y de zanahoria fueron fortificados con los plaguicidas correspondientes a cada vegetal a una concentración de 3000 ppm.

Posteriormente, se llevaron a cabo los análisis a soluciones de referencia a 5000 ppm cada uno, y de la muestra control y fortificada con MLT y ATZ a 5000 ppm, para determinar el porcentaje de recobro por triplicado y reproducibilidad del tratamiento de la muestra.



Finalmente, se analizaron las muestras cultivadas y se obtuvieron los resultados de Área bajo la curva (ABC) para cada plaguicida; se realizó el cálculo pertinente para estimar con base en este valor, la concentración real de los plaguicidas en cada muestra, utilizando como base soluciones de referencia a 5000 ppm. A través del valor encontrado de concentración para los plaguicidas, se realizó el análisis de un triplicado de curvas de calibración, y se comprobó que la concentración de los analitos estuviera dentro del rango de estas. Se constató además con el uso de estándares primarios, la presencia de los picos de interés de los analitos mediante la comparación de los cromatogramas.

## Resultados y discusión

Se evaluaron diferentes pruebas para determinar condiciones óptimas para la experimentación, donde en cada una se consideró semi-cualitativamente diferentes respuestas observadas.

La primera condición evaluada fue el rango de concentraciones de trabajo, donde se evaluó la forma de los picos, así como la resolución entre las señales. Se estableció el intervalo de concentraciones (tabla 2) donde se observaron picos sin deformaciones y completamente resueltos.

**Tabla 2.** Intervalo de concentración óptimo para cada plaguicida

Plaguicida	MLT	ATZ	GLA	PCB
<b>Conc mínima (ppm)</b>	50	200	5000	3000
<b>Conc máxima (ppm)</b>	10000	4000	15000	10000

Se evaluaron dos cromatógrafos diferentes, observándose mejor detección de los picos de los analitos en el equipo de Shimadzu puesto que se presentaban mayores valores de ABC para los picos observados, mientras que para determinar la mejor columna se realizaron análisis con dos columnas diferentes en el equipo Shimadzu, logrando una separación con la columna ZB-WAX (columna medianamente polar), pero fue mejor al emplear una columna DB-5 (poco polar), donde se observó una separación correcta de los plaguicidas, y una resolución mayor entre GLA con respecto al pico del disolvente (tabla 3). Lo anterior se debe a la diferencia de polaridad existente de GLA con la composición de la columna, así como la afinidad presente de los plaguicidas con la misma, lo cual se ve reflejado en una menor retención para GLA y MLT.



**Tabla 3.** Comparación de resultados entre las columnas evaluadas

Reactivo	ZB-WAX		DB-5	
	GLA	Disolvente	GLA	Disolvente
$T_R$ (min)	4.766	1.883	3.537	2.022
w (min)	0.233	2.833	0.076	0.300
Rs	1.88	-	8.06	-

Para elegir el disolvente se consideraron: agua, acetona y acetonitrilo, evaluando de forma cualitativa la separación de una mezcla de los plaguicidas a 5,000 ppm. Al disolver en agua se obtuvo un cromatograma con excesivo ruido y la extinción de la flama del detector durante el análisis, la única ventaja es que no se obtiene un pico del disolvente. Para el caso de acetonitrilo y acetona se obtuvo una separación similar, pero la acetona tuvo la ventaja de que se observaron picos más altos, por lo que se seleccionó como el disolvente óptimo.

Para el volumen de inyección, se toma en cuenta el ABC de los picos de la misma solución de GLA a 5000 ppm y se comparan inyecciones de 1 y 2 microlitros (tabla 4). Se determinó que, al trabajar con un menor volumen de inyección, se obtiene un mejor resultado, ya que se obtiene proporcionalmente el doble de ABC al duplicar el volumen, pero lo mismo ocurre con el pico del disolvente, el cual incrementó su tamaño y puede generar traslapes con los picos cercanos.

**Tabla 4.** Pruebas de volumen de inyección óptimo para la experimentación

	1 microlitro	2 microlitros
ABC (disolvente)	125,215	248,201
ABC (GLA)	3,894	8,348

Posteriormente, a fin de lograr la separación, se evaluaron cinco diferentes gradientes de temperatura para la misma mezcla de los plaguicidas a 5,000 ppm en acetona. Se eligió el siguiente programa de temperatura: 40°, 0 min; 10°C/min; 65°C, 0 min; 5°C/min; 75°C, 0 min; 2°C/min; 130°C, 0 min; 25°C/min; 155°C, 0 min; 5°C/min; 200°C, 0 min; 6°C/min; lo anterior, debido a que se obtuvo la mejor resolución de entre todos los resultados obtenidos

Finalmente, se evaluó a la cafeína como estándar interno (EI), debido a su accesibilidad y principalmente a su punto de ebullición, el cual se reporta de 178°C (National Center for Biotechnology Information, 2023). Se analizó la separación de la mezcla de los plaguicidas con cafeína, para confirmar que la cafeína no se traslapa con ninguno de los picos de interés. Al tener un TR distinto a los analitos (tabla 5) y un pico eficiente, se considera el EI adecuado.





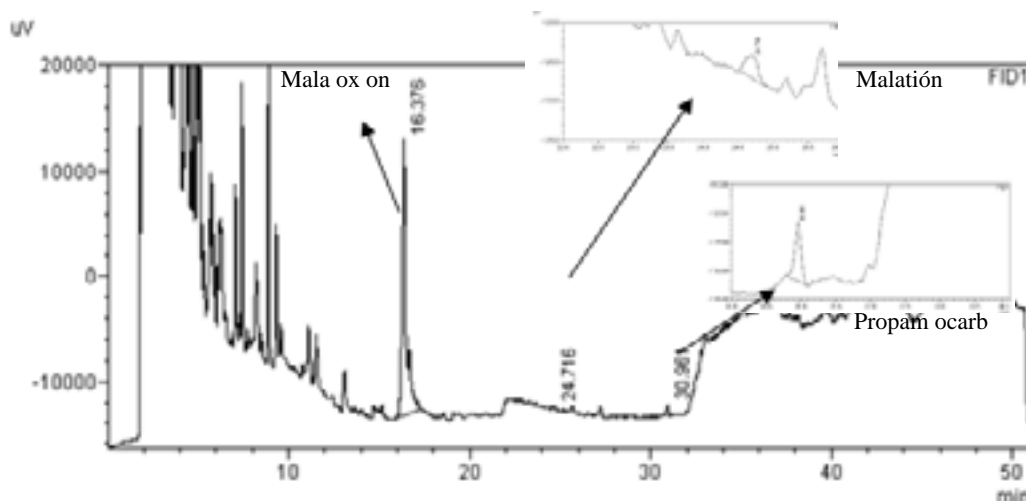
Como se observa en la Tabla 6, el %CV es pequeño, por lo que el método de extracción es reproducible, aunque el porcentaje de recobro no sea muy alto. A continuación, se analizaron tres muestras aleatorias cosechadas que fueron dosificadas de 3.19 ppm de MLT durante una semana y 1.2 ppm de ATZ durante dos semanas (tabla 7; figuras 2 y 3)

Para el cálculo del  $ABC_{real}$  del plaguicida en la muestra, considerando el recobro del método de extracción se usa la ecuación:

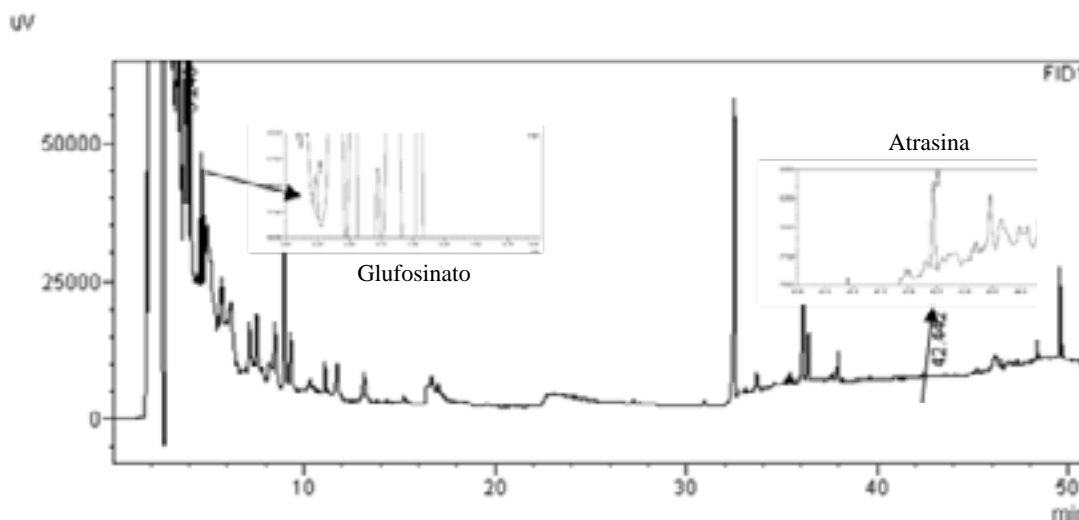
$$ABC_{cosecha} \left( \frac{100\%}{Recobro} \right)$$

**Tabla 7.** Determinación de ABC de MLT y de ATZ en las muestras reales

Análisis de muestra	MLT + MLX			ATZ		
	$ABC_{cosecha}$	Recobro (%)	$ABC_{real}$	$ABC_{cosecha}$	Recobro (%)	$ABC_{real}$
1	407,670	27.85	1,463,806.10	2,339	55.30	4,229.66
2	413,985	27.85	1,486,481.15	2,604	55.30	4,708.86
3	537,729	27.85	1,930,804.31	2,504	55.30	4,528.03
			<b>1,627,030.52</b>	<b>Promedio</b>		<b>4,488.85</b>
	<b>263,320.01</b>	<b>Desviación estándar</b>		<b>241.99</b>		
	<b>16.18</b>	<b>C.V. (%)</b>		<b>5.39</b>		



**Figura 2.** Cromatograma para el análisis de una muestra de jitomate cultivado y dosificado con MLT y PCB.



**Figura 3.** Cromatograma del análisis de una muestra de zanahoria cultivada y dosificada con ATZ y GLA.

El CV para la determinación de ATZ en zanahoria es cercano al 5%, lo cual se considera adecuado, aunque para MLT en jitomate es más alto, por tratarse de muestras de alimento y compuestos volátiles, se considera dentro de lo aceptable.

Para determinar la concentración real de los plaguicidas en las muestras cosechadas (tabla 8), se utilizó nuevamente a las ABC de las soluciones de referencia a 5000 ppm y la fórmula siguiente.

**Tabla 8.** Determinación de la concentración de MLT y de ATZ en las muestras reales

Analito	ABC <sub>real</sub>	ABC <sub>referencia</sub>	Conc. (ppm)
ATZ	4,488.85	3,677,726	6.10
MLT	1,627,030.52	1,899,336	4283.16

### Conclusiones

Se desarrolló un método capaz de evaluar de forma cuantitativa ATZ y MLT y de forma cualitativa GLA y PCB, en el que se establecieron condiciones óptimas de trabajo, así como la viabilidad de la cuantificación para MLT y ATZ obteniendo un porcentaje de recobro de 27.85 y 55.30 % respectivamente, y de la detección para PCB y GLA; se logró determinar en las muestras una concentración de MLT de 4283.16 ppm y de ATZ de 6.10 ppm.





## Agradecimientos

Los autores agradecen a la FESC UNAM por el apoyo a la cátedra de investigación CI2244.

## Referencias

Chemnet. (s.f.). 24579-73-5 Propamocarb. Consultado 11 enero 2023 en: <https://www.chemnet.com/cas/es/24579-73-5/Propamocarb.html>

FAO. (1997). Los plaguicidas, en cuanto contaminantes del agua. en Lucha Contra la Contaminación Agrícola de Los Recursos Hídricos (Estudios FAO: Riego y Drenaje) (Spanish Edition). FAO.

Kataoka, H., Ryu, S., Sakiyama, N., & Makita, M. (1996). Simple and rapid determination of the herbicides glyphosate and glufosinate in river water, soil and carrot samples by gas chromatography with flame photometric detection. *Journal of Chromatography A*, 726(1-2), 253-258. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)01071-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)01071-8)

Narain, N. K., Lewis, C. C., & Latheef, M. A. (1981). Gas chromatographic estimation of malathion in seven vegetables. *Journal of Environmental Science and Health Part B-pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 16(1), 75-81. <https://doi.org/10.1080/03601238109372241>

Rodrigo Fernández, A. (2018). Determinación de pesticidas en alimentos mediante la técnica de cromatografía de gases. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Educación a Distancia. España. Disponible en: [http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Arodrigo/Rodrigo\\_Fernandez\\_Ana\\_TFM.pdf](http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Arodrigo/Rodrigo_Fernandez_Ana_TFM.pdf)

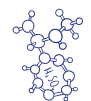
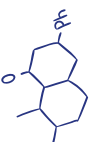
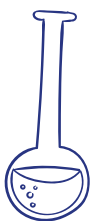
Hojas de seguridad consultadas en National Center for Biotechnology Information (2023):

ATZ - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atrazine>

CAFEÍNA - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeine>

GLUFOSINATO - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glufosinate-Ammonium>

MALATIÓN - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malathion>



# DETERMINACIÓN DE CAPTOPRIL MEDIANTE UNA TITULACIÓN POTENCIOMÉTRICA

*Diego Antonio Labrada Barcenas, Alma Luisa Revilla Vázquez\*,*

*Pablo Hernández Matamoros*

*Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, México,*

*[316269652@cuautitlan.unam.mx](mailto:316269652@cuautitlan.unam.mx), [almarv@unam.mx](mailto:almarv@unam.mx), [pablohdez@unam.mx](mailto:pablohdez@unam.mx)*

## Resumen

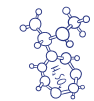
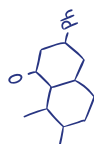
El captopril es un compuesto de suma importancia que se encuentra en diversas formulaciones farmacéuticas de uso común para las personas que sufren hipertensión. Se plantea la factibilidad de realizar la determinación de contenido mediante una valoración potenciométrica con el fin de estudiar el comportamiento ante diferentes soluciones titulantes, de manera que se evalúen sus propiedades fisicoquímicas tanto del tipo ácido-base como redox.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la valoración con oxidantes fuertes tipo permanganato o dicromato de potasio no generan los mejores resultados debido a que el producto de la reacción de oxidación del captopril puede tratarse tanto de un ácido sulfinico, como de un ácido sulfénico o un ácido sulfónico. Por otro lado, la valoración con un complejo de Cu(II)-neocuproina permite oxidar al captopril para obtener únicamente a su respectivo disulfuro a partir de una estequiometría conocida y realizar la cuantificación, al igual que con la valoración ácido-base.

**Palabras clave:** titulación potenciométrica, captopril, tiol, disulfuro, oxidación.

## Antecedentes

La reacción mayoritariamente utilizada para cuantificar compuestos que poseen un grupo tiol, como el captopril (Cap) es la que se lleva a cabo en la presencia de iones Cu(II), que permite la determinación indirecta mediante mediciones espectrofotométricas de la señal del cobre que queda sin reaccionar debido al exceso adicionado de este (fig. 1). (Gouda et al., 2010)





Compuesto con grupo tiol + cobre → disulfuro + mercaptano de Cu

**Figura 1.** Reacción del grupo tiol con iones Cu(II). (Gouda et al., 2010)

El Cap es el ácido-(2S)-1-[(2S)-2-metil-3-sulfanilpropanoil]pirrolidina-2-carboxílico, un fármaco ampliamente utilizado para combatir la hipertensión arterial esencial o renovascular, actuando como inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (IECA). En adición, puede usarse para tratar la insuficiencia cardíaca congestiva en combinación con otros medicamentos y puede mejorar la supervivencia en pacientes con disfunción ventricular izquierda después de un infarto de miocardio, además de usarse para tratar la nefropatía, incluida la nefropatía diabética. (National Center for Biotechnology Information, 2023)

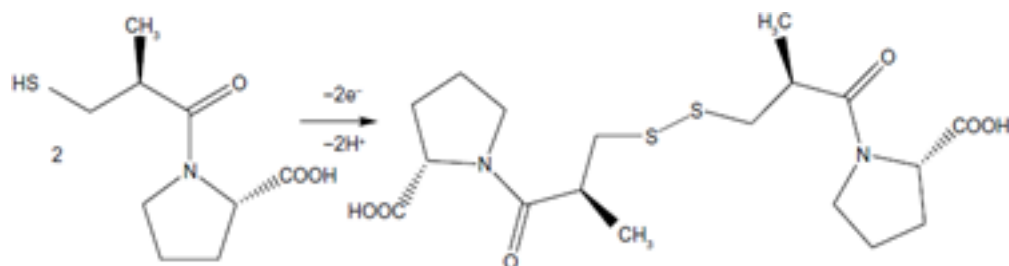
Se han reportado distintos métodos cuantitativos para la determinación de Cap; Gouda et al. (2010), describen un método espectrofotométrico indirecto basado en la reacción con el complejo Cu(II) y neocuproína (Neo), es decir,  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ , en buffer de acetato a pH 5.0, donde se produce el complejo cuproso  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  mediante una reacción de óxido-reducción (fig. 2), el cual permite la cuantificación a una longitud de onda de máxima absorción de 448 nm.

En presencia del ligante Neo se evita la precipitación del mercaptano de Cu(I), formando en su lugar al complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  (fig. 2) con una coloración amarilla característica tras una reacción que toma alrededor de dos minutos en completarse. (Gouda et al., 2010)



**Figura 2.** Reacción del grupo tiol con el complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ . (Gouda et al., 2010)

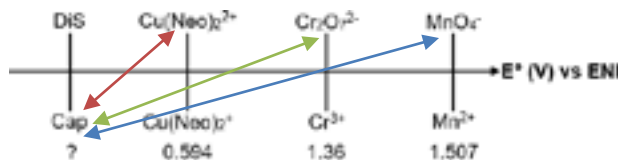
Por otro lado, el Cap puede sufrir una reacción de oxidación para generar el respectivo disulfuro (DiS) (fig.3).



**Figura 3.** Oxidación del captopril. (Pogacean et al., 2014)

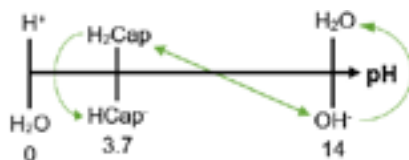


Particularmente, el potencial estándar de reducción del par redox correspondiente no se encuentra reportado, sin embargo, se espera que este sea inferior a 0.594 V (fig. 4), es decir, menor al potencial reportado para el par  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$  según Byrnes et al. (1992), pues según Gouda et al. (2010) la reducción del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$  a partir de una reacción redox con Cap es posible.



**Figura 4.** Escala de predicción de reacciones redox.

Finalmente, se tiene que el Cap se trata de un ácido débil diprótico cuyos valores de  $\text{pK}_a$  reportados son 3.7 (carboxilo) y 9.8 (tiol), (Ribeiro et al., 2003). No obstante, no es posible obtener un punto de inflexión perceptible a partir del segundo punto de equivalencia en titulaciones ácido-base, puesto que el grupo tiol actúa como un ácido débil. Por lo tanto, únicamente puede efectuarse una cuantificación mediante una curva de titulación potenciométrica a partir del primer punto de equivalencia (figura 5). (Ribeiro et al., 2003)



**Figura 5.** Escala de predicción de reacción para Cap e hidróxido de sodio.

## Objetivo

Determinar la factibilidad de la determinación de captopril mediante una titulación potenciométrica a partir de una reacción redox versus una reacción ácido-base que permita la cuantificación de captopril en materia prima o medicamentos comerciales con vías a su control de calidad.





## Parte experimental

Tabla 1. Material, equipo y reactivos empleados.

Material	Equipo	Reactivos
Matraces volumétricos de 20, 25, 50, 100 y 200 mL	Balanza analítica BOECO Germany	Acetato de sodio, ácido acético glacial y sulfúrico, sulfato cúprico, clorhidrato de neocuproína, permanganato de potasio, dicromato de potasio, J. T. Baker
Vasos de precipitado de 30, 50, 100 y 250 mL	Electrodo combinado de Pt y AgCl/Ag Oakton	
Pipetas volumétricas de 0.5, 3, 5, 6 y 10 mL	Potenciómetro HINOTEK modelo PHS-3E pH Meter	Hidróxido de sodio High Purity. Biftalato de potasio (recristalizado)
Pipetas graduadas de 5, 10 y 20 mL	Electrodo combinado de vidrio SensoreX	Sulfato ferroso amoniacal, Mallinckrodt
Buretas de 10 y 25 mL	Potenciómetro sensION modelo PH31	Captopril, Alpha

### Titulación con el complejo $Cu(Neo)_2^{2+}$ .

Se prepararon disoluciones de sulfato cúprico 0.0125 M y clorhidrato de neocuproína 0.05 M para preparar una disolución del complejo  $Cu(Neo)_2^{2+}$   $1.25 \times 10^{-3}$  M que se empleó para titular una disolución de Cap de concentración aproximada  $3.125 \times 10^{-4}$  M. Además, se valoró una disolución de  $Cu(Neo)_2^{2+}$ , preparada a partir de 0.0125 M de sulfato cúprico y clorhidrato de neocuproína 0.05 M, con una disolución de Cap aproximadamente  $5 \times 10^{-3}$  M. Todas las disoluciones se prepararon disolviendo y aforando en buffer de acetato 0.2 M a pH de 5. Se registraron lecturas de potencial tras 2 min de cada adición.

### Titulación con hidróxido de sodio.

Se preparó una disolución de hidróxido de sodio 0.02 M que se estandarizó a partir de la titulación potenciométrica de una disolución  $5 \times 10^{-3}$  M de biftalato de potasio, y posteriormente se empleó para titular una disolución de Cap aproximadamente  $5 \times 10^{-3}$  M. El pH del sistema se registró tras cada adición.

### Titulación con permanganato de potasio.

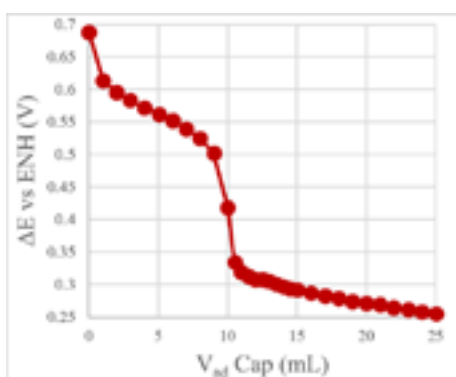
Se preparó una disolución de permanganato de potasio  $2.0 \times 10^{-3}$  M que se estandarizó a partir de la titulación potenciométrica de una disolución  $2.0 \times 10^{-3}$  M de sulfato ferroso amoniacal, y posteriormente se empleó para titular una disolución de Cap aproximadamente  $2.0 \times 10^{-3}$  M. Se ajustó el pH de todas las disoluciones a cero empleando ácido sulfúrico y el potencial del sistema se registró tras 2 min de cada adición.

### Titulación con dicromato de potasio.

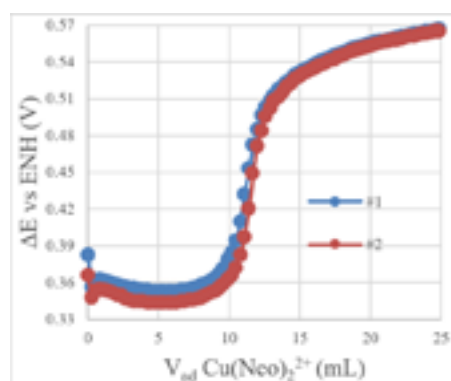
Se preparó una disolución de dicromato de potasio  $2.0 \times 10^{-3}$  M que se estandarizó a partir de la titulación potenciométrica de una disolución  $2.4 \times 10^{-3}$  M de sulfato ferroso amoniacal, y posteriormente se empleó para titular una disolución de Cap aproximadamente  $2.4 \times 10^{-3}$  M. Se ajustó el pH de todas las disoluciones a cero empleando ácido sulfúrico y el potencial del sistema se registró tras 2 min de cada adición.

### Resultados y discusión

Una vez preparadas las soluciones de captopril materia prima y del complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ , se hizo la valoración en ambos sentidos posibles (figuras 6 y 7) y por otro lado, la valoración con hidróxido de sodio (figura 8), esta última, basada en el trabajo de Ribeiro et al. (2003).



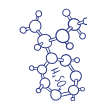
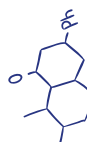
**Figura 6.** Curva de titulación de  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$  con Cap.

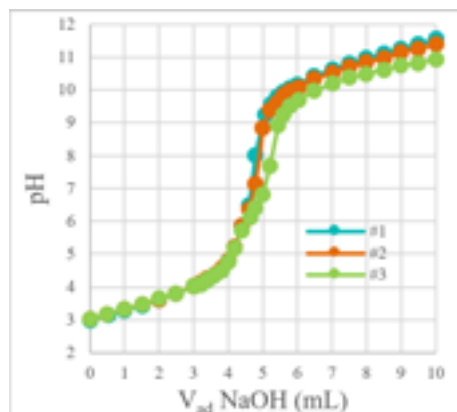


**Figura 7.** Curva de titulación de Cap con  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ .

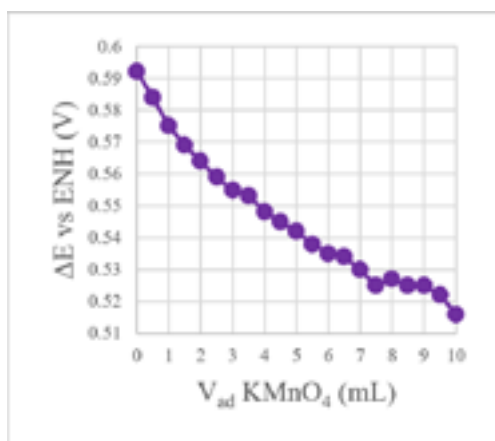
Para la titulación con el complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$  y con hidróxido de sodio (por triplicado), se obtuvieron curvas típicas sigmoideas con puntos de inflexión apreciables en un volumen adicionado de titulante, aproximado a lo esperado según la estequiometría de la reacción asociada en cada caso (figura 9).

Sin embargo, para la titulación con agentes oxidantes comunes como lo son los iones permanganato (figura 9) y dicromato (fig. 10), se obtuvieron resultados no previstos. Específicamente, la titulación con permanganato no permitió observar un punto de inflexión, mientras que la titulación con dicromato presentó un punto de inflexión a un volumen adicionado no planeado, según las reacciones redox y estequiometrías correspondientes esperadas en ambos casos.

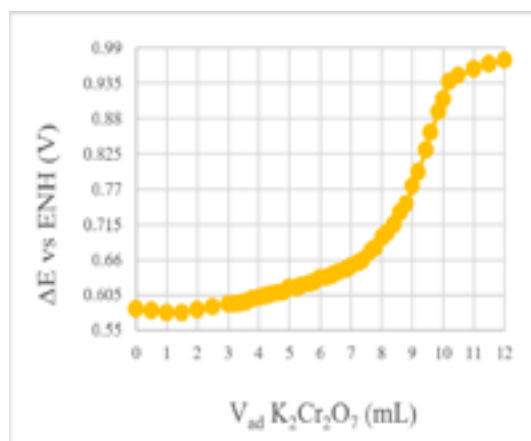




**Figura 8.** Curva de titulación de Cap con NaOH.

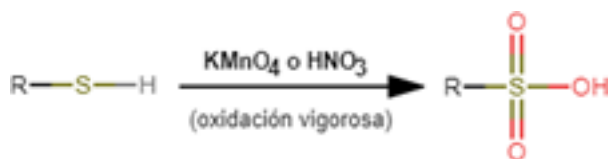


**Figura 9.** Curva de titulación Cap con  $\text{KMnO}_4$



**Figura 10.** Curva de titulación de Cap con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

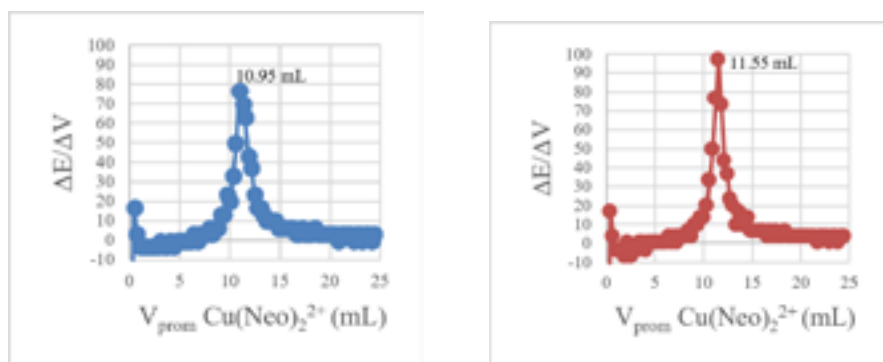
Tal y como se señaló con anterioridad, las titulaciones de Cap empleando permanganato y dicromato impidieron obtener una curva de titulación coherente con los resultados esperados según la estequiometría de las reacciones redox asociadas. Lo anterior permite inferir que durante estas operaciones no se efectuó solamente la reacción esperada, o bien, hubo alguna interferencia. Por lo tanto, es posible que durante estas titulaciones haya ocurrido una oxidación vigorosa del Cap (figura 11) debido a la alta capacidad oxidante que el permanganato y el dicromato poseen en relación al complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ . La oxidación vigorosa de tioles para la formación de ácido sulfénico, ácido sulfínico o ácido sulfónico se encuentra reportada.



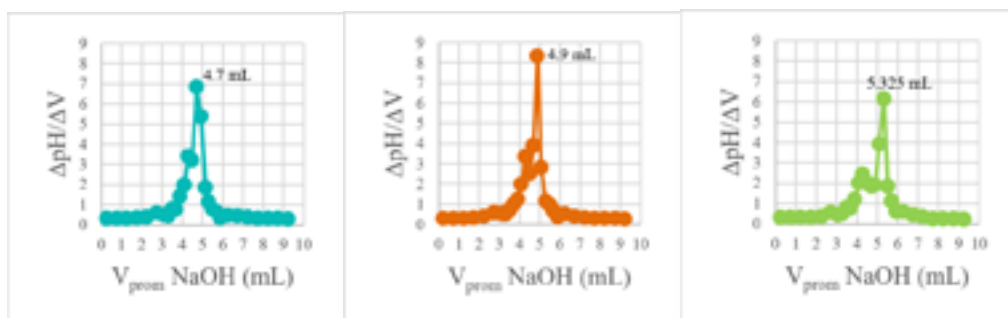
**Figura 11.** Formación de ácido sulfónico a partir de un tiol. (Wade, Jr. L., 2011)

Determinación del contenido de captopril en la muestra de materia prima.

Con los resultados de las titulaciones realizadas con el complejo  $Cu(Neo)_2^{2+}$  e hidróxido de sodio, se calcula con el volumen al punto de equivalencia respectivo (figuras 12 y 13) el contenido de Cap en la muestra analizada (tabla 2).



**Figura 12.** Primera razón de cambio para las curvas de titulación de Cap con  $Cu(Neo)_2^{2+}$ .



**Figura 13.** Primera razón de cambio para las curvas de titulación de Cap con hidróxido de sodio.



**Tabla 2. Resultados de la cuantificación de Cap.**

Titulación de Cap	% Pureza (materia prima)
Con $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$	89.87 % $\pm$ 3.39 %
Con hidróxido de sodio	100.75 % $\pm$ 6.46%

Debido a que existen diferencias significativas entre ambas titulaciones se procederá a realizar un mayor número de repeticiones, controlando temperatura, agitación y tiempo de lectura.

Estimación del potencial estándar condicional experimental para los pares redox involucrados.

Se estableció la ecuación de Nernst que define el potencial al equilibrio antes y después del punto de equivalencia en cada titulación, y se hizo el análisis de regresión lineal respectivo (tabla 3).

**Tabla 3. Análisis de regresión lineal obtenidos para la determinación del  $E^\circ$  del par respectivo.**

Titulación		Par redox presente al equilibrio	Pendiente (V)	Ordenada al origen (V)
$\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ con Cap	Antes del punto de equivalencia	$\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$	0.0592	0.5598
	Después del punto de equivalencia	DiS/Cap	0.0284	0.4942
Cap con $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ #1	Antes del punto de equivalencia	DiS/Cap	0.0227	0.4970
	Después del punto de equivalencia	$\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$	0.0685	0.5601
Cap con $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ #2	Antes del punto de equivalencia	DiS/Cap	0.0234	0.4946
	Después del punto de equivalencia	$\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$	0.0639	0.5613

En todos los casos la ordenada al origen corresponde con el potencial estándar condicional experimental del par redox que impone el potencial al equilibrio. A partir de ello se estiman los potenciales estándar condicionales (tabla 4).

**Tabla 4. Potenciales estándar condicionales experimentales estimados.**

Titulación	$E^\circ$ DiS/Cap (ENH)	$E^\circ$ $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Neo})_2^+$ (ENH)
$\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$ con Cap	0.4942	0.5598
Cap con $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$	0.4970	0.5601
Cap con $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$	0.4946	0.5613
<b>PROMEDIO</b>	<b>0.4953</b>	<b>0.5604</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>0.0015</b>	<b>0.0008</b>



## Conclusiones

Se determinó la factibilidad de realizar la determinación potenciométrica de captopril utilizando el complejo  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$  como valorante y un 90 % del contenido esperado en la materia prima. Además, no fue posible realizar la determinación empleando permanganato de potasio y dicromato de potasio, pues su alta capacidad oxidante ocasiona que ocurra la oxidación vigorosa del captopril, por lo que el uso de  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$  como titulante es mejor opción.

También se realizó la determinación de la misma muestra mediante una titulación potenciométrica con hidróxido de sodio, encontrando un contenido ligeramente mayor, esto debido a la mayor cuantitatividad de la reacción ácido-base.

Por otro lado, se pudieron determinar experimentalmente los valores para los potenciales condicionales estándar del captopril y del complejo, iguales a 0.4953 V y 0.5604 V vs ENH, respectivamente.

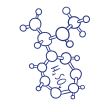
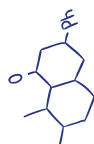
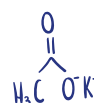
Finalmente, se propone llevar a cabo más estudios que permitan corroborar los resultados obtenidos, pues en la literatura no se encuentra reportado el uso de la reacción del captopril con  $\text{Cu}(\text{Neo})_2^{2+}$  en una determinación potenciométrica.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNAM por el apoyo a la cátedra de investigación CI2244 (FESC) y al proyecto DGAPA PAPIME PE209023.

## Referencias

- Byrnes, R. W., Antholine, W. E., & Petering, D. H. (1992). Oxidation-reduction reactions in Ehrlich cells treated with copper-neocuproine. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(5), 469-478.
- Gouda, A. A., & Amin, A. S. (2010). Copper (II)-neocuproine reagent for spectrophotometric determination of captopril in pure form and pharmaceutical formulations. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 159-165.
- National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 44093, Captopril. Retrieved September 2, 2023, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Captopril>.
- Pogacean, F., Biris, A. R., Coros, M., Lazar, M. D., Watanabe, F., Kannarpady, G. K., & Pruneanu, S. (2014). Direct electrochemical oxidation of S-captopril using gold electrodes modified with graphene-AuAg nanocomposites. *International journal of nanomedicine*, 1111-1125.
- Ribeiro, P. D. S., Santini, A. O., Pezza, H. R., & Pezza, L. (2003). Potentiometric determination of captopril in pharmaceutical formulations. *Eclética Química*, 28, 39-44.
- Wade, Jr. L. (2011). *Química orgánica. Volumen 1. (Séptima edición)*. Pearson Educación.





# OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO TEÓRICO DE LOS HÍBRIDOS NO-COVALENTES DE GRAFENO CON FTALOCIANINAS.

Carlos Uriel Mendoza Domínguez\*, Vladimir Basiuk Evdokimenko,

Víctor Hugo Meza Laguna

Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM,

[cumd\\_2863@hotmail.com](mailto:cumd_2863@hotmail.com)\* [vabasiuk@gmail.com](mailto:vabasiuk@gmail.com), [victorh01@ciencias.unam.mx](mailto:victorh01@ciencias.unam.mx)

## Resumen

Los híbridos de ftalocianina con nanomateriales de carbono como grafeno, óxido de grafeno o nanotubos de carbono presentan problemáticas como toxicidad, impacto ambiental, costo de materias primas y procesamiento. En el presente trabajo planteamos la posibilidad de obtener composites de ftalocianinas metálicas con grafito, material inofensivo de bajo costo, mediante un procesamiento mecánico libre de disolvente. Los composites obtenidos se caracterizaron por diferentes técnicas experimentales: SEM, espectroscopía Raman y UV-visible, XRD y TGA. Los resultados sugieren una alta eficiencia del procesamiento mecánico que ayuda en la exfoliación del grafito, así como en la formación de compósitos grafito/Pcs sin generar grandes cantidades de defectos en su superficie. Además, mediante un estudio teórico por DFT analizamos la adsorción de las ftalocianinas sobre modelos de grafeno prístino y con defectos estructurales. Los resultados sugieren fuertes interacciones por apilamiento  $\pi$ - $\pi$  y una notable distorsión de la ftalocianina para incrementar el área de contacto con las láminas de grafeno.

**Palabras clave:** grafito, ftalocianinas, molino de bolas, DFT, defectos topológicos.

## Antecedentes

El grafito es el alótropo más común y accesible del carbono, cuya estructura hexagonal estratificada proporciona, por medio de su exfoliación, uno de los nanomateriales más prometedores en el área tecnológica, el grafeno. Este nanomaterial posee propiedades físicas y químicas excepcionales, tales como una extensa área superficial, alta conductividad eléctrica, fuerte resistencia mecánica, etc., que han sido empleadas en diversas áreas como catálisis, fotoconversión, nanomedicina, etc. (Geim y Novoselov, 2007,2009).





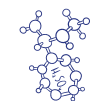
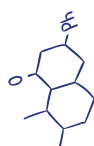
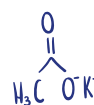
La formación de híbridos para la combinación sinérgica de grafeno con otras especies químicas es una estrategia con prometedores resultados para el diseño racional de materiales nanoestructurados. En este contexto, se han obtenido sistemas multifuncionales de ftalocianinas con derivados de grafito que exhiben propiedades electrónicas mejoradas, en comparación con las especies aisladas, debido a su extensa área superficial activa, así como a la presencia de iones metálicos de coordinación y la posibilidad de adicionar una gran variedad de sustituyentes periféricos en los macrociclos. Por ejemplo, se ha observado una transferencia electrónica intrahíbrida que mejora la actividad catalítica y de fotoconversión, propiedades de utilidad en la fabricación de celdas solares, celdas de combustible, sensores, dispositivos optoelectrónicos, etc. (Li et. al., 2020; Xu et. al., 2015; Karousis et. al., 2012; Mani et. al., 2015)

La formación de estos híbridos generalmente contempla diferentes procesos que incluyen la obtención de grafeno y su posterior funcionalización, para el primero de ellos existe una gran variedad de métodos, tales como el crecimiento epitaxial de grafeno sobre SiC o el crecimiento por CVD sobre superficies metálicas (Riedl C. et. al., 2010), la escisión micromecánica o método “scotch tape” (Geim y Novoselov, 2007; Novoselov et. al., 2005), métodos en fase líquida, como la exfoliación solvotérmica, ultrasónica o química (Qian et. al., 2009), o bien, métodos innovadores y atractivos con menor impacto ambiental, que disminuyen los aditivos exfoliantes y estabilizadores requeridos, como la molienda húmeda (Zhao et. al., 2010).

Con el objetivo de disminuir el costo e impacto ambiental, existe la tendencia de disminuir el número de etapas para la síntesis de compuestos híbridos, mediante la implementación de dos o más pasos en un mismo proceso químico. Al respecto, se han reportado trabajos que estudian la formación de materiales nanoestructurados basados en grafeno mediante la exfoliación y funcionalización in situ de grafito por métodos electroquímicos, ultrasónicos y de molienda mecánica (Salavagione, 2014).

La formación de compósitos con ftalocianinas a partir de grafito ha sido abordada mediante un procesamiento electroquímico y ultrasónico en fase líquida, en los cuales se implementa la capacidad de apilamiento  $\pi$ - $\pi$  de las ftalocianinas como agente exfoliante, y posteriormente como estabilizador de las hojas dispersas, al formar híbridos no-covalentes grafeno/ftalocianinas (Malig et. al., 2011; Brinkhaus et. al., 2013; Mensing et. al., 2012; Pakapongpan et. al., 2014).

En este mismo sentido, el procesamiento mecánico ha sido reportado únicamente para la funcionalización no-covalente de nanotubos de pared simple (SWNT) con ftalocianina de cobre (CuPc), obteniendo híbridos con propiedades termoeléctricas mejoradas (Chen et. al.,





2020). Sin embargo, su uso en la formación de compósitos con ftalocianinas a partir de grafito, aún no ha sido estudiada. En el presente trabajo, estudiamos la posibilidad de implementar el procesamiento mecánico, mediante un molino de bolas, para la formación de compósitos con ftalocianinas de base libre ( $H_2Pc$ ) y metálicas ( $M(II)Pc$ ,  $M(II) = Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn$ ) a partir de grafito. Caracterizamos los híbridos obtenidos por diferentes técnicas experimentales. Además, empleamos cálculos teóricos por DFT para estudiar el mecanismo de interacción en los híbridos formados.

### Objetivo (s)

1. Realizar la síntesis de compósitos de grafito con ftalocianinas mediante un procesamiento mecánico en un molino de bolas libre de disolvente para su posterior caracterización con diferentes técnicas experimentales.
2. Estudiar la adsorción de las ftalocianinas sobre modelos de grafito tipo cluster por medio de la teoría de los funcionales de la densidad para evaluar los cambios geométricos y electrónicos ocurridos tras la interacción.

### Metodología

Los materiales empleados fueron los siguientes: Se emplearon siete ftalocianinas, una de base libre ( $H_2Pc$ ) y seis metálicas ( $MnPc, FePc, CoPc, NiPc, CuPc, ZnPc$ ) y grafito en polvo (tamaño  $< 20 \mu m$ ). Usamos una mezcla de 10% de  $MPc$  ( $H_2Pc, MnPc, etc.$ ) y 90% de grafito. Se colocaron 4 g de la mezcla reactiva dentro de un reactor con 20 bolas de carburo de tungsteno. El proceso de molienda se llevó a cabo a temperatura ambiente y a presión atmosférica durante 48 h a 400 rpm, usando un molino Planetary Ball Mill XQM-0.4A de TENCAN. Los compósitos obtenidos se caracterizaron por diferentes técnicas experimentales, entre ellas SEM, Raman y TGA, cuyos resultados se presentan para su análisis más adelante.

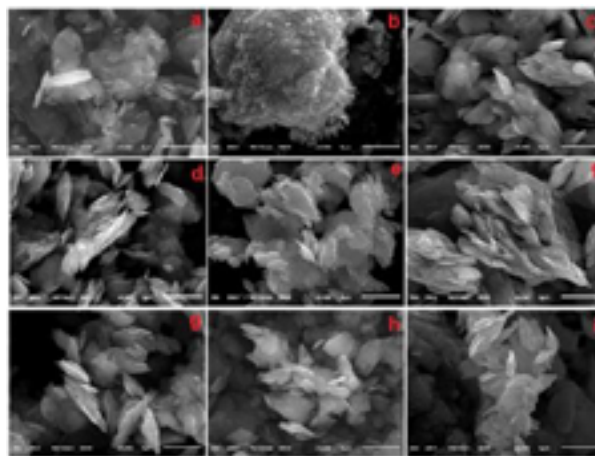
El modelado teórico se llevó a cabo en el módulo Dmol3 DFT disponible como parte del paquete de software Materials Studio 8.0. El funcional empleado Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) dentro de la Aproximación de Gradiente Generalizado (GGA), en complemento con la corrección de dispersión de Grimme, que toma en cuenta las interacciones por dispersión, importantes en los sistemas no-covalentes como los aquí estudiados. El conjunto de base usado fue la base numérica doble DNP. Finalmente, las energías de formación ( $\Delta E_{GM+MPc}$  o simplemente  $\Delta E$ ) se calcularon con base en la siguiente ecuación:

$$\Delta E_{GM+MPc} = E_{GM+MPc} - (E_{GM} + E_{MPc})$$

Donde  $E_i$  es la energía absoluta del respectivo sistema.

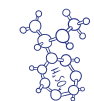
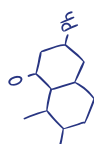
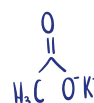
## Resultados y discusión

Las imágenes SEM muestran un cambio en la morfología de las ftalocianinas aisladas, las cuales se presentan como una distribución uniforme de estructuras tipo varilla con diversos tamaños micrométricos. En la Figura 1 se presentan las imágenes correspondientes al grafito prístino y procesado, con y sin ftalocianinas. En ellas se puede observar una reducción del tamaño de partícula del grafito molido, por debajo de  $5\ \mu\text{m}$  (Figura 1b), en comparación con el grafito prístino (Figura 1a), así como un cambio radical en el tamaño y morfología de los compósitos (Figura 1c-1i) comparados con los materiales aislados. Los compósitos exhiben características similares a escamas con un recubrimiento heterogéneo de ftalocianinas (Figura 1c-1i), una estructura desordenada de capas apiladas, ambos fenómenos han sido observados anteriormente en este tipo de compósitos e implican la existencia de fuertes interacciones entre el grafito exfoliado y las MPCs. Debido a que el material predominante es el grafito (9:1 wt), las imágenes presentan características muy similares para las diferentes ftalocianinas.



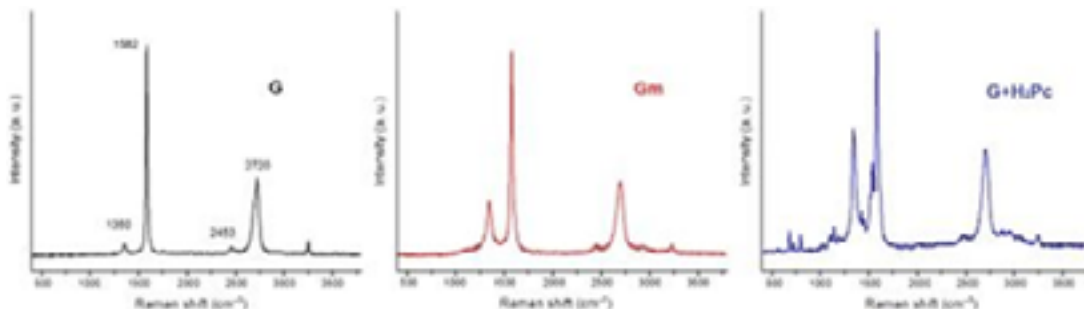
**Figura 1.** Imágenes SEM (x5000) representativas de: a) grafito prístino, b) grafito molido y los compósitos c)  $G+H_2Pc$ , d)  $G+MnPc$ , e)  $G+FePc$ , f)  $G+CoPc$ , g)  $G+NiPc$ , h)  $G+CuPc$ , i)  $G+ZnPc$ .

Los espectros para las muestras de grafito prístino, molido y tratado con  $H_2Pc$ , mostrados en la Figura 2, describen con detalle los cambios estructurales debidos al procesamiento mecánico. El espectro perteneciente al grafito prístino (G) presenta las señales características D, G, 2LO y 2D, localizadas en 1350, 1582, 2453 y 2720  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Los espectros de las muestras molidas también presentan dichas señales, con algunas variaciones en la intensidad que proporcionan información importante respecto a su estructura. Las muestras molidas ( $G_m$  y  $G+MPC$ ) presentan una banda simple y simétrica 2D, indicativo de la exfoliación del grafito en una o pocas capas apiladas de grafeno. También se observó un incremento en la





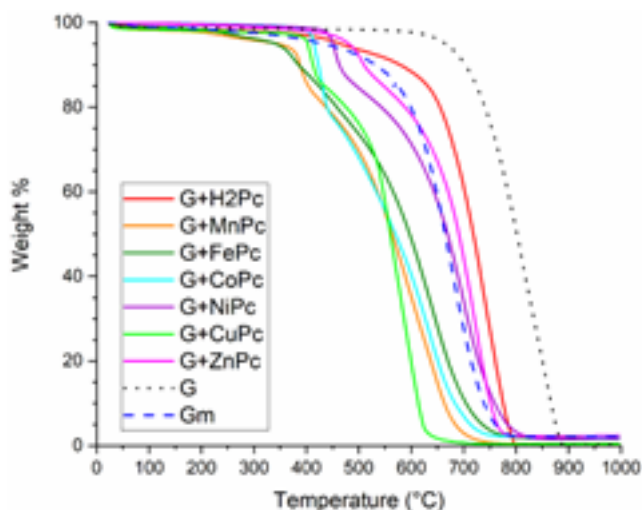
relación ID/IG tras el procesamiento mecánico, para G se obtuvo un valor de 0.037, tras su molienda (Gm) incrementó hasta 0.258, mientras que los espectros de G+MPc presentan una banda D notablemente mayor, con valores ID/IG en el rango de 0.422-0.664, este fenómeno se produce por una distorsión de la red  $sp^2$  debido a la eficiencia de la molienda y defectos estructurales formados durante ésta, así como una fuerte interacción entre el grafito exfoliado y las MPc depositadas sobre su superficie. Adicionalmente, se observaron algunos picos característicos de las ftalocianinas, los más evidentes se localizaron en 680, 1140, 1426, 1449 y 1538  $cm^{-1}$ , estos tres últimos en forma de hombro de las bandas D y G, atribuibles a modos de respiración del macrociclo o sus subunidades (anillos de benceno, pirroles e isoindoles), así como algunos modos de estiramiento o deformación de los enlaces C=N y C=C.



**Figura 2.** Espectros representativos Raman de: grafito prístino (G), grafito molido (Gm) y grafito tratado con  $H_2Pc$  (G+ $H_2Pc$ ).

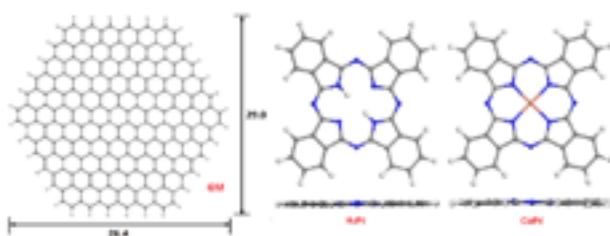
Las curvas TGA, presentadas en la Figura 3, ayudan a evaluar la estabilidad térmica de las muestras, así como hacer una estimación del contenido de ftalocianina. La descomposición del grafito prístino ocurre en una sola rampa de temperatura de 650° a 900°C. Tras su procesamiento mecánico, el grafito molido presenta una disminución en la temperatura de descomposición causada por una disminución del tamaño de partícula, que comienza paulatinamente a partir de ~250°C, con un punto de inflexión que acelera el proceso en 450-500°C. Respecto a los compósitos G+MPc podemos observar una pérdida de peso del 10-20 % en un rango de 200-400°C, en acuerdo razonable con la proporción de ftalocianina utilizada. Dicha descomposición corresponde a dos procesos simultáneos, el primero debido a la ftalocianina, cuya degradación varía entre 200° y 600°C, mientras que el segundo, que se prolonga hasta consumir por completo la muestra entre 600-800°C, es debido a la degradación del grafito molido en ~250°C de acuerdo con la curva Gm. La estabilidad térmica de los compósitos varía respecto a las ftalocianinas utilizadas. G+ $H_2Pc$  presenta la mayor estabilidad de las muestras tratadas, cuya temperatura de descomposición

promedio se encuentra entre los 700 y 750 °C, aproximadamente 50 °C por encima de los compósitos con NiPc, ZnPc e incluso del grafito puro molido. Mientras que la degradación de las muestras tratadas con ftalocianinas de Mn, Fe, Co y Cu es considerablemente menor, entre 150-200°C por debajo de la de base libre.



**Figura 3.** Curvas TGA de grafito prístino (G), grafito molido (Gm) y los compósitos de grafito tratados con ftalocianinas (G+MPc).

Los cálculos teóricos por DFT son una herramienta de gran utilidad para estudiar algunas características específicas de la interacción no-covalente en los compósitos de grafito con ftalocianinas que resulta sumamente complicado o imposible de forma experimental. El modelo elegido para el estudio fue cluster monocapa de grafeno (GM, Figura 4), utilizado en estudios previos, de geometría hexagonal plana (con simetría  $D_{2h}$  idealizada) similar a los modelos cluster tipo supercoroneno, con dimensiones mínimas de 26.4 x 29.0 Å para adsorber sobre sí las ftalocianinas cuyas dimensiones oscilan alrededor de 15 Å. En dicho modelo todos los enlaces en el borde de la lámina fueron llenados con átomos de H.

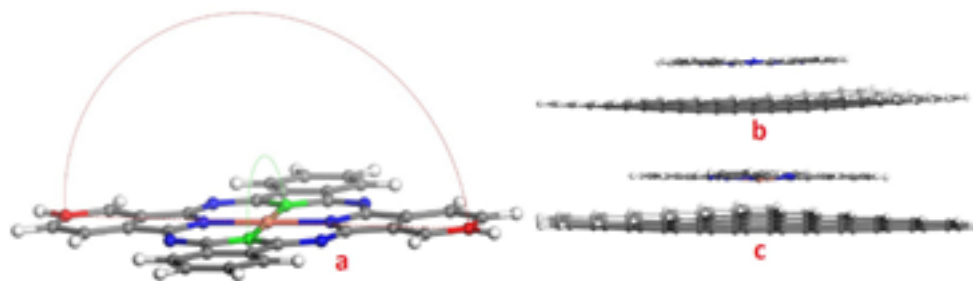


**Figura 4.** Modelo de grafeno GM y dos ftalocianinas representativas ( $H_2Pc$  y  $CuPc$ ) empleadas en los complejos no-covalentes GM+MPc.



Las ftalocianinas empleadas fueron las utilizadas experimentalmente ( $M(II)Pc$ ,  $M= H_2, Mn, Fe, Co, Ni, Cu$  y  $Zn$ ), cuyos modelos están conformados por cuatro unidades de isoindol conectadas por átomos de nitrógeno, además de un par de cationes  $H^+$  o un catión de metal de transición divalente  $M(II)$  en la cavidad central del macrociclo, en la Figura 4 se presentan dos MPC representativas. Estas moléculas poseen una característica estructura plana de extensión máxima de  $\sim 15 \text{ \AA}$ , que les proporciona ángulos  $N-M-N$  y  $C-M-C$  (representados en la Figura 5a) cercanos a  $180^\circ$ .

El análisis de los complejos formados se realizó en términos de los cambios geométricos, la fuerza de unión y propiedades electrónicas. En la Figura 5 se presentan dos complejos representativos resultados de la optimización geométrica. A simple vista no se observan cambios significativos en la planaridad de las ftalocianinas, debido a que la interacción con una hoja plana de grafeno no produce una deformación evidente. Sin embargo, una disminución de los ángulos  $N-M-N$  y  $C-M-C$  sugiere una ligera distorsión del macrociclo. Por otro lado, la distancia de interacción es cercana al valor típico de  $\sim 3 \text{ \AA}$  para estos híbridos, con valores que oscilan entre  $3.257$  y  $3.522 \text{ \AA}$ , en todos los complejos la mayor cercanía se obtuvo con los átomos  $N$  de la esfera de coordinación, probablemente debido a la ligera distorsión del macrociclo mencionada anteriormente.



**Figura 5.** a) Ángulos  $N-M-N$  y  $C-M-C$  analizados para las ftalocianinas aisladas y sus respectivos complejos y dos complejos no-covalentes representativos b)  $GM+H_2Pc$  y c)  $GM+CuPc$ .

Los altos valores (en valor absoluto) de energía de formación ( $\Delta E$ ) calculadas para los complejos, en el rango de  $62.1-67.6 \text{ kcal/mol}$ , sugieren una fuerte unión entre las ftalocianinas y la hoja de grafeno. Los valores de  $\Delta E$  para las MPC son muy similares, con una diferencia máxima de apenas  $5.5 \text{ kcal/mol}$ , sin embargo, en las ftalocianinas metálicas parece existir una influencia del átomo central en la fuerza de adsorción, que incrementa conforme al número atómico del metal desde  $Fe$  hasta  $Zn$ .

Un parámetro electrónico importante de analizar con la formación de complejos es la distribución de los orbitales frontera, sus respectivos valores HOMO-LUMO gap ( $E_{gap}$ ), así como la distribución de la densidad de espín en aquellos sistemas de capa abierta. Tanto



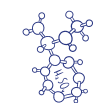
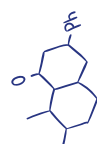
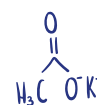
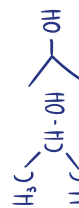
la distribución de los orbitales frontera como la densidad de espín es variable y no parece exhibir un patrón claro. Por otro lado, el  $E_{\text{gap}}$  calculado para el modelo de grafeno fue 0.726 eV, mientras que para las ftalocianinas aisladas varía en un amplio rango entre 0.345 (MnPc) y 1.465 eV (NiPc). Comparando las energías  $E_{\text{gap}}$  de las ftalocianinas aisladas con sus respectivos complejos, se observa que en todos los casos estos últimos presentan un valor entre 38 y 65 % menor.

## Conclusiones

Se logró la formación de compósitos mediante el procesamiento mecánico de grafito con monoftalocianinas metálicas y de base libre en un molino de bolas libre de disolvente a temperatura ambiente. Se observaron cambios en la morfología de las muestras tratadas, se formaron partículas micrométricas de grafito exfoliado con un recubrimiento heterogéneo de ftalocianina. Los espectros Raman confirman la eficiencia de la molienda en la exfoliación del grafito, además, los mayores valores  $I_D/I_G$  de las muestras tratadas fueron interpretados como fuertes interacciones entre las moléculas MPC y las láminas exfoliadas, así como una mínima presencia de defectos estructurales formados durante el procesamiento. El tratamiento mecánico disminuye la estabilidad térmica de las muestras en más de 150°C, producto de la fragmentación y exfoliación del grafito, además de la menor temperatura de descomposición de las ftalocianinas que forman los compósitos. De acuerdo con los altos valores de  $\Delta E$  ( $\sim 65$  kcal/mol, en valor absoluto) calculados por DFT, la formación de los complejos GM+MPC ocurre por fuertes interacciones  $\pi$ - $\pi$  sin producir una distorsión pronunciada en su estructura.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, DGAPA-IN103622). Al programa de Doctorado en Ciencias Químicas y al CONACyT por el apoyo económico para la realización del posgrado. Agradecimiento al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica de la UNAM (LUCE-ICAT-UNAM) por el apoyo en la caracterización Raman, al M. C. José de la Rosa Canales (Unidad de Laboratorio Rafael Navarro González, Departamento de Física de Plasmas e Interacción con la materia, ICN-UNAM) por su ayuda en las mediciones de TGA.





## Referencias

Brinkhaus L., Katsukis G., et. al. (2013). Tuning the stability of graphene layers by phthalocyanine-based oPPV oligomers towards photo-and redoxactive materials, *Small* 9, 2348-2357.

Chen Y., Qu S., et. al. (2020). Enhanced thermoelectric properties of copper phthalocyanine/single-walled carbon nanotubes hybrids, *Carbon* 159, 471-477.

Geim A.K., Novoselov K.S. (2007). The rise of graphene, *Nat. Mater.* 6, 183-191.

Geim A.K. (2009). Graphene: status and prospects, *Science* 324, 1530-1534.

Karousis N., Ortiz J., et. al. (2012). Zinc phthalocyanine-graphene hybrid material for energy conversion: synthesis, characterization, photophysics, and photoelectrochemical cell preparation, *J. Phys. Chem. C* 116, 20564-20573.

Li X., Chai G., et. al. (2020). Electrocatalytic reduction of CO<sub>2</sub> to CO over iron phthalocyanine-modified graphene nanocomposites, *Carbon* 167, 658-667.

Malig J., Jux N., et. al. (2011). Towards tunable graphene/phthalocyanine-PPV hybrid systems, *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 3561-3565.

Mani V., Devasenathipathy R., et. al. (2015). Synthesis and characterization of graphene-cobalt phthalocyanines and graphene-iron phthalocyanine composites and their enzymatic fuel cell application, *Renew. Energy* 74, 867-874.

Mensing J. P., Kerdcharoen T., et. al. (2012). Facile preparation of graphene-metal phthalocyanine hybrid material by exfoliation by electrolytic exfoliation, *J. Mater. Chem.* 22, 17094-17099.

Novoselov K. S., Jiang D., et. al. (2005) Two-dimensional atomic crystals, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 10451-10453.

Pakapongpan S., Mensing J.-P., et. al. (2014). Highly selective electrochemical sensor for ascorbic acid based on a novel hybrid graphene-copper phthalocyanine-polyaniline nanocomposites, *Electrochim. Acta* 133, 294-301.

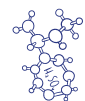
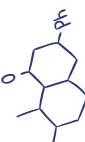
Qian W., Hao R., et. al. (2009). Solvothermal-assisted exfoliation process to produce graphene with high yield and high quality, *Nano Res.* 2, 706-712.

Riedl C., Coletti C., Starke U. (2010). Structural and electronic properties of epitaxial graphene on SiC (0001): A review of growth, characterization, transfer doping and hydrogen intercalation, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 43, 374009.

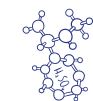
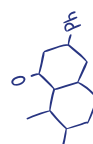
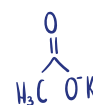
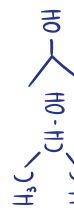
Salavagione H. J. (2014). Promising alternative routes for graphene production and functionalization, *J. Mater. Chem. A* 2, 7138-7146.

Xu H., Xiao J., et. al. (2015). Enhanced electrochemical sensing of thiols based on cobalt phthalocyanine immobilized on nitrogen-doped graphene, *Biosens. Bioelectron.* 66, 438-444.

Zhao W., Fang M., et. al. (2010). Preparation of graphene by exfoliation of graphite using wet ball milling, *J. Mater. Chem.* 20, 5817-5819.







# ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DE IBUPROFENO MEDIANTE REACCIONES TIPO FENTON HETEROGÉNEAS UTILIZANDO UN NANOCOMPOSITO DE MAGNETITA / HALOISITA COMO CATALIZADOR

*Erick Axel García García<sup>1\*</sup>, Guadalupe I. Vargas Rodríguez<sup>1</sup>, Julio César Morales-Mejía<sup>2</sup>, Yolanda Marina Vargas-Rodríguez<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Químicas, <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería y Tecnología. FES- Cuautitlán. UNAM. México.

[lazyerick2@gmail.com](mailto:lazyerick2@gmail.com), [ficodos\\_1304@hotmail.com](mailto:ficodos_1304@hotmail.com), [mmjc\\_80@yahoo.com.mx](mailto:mmjc_80@yahoo.com.mx), [ymvargas@unam.mx](mailto:ymvargas@unam.mx)

## Resumen

Se investigó la eliminación de ibuprofeno, en suspensiones acuosas de nanomagnetita en presencia de magnetita soportada sobre nanotubos de haloisita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ ) por una reacción heterogénea tipo Fenton. Se trabajó con un diseño experimental para evaluar los efectos del IBU en la adsorción y en la mineralización a través de una reacción Fenton heterogénea utilizando  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  como catalizador. Para la adsorción, los resultados mostraron que la adsorción de ibuprofeno depende del pH (8.5 % a pH 2 y 2-3 % a pH 7 y 12), los resultados se ajustan a una cinética de pseudo-segundo orden y una isoterma de adsorción de Freundlich ( $r^2=0.99872$  y  $r^2=0.99126$  respectivamente). Se ajustaron datos experimentales para lograr el mayor porcentaje de mineralización a pH 7, los cuales fueron de  $1.5 \text{ gL}^{-1}$  de dosis de catalizador y  $0.5 \text{ M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (98 % de mineralización y 99 % de degradación de IBU).

**Palabras clave:** Ibuprofeno, magnetita, Fenton, adsorción.



## Antecedentes

Los productos químicos de preocupación emergente (PQPE) son contaminantes presentes en los sistemas acuosos en el rango de partes por billón (ppb) o partes por trillón (ppt). Según las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, sus metabolitos, productos de degradación, y las características de los suelos, estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse pudiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica (Barceló y López, 2012). El ibuprofeno y sus metabolitos han sido encontrados en plantas de tratamiento de aguas, en aguas residuales domésticas y en cuerpos de agua superficiales. Los tratamientos de aguas residuales no son del todo satisfactorios, al punto que se ha detectado que muchos compuestos persisten sin alteración alguna aún después de aplicar tratamientos terciarios (Tan, 2013). Por tal razón, es importante identificar y evaluar la eficiencia de otras tecnologías para el tratamiento de aguas, con el fin de proponer alternativas que permitan minimizar la presencia de contaminantes emergentes a un bajo costo económico, energético y ambiental (Barceló y López, 2012). El ibuprofeno no es degradado fácilmente por los tratamientos típicos empleados en las plantas de tratado (Zheng, 2011), por lo que se necesita del empleo de otras técnicas como métodos de fotodegradación solar (Packer, 2003), tratamientos biológicos (Kimura, 2005), procesos de oxidación avanzada (Zwiener, 2000).

## Objetivos

Sintetizar magnetita in situ en nanotubos de haloisita, a través del método de coprecipitación, caracterizar el catalizador por las técnicas de adsorción-desorción de nitrógeno, difracción de rayos X y espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), realizar un diseño de experimentos en Design Expert, para determinar los factores que influyen en la adsorción de ibuprofeno en medio acuoso sobre  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ , hacer un estudio cinético y de equilibrio de adsorción de ibuprofeno en  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  y ajustar los resultados a los modelos de pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden y difusión intra partícula, realizar un diseño de experimentos en Design Expert, para investigar el efecto del pH, concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , concentración de Ibuprofeno, y cantidad de catalizador, para encontrar las condiciones óptimas para la degradación de ibuprofeno.

Parte experimental

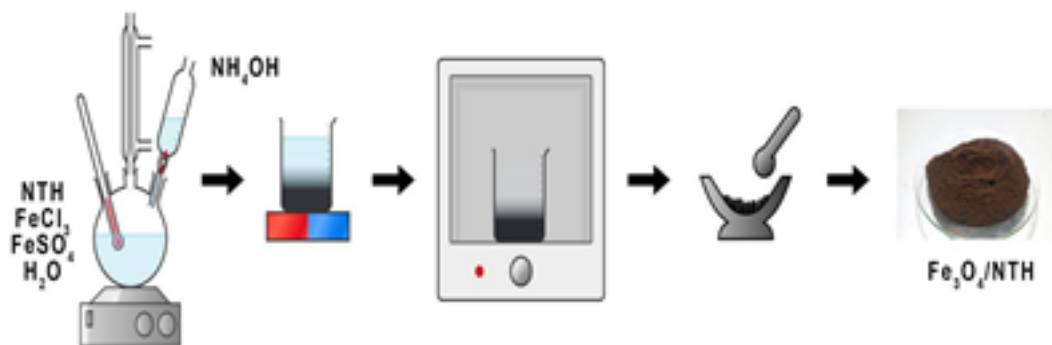


Figura 1. Metodología para la síntesis de  $Fe_3O_4/NTH$ .

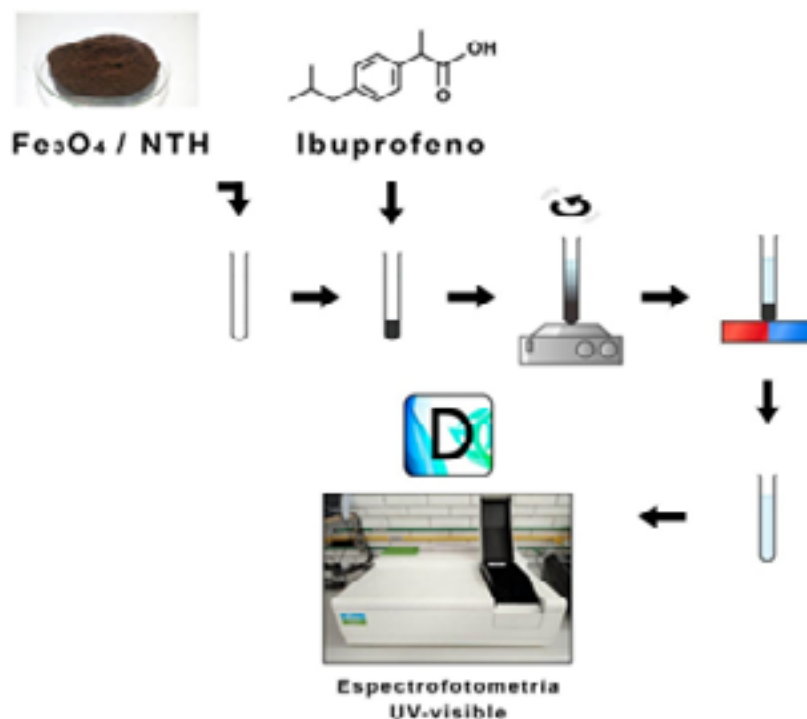
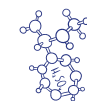
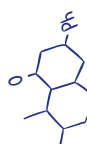


Figura 2. Procedimiento experimental para la adsorción de IBU sobre  $Fe_3O_4/NTH$

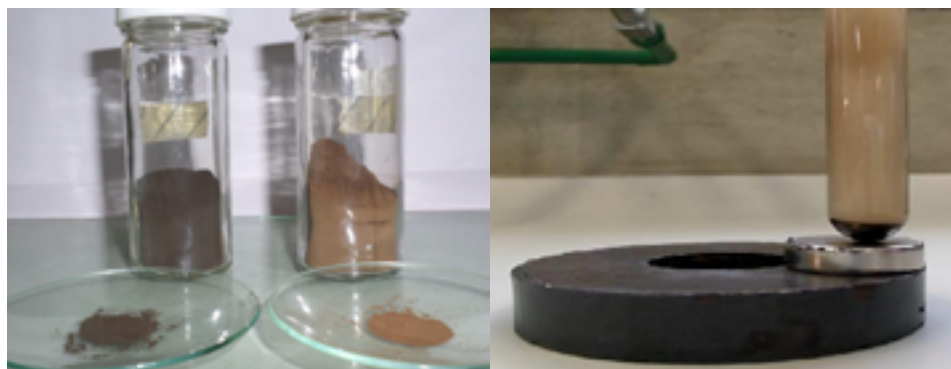




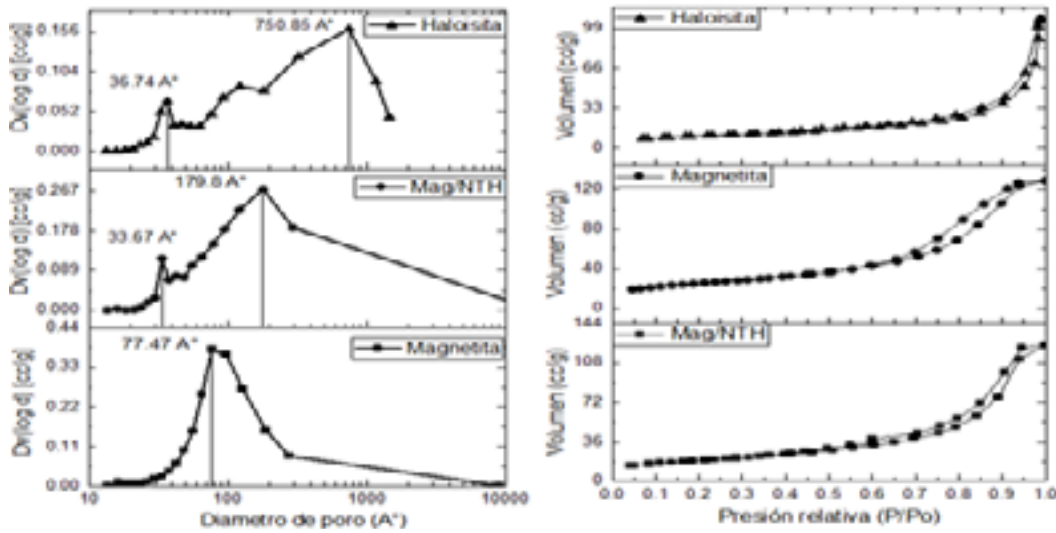
**Figura 3.** Metodología para la mineralización de IBU por reacción tipo Fenton heterogénea.

## Resultados y discusión

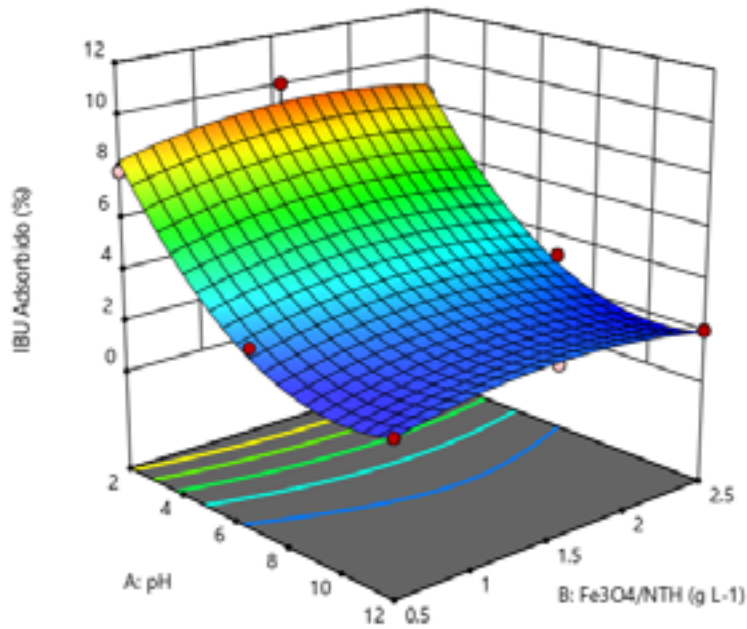
Se sintetizó  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HNT}$  por medio del método de coprecipitación que consiste en la mezcla de sales de  $\text{FeSO}_4$  y  $\text{FeCl}_3$  utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$  como base.



**Figura 4.** a) Magnetita; b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  y c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  en suspensión con campo magnético

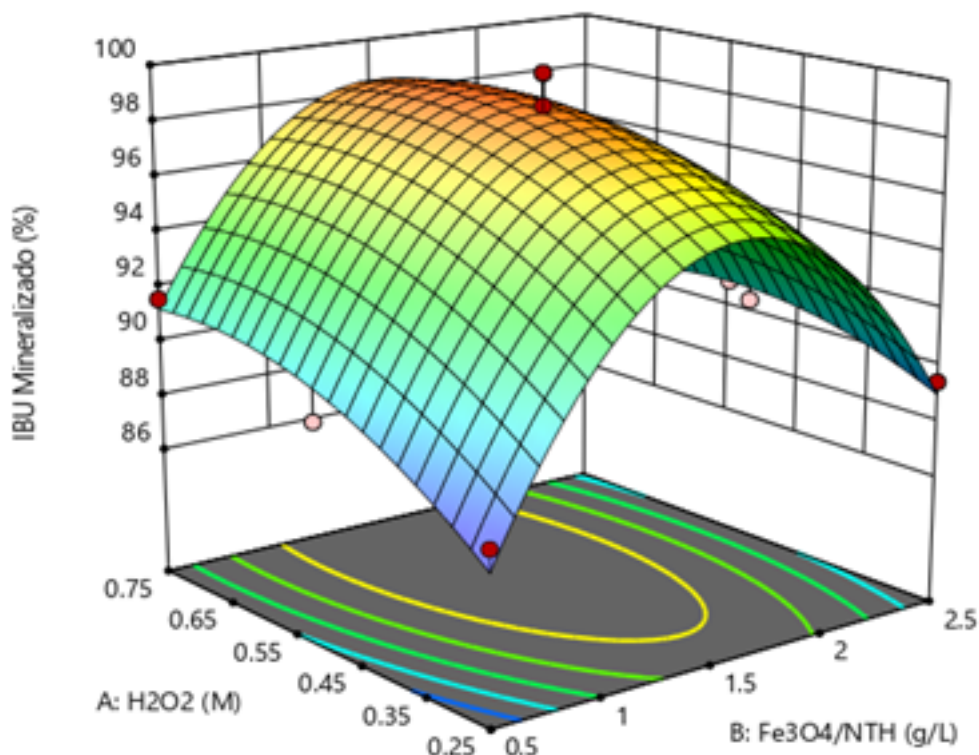


**Figura 5.** Ciclos de histéresis: tipo H3 para nanotubos de haloisita y tipo H1 para magnetita y magnetita/haloisita.



**Figura 6.** Porcentaje de IBU adsorbido a una concentración de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  sobre  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  en función del pH y concentración de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$





**Figura 7.** Gráficas de % IBU mineralizado en función de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  a un pH de 7.

## Conclusiones

En este trabajo se sintetizó magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) in situ a través del método de coprecipitación sobre nanotubos de haloisita (NTH). Se encontró por difracción de rayos-X, que se logró la síntesis de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  sobre NTH y a través de la ecuación de Scherrer, se determinó que el tamaño de las partículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  fueron de 13.74 nm para la NTH, 12.6 para  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  y 25.23 nm para  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ . Por adsorción-desorción de nitrógeno se determinó que la muestra de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ , tiene una distribución de tamaño de poro multimodal de material meso y macroporosos, con un ciclo de histéresis tipo H4, y área superficial de 67.69  $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ . A través de la FTIR, se observó la formación de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

Después de establecer las propiedades texturales y estructurales de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ , se realizó un diseño de experimentos Box Behnken en Design Expert 11, para determinar los factores que influyen en la adsorción de ibuprofeno en medio acuoso sobre  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ . Los resultados de adsorción de IBU que se ajustaron a la ecuación del modelo cuadrático y la superficie de respuesta mostraron que la adsorción de ibuprofeno depende del pH (8.5% a pH 2 y 2-3% a pH 7 y 12), estos resultados indican que a pH ácidos se ve favorecida la

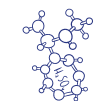
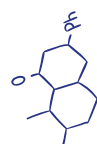
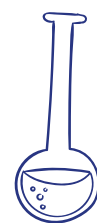
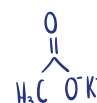


adsorción de IBU en  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$ , debido a que los protones del ácido carboxílico del IBU forman puentes de hidrógeno con las superficie de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . También, se encontró que a mayor cantidad de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y de dosis de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  se incrementó la adsorción. A través del análisis estadístico ANOVA, se encontró que la relación de la respuesta con los factores A: pH, B: dosis de  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  se obtiene a través de la ecuación: %IBU adsorbido =  $3.47 - 3.33 A + 0.1867 B - 0.12 AB + 2.5 A^2 - 0.7338 B^2$ . Además, que los resultados se ajustan a una cinética de pseudo-segundo orden y a una isoterma de adsorción de Freundlich ( $R^2=0.99872$ ,  $\kappa^2 = 3.276E^{-4}$  y  $R^2=0.99126$  y  $\kappa_f = 0.1244$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

También, se realizó un diseño de experimentos en Design Expert 11, para determinar los factores que influyen en la degradación de ibuprofeno en medio acuoso sobre  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{NTH}$  a través de la reacción tipo Fenton heterogénea. A través de diseño experimentos de monitoreo factorial 23 se encontraron las mejores condiciones para ajustar el modelo para mineralización a pH 7. Se obtuvo la ecuación del modelo cuadrático que describe cuantitativamente la relación de la respuesta con los factores y así poder conocer las condiciones óptimas de experimentación y los principales factores para la mineralización de IBU: % IBU Mineralizado =  $98.6 + 1.39 A + 0.2817 B - 0.9275 AB - 1.51A^2 - 7.93 B^2$ . Por medio del software Design Expert 11 se utilizó un diseño de experimentos tipo Box Behnken y se obtuvieron las condiciones óptimas experimentales para la mineralización de IBU ( $15 \text{ mg L}^{-1}$ ) a un pH de 7 y 298.15 K que son a una concentración de catalizador de  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  y una concentración de oxidante de 0.5 M, ya que aun aumento de concentración de estas hay una saturación en los sitios activos en la superficie del catalizador que es donde ocurre la formación de radicales hidroxilos. Finalmente, se logró degradar hasta un 99.99% de IBU utilizando las condiciones óptimas de reacción.

### Agradecimientos

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT IN113722 Nombre del proyecto: Eliminación de contaminantes de preocupación emergente en cuerpos de agua a través de adsorción y reacción tipo Fenton Heterogénea utilizando materiales magnéticos soportados.





## Referencias

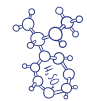
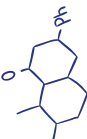
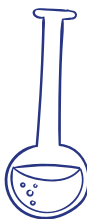
Barceló, D., López de Alda, M.J. (2012). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes*. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales CSIC (Barcelona). Panel Científico-Técnico de Seguimiento de la Política de Aguas (11.03.2008).

Kimura, K., Hara, H., Watanabe, Y., (2005). Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs), *Desalination* 178 (1-3), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2004.11.033>.

Parcker, J.I., Werner, J.J. Latch, D.E., McNeil, K., Arnold, W.A. (2003). Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen, *Aquat. Science*. 64 (4) 342-351. <https://doi.org/10.1007/s00027-003-0671-8>.

Tan, D., Yuan, P., Annabi-Bergaya, F., Yu, H., Liu, D., Liu, H., & He, H. (2013). Natural halloysite nanotubes as mesoporous carriers for the loading of ibuprofen. *Microporous and Mesoporous Materials*, 179, 89–98.. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.05.007>.

Zheng, B.G., Zheng, Z., Zhang J.B., Luo, X.Z., Wang, J.Q., Liu, Q., Wang, L.H. (2011). Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in aqueous solution by gamma irradiation. *Desalination* 276, 379-385. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.03.078> Zwiener, C., Frimmel, F.H. (2000). Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. *Water Res*, 34 (6), 1881-1885). [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00338-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00338-3).





# SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA USANDO EL EXTRACTO ACUOSO DE PINGÜICA (*Arctostaphylos pungens* Kunth) COMO AGENTE REDUCTOR

*Luis Manuel Sosa Santos, Brígida del Carmen Camacho Enríquez,*

*Flora Adriana Ganem Rondero*

*Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, México,*

*[luisrosa565@gmail.com](mailto:luisrosa565@gmail.com), [bcamachoe@gmail.com](mailto:bcamachoe@gmail.com), [adrianaganemrondero@yahoo.com.mx](mailto:adrianaganemrondero@yahoo.com.mx)*

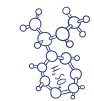
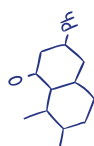
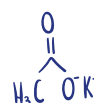
## Resumen

En este artículo se reporta el desarrollo de una metodología respetuosa con el medio ambiente usando el extracto acuoso de *Arctostaphylos pungens* Kunth como reductor y un diseño de experimentos factorial de 2 niveles, 4 factores numéricos y 3 respuestas para obtener un tamaño nanométrico e índice de polidispersidad mínimos. La caracterización de las nanopartículas obtenidas se realizó por espectroscopía UV-Vis, IR y el tamaño por dispersión dinámica de la luz. Las condiciones de síntesis así obtenidas fueron: temperatura de 30°C, volumen de extracto 3mL, concentración de extracto 1399 ppm y una concentración de nitrato de plata de 3mM. Los resultados espectroscópicos fueron los siguientes: la banda de Plasmón en 433 nm (espectrofotometría UV-Vis por 4ta derivada), un desplazamiento de la banda estiramiento de carbonilo de 1640 cm<sup>-1</sup> (extracto) a 1704 cm<sup>-1</sup>, indicando su interacción con los núcleos de plata (IR-FT) y un tamaño de partícula de 24.88 nm (PdI: 0.125) (DLS). Las AgNP's lograron catalizar la reducción de m-dinitrobenceno y p-nitrofenol con NaBH<sub>4</sub>.

**Palabras clave:** Nanopartículas de plata, *Arctostaphylos pungens*, p-nitrofenol

## Antecedentes

Actualmente se ha puesto mucha atención en las nanopartículas metálicas por las variadas aplicaciones tecnológicas por su tamaño y propiedades físicas y químicas. Las nanopartículas





de plata sobresalen por sus propiedades en catálisis, antimicrobianas, antifúngicas, anticancerígenas y en tratamiento de aguas. Las nanopartículas de plata se pueden obtener por varios métodos, sin embargo, presentan algunas desventajas como costo y toxicidad por lo que se consideran no amigables para el medio ambiente. El uso de extractos de plantas surge como una opción eco-amigable y la especie *Arctostaphylos pungens* conocida popularmente como pingüica, que forma parte de los recursos herbolarios de la medicina tradicional mexicana desde el siglo XVI (Alonso-Castro, 2016) (De la Cruz & Badiano, 1991) para el tratamiento de enfermedades del tracto urinario, es una excelente opción por su composición química reportada, ácido gálico y arbutina (Barredo-Escalona, 2019) conocidos por su capacidad reductora.

## Objetivo

Desarrollar una metodología de obtención de nanopartículas de plata usando el extracto acuoso de las hojas de la especie *Arctostaphylos pungens* (pingüica) y un diseño experimental para su caracterización y aplicación como catalizador de una reacción de reducción.

## Metodología

### *Preparación del extracto*

Las hojas de la especie *A. pungens* se adquirieron en el mercado “Sonora” de la Ciudad de México y se utilizaron sin tratamiento de conservación, ya que se venden secas, posteriormente se trituraron utilizando un molino de cuchillas marca Moulinex 1, 2, 3®. El triturado obtenido se tamizó a través de una malla 20 (abertura 0.841 mm) hasta la obtención de un polvo grueso (Secretaria de Salud, 2021). El extracto se preparó calentando 50 mL de agua destilada a 80°C y se adicionan, por separado, 0.5 g, 0.75 g y 1.0 g para obtener concentraciones equivalentes a 7000, 10500 y 14000 ppm respectivamente. La mezcla se mantuvo a 80°C por 30 min y agitación constante, posteriormente se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La separación del residuo vegetal del extracto crudo se realizó por filtración y centrifugación a 3500 ppm por 20 min. Se tomaron 7 mL de cada concentración, se ajustaron a pH=8 con una solución de NaOH 0.0242 M y se llevaron a la marca de aforo (10mL) con agua destilada. Se reservaron para su posterior uso.

### *Diseño Experimental*

El diseño experimental se realizó utilizando el programa Design Expert ® y se planteó un diseño de tipo factorial de 2 niveles ( $2^n$ ) con 4 factores numéricos, A: temperatura entre 30-60°C; B; volumen de extracto (1-3 mL); C: concentración de extracto (7000-14000ppm) y D:

concentración de nitrato de plata (1-3 mM) con 5 puntos centrales y 3 respuestas: absorbancia, índice de polidispersidad y tamaño de partícula. El programa propuso realizar 21 ensayos ordenados aleatoriamente y las respuestas se obtuvieron con los siguientes equipos: Espectroscopía UV-Vis, Spectrophotometer Macylab Instruments Inc.; Dispersión Dinámica de la Luz en un Zetasizer Nano-ZS90 Nanoseries <sup>®</sup>, y Espectroscopia infrarrojo con un equipo Frontier FTIR Spectrometer Perkin Elmer <sup>®</sup>.

### *Reducción de nitroaromáticos*

La reducción de m-dinitrobenzeno y p-nitrofenol a m-nitroanilina y p-amino fenol, respectivamente, con las AgNP's preparadas en la presencia de NaBH<sub>4</sub> fue seleccionada como modelo de reacción. La reacción se realizó en una celda de cuarzo, ahí se adicionaron, 2 mL de m-dinitrobenzeno o p-nitrofenol (1 mM); 1 mL de NaBH<sub>4</sub> (0.1M) y 50 μL de una solución de las AgNP's resultado de la optimización del diseño experimental, después se completó con agua destilada hasta obtener un volumen final de 4 mL. El curso de la reacción se observó por espectroscopía UV-Vis.

## Resultados y discusión

### *Características del extracto*

Se obtuvo un extracto de color verde claro y olor característico. Las pruebas fitoquímicas que se realizaron detectaron la presencia de: fenoles, esteroides, quinonas, saponinas y lactonas, que coincide con los datos obtenidos de la literatura (Panusa, Petrucci, Marrosu, Multari, & Romana Gallo, 2015) y las bandas detectadas en el espectro de infrarrojo en 3243, 3000, 1640, 1599 y 1204 cm<sup>-1</sup>, asignados a estiramiento O-H, C-H (Csp<sup>3</sup>-H), C=O, C=O, ar C-OH, respectivamente. También una banda de intensidad media en 1031cm<sup>-1</sup> características de un enlace O-H δ ip.

### *Diseño experimental*

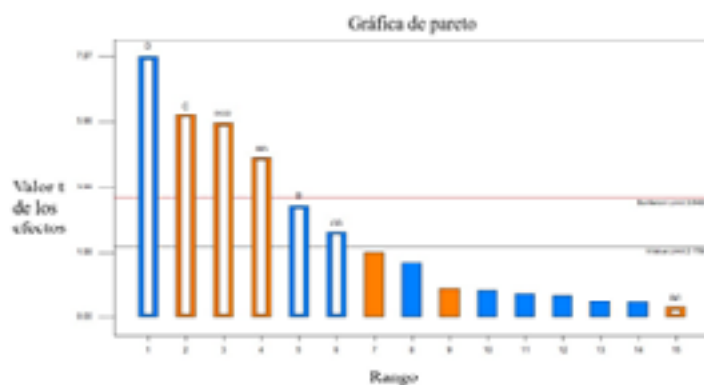


Figura 1. Gráfica de Pareto del tamaño de una partícula



Los resultados obtenidos de los 21 ensayos aleatorizados del diseño experimental se colocaron en el programa y por un análisis de varianza (ANOVA) con respecto a la respuesta, tamaño de partícula, se obtuvieron los resultados mostrados en el gráfico de Pareto (figura 1).

Para realizar la mejora del modelo se fueron eliminando uno a uno aquellos factores que no son significativos, es decir, aquellos cuyo valor t es inferior al valor t límite, exceptuando a los que, aunque no son significativos como la interacción BC (valor mostrado hasta el rango 15) se incluyen por corrección jerárquica en la regresión manual. Estos valores se consideran dentro del modelo siempre y cuando haya una interacción que los involucre, como, BCD (rango 3), si no se considera esta corrección, el programa no mostrará una ecuación en términos de los factores actuales solamente lo hará en factores codificados.

El ANOVA del tamaño de partícula indicó que este modelo se ajustó al diseño experimental y que los factores importantes colocados de mayor a menor significancia son: Concentración del nitrato de plata (D) y extracto (C); las interacciones entre volumen y concentración del extracto (B y C) y nitrato de plata (BCD); volumen de extracto y concentración del nitrato (BD); volumen de extracto (B); y, por último, concentración de extracto y nitrato de plata (CD); la temperatura (A) resultó ser no significativa. Además, aquellos factores con valores p superiores a 0.1 como: falta de ajuste y curvatura no afectan al modelo, ya que se busca que el modelo se ajuste, por lo que se puede afirmar que el modelo se ajusta al diseño. El valor de  $R^2$  prevista fue de 0.7757 que se encuentra razonablemente cerca del valor de  $R^2$  ajustada de 0.9006, lo cual es bueno, pues de ser mayor a 0.2 indicaría que hay un problema con los datos o el modelo. El valor de precisión adecuada mide la relación señal-ruido, de acuerdo con los criterios del programa un valor superior a 4 es deseable, por lo que el valor obtenido de 17.944 es adecuado y que este modelo se puede utilizar para navegar por el espacio de diseño y que la ecuación generada por el programa en términos codificados se puede utilizar para predecir el tamaño de partícula (figura 2).

$$\text{Tamaño de partícula (nm)} = 27.11 - 1.22(B) - 2.20(C) - 2.84(D) - 0.11(BC) - 1.74(BD) - 0.93(CD) - 2.11(BCD)$$

**Figura 2.** Ecuación para predecir tamaño de partícula (nm)

### Optimización del diseño experimental

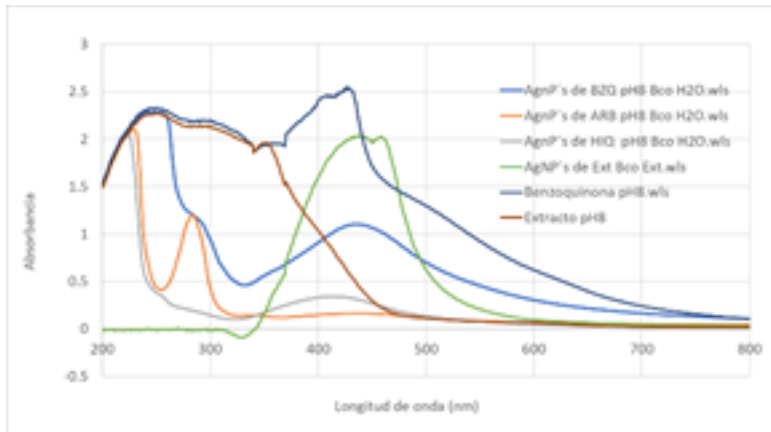
En la optimización del modelo se le indicó al programa qué parámetros considerar y el objetivo, obtener el menor tamaño de partícula (minimizar TP) con el menor índice de polidispersidad (minimizar PdI entre 0.166-0.26) con la menor temperatura y maximizando los demás factores, para esto, el programa calcula una serie de soluciones en base a la ecuación



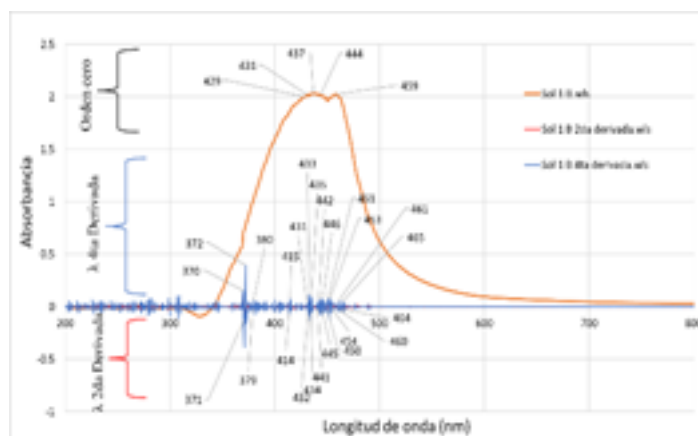


## Caracterización de las AgNP's

### A) Espectroscopía UV-Vis



**Figura 3.** Espectro de absorción UV-Vis extracto, benzoquinona y AgNP's a partir de compuestos puros



**Figura 4.** Espectro UV-Vis de las AgNP's del extracto de hojas de pingüica de orden cero, 2ª y 4ª derivada

En la figura 3 (izquierda) se muestra el espectro de absorción del extracto a pH 8 y las AgNP's utilizando el extracto como blanco, en éste se observa que las especies que absorben entre 324 y 338 nm son las que reducen a la plata de  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Ag}^0$  y que la banda de plasmón característica de las AgNP's se encuentra en una longitud de onda de 428 nm con una absorbancia de 1.889. Sin embargo, por datos obtenidos de la literatura (Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios, 2003), la arbutina se hidroliza a un pH ligeramente básico a hidroquinona, lo que supone que ésta es la que está presente en el extracto y, por tanto, reduce la plata y se oxida a benzoquinona. De ahí se realizó la obtención de nanopartículas utilizando estándares químicos puros de arbutina (ARB), hidroquinona (HIQ) y benzoquinona (BZQ).





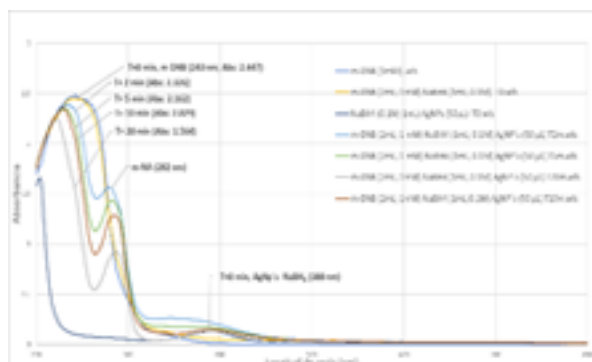
El extracto acuoso de las hojas de pingüica y las AgNP's en suspensión coloidal se liofilizaron previamente a la obtención de los correspondientes espectros IR (figura 5). Se compararon los espectros de las nanopartículas de plata el extracto liofilizadas y, se destaca el aumento de intensidad y desplazamiento de la banda en 1704  $\text{cm}^{-1}$ , que se asigna al estiramiento del grupo C=O, en el extracto aparece en 1696  $\text{cm}^{-1}$  y se define muy poco. Esta banda resulta de la oxidación de hidroquinona a benzoquinona y su posible interacción con Ag<sup>0</sup>. En la tabla 4 se muestra una comparación de las frecuencias de las bandas en el espectro IR de extracto y AgNP's y se observa un ligero desplazamiento de las frecuencias por su interacción con los núcleos de plata, de ahí que los compuestos con estos grupos funcionales actúan como estabilizadores de los núcleos de plata.

**Tabla 4.** Frecuencias de las bandas identificadas en el espectro IR (extracto y AgNP's)

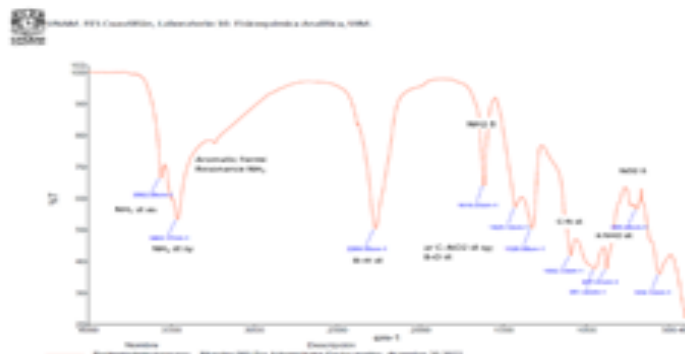
Grupo funcional	Extracto $\text{v cm}^{-1}$	AgNP's $\text{v cm}^{-1}$	Valores de referencia $\text{v cm}^{-1}$
O-H $\nu_{\text{st}}$	3243.3	3306.00	3650-3200 <sup>1</sup>
C=O $\nu_{\text{st}}$	~1640	1704	1870-1540 <sup>2</sup>
C-O $\nu_{\text{st}}$	1599.63	1609.54	1870-1540 <sup>2</sup>
O-H $\delta_{\text{ip}}$	1345.18	1336.14	1450-1200 <sup>1</sup>
arC-O $\nu_{\text{st}}$	1204.88	1206.47	1260-970 <sup>1</sup>
arC-O $\nu_{\text{st}}$	1031.4	1028.03	1260-970 <sup>1</sup>

Nota: Los valores de referencia provienen de Pretsch, Bühlmann & Bedertscher (2009)<sup>1</sup> y Silverstein, Webster & Kiemle (2005)<sup>2</sup>

### Reducción de nitroaromáticos



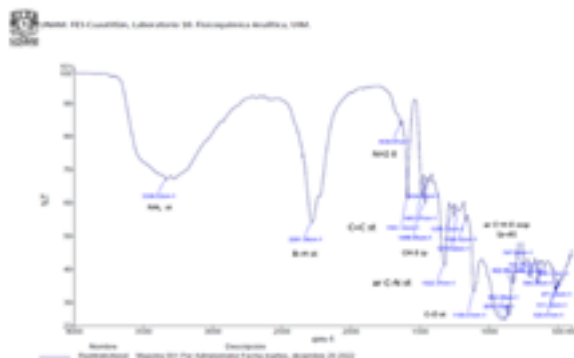
**Figura 7.** Espectro UV-Vis reacción de reducción *m*-dinitrobenzono



**Figura 8.** Espectro IR de *m*-dinitrobenzono reducido







**Figura 10.** Espectro IR de *p*-nitrofenol reducido

## Conclusiones

Se sintetizaron AgNP's a escala nanométrica a partir del extracto acuoso de pingüica, con un índice de polidispersidad muy cercano al calculado por el programa con las condiciones establecidas en la optimización, siendo los factores más significativos: la concentración de AgNO<sub>3</sub> y extracto con sus interacciones. La banda de plasmón aparece en 433 nm de acuerdo con datos calculados por 2<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> derivada. La evidencia de que la plata se redujo se mostró por datos de IR por la banda en 1704 cm de C=O; por una probable interacción quinona-plata. Las nanopartículas sintetizadas se pueden utilizar como catalizadores de reacciones de reducción con NaBH<sub>4</sub> de nitroaromáticos como *m*-dinitrobenceno y *p*-nitrofenol

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNAM-DGAPA por el financiamiento del proyecto: PAPIIME- PE204118.

## Referencias

- Aditya, T. J., & Pal, T. (2017). Remarkable Facet Selective Reduction of 4Nitrophenol by Morphologically Tailored (111) Faceted Cu<sub>2</sub>O Nanocatalyst. *A. Omega Edit.*, 1968-1984. doi:10.1021/acsomega.6b00447
- Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios. (2003). FN/2003/PAF/006 *Gayuba, Hojas*. Obtenido de Formulario Nacional: [https://www.aemps.gob.es/formulario-nacional/fitoterapia/principios-activos/fn\\_2003\\_paf\\_006.pdf](https://www.aemps.gob.es/formulario-nacional/fitoterapia/principios-activos/fn_2003_paf_006.pdf)
- Alonso-Castro, A. J.-M.-P.-A.-C. (2016). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. . *Journal of ethnopharmacology*, Alonso-Castro, A. J., Dominguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Castillo-Pérez, L. J., Carranza-Alvarez, C., Solano, E., . . . Orozco-C198.
- Barredo-Escalona, D. M. (2019). *Estudio químico de las hojas de Arctostaphylos pungens (pingüica)*. Obtenido de TESIUNAM.

- De la Cruz, M., & Badiano, J. (1991). *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. Fondo de Cultura Económica.
- Gallo Ramírez, J. P., & Ossa Orozco, C. P. (2022). Fabricación y Caracterización de nanopartículas de plata con potencial uso en el tratamiento del cáncer de piel. *Ingeniería y Desarrollo*, 37(01), 88–104. doi:10.14482/inde.37.1.6201
- Gamboa, N. (1991). El empleo de la derivada en la espectroscopía ultravioleta-visible. (P. U. Perú., Ed.) *Revista de Química*, 2, 179-195. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/303288964>
- Martínez, M. (1967). *Las plantas medicinales de México*. (6ta ed.). Distrito Federal, México: Botas.
- Siddiq, M. S. (2016). Silver nanoparticles fabricated hybrid microgels for optical and catalytic study. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 38(5), 850-858.

# CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN



SOCIALES Y HUMANIDADES



# ESPECIALIDAD EN ACCESIBILIDAD UNIVERSAL: ENFOQUES TRANSCOMPLEJOS DESDE LA INTERSECCIONALIDAD

*Eska Elena Solano Meneses, Eska Daniela Sierra Solano*

*Facultad de Arquitectura y Diseño, Universidad Autónoma del Estado de México,*

[eskasolano@gmail.com](mailto:eskasolano@gmail.com)

## Resumen

El problema que se plantea es la omisión de la interseccionalidad en los discursos de la accesibilidad universal, ocasionando con ello una mirada segmentada que solo se ocupa de las personas con discapacidad. Este trabajo muestra el diseño curricular de la Especialidad en Accesibilidad Universal de la UAEMéx<sup>1</sup> que se conforma de dos periodos lectivos, siendo el primero un ejercicio de análisis y acercamiento a los diversos grupos vulnerables desde la perspectiva del derecho, y el segundo periodo un ejercicio sintético de aplicación desde una mirada interseccional. Como resultado se muestran los trabajos terminales de los alumnos que presentan una visión interseccional, entendiendo la accesibilidad universal como un derecho que reconoce y dignifica la diversidad humana. Se concluye que es necesario extender esta mirada transcompleja e interseccional de la Accesibilidad Universal desde la academia para abrir el discurso desde diversas disciplinas y abatir las falsas conceptualizaciones segmentarias que predominan en el imaginario colectivo.

**Palabras clave:** Accesibilidad Universal, Derecho, Diversidad, Interseccionalidad, Transcomplejidad

## Antecedentes

El concepto de transcomplejidad implica una mirada simultánea de la transdisciplina y la complejidad, que abarca un enfoque sistémico y no lineal de las ciencias y del conocimiento. Bajo este reconocimiento transcomplejo surge una propuesta curricular de programa de posgrado denominado Especialidad en Accesibilidad Universal, impulsado por la Universidad Autónoma del Estado de México (Solano, 2022), dentro de cuya problemática





se desarrollan contenidos provenientes de diversas disciplinas, abordados principalmente desde el diseño y el derecho, y que al mismo tiempo reconocen la complejidad de la inclusión desde la interseccionalidad. La Accesibilidad Universal implica un cambio de visión que se fundamenta en la eliminación de barreras en espacios, objetos, servicios, gestión e información y deviene del derecho que todas las personas tenemos al goce de todo tipo de espacios, actividades e información (ONU, 2007). Pero la accesibilidad universal también tiene consigo el reconocimiento tácito de todos los grupos que han enfrentado este tipo de barreras y que les han impedido su inserción en la sociedad, incurriendo en el error de desarrollar un enfoque analítico con el que se separan acorde a sus “distintas” características, de esta manera podemos hablar de grupos como: las personas con discapacidad, las personas LGTTBQ+, las personas adultas mayores, las mujeres, los infantes, las personas de origen étnico, las personas en situación de pobreza, las y los migrantes, etc. Es por ello que, desde su diseño curricular, este programa de posgrado desarrolla un método analítico-sintético con el que se pretende desarrollar un proceso de aprendizaje en el que el alumno sea capaz de distinguir las necesidades particulares a las que el diseño debe responder de los diferentes grupos mencionados, para posteriormente poder desarrollar proyectos o implementaciones en los que la respuesta surja desde un enfoque de derecho y una mirada interseccional.

### Objetivo

Como se ha expuesto anteriormente, la accesibilidad universal es un concepto emergente que busca cambiar el enfoque desde el cual se plantea la arquitectura, el urbanismo y el diseño; pero también los sistemas de información y comunicación, así como los servicios y los productos con los que convivimos día a día. El desconocimiento de la amplia mirada de la accesibilidad ha tenido como resultado una asociación incorrecta entre la accesibilidad y las personas con discapacidad, como si sólo fuera este grupo vulnerado para quien está dirigido todo el planteamiento inclusivo, así como los ajustes razonables. Es por ello que el objetivo de este trabajo es mostrar la manera en que la transcomplejidad, como esencia del diseño curricular de la Especialidad en Accesibilidad Universal (UAEMéx, 2022), desplanta sus discursos desde el derecho y el diseño, para promover un enfoque orientado hacia la interseccionalidad. Se pretende con ello, analizar la existencia de un enfoque interseccional y transcomplejo dentro de los trabajos terminales desarrollados por los alumnos de la Especialidad en Accesibilidad Universal, como un ejemplo de la manera en que se debe abordar la accesibilidad universal, evitando centrarse sólo en personas con discapacidad.

### Metodología

La metodología desarrollada implica un análisis de los contenidos y de las actividades curriculares desarrolladas durante los estudios de posgrado de la Especialidad en Accesibilidad



Universal, mismo que se contrasta con los resultados plasmados en los trabajos terminales de los alumnos con la intención de evaluar hasta dónde se logra plasmar el enfoque de interseccionalidad y transcomplejidad en los mismos. Para ello, este trabajo muestra el diseño curricular de la Especialidad en Accesibilidad Universal que se conforma de dos periodos lectivos, siendo el primero un ejercicio de análisis y acercamiento a los diversos grupos vulnerados desde la perspectiva del derecho, y el segundo periodo un ejercicio sintético de aplicación desde una mirada interseccional. Posteriormente y a la luz de los contenidos desarrollados en las unidades académicas será posible retomar algunos de los trabajos terminales desarrollados y evaluar en ellos el impacto de los enfoques antes mencionados.

### Resultados y discusión

Este trabajo centra su enfoque sobre dos conceptos básicos que son la interseccionalidad y la transcomplejidad. La interseccionalidad concede una mirada sistémica y compleja de las relaciones de poder y condiciones de discriminación que se agudizan cuando se intersectan las características de un grupo vulnerable con otro; de este modo se entiende que las condiciones en las que se conjuntan discapacidad y género, por ejemplo, o grupos étnicos con grupos etarios, contribuyen a profundizar la desigualdad (Collins & Bilge, 2018). El término de interseccionalidad fue originalmente discutido por Kimberlé Crenshaw (1989), justamente con la intención de hacer evidente la manera en la que la discriminación se acrecentaba cuando se trataba de personas de la comunidad LGBTTTQ+ y que además pertenecían a grupos afrodescendientes. Con ello cruzaba la vulnerabilidad de los grupos de género no binario con formas de exclusión por motivo de origen étnico. Bajo esta visión se intenta visibilizar la reducción que ha sido un paradigma general en los estudios con referencia a discriminación y exclusión de grupos vulnerables con lo que el tema se aborda y que no reconocen los cruces que existen entre ellos. Es por esta razón que los trabajos terminales de la Especialidad en Accesibilidad Universal posibilitan, con el enfoque de interseccionalidad, profundizar en los estudios de los fenómenos de discriminación y falta de inclusión que son detonados por la ausencia de criterios de accesibilidad universal.

De la misma manera la transcomplejidad, es el segundo concepto sobre el cual gira la presente discusión, debido a que esta visión reconoce la complejidad de los fenómenos estudiados cuyo estudio acotado en una disciplina resultaría siempre incompleto, por lo que se recurre a la transdisciplina que a su vez reconoce el entramado de las raíces de estudios provenientes desde lo social, el derecho, el diseño, y demás esferas del conocimiento que se cruzan cuando de accesibilidad universal se trata. La transcomplejidad es la mirada que permite un análisis múltiple para percibir desde una postura abierta, lo inconmensurable e inabarcable de los fenómenos en los que se cruza el derecho, la ética, los valores e incluso la política (Meza, 2014), ya que reconoce la relación inseparable de la complejidad y la transdisciplina.





La Especialidad en Accesibilidad Universal ha planteado desde su inicio la inmersión en conocimientos de ética, donde los contenidos se centran en conceptos de ética y diversidad humana, los antecedentes de la normalización, las tendencias demográficas de la población de grupos vulnerables, así como perspectivas del diseño que buscan atender sus requerimientos particulares como el diseño participativo, el diseño universal y el diseño para todos. De la misma forma, reconoce la importancia del derecho como enfoque central analizando la dimensión política y jurídica de la Accesibilidad Universal, así como el marco legal de la accesibilidad universal en el contexto mundial y nacional donde se analizan: la Carta Mundial del Derecho a la Ciudad, la Convención sobre los Derechos de las Personas con Discapacidad, la Agenda 2030 y los Objetivos del Desarrollo Sostenible, así como el marco legislativo y reglamentario nacional sobre accesibilidad. Así mismo, los alumnos incursionan en los principios de accesibilidad universal en los entornos construidos y en los sistemas urbanos, por lo que se suman conocimientos de arquitectura, diseño y urbanismo, con lo que, desde el primer periodo lectivo, la transcomplejidad se concreta involucrando diferentes áreas de conocimientos con el enfoque transversal de la accesibilidad universal.

Para el segundo periodo lectivo, la transcomplejidad permite la convivencia de contenidos que se aplican en el espacio público, y que suman a la accesibilidad universal, los conocimientos de la accesibilidad cognitiva (Figura 1), así como la posibilidad de cursar alguna unidad académica optativa que nutra el discurso teórico del trabajo terminal, donde la oferta es: a). - Neurociencias y Accesibilidad Cognitiva, b). - Derechos humanos y Accesibilidad Universal, c). - Vulnerabilidad y Accesibilidad Universal, d). - Accesibilidad Universal Educativa y e). - Accesibilidad Universal para el envejecimiento y la vejez.

Los conocimientos logran un esquema de aplicación con la unidad académica llamada Práctica Profesional, donde el alumno logra vincular los contenidos teóricos en un proyecto de aplicación práctica en alguna instancia o institución gubernamental o no gubernamental, por lo que también se desarrolla un ejercicio de retribución social. El resultado final quedará plasmado en su Trabajo Terminal, desarrollado lo largo del año de estudios.





**Especialidad en Accesibilidad Universal en la Arquitectura y la Ciudad**



Figura 1. Mapa curricular de la Especialidad en Accesibilidad Universal (Elaboración propia)

Durante el seguimiento del trabajo terminal, se fomenta el criterio de interseccionalidad, como una manera de reconocer el contexto complejo de los grupos vulnerables históricamente excluidos. Se muestran a continuación algunos trabajos desarrollados donde es posible identificar la visión transcompleja, la mirada interseccional, así como la retribución social que se logra con la vinculación realizada a través de prácticas profesionales.



## Trabajo terminal: ACCESIBILIDAD UNIVERSAL EN LOS ESPACIOS PÚBLICOS RURALES, DISEÑADO PARA LAS MUJERES ADULTAS MAYORES Y CON DISCAPACIDAD.

Este trabajo buscó romper paradigmas en donde las comunidades asentadas en territorios rurales, al igual que las ciudades, garanticen accesibilidad para las personas. En este estudio se aborda el caso de las mujeres adultas mayores, de origen étnico, con discapacidad y en situación de pobreza que se concentran en el espacio público para realizar actividades de comercio en Temoaya, Estado de México. El objetivo de este trabajo es proponer un espacio público bajo los criterios de accesibilidad universal, en una comunidad indígena carentes de espacios.

1. Visión transcompleja. Se desarrolla desde el derecho, las políticas públicas, y el diseño urbano, por lo que es necesario el cruce de estas disciplinas para lograr abordar el problema.
2. Mirada interseccional. La propuesta visibiliza la interseccionalidad que recrudece la desigualdad por tratarse simultáneamente de personas adultas mayores, mujeres, personas con discapacidad y personas de origen étnico.
3. Retribución social. Las prácticas profesionales se realizaron en las oficinas del Ayuntamiento de Temoaya, Estado de México, con quien se desarrolló el proyecto que visibilizó a este grupo de mujeres (Figura 2).



*Figura 2. Mujeres, adultas mayores personas con discapacidad y en situación de pobreza.*

## Trabajo terminal: LA ACCESIBILIDAD UNIVERSAL EN ESPACIOS ARTÍSTICO-CULTURALES PARA PERSONAS CON DISCAPACIDAD MOTRIZ EN LA CIUDAD DE QUERÉTARO

Este trabajo presenta, los resultados de una investigación en torno a la importancia de la accesibilidad arquitectónica y social en recintos turísticos culturales para personas con discapacidad de la ciudad de Querétaro, así como las recomendaciones a las instancias correspondientes para que realicen las mejoras pertinentes, para que este sector de la población pueda desplazarse en el interior de estos lugares de manera integral, participando no solo como espectadores, sino como artistas, alumnos, y/o docentes.

1. Visión transcompleja. Para la fundamentación de este trabajo fue necesaria una mirada desde disciplinas como el derecho, la antropología, el arte y el diseño arquitectónico.
2. Mirada interseccional. Los grupos inmersos son mujeres y personas con discapacidad, por ser quienes se desempeñan como artistas, alumnos, y/o docentes y viven constantemente enfrentando barreras arquitectónicas en los escenarios donde se presentan.
3. Retribución social. Las prácticas profesionales se desarrollaron en instalaciones artístico-culturales de la Ciudad de Querétaro, donde la alumna de la Especialidad participó también impartiendo cursos de capacitación sobre accesibilidad universal a los empleados de dichas instalaciones (Figura 3).



*Figura 3. Escaleras al interior del Museo de la Ciudad de Querétaro.*

## Trabajo terminal: EVALUACIÓN DE ACCESIBILIDAD COMUNICACIONAL EN EL ENTORNO ESCOLAR Y PROPUESTA DE ATENCIÓN DESDE EL ENFOQUE DE INCLUSIÓN

En este proyecto se aborda la problemática de inaccesibilidad comunicacional que existe en las escuelas y cómo esta problemática afecta la inclusión de niños con discapacidad intelectual.



Busca realizar una evaluación que permita determinar un diagnóstico de accesibilidad comunicacional en un entorno educativo y de este modo poder determinar lo que se ha hecho para lograr una educación inclusiva con accesibilidad comunicacional (Figura 4).

1. Visión transcompleja. Para el logro de este proyecto fue necesario incursionar en el campo de la educación, el diseño de materiales instruccionales y el diseño universal.
2. Mirada interseccional. Este trabajo visibiliza a uno de los grupos vulnerables más ignorados: los infantes, y al mismo tiempo a las personas con discapacidad intelectual.
3. Retribución social. El proyecto se desarrolló en la escuela primaria Gral. José Vicente Villada, en Toluca, Estado de México, teniendo como universo de estudio tres niños con discapacidad intelectual y proponiendo ajustes razonables con beneficio para todos.



*Figura 4. Nodo en origen se encuentra tras cruzar la puerta principal de entrada/salida, mediante piso podotáctil que direcciona de la Escuela Primaria General José Vicente Villada, Toluca, México.*

## Conclusiones

Los trabajos acá mostrados son ejemplo de la manera en la que la transcomplejidad y la mirada interseccional forman parte de la formación que se imparte en la Especialidad en Accesibilidad Universal como oferta de posgrado que se ofrece en la Facultad de Arquitectura y Diseño de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Es necesario superar la idea que relaciona la accesibilidad universal como si fuera una estrategia dirigida solo a la inclusión de las personas con discapacidad cuando en realidad es una estrategia para lograr la inclusión para todos, ya que es derecho de todas las personas y que es un apoyo para la población que forma parte de los grupos vulnerables.



Se concluye que es necesario extender esta mirada transcompleja e interseccional de la Accesibilidad Universal desde la academia para abrir el discurso desde diversas disciplinas y abatir las falsas conceptualizaciones segmentarias que predominan en el imaginario colectivo.

## Referencias

Collins, P., & Bilge, S. (2018). *Intersectionality*. Londres: Policity Press.

Crenshaw, K. (1989). *Demarginalizing the intersection of race and sex: A black feminist critique of antidiscrimination doctrine, feminist theory and antiracist politics*. Chicago: Universidad de Chicago.

Meza, D. (2014). La Transcomplejidad como opción integradora de saberes. *Comunidad y Salud*. Retrieved junio 7, 2023, from [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-32932014000200001&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-32932014000200001&lng=es&tlng=es).

ONU. (2007). *Convención sobre los derechos de las personas con discapacidad*. Nueva York: ONU. Retrieved agosto 15, 2020, from <https://www.un.org/esa/socdev/enable/documents/tccconvs.pdf>

Solano Meneses, E. E. (2022). Importancia de los PRONACES en Programas de Posgrado: Especialidad en Accesibilidad Universal. En *Debates en evaluación y curriculum* (pp. 1-13). Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala.

UAEMéx. (2022). *Especialidad en Accesibilidad Universal en la Arquitectura y la Ciudad*. Retrieved from Facultad de Arquitectura y Diseño: [https://fad.uaemex.mx/index.php?option=com\\_sppagebuilder&view=page&id=140](https://fad.uaemex.mx/index.php?option=com_sppagebuilder&view=page&id=140)





# USO DE GAMIFICACIÓN CON UN VIDEO 2D EN EDUCACIÓN AMBIENTAL PARA LA EDUCACIÓN BÁSICA SUPERIOR

*Danilo Alejandro Soria Maldonado<sup>1</sup>, Sara Marina Haro Loo<sup>2</sup>,*

*Juan Francisco Soria Maldonado*<sup>3</sup>

*<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Universidad Central del Ecuador,*

*<sup>2</sup>Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Universidad Central del Ecuador, <sup>3</sup>Liceo Campo Verde,*

*[<sup>1</sup>danilosoria.10@hotmail.com](mailto:danilosoria.10@hotmail.com), [<sup>2</sup>saramarina.hj@gmail.com](mailto:saramarina.hj@gmail.com), [<sup>3</sup>sojuan.5892l@gmail.com](mailto:sojuan.5892l@gmail.com)*

## Resumen

El empleo de videojuegos como herramienta educativa ha ganado una gran importancia en el ámbito de la enseñanza. El objetivo de este trabajo es examinar la eficacia de utilizar videojuegos como recurso didáctico en la Educación Básica Secundaria, específicamente en la enseñanza de la clasificación de residuos y la promoción del consumo responsable de recursos. Se desarrolló un videojuego denominado “3R” que fue concebido y programado siguiendo los principios de diseño, composición y experiencia del usuario, utilizando software de edición de imágenes como Adobe Photoshop y Adobe Illustrator, además del motor de videojuegos Unity. La metodología empleada se basa en la metodología SUM, se centra en la creación de videojuegos de alta calidad, gestionando eficazmente los recursos y buscando mejoras continuas. Se examinó la interacción entre el usuario y la interfaz del videojuego, así como la evaluación de su eficacia en el proceso de formación de los estudiantes. Los resultados indican que los estudiantes comprendieron de manera sólida los conceptos de reciclar, reducir y reutilizar, así como su aplicación práctica, y mostraron un alto nivel de aceptación hacia el producto desarrollado. Se concluye que la incorporación de videojuegos como estrategia de enseñanza puede estimular la motivación y el interés de los estudiantes para compartir sus conocimientos y promover prácticas sostenibles en su entorno.

**Palabras clave:** Gamificación, Técnicas de aprendizaje, Educación ambiental, Regla de las 3R, Videojuego 2D en Unity.



## Antecedentes

Hoy en día, la “Agenda 2030 sobre el Desarrollo Sostenible” de la ONU, con 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), es una preocupación global (PNUD, 2015). El Objetivo 13, “Combatir el cambio climático y sus efectos,” es esencial. La educación ambiental se considera crucial para sensibilizar sobre el cambio climático y promover valores ecológicos (Naciones Unidas, 2018). El Gobierno de Ecuador, a través del Ministerio de Educación, ha implementado programas como “Tierra de Todos” y “Tierra de niñas, niños y jóvenes” para abordar la problemática ecológica (Ministerio de Educación del Ecuador, 2019). Sin embargo, el país aún enfrenta desafíos, como el aumento de la generación de residuos. Inculcar la conciencia ambiental desde temprana edad, adaptada a las nuevas generaciones familiarizadas con la tecnología digital, es esencial.

En este contexto, el interés por estudiar las mejores prácticas pedagógicas en educación ambiental crece exponencialmente. Autores como Calderón-Ortega et al. (2023) abordan pautas pedagógicas destinadas a fortalecer la educación ambiental en instituciones educativas. Ofrece una primera aproximación a estrategias que pueden potenciar la enseñanza y concienciación ambiental en el ámbito escolar, sostienen que, en un mundo tecnológicamente avanzado, es esencial incorporar tecnologías digitales en la enseñanza de la educación ambiental. El estudio de Rodríguez et al. (2022), se adentra en la efectividad de las estrategias lúdicas como herramienta en la Educación Ambiental, destacando su papel en el estímulo de la curiosidad, la creatividad y la empatía de los estudiantes en este ámbito educativo. Cribel y García (2021) enfatizan el papel de la educación ambiental como motor para la sostenibilidad global desde las instituciones educativas. Cartagena et al. (2023) destacan su capacidad transformadora en la relación humano-medio ambiente. Analizan la dinámica de integración de las Tecnologías de la Información y Comunicación (TIC) en el contexto educativo peruano.

El uso de videojuegos como herramienta educativa ha ganado relevancia en la educación actual, especialmente entre las generaciones familiarizadas con la tecnología digital desde una edad temprana (Núñez et al., 2020). Esta tendencia ha sido objeto de numerosas investigaciones, la mayoría coinciden en afirmar que los videojuegos en la educación representan un enfoque innovador que aprovecha la motivación intrínseca de los juegos para atraer la atención de los estudiantes y facilitar la introducción de conocimientos. Estos videojuegos se han convertido en una parte integral de la cultura de las nuevas generaciones y, cuando se aplican adecuadamente, pueden ser aliados valiosos para mejorar el aprendizaje y desarrollar habilidades cognitivas y sociales (Garay-Montenero y Ávila-Mediavilla, 2021; Restrepo-Escobar et al., 2019; Méndez & Boude, 2021).





Méndez y Boude (2021) ofrecen una revisión sistemática sobre el uso de videojuegos en la educación primaria. Concluyen que los videojuegos en contextos educativos pueden impulsar la motivación y el desarrollo de habilidades cognitivas y motoras en los estudiantes, pero subrayan la necesidad de supervisión docente para garantizar su uso efectivo y alineado con los objetivos educativos. Restrepo-Escobar et al. (2019) resaltan que los videojuegos pueden ser una herramienta educativa efectiva si se utilizan de manera responsable y supervisada. El papel de los docentes es fundamental para utilizar los videojuegos de manera efectiva en el aula. Moreno-Cadavid et al. (2019) desarrollaron un videojuego para enseñar el cuidado del agua. Concluyeron que los video juego permiten desplegar en los estudiantes no solo el pensamiento crítico y reflexivo, sino la capacidad de asimilar contenidos con una actitud científica y de carácter social.

El Colegio Academia USA, como muchas instituciones en Ecuador, cumple con las directrices del Ministerio de Educación y ha implementado medidas para promover el respeto al medio ambiente. Sin embargo, la creciente generación de residuos sigue siendo un problema. Por lo tanto, es necesario encontrar enfoques innovadores y atractivos para educar a las nuevas generaciones sobre la importancia de cuidar el medio ambiente. El presente proyecto se enfoca en desarrollar un videojuego educativo en el contexto de Ecuador, específicamente dirigido a estudiantes de Educación Básica Superior del Colegio Academia USA. Este videojuego se diseñará para dispositivos móviles Android, teniendo en cuenta la afinidad de las nuevas generaciones con la tecnología. Se utilizarán herramientas de diseño gráfico como Adobe Illustrator y Adobe Photoshop, y se implementarán animaciones y efectos de sonido para mejorar la experiencia del usuario.

Las mecánicas del videojuego se desarrollaron en función de los objetivos educativos y están alineadas con el currículo del Ministerio de Educación del Ecuador. El objetivo es transmitir conocimientos y valores ambientales de manera efectiva y atractiva. Antes y después del testeo del videojuego con los estudiantes, se llevó a cabo una evaluación para medir la retención de conocimientos ambientales. Este proyecto busca contribuir a la educación ambiental en Ecuador y abordar los desafíos ambientales actuales a través de una herramienta innovadora y atractiva para las nuevas generaciones. La gamificación y el uso de videojuegos pueden ser una estrategia efectiva para alcanzar estos objetivos.

### **Objetivo**

Desarrollar un videojuego 2D para dispositivos móviles Android, mediante el uso del motor de videojuegos Unity, con el fin de impartir conocimientos acerca de la preservación del medio ambiente, utilizando la gamificación a través de la aplicación de la regla de las 3R, y así, generar conciencia ambiental en los estudiantes de EBS del Colegio Academia USA.





## Metodología

En el campo de las TIC se incluyen los juegos serios como recursos digitales que, a través de juegos digitales, simulaciones, ambientes virtuales y tecnologías de realidad mixta, ofrecen oportunidades educativas en diversas áreas. Estos recursos involucran a los usuarios mediante narrativas, jugabilidad y experiencias interactivas, con el propósito de informar, influir de manera positiva, mejorar el bienestar y transmitir significado, convirtiéndose así en herramientas efectivas para el aprendizaje y la enseñanza. Son especialmente atractivos para los jóvenes y pueden cubrir una amplia gama de temas educativos (Acosta et al., 2023).

En este contexto, utilizar los videojuegos como una herramienta educativa implica sumergirse en esta forma de comunicación, comprenderla y estructurarla de manera que el estudiante pueda asimilar el conocimiento a través de esta interacción continua, al mismo tiempo que evalúa la precisión de la información que recibe e interpreta. La elección de una metodología apropiada es esencial para obtener resultados satisfactorios en el plazo establecido.

Existen numerosas metodologías disponibles para el diseño y desarrollo de videojuegos, accesibles gracias a las tecnologías actuales de información y comunicación. En este proyecto, se optó por la metodología SUM debido a sus cualidades óptimas para el tratamiento y desarrollo de videojuegos, especialmente adecuada para equipos multidisciplinarios pequeños, mejora la productividad y se adapta a proyectos de corta duración, con el objetivo de crear videojuegos de alta calidad gestionando eficazmente los recursos a través de la mejora continua (Alcazar, 2022). Las fases de esta metodología se describen a continuación:

**Concepto:** En esta etapa se define el concepto del videojuego a través de reuniones del equipo de trabajo. Se identifica el público objetivo, las características, el gameplay, personajes, historia y aspectos técnicos del juego.

**Planificación:** Aquí se establece un cronograma detallado del proyecto, se asignan tareas al equipo y se determina el presupuesto si es necesario. También se especifican las características funcionales y no funcionales del juego.

**Elaboración:** Esta fase es iterativa e incremental, donde se desarrolla el videojuego en etapas de planificación, desarrollo y evaluación. Se definen objetivos, características y métricas, y se sigue el progreso del desarrollo de acuerdo con estas métricas. Se hacen ajustes según sea necesario.

**Beta:** Se enfoca en la corrección de errores y la evaluación de aspectos como la curva de aprendizaje, dificultad y gameplay. Se realizan ajustes y ciclos repetidos hasta alcanzar los estándares de calidad.





**Cierre:** En esta fase, se dirigen los esfuerzos hacia las generaciones jóvenes, desarrollando un producto educativo para dispositivos móviles. Se limita la población de estudio a estudiantes de octavo, noveno y décimo grado de la EBS de la Academia USA, en línea con las directrices del Ministerio de Educación y la conciencia ambiental a largo plazo.

En esta última fase se entrega la versión final del videojuego a la Academia USA y se evalúa la efectividad del videojuego como estrategia de aprendizaje en educación ambiental. Para este fin se aplica un pre-test cuya finalidad es evidenciar el nivel de conocimiento de los estudiantes en el tema que aborda las reglas de las 3R, así como también el nivel de compromiso con la problemática ambiental.

Después de la aplicación del test, se proporciona la herramienta a los estudiantes para que jueguen, esto se realiza en varias sesiones con supervisión de los autores de la presente investigación y profesores de la unidad educativa. Posteriormente se aplica otro test que tiene la finalidad de analizar el cumplimiento de los objetivos de aprendizaje establecidos, así como también la funcionalidad del videojuego 3R en todos sus aspectos.

### Elementos y características

Se ideó un conjunto de tres juegos educativos basados en el concepto de las 3R (Reducir, Reutilizar y Reciclar). En el primer juego, relacionado con el reciclaje, los jugadores deben clasificar los residuos según el color del contenedor, siguiendo las normas establecidas por el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). El segundo juego se centra en la reducción del consumo de energía y agua, con escenarios que representan lugares como escuelas y hogares, donde los jugadores deben apagar interruptores y llaves para controlar el consumo. Finalmente, el tercer juego promueve la reutilización al permitir a los jugadores usar objetos obtenidos en los dos primeros juegos para crear macetas y cultivar plantas, utilizando la energía y el agua ahorrados en el segundo juego. La progresión en este tercer juego está vinculada a logros desbloqueados en los dos primeros juegos, lo que motiva a los jugadores a participar en todos los aspectos de la gestión ambiental.

### Motor de videojuego y lenguaje de programación

Con el objetivo de desarrollar el videojuego para plataformas móviles Android, se ha elegido utilizar el motor de videojuegos Unity como una solución eficiente y rápida. Unity se basa principalmente en el lenguaje de programación C#, que es el idioma predominante en este motor. Por lo tanto, la programación del juego se lleva a cabo mediante scripts escritos en C#.

## Flujo de diseño del videojuego

Durante el proceso de desarrollo de un videojuego, al igual que en cualquier producción audiovisual, se distinguen claramente tres etapas esenciales e indispensables: la preproducción, la producción y la posproducción. En la primera se describe el concepto del juego. En la segunda, el diseño de juego, diseño técnico, implementación, pruebas Alpha, pruebas Beta y Gold Master. Finalmente, en la fase post producción, se desarrollan los parches, expansiones y explotación del producto.

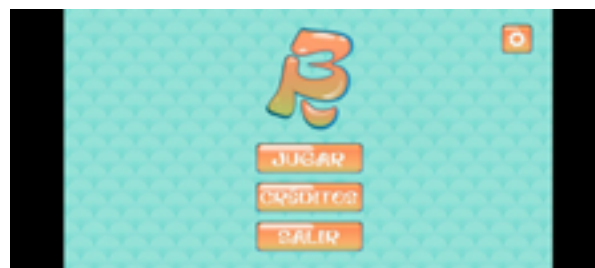
## Resultados y discusión

### *Logotipo del video juego 3R*

Se optó por un diseño de logotipo caracterizado por formas redondeadas y un enfoque orgánico, con el propósito de transmitir una imagen de innovación y naturalidad, siguiendo tendencias que buscan comunicar valores como la sostenibilidad y la creatividad. Este estilo, libre de cuadrículas, ofrece versatilidad y originalidad en comparación con diseños más rígidos. El diseño final fusiona las letras “3” y “R” en color naranja (#FF8357), destacándose como un elemento distintivo y reconocible en el competitivo mercado de los juegos móviles, lo que es esencial para atraer a los usuarios y sobresalir en la industria.

### **Fase beta / Versión 1.0 videojuego 3R**

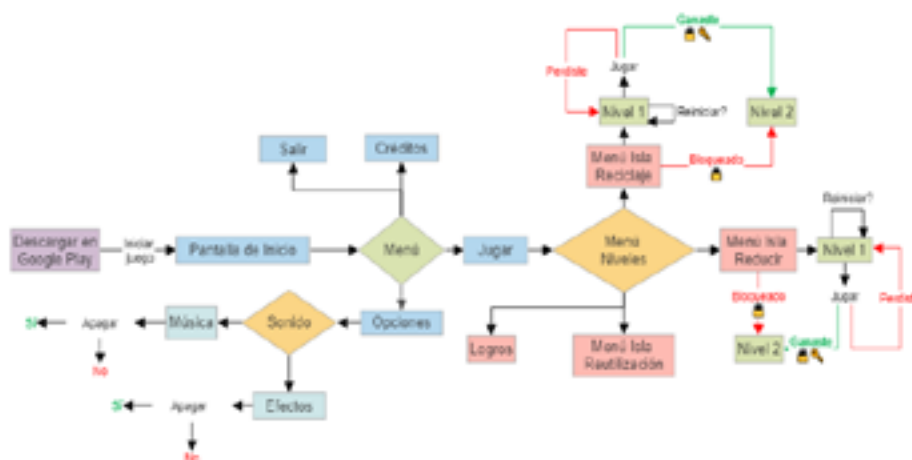
Una vez completada la fase de elaboración, se logra la versión 1.0 de la aplicación 3R y se inicia la fase beta. Para esta etapa, se eligió un grupo de jugadores con acceso a una versión preliminar, quienes proporcionaron valiosas retroalimentaciones que permitieron evaluar tanto la curva de dificultad como la facilidad de aprendizaje del videojuego, identificar errores y definir los requisitos mínimos de hardware y software para su ejecución. Con base en estas observaciones, se lanzaron diversas versiones iterativas con el objetivo de alcanzar los estándares de calidad establecidos desde el principio. En la Figura 1 se observa la pantalla de inicio en donde se resalta el logotipo y botones principales de la interfaz de usuario.



**Figura 1.** Pantalla de inicio del videojuego 3R

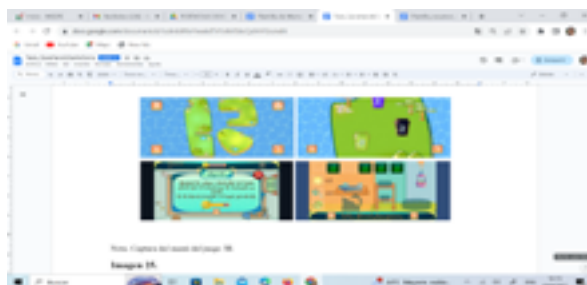


A continuación, en la Figura 2 se representa de manera gráfica la lógica del proceso y la secuencia de eventos que ocurren dentro del sistema del videojuego 3R diseñado.



**Figura 2.** Diagrama de flujo del videojuego 3R. De izquierda a derecha se describe la lógica y secuencia de los procesos dentro del aplicativo 3R.

En la Figura 3 se muestran algunas capturas de pantallas del videojuego 3R, en donde se diferencia el menú de las tres islas y distintos niveles de complejidad.



**Figura .3** Ejemplos de pantallas del video juego 3R

## Fase de cierre

### *Resultado Pre-test*

La primera encuesta se realizó al 100% de estudiantes que comprenden la EBS del Colegio Academia USA. Esta encuesta se llevó a cabo previo a que los estudiantes prueben el juego.



Más de la mitad de los encuestados pertenecen al 9no grado de educación básica, un 16.7% pertenecen a 10mo grado y un 27.8% pertenecen a 8vo grado. Por otro lado, el 78% de los estudiantes afirman conocer la regla de las 3R, sin embargo, la gran mayoría desconocen el significado de cada una de ellas. Además, la gran mayoría de estudiantes responden de manera errónea o desconocen el tipo de residuo que se coloca según el color del contenedor.

Respecto a las acciones de protección ambiental que realizan los estudiantes, un 61.1% afirman que en sus casas no tienen contenedores correctamente identificados para clasificar los residuos. El 72.2% de los estudiantes exponen la carencia de contenedores correctamente identificados para clasificar residuos dentro de la institución. En porcentajes similares manifiestan que no clasifican los residuos ni en sus casas ni en la institución.

La mayor parte de estudiantes consideran que entre los aspectos que les dificulta la correcta clasificación de residuos, predomina el desconocer las ventajas de clasificar los residuos y el invertir mucho tiempo en su clasificación, con un 33.3% para ambos escenarios. El porcentaje restante desconocen cómo clasificar los residuos.

En preguntas relacionadas al uso de videojuegos para facilitar el aprendizaje, cerca de un 67% opina que los videojuegos sí pueden ser utilizados para aprender, mientras que el porcentaje restante expresa incertidumbre acerca del tema.

### Resultado Post-test

Los resultados de la segunda encuesta revelan una notable mejora en el conocimiento de los estudiantes sobre las 3R, evidenciando que todos comprenden su importancia y cómo contribuyen a la gestión adecuada de residuos y al consumo responsable de recursos. Además, se observó un avance significativo en la clasificación de residuos por colores de contenedores, lo que indica una evolución importante en este aspecto. Los estudiantes demostraron un buen entendimiento de la reutilización y la reducción, identificando situaciones donde aplicar estos conceptos. Esto sugiere que están adquiriendo habilidades que los capacitan como agentes de cambio ambiental positivo.

La aplicación de videojuego 3R, generó un gran interés y motivación entre los estudiantes, quienes compartieron sus conocimientos con sus redes, destacando la eficacia de la gamificación en promover comportamientos ambientalmente responsables. La implementación de un sistema de logros también resultó efectiva para motivar el aprendizaje activo. En general, el videojuego fue bien recibido, con altos niveles de satisfacción y diversión, lo que indica su eficacia para fomentar el interés y la participación de los estudiantes en el aprendizaje. Estos resultados coinciden con los de Alcazar (2022) quien señala que los videojuegos serios están ganando gran nivel de popularidad y se han convertido en una herramienta altamente





valorada por los estudiantes. Además, estos resultados concuerdan con las conclusiones de Acosta et al. (2023), quienes observaron que la experiencia de un videojuego relacionado con el medio ambiente resultó en un aumento en la disposición de los usuarios a abordar temas relacionados con la biodiversidad.

## Conclusiones

El videojuego “3R” fue bien recibido por los estudiantes de la EBS en el Colegio Academia USA, cumpliendo su objetivo de concienciar sobre la ecología y los problemas ambientales causados por la actividad humana. El juego cumplió con los estándares de calidad, ofreciendo un diseño moderno y atractivo que proporcionó una experiencia de usuario satisfactoria. Además, se optimizó para funcionar sin problemas en varios dispositivos.

Los resultados resaltan la importancia de las interfaces de usuario y la presentación visual en los materiales educativos, sugiriendo que los videojuegos pueden ser herramientas efectivas para fomentar el aprendizaje significativo.

La gamificación, mediante un sistema de logros y recompensas, motivó a los usuarios a absorber la información del juego y desafiar sus habilidades cognitivas y motoras. El juego se desarrolló para dispositivos móviles Android, lo que facilitó las pruebas debido a la alta prevalencia de dispositivos móviles entre los estudiantes.

Los resultados obtenidos sugieren que la implementación de videojuegos como herramientas de aprendizaje en otras materias es una idea prometedora, siempre y cuando se realice una evaluación cuidadosa de su efectividad y pertinencia en relación con los objetivos de aprendizaje en diferentes asignaturas y niveles educativos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a las autoridades del Colegio Academia USA por las facilidades brindadas para la ejecución del proyecto.



## Referencias

- Acosta, E., Maldonado, A., Acuña, B., & Pérez, J. (2023). Educación ambiental y juegos serios: opiniones, actitudes y aprendizajes desde una práctica reflexiva. *Entreciencias: diálogos en la sociedad del conocimiento*, 10 (24). <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2022.24.83200>
- Alcazar, A. (2022). Propuesta de un método para el desarrollo de videojuegos serios accesibles. Universidad de Alicante. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=307347>
- Calderón-Ortega, M. A. N., Sánchez Castillo, V., & Gómez Cano, C. A. (2023). Pautas pedagógicas para potenciar la educación ambiental en instituciones educativas: una primera aproximación. *Universidad y Sociedad*, 15(4), 366-374.
- Cartagena Beteta, M., Santana González, Y., Revuelta Domínguez, F. I., & Pedrera Rodríguez, M. I. (2023). Creencias Docentes en la Integración Curricular de las TIC en Educación Religiosa en Perú. *Revista Universidad y Sociedad*, 15(1), 185-198.
- Cribel, F. T., & García, J. O. (2021). El excursionismo recreativo, una alternativa educativa para reforzar la educación ambiental en los niños de 9 a 12 años pertenecientes a la comunidad Cupey en el municipio Maisí. *Athlos: Revista internacional de ciencias sociales de la actividad física, el juego y el deporte*, (23), 31-62.
- Garay-Montenero, J., & Ávila-Mediavilla, C. (2021). Videojuegos y su influencia en el rendimiento académico. *Episteme Koinonia*. 4(8).<http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/258/2582582004/index.html>
- Mendez, M., & Boude, O. (2021). Uso de los videojuegos en básica primaria: una revisión sistemática [Use of video games in elementary school: a systematic review]. *Espacios*, 42(01), 66–80. <https://doi.org/10.48082/espacios-a21v42n01p06>
- Ministerio de Educación del Ecuador. (2019). Guía Metodológica TINI 2019. In Ministerio de Educación del Ecuador (3rd ed., Vol. 1). Ministerio de Educación.
- Moreno-Cadavid, J., Vahos-Mesa, S. & Mazo-Muñoz, C. (2019). Videojuego para la enseñanza del cuidado del agua. *Revista Tecnológicas*, 22 (45). <https://doi.org/10.22430/22565337.1091>
- Naciones Unidas. (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe. [www.cepal.org/es/suscripciones](http://www.cepal.org/es/suscripciones)
- PNUD. (2015). Programa de las Naciones Unidas de Desarrollo. Objetivos de Desarrollo Sostenible. <https://www.undp.org/es/sustainable-development-goals>
- Restrepo-Escobar, S. M., Arboleda Sierra, W. A., & Arroyave Taborda, L. M. (2019). El rendimiento escolar y el uso de videojuegos en estudiantes de básica secundaria del municipio de La Estrella- Antioquia [School performance and the use of video games in secondary school students in the municipality of La Estrella- Antioquia]. *Revista Educación*, 43(2), 19. <https://doi.org/10.15517/revedu.v43i2.30564>
- Rodríguez-Miranda, R., Palomo-Cordero, L., Padilla-Mora, M., Corrales-Vargas, A., & Van Wendel de Jooede, B. (2022). Aprendizaje a través de estrategias lúdicas: una herramienta para la Educación Ambiental. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 209-228.





# USO DEL APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS (ABP) PARA INGENIERÍA AGRÍCOLA EN EL CONTEXTO DE LA EDUCACIÓN HÍBRIDA

*Dulce Adalgiza Espinoza Romero<sup>1</sup> Gloria de los Ángeles Zita Padilla<sup>2\*</sup>*

*<sup>1</sup>Facultad de Estudios Superiores Aragón, Universidad Nacional Autónoma de México,*

*<sup>2\*</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México,*

*[adalgizaespinoza@gmail.com](mailto:adalgizaespinoza@gmail.com), [zitagloria@cuautitlan.unam.mx](mailto:zitagloria@cuautitlan.unam.mx)*

## Resumen

La emergencia sanitaria 2020-2021 demostró que las tecnologías abren nuevos escenarios educativos, enriqueciendo el aprendizaje y la enseñanza. En ese contexto, se diseñó una propuesta para mejorar la práctica docente en Ingeniería Agrícola, fusionando educación híbrida y aprendizaje basado en problemas (ABP), mediante la impartición de un curso sobre la metodología del ABP apoyado en una plataforma educativa y otros recursos digitales. A través de Google Classroom, los profesores diseñaron una planeación para el semestre 2023-I, combinando actividades presenciales y en línea. Los resultados indican que las tecnologías crean ambientes de aprendizaje efectivos, siempre que los docentes dominen las TIC. Esta estrategia promueve entornos interactivos y variados, generando un impacto positivo en los estudiantes y mejorando su aprovechamiento en asignaturas prácticas como Control de la Maleza y Fitopatología.

**Palabras clave:** Aprendizaje Basado en Problemas, Educación Híbrida, Estrategia Didáctica

## Antecedentes

La emergencia sanitaria 2020-2021 demostró que las TIC permiten nuevos escenarios educativos a distancia y asincrónicos, lo que permitió a una mayor integración de estas tecnologías en la enseñanza. Sin embargo, aún hay desconocimiento sobre cómo incluir activamente las TIC en prácticas educativas





Para abordar este problema, se elaboró una propuesta de trabajo en el aula bajo la modalidad híbrida y el enfoque del aprendizaje basado en problemas (ABP). El ABP es un método de aprendizaje en el que se presenta una situación problemática que los estudiantes deben analizar y resolver a fin de aprender competencias vinculadas a su licenciatura.

Las TIC son ideales para el despliegue del ABP debido a sus características y herramientas que proporcionan procesos formativos abiertos y flexibles a través de una enseñanza personalizada. Sin embargo, para que tanto el ABP como las tecnologías educativas logren sus objetivos, es necesario que los docentes comprendan la metodología de esta estrategia didáctica, así como conozcan el uso de la herramienta tecnológica. En este contexto, se impartió un curso sobre cómo integrar las tecnologías con el ABP para un grupo de docentes de licenciatura con el objetivo de que lo integraran en su metodología didáctica para el semestre 2023-I.

## Desarrollo

El Aprendizaje Basado en Problemas (ABP, Problem-based Learning [PBL] en inglés) es un término para designar una estrategia de aprendizaje popularizado en 1980 por Barrows y Tamblyn con el propósito de mejorar las habilidades de razonamiento de los estudiantes. En la propuesta, se organiza a los estudiantes en equipos pequeños, de 4 a 6 estudiantes, y se les proporciona información básica una situación problemática vinculada a un contenido curricular. Los estudiantes tienen que recuperar sus aprendizajes previos y encontrar qué contenidos o habilidades nuevas requieren para resolver el problema (Savin-Baden, 2007). Los estudiantes trabajan de manera autónoma, pero bajo la tutela del profesor responsable quién los orienta sobre cómo llegar a una respuesta adecuada.

Por lo tanto, el ABP dota al estudiante de experiencias académicas y socioculturales para conocer su realidad y así poder intervenir efectivamente en ella (Savin-Baden y Howell, 2004). En ese sentido, se puede hacer mención de la realidad en la que nos encontramos actualmente; nuestra cotidianidad se ha definido como la sociedad de la información, la cual es la sociedad donde los escenarios se desarrollan en torno a los medios de comunicación y las tecnologías.

La sociedad de la información ha traído cambios importantes en la manera de ver y de pensar el mundo, se busca que haya mayores facilidades de transmitir la información, las Tecnologías de la Información y la Comunicación (TIC), han sido una solución en gran medida para cubrir esa necesidad imperante de transmitir la información, facilitando el flujo de la información y la comunicación entre personas, por ello, no es extraño que ya hayan llegado a casi todos los aspectos de nuestra vida, en especial al ambiente educativo, siendo su elemento más representativo el Internet.





Podemos definir a las TIC como un conjunto de tecnologías que permiten acceder, producir y trabajar información a través de medios electrónicos, es decir son recursos de carácter informático, audiovisual y tecnológicos que permiten el tratamiento de la comunicación y que facilita su comunicación (Belloch, 2013). Sin embargo, trasladar a las TIC al ámbito educativo y darle un enfoque académico, tanto en el apoyo a la docencia como en la adquisición de conocimientos, se les asigna la denominación de Tecnologías del Aprendizaje y el Conocimiento (TAC). Esta nueva denominación no hace referencia simplemente al uso de las tecnologías sino a cómo se resignifica el uso de las herramientas tecnológicas y digitales para la adquisición de aprendizajes y habilidades contempladas en un currículum

Esta nueva concepción de las tecnologías requiere que se tenga una adecuada formación en competencias tecnológicas y se conozcan los lineamientos básicos para la integración efectiva de las TAC en los escenarios educativos, ya que la incorporación de las TAC requiere de un trabajo autónomo tanto por parte del docente como de los estudiantes. En el caso de los docentes en cómo ellos pueden darle un nuevo enfoque a una herramienta digital para que los estudiantes aprendan y en el caso de los alumnos cómo ellos pueden autorregular su propio aprendizaje. Entonces, al incorporar TAC en el ámbito educativo “el papel protagonista lo tendrá el alumno, (pero) el apoyo y orientación del profesor es fundamental” (Jaén, 2014, pág. 90).

El aprendizaje autónomo se define como un hecho social integrado en la dinámica social que consiste en un conjunto de prácticas en la que el sujeto determina su propio proceso educativo. Para que el aprendizaje autónomo sea efectivo, debe encontrarse con una persona (docente, tutor o par) que cree los escenarios para que haya interacción con los otros a fin de que se genere una comunicación efectiva y un escenario virtual adecuado para que esa interacción entre sujetos en medios síncronos y asíncronos incidan significativamente en el aprendizaje. Los escenarios de aprendizaje autónomo pueden ser variados, desde el trabajo presencial en el aula, trabajo a distancia basado en entornos virtuales de aprendizaje y la denominada modalidad híbrida, pero tal y como precisa Bartolomé (2004), se requiere de material didáctico y situaciones de enseñanza de calidad para el éxito de la enseñanza basado en TAC que en conjunto con la tutoría y la autonomía del aprendizaje permiten un aprendizaje significativo y situado.

En el presente trabajo, la propuesta de intervención se centró en impartir un curso de la metodología ABP a un grupo de profesores a fin de que conocieran la estrategia y la integraran en su práctica docente cotidiana. Los docentes que participaron imparten clases en la Facultad de Estudios Superiores (FES) Cuautitlán en la licenciatura de Ingeniería Agrícola, específicamente en las asignaturas de Control de la Maleza y Fitopatología de 6° semestre.



Las asignaturas mencionadas están directamente relacionadas con la práctica y aplicación de conocimientos agrícola, además de requerir una comprensión multidisciplinaria involucrando conocimientos de biología, química y agronomía. En ese sentido, el ABP permitiría a los estudiantes enfrentar situaciones problemáticas reales aplicando los conocimientos teóricos en contextos concretos a partir de un enfoque colaborativo lo que puede promover el aprendizaje de competencias analíticas, sociales y académicas necesarias para el ejercicio profesional de la ingeniería agrícola.

Derivado de la situación ocurrida durante la emergencia sanitaria, se propuso un Proyecto para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) a fin de fortalecer el ingreso, la permanencia y el egreso de los alumnos a través de mejoras en la práctica docente, realizando propuestas de cursos y talleres de capacitación en estrategias didácticas orientadas bajo el enfoque constructivista y apoyadas en TAC durante 2022 y 2023. Como parte de las actividades programadas en el PAPIME, se impartió el taller de Aprendizaje Basado en Problemas (ABP) a fin de que los docentes integren esta metodología didáctica en sus sesiones de clase. El taller tuvo una duración de 8 horas, las cuales fueron impartidas entre febrero y abril de 2022, en donde se abordaron las particularidades del ABP: el marco teórico, la metodología de su implementación y algunas orientaciones para el trabajo con alumnos y la integración de tecnología; ya que la idea a mediano plazo de los profesores integrantes del proyecto PAPIME es trabajar las asignaturas anteriormente mencionadas bajo un modelo híbrido.

La educación híbrida, o modelos híbridos de aprendizaje, se entiende como una combinación de herramientas y recursos didácticos de la modalidad presencial y virtual (Servín, 2020), es decir, “los estudiantes reciben experiencias presenciales en el aula (y) esto es respaldado por el aprendizaje y actividades en línea” (Viñas, 2021, p. 3). En esta modalidad, la interacción es parte primordial de las actividades ya que esta permite el intercambio y participación tanto por parte del docente como de los estudiantes, ya que su propósito es unir diversas estrategias a fin de dar mayores posibilidades de aprendizaje.

Uno de los objetivos de este modelo híbrido es un aprendizaje más enfocado a la adquisición de aprendizajes claves a fin de que los estudiantes comprendan mejor los contenidos y/o se centren en las actividades prácticas necesarias para el ejercicio profesional de su licenciatura. Sin embargo, al igual en el ABP, los profesores deben ser formados para trabajar bajo este enfoque del aprendizaje híbrido y aprovechar las tecnologías para lograr un aprendizaje significativo en los estudiantes (Viñas, 2021).

Organismos internacionales como el Banco Interamericano de Desarrollo y la UNESCO, destacan la relevancia que tiene la educación híbrida en el futuro de la docencia y el aprendizaje,





por lo tanto, es primordial la formación de los profesores para poder consolidar los modelos educativos del futuro próximo, ya que brinda flexibilidad, personalización, autonomía y experiencia en tecnología, alineándose con las necesidades y expectativas de los estudiantes y el entorno educativo en constante evolución (Pedró, 2012). En ese sentido la impartición de talleres especializados tanto del uso de tecnología como de diversas estrategias didácticas son clave para poder avanzar hacia nuevos modelos educativos y dar mayor certidumbre a la incorporación de las tecnologías a la educación.

El curso de ABP dirigido a los profesores de Ingeniería Agrícola tuvo como objetivo primordial que los docentes conocieran la metodología para implementar la estrategia didáctica del ABP para mejorar el proceso enseñanza-aprendizaje. El trabajo fue bajo una modalidad a distancia, combinando tanto momentos sincrónicos mediante videoconferencias vía Zoom como asincrónicos a través de la creación de un aula virtual en Google Classroom.

Las horas sincrónicas se centraron más en compartir el marco conceptual y las particularidades de la estrategia didáctica, así como sus lineamientos generales para su implementación y trabajo con estudiantes. A través de las actividades en plataforma (Google Classroom), los profesores que imparten la misma asignatura trabajaron de manera colaborativa en la redacción de su planeación de sus actividades para el semestre 2023-I integrando el ABP. El trabajo se complementó con actividades prácticas como la redacción de problemas y ejemplos sobre cómo lo integrarían a sus sesiones de clase.

La mayoría de las propuestas se centraron en combinar el trabajo presencial en campo o en laboratorio con el apoyo de materiales didácticos digitales colocadas en Google Classroom. La integración del ABP se reflejó en la forma de plantear el proyecto semestral, es decir, situaciones reales y complejas que no tienen una sola respuesta correcta y que tienen vínculo con su ejercicio profesional. Los estudiantes revisaban los materiales colocados en Classroom y las sesiones presenciales se centraron en las actividades prácticas como comprobar si su propuesta de intervención fue la adecuada para el tipo de maleza y en caso de que no fuera así, el docente orientaba a los estudiantes hacia la posible respuesta correcta a partir de la revisión del material colocado en línea. En el caso de la asignatura de fitopatología, se les presentó a los alumnos una situación específica sobre un cultivo, a fin de que los alumnos identificaran los agentes bióticos y/o abióticos que ocasionaron la enfermedad en la planta apoyados tanto en lo revisado en las sesiones presenciales como el material de apoyo colocado en el aula Google. Al final del semestre, la evaluación fue, en la mayoría de los casos, la presentación de los resultados por parte de los estudiantes organizados en pequeños equipos.



Al finalizar el semestre 2023-I bajo la metodología ABP en ambientes híbridos, los docentes percibieron una mejor organización en la entrega y evaluación de actividades, así como mayor participación y motivación de los estudiantes derivados de la variedad de recursos didácticos creados específicamente para los contenidos curriculares lo que se reflejó en el desempeño de los estudiantes, sin embargo, consideran que no se logró la totalidad de los objetivos de la asignatura debido a que consideran que no dominan la estrategia didáctica ya que algunos alumnos requerían mayor apoyo durante las sesiones presenciales lo que hizo que no avanzaran al ritmo esperado en su planeación.

En ese sentido se propuso continuar los talleres de diversas metodologías didácticas innovadoras para permitir la consolidación de un modelo híbrido de aprendizaje que permita una mejor adquisición de aprendizajes claves para el ejercicio la licenciatura; además de proyectar una evaluación más formal al avance académico de los estudiantes a partir de un estudio posterior a la aplicación de las estrategias didácticas durante los semestres 2023-II y 2024-I.

## Conclusiones

La implementación innovadora del Aprendizaje Basado en Problemas (ABP) en la docencia requiere una comprensión sólida de su metodología por parte de los educadores y el uso adecuado de recursos didácticos para cultivar competencias en los estudiantes de ingeniería agrícola. Es esencial que los docentes se capaciten en el uso de tecnologías que faciliten la comunicación efectiva y la transmisión de conocimientos clave.

La integración eficaz de tecnologías en la enseñanza ampliará la visión de los educadores sobre las oportunidades que ofrecen las herramientas digitales, enriqueciendo la calidad educativa en México. Es imperativo proveer eventos académicos permanentes que ayuden a los docentes a comprender las Tecnologías de la Información y Comunicación (TIC) como valiosas herramientas de apoyo en su labor educativa.

En la actual era de la información, existe una ventana para mejorar la actividad docente y formar a los educadores en el uso de recursos digitales que den forma a entornos de aprendizaje enriquecedores, interactivos y diversos. Estos entornos proporcionarán a los estudiantes de ingeniería agrícola los conocimientos y habilidades necesarios para su desarrollo. Por lo tanto, es esencial proporcionar a los docentes las herramientas necesarias para integrar eficazmente las TIC en su enfoque pedagógico y, de esta manera, elevar la calidad educativa en México.





## Agradecimientos

Las autoras agradecen a la UNAM-DGAPA por el financiamiento del proyecto PAPIME PE212022 “Innovación Educativa en la carrera de Ingeniería Agrícola”

## Referencias

Bartolomé, A. (2004) Blended learning. Conceptos básicos. *Píxel-Bit. Revista de Medios y Educación*, 23, pp. 7-20.

Belloch, C. (2013). Tecnologías de la información y la comunicación. Universidad de Valencia

Jaén, A. (2014). Integrar las TIC en la formación del docente. IC Editorial

Pedro, F. (2012). ¿Nuevas oportunidades, nuevas políticas para América Latina? en: Sunkel, G. y Trucco, D. (coords.). Las tecnologías digitales frente a los desafíos de una educación inclusiva en América Latina: algunos casos de buenas prácticas. CEPAL-Comisión Europea. Disponible en: <https://hdl.handle.net/11362/21658>

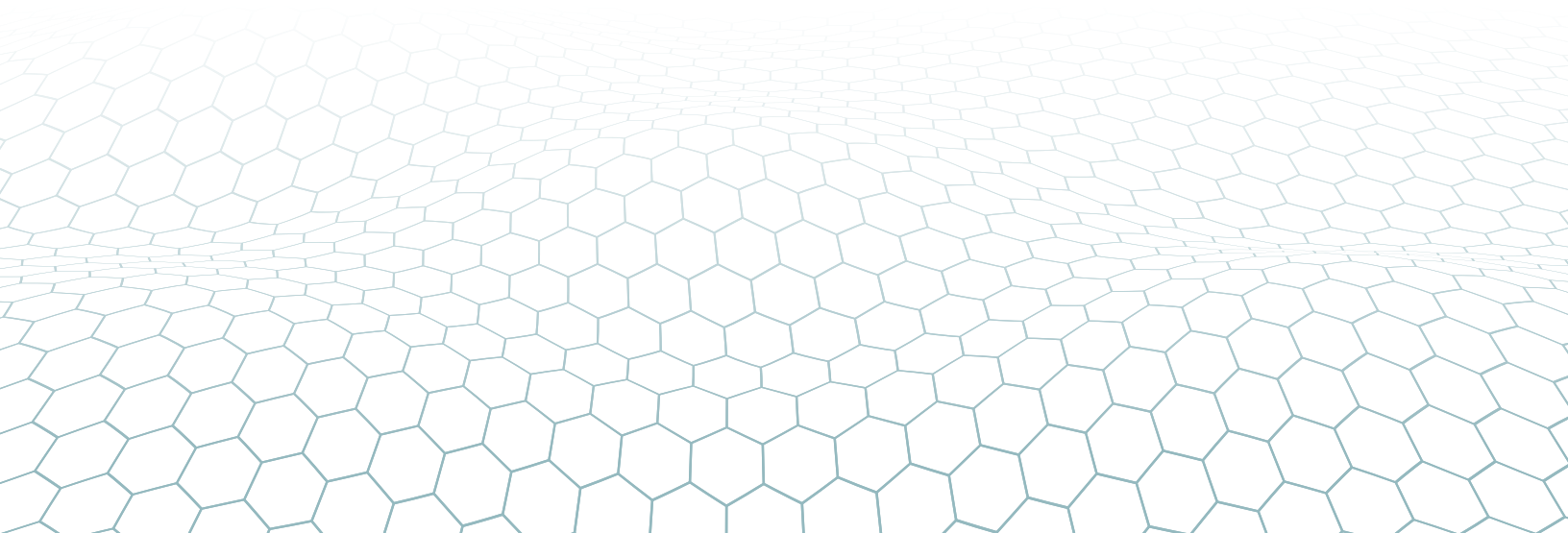
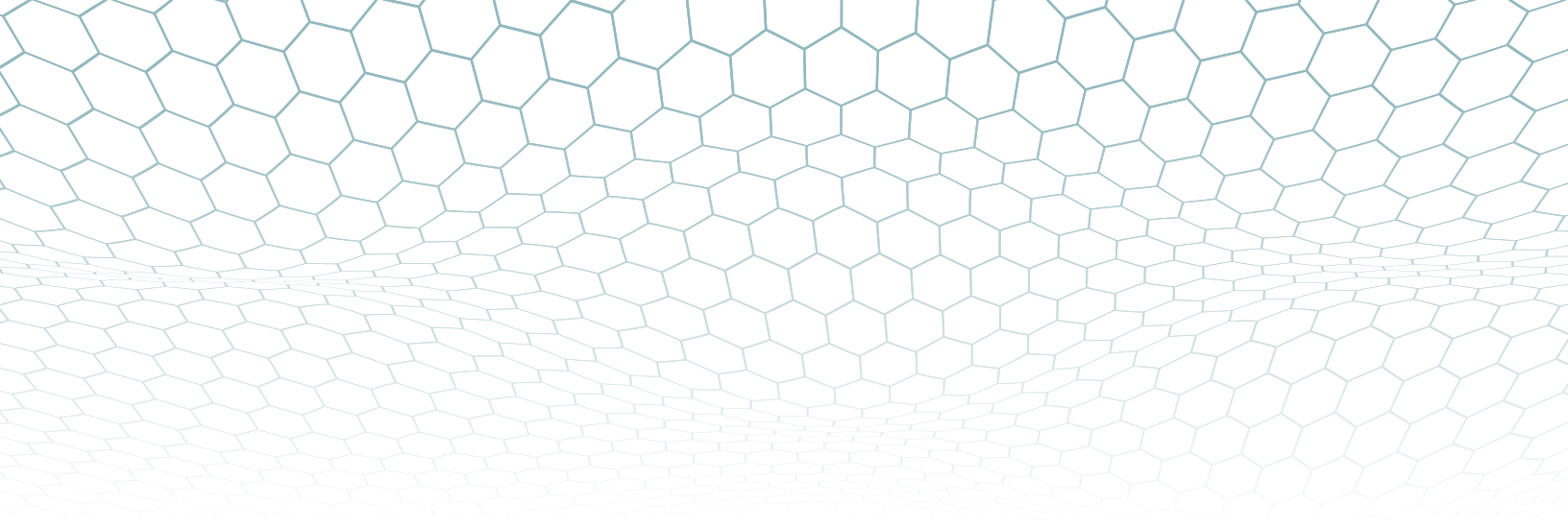
Savin-Baden, M. (2007). A Practical Guide to Problem-based Learning Online. Routledge

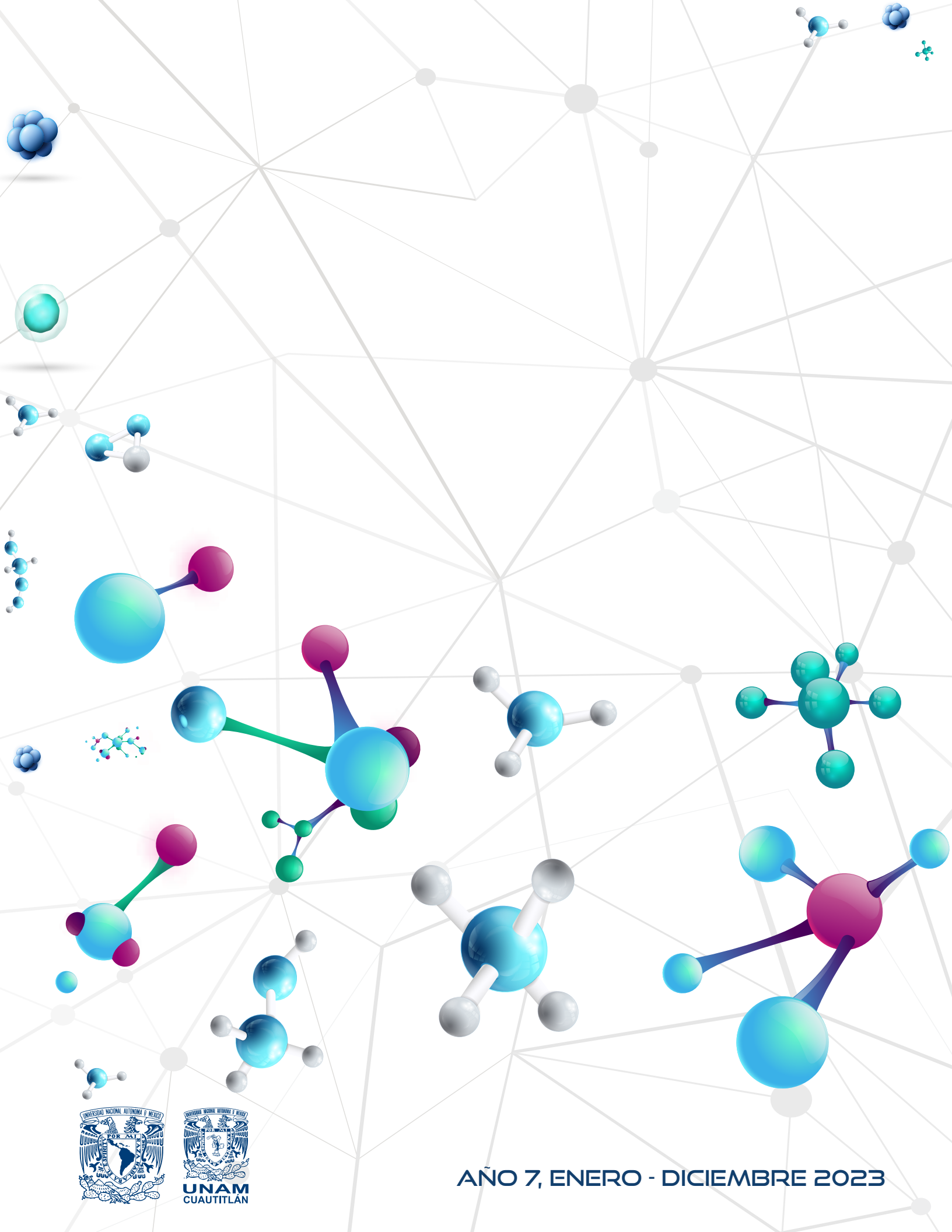
Savin-Baden, M. y Howell, C. (2004). Foundations of Problem-based Learning. Open University Press

Servín, A. (04 de julio de 2020). *Hacia una educación híbrida ante la nueva normalidad*. El Economista. Disponible en: <https://www.eleconomista.com.mx/arteseideas/Hacia-una-educacion-hibrida-ante-la-nuevanormalidad-20200704-0022.html>

Viñas, M. (2021). Retos y posibilidades de la educación híbrida en tiempos de pandemia. *Plurentes. Artes Y Letras*, (12), 027. <https://doi.org/10.24215/18536212e027>







AÑO 7, ENERO - DICIEMBRE 2023