

REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, UJED



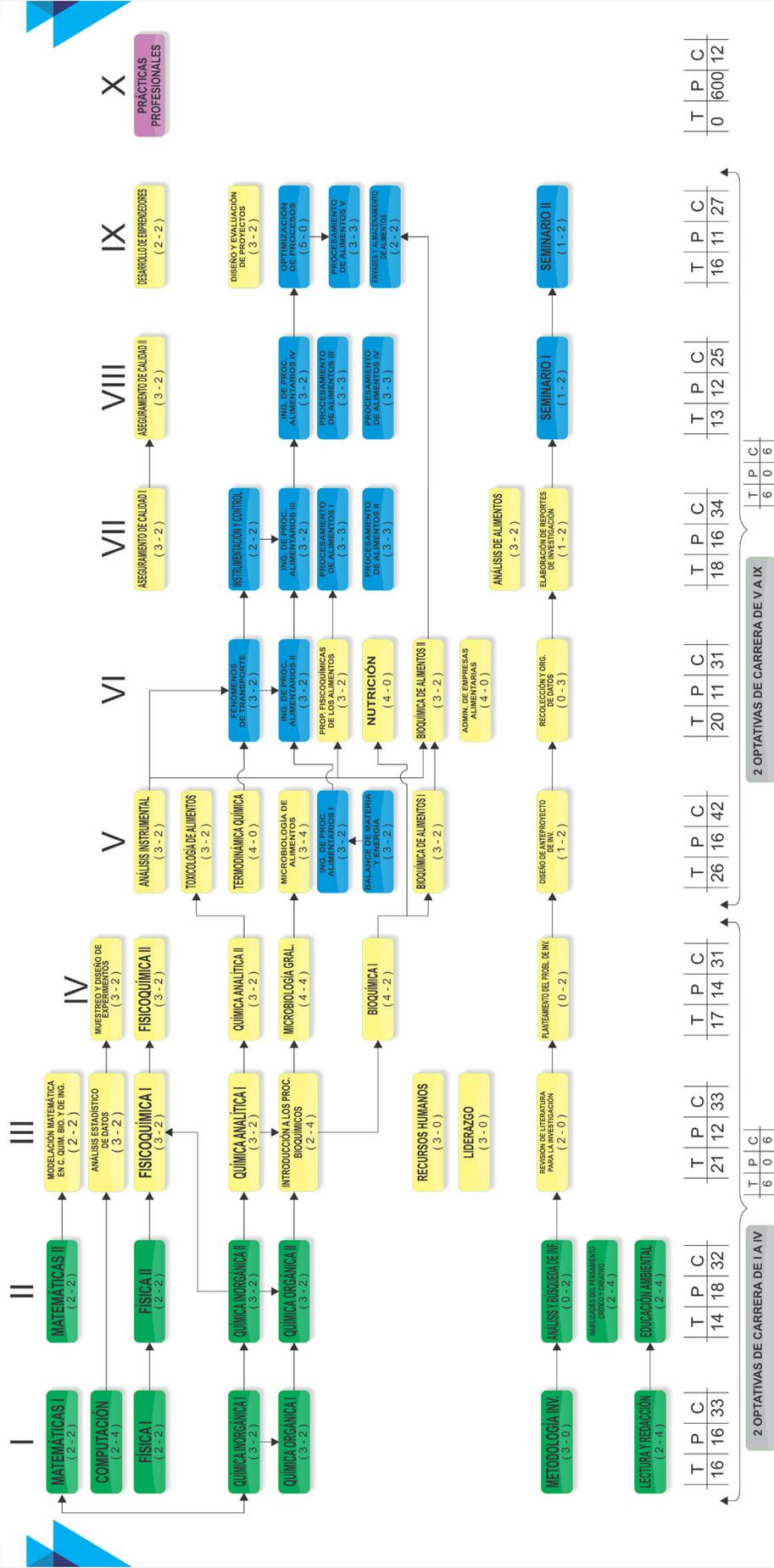
*Volumen 2
Número 16
Octubre 2022
ISSN: 2594-1445*





INGENIERÍA QUÍMICA EN ALIMENTOS

MAPA CURRICULAR



REVISTA MEXICANA DE INDUSTRIA Y SALUD

CINTILLO LEGAL

Revista Mexicana de Industria y Salud, año 9 No. 16 (junio - octubre), es una publicación semestral editada por la Universidad Juárez del Estado de Durango a través de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio ubicada en Av. Artículo 123 S/N Colonia Filadelfia Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010. Tel (871) 715 8810 ext. 118, www.fcqgp.ujed.mx/remdis, editorremdis@gmail.com, symposiumfcqujed@gmail.com.

Editor responsable: M. C. Mónica Andrea Valdez Solana. Reserva de derechos al uso exclusivo (en trámite), ISSN 2594-1445, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: Lic. Luis Antonio Montoya Jáquez, Departamento de edición y diseño de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio ubicado en Av. Artículo 123 S/N Col. Filadelfia Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010, fecha de última actualización 31 de octubre de 2022.

Consejo Editorial

Juan Pablo Pardo Vázquez
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Oscar Flores Herrera
Bioquímica; Facultad de Medicina, UNAM

Erick Sierra Campos
Biotecnología médica; Facultad de Ciencias Químicas
Gómez Palacio, UJED

Alfredo Téllez Valencia
Medicina molecular; Facultad de Medicina, Durango,
UJED

Claudia Avitia Domínguez
Medicina molecular; Facultad de Medicina, Durango,
UJED

Jaime Héctor Gómez Zamudio
Farmacéutica; Centro Médico Nacional, Siglo XXI

Martha Lucia Lázaro Suárez
Farmacéutica; Centro Médico Nacional, Siglo XXI

Graciela Castro Escarpulli
Microbiología; Depto. Bacteriología médica,
ENCB IPN

Jorge Alberto González Merchand
Microbiología; Dpto. Microbiología Molecular,
ENCB IPN

Director editorial
Mónica Andrea Valdez Solana

Asistencia editorial
Francisco Carlos López Márquez
Erick Sierra Campos

Editor
Luis Antonio Montoya Jáquez



Directorio Institucional

M.A. Rubén Solís Ríos
Rector

M.C. Julio Gerardo Lozoya Vélez
Secretario General

Dr. Jesús Espinosa Flores
Contralor General

Dr. José Othón Huerta Herrera
Subsecretario General Académico

Dr. Juan José Martínez García
Director de la Facultad de Ciencias Químicas GP

Lic. Daisy Virginia Rivas Govea
Secretaria Administrativa

M.C. Verónica Yazmín Mejía García
Secretaria Académica

Dra. Concepción García Luján
*Jefa de la División de Estudios de Posgrado e
Investigación*

Dr. José de Jesús Alba Romero
Coordinador de Investigación

Dr. José Rafael Minjares Fuentes
Coordinador Académico

Contenido

EDITORIAL	vi
BIOQUÍMICA	01
Enfoque <i>in silico</i> del potencial sitio alostérico presente en el Factor de Necrosis Tumoral alfa para la unión de los triterpenoides de <i>Ganoderma lucidum</i>	2
Valdez-Solana Mónica A., Ventura García Erica K., Corral Guerrero Iván A., Guzmán de Casa Atahualpa, Meza-Velázquez Jorge A., Aguilera Ortiz Miguel, Sierra-Campos Erick.	
Extracción de peroxidasas de <i>Sechium edule</i> y su aplicación en la detección de contaminantes fenólicos	10
Flores-Loyola Erika, Moreno Moreno Gabriela, Marszalek Jolanta Elzbieta, Pineda Escareño María Guadalupe, Gámez Escobedo Idalia Anali, Ramírez Moreno Agustina, Galindo Guzmán Magdalena	
ALIMENTOS	16
Propiedades fisicoquímicas y contenido de antocianinas en maíz (<i>Zea mays l.</i>) rojo sometido a proceso de nixtamalización asistido con ultrasonido	17
Mota Ituarte María del Socorro, Reza-Vargas María del Carmen, Sierra-Campos Erick, Esparza-Rivera Juan Ramón, Meza-Velázquez Jorge Armando, Aguilera-Ortiz Miguel	
Aguardientes y etanol obtenidos a partir de materias primas no convencionales	26
Leyva-Arámburo A. A., Femenia, A., Olivas-Calderón, E. H., Martínez-García, J. J., González-Laredo, R. F., Rodríguez-González, V. M	
Nanopartículas de óxido de cobre mejoran el rendimiento y la biosíntesis de compuestos bioactivos en sandía.....	37
Pérez García Salma Carina, Vázquez Vázquez Cirilo, Gaucin-Delgado Jazmín M, Orona Castillo Ignacio	
QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA	45
Influencia de extracto de <i>Moringa oleifera</i> en la adherencia de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i> a resinas para uso dental. Estudio <i>in vitro</i>	46
Sustaita-Rangel, J.A., Delgadillo-Delgadillo, Z., Martínez-Martínez, M.A., Pedroza-Escobar, D., Mora-Alva, B.E. & Hernández-Morales, C.	
CIENCIAS BIOMÉDICAS	53
Diagnóstico molecular de SARS - CoV - 2 por RT - qPCR y la variabilidad genética del gen N en muestras nasofaríngeas de población de la Comarca Lagunera, México	54
Pérez-Morales Rebeca, González-Delgado María Fernanda, Ríos Sánchez Efraín, Alba Romero José de Jesús, Ruíz-Reyes Yoselyn, Sánchez-Rojas Irlanda Mel B, Calleros Rincón Esperanza Yasmín, Olivas Calderón Edgar Héctor, González-Zamora Alberto.	
Asociación de Pro12Ala de <i>PPARG</i> con porcentaje de grasa visceral en individuos con enfermedades metabólicas.....	64
Guangorena Gómez Janeth Oliva, Orozco Meraz Naomi Viridiana, Maravilla Dominguez María Aurora, Martínez Sandoval Alondra, Zavaleta Muñoz Soraya Amalí, Muñoz Yáñez Claudia	
Aislamiento e identificación del género <i>Candida</i> en muestras clínicas de pacientes hospitalizados con COVID-19 de un sanatorio de norte de México	71
Alba-Romero José de Jesús, Castro-Escarpulli Graciela, Pérez-Morales Rebeca, Calleros-Ricón Esperanza Yasmín, Martínez-Romero Aurora	

Identificación de comunidades bacterianas intracelulares y fenotipo de <i>Escherichia coli</i> en infecciones crónicas del tracto urinario.....	75
Alba-Romero José de Jesús, Márquez-Hidrogo Joel, Delgado-Zamago Nallely Alejandra, Calleros-Ricón Esperanza Yasmín, García-Lujan Concepción, Martínez Romero Aurora	
MICROBIOLOGÍA.....	81
Susceptibilidad en cepas bacterianas que afectan el tracto urinario ante extractos vegetales de <i>Prosopis glandulosa</i>	82
Avila-Reza CN, Michel-Guzmán MS, Favela-Hernández JMJ, Avalos-Soto J, Téllez-López MA, García-Luján C.	
Susceptibilidad de cepas microbiológicas de importancia clínica ante extractos vegetales de <i>Argemone</i> spp.....	88
Jurado-Pérez Margarita, Favela-Hernández Juan Manuel de Jesús, Alba- Romero José de Jesús, Avalos-Soto Joaquín, Téllez-López Miguel Angel, García-Luján Concepción.	

Editorial

La química y el COVID

El Carbono, Hidrógeno, Oxígeno y Nitrógeno son conocidos como los átomos de la vida ya que poseen características químicas como baja masa atómica, electronegatividad y capacidad para formar enlaces covalentes estables, fuertes y de alta energía; lo que permite que se unan entre sí formando las biomoléculas que sustentan la vida como los ácidos nucleicos (DNA y RNA), las proteínas, los carbohidratos y los lípidos. Dentro de estas moléculas, los ácidos nucleicos son las moléculas portadoras de la información genética, mientras las proteínas son las unidades funcionales de las células, y la célula es la unidad fundamental de la vida, a su vez una célula requiere proteínas, carbohidratos y lípidos para llevar a cabo sus funciones vitales básicas. En la naturaleza, además de las células, existe un grupo de entidades llamados virus que son un ensamblaje de moléculas proteínicas, cuyas instrucciones están codificadas en un genoma de DNA o RNA y son capaces de generar partículas virales una vez que infectan a su huésped como el SARS-CoV-2, responsable de la reciente pandemia COVID19. Un virus como tal no es considerado un ser vivo, ya que no cumple con los criterios de la teoría celular, que como se mencionó es la unidad fundamental de la vida. Es paradójico que un conjunto de moléculas que mimetizan a un organismo vivo sea capaz de generar pandemias como la que nos ocupa actualmente, y más aún que la extraordinaria coevolución de estas partículas, perfectamente ensambladas, se lleve a cabo en todos los grupos de seres vivos, desde una bacteria hasta un mamífero, entre ellos el ser humano. El virus del SARS-CoV-2 posee un genoma de RNA con polaridad positiva y un tamaño de 29,903 nucleótidos; este genoma codifica todas las proteínas necesarias para reconocer a la célula huésped, secuestra la maquinaria celular que le permite copiar su genoma y generar sus propias proteínas estructurales que ensamblan nuevas partículas virales, iniciando un nuevo ciclo de infección a más células e incluso otros individuos. Dentro de estas particularidades la proteína spike y la de la nucleocápside son de particular importancia para la infección eficiente del virus, en el primer caso spike le permite reconocer a la célula huésped y entrar en ella; mientras que la proteína de la nucleocápside le permite proteger su genoma y garantizar su linaje viral con la menor cantidad de cambios. En el caso de la célula huésped, se sabe que la molécula responsable del reconocimiento virus-célula es la proteína de la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ACE2 por sus siglas en inglés) y dentro de sus particularidades se encuentra que el gen que codifica la ACE2 se encuentra en el cromosoma Xp22.2, tiene una extensión de 89,015 nucleótidos dentro del cual se reconocen 22 exones y se procesa en un mRNA de 2,599 nucleótidos que da lugar a una proteína de 805 aminoácidos. Esta proteína ACE2 se expresa ampliamente en pulmones, intestino, riñón, vejiga, corazón, testículos y otros órganos, lo que explica la capacidad del virus para infectar diversos tipos celulares. Además, se ha identificado hasta 1,700 variantes polimórficas de la ACE2 en diferentes poblaciones humanas y algunas de ellas se encuentran en los dominios de interacción que son cruciales en el reconocimiento virus-huésped, así como la respuesta celular. Todo lo anterior explica 1) la capacidad del virus para infectar múltiples tipos celulares y por lo tanto afectar varios órganos, 2) las diferencias de la severidad de la enfermedad al estar la ACE2 en un cromosoma sexual y 3) los polimorfismos en ACE2 que impiden el reconocimiento o la internalización del virus, explica porque algunos individuos son portadores asintomáticos que solo presentan problemas leves como dolor de cabeza o de garganta. Esta reflexión nos recuerda el origen común de las biomoléculas y el posible origen de la vida, así como el modo en que la evolución actúa mediante ensayo y error en el material genético, lo que explica que estas entidades llamadas virus tengan éxito y puedan mantener activos sus linajes, en la espera de la aparición de nuevas mutaciones como resultado de estos procesos evolutivos.

Dra. Rebeca Pérez Morales

Profesora Investigadora Facultad de Ciencias Químicas, UJED

Miembro de la Sociedad Mexicana de Genética Humana y

Sociedad Mexicana de Toxicología



Universidad Juárez del Estado
de Durango



Facultad de Ciencias Químicas
Gómez Palacio

MISIÓN

Formar personas competentes en el área de ciencias químicas, con sentido humano, científico y social que propicien el bienestar regional, estatal y nacional.

VISIÓN

Ser una facultad adaptable a las circunstancias nacionales y globales ofreciendo programas educativos de calidad, con personal docente y administrativo competente a través de la actualización dinámica en un ambiente armónico

BIOQUÍMICA

(Bioenergética, proteínas, metabolismo, productos bioactivos)



"Quien no ha afrontado la adversidad no conoce su propia fuerza"
Benjamin Jonson (1572-1637); dramaturgo inglés.

Enfoque *in silico* del potencial sitio alostérico presente en el Factor de Necrosis Tumoral alfa para la unión de los triterpenoides de *Ganoderma lucidum*.

¹Valdez-Solana Mónica A., ¹Ventura García Erica K., ¹Corral Guerrero Iván A., ²Guzmán de Casa Atahualpa, ¹Meza-Velázquez Jorge A., ¹Aguilera Ortiz Miguel, ¹Sierra-Campos Erick.

¹Laboratorio A de investigación. Facultad de Ciencias Químicas Posgrado. UJED, Gómez Palacio

²Cinvestav Irapuato

*Email: ericksier@ujed.mx

RESUMEN

Este estudio se centró en el análisis *in silico* de los ácidos ganodéricos contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) para reducir la inflamación y los trastornos relacionados causados por la desregulación del TNF- α . A través del servidor en línea "Swiss Target Prediction" se encontró que los ácidos ganodéricos podrían ser potenciales inhibidores de TNF- α . Posteriormente, con ayuda de AllositePro se localizó el mejor sitio alostérico presente en la proteína con un puntaje de 0.829. Además, con GalaxyDock se realizó el modelado molecular de cuatro ácidos ganodéricos y se encontró que el ácido ganodérico C es el compuesto que presenta la mejor energía de unión (-25.03 kcal/mol) y forma cinco puentes de hidrogeno con Arg82D, Asn92B, Leu93D, Asn92D, Gln128B y cinco interacciones hidrofóbicas con Gln125D, Val91B, Phe124B, Arg82B y Leu93B. Estos resultados sugieren que *Ganoderma lucidum* podría ser una fuente de inhibidores naturales para TNF- α .

Palabras clave: *Ganoderma lucidum*, ácidos ganodéricos, factor de necrosis tumoral alfa, bioinformática.

ABSTRACT

This study focused on the *in silico* analysis of ganoderic acids against tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in reducing inflammation and related disorders caused by TNF- α dysregulation. Through the online server "Swiss Target Prediction" it was found that ganoderic acids could be potential inhibitors of TNF- α . Subsequently, with the help of AllositePro, the best allosteric site present in the protein was located with a score of 0.829. In addition, with GalaxyDock, molecular modeling of four ganoderic acids was carried out and it was found that ganoderic acid C is the compound that presents the best binding energy (-25.03 kcal/mol) and forms five hydrogen bonds with Arg82D, Asn92B, Leu93D, Asn92D, Gln128B, and five hydrophobic interactions with Gln125D, Val91B, Phe124B, Arg82B, and Leu93B. These results suggest that *Ganoderma lucidum* could be a source of natural inhibitors for TNF- α .

Keywords: *Ganoderma lucidum*, ganoderic acids, tumor necrosis factor alpha, bioinformatics.

INTRODUCCIÓN

Los hongos filamentosos son capaces de responder a diferentes demandas para el desarrollo de alimentos funcionales, nutraceuticos y sustancias bioactivas que puedan ser utilizadas como medicamentos o en la industria alimentaria, ya sea mediante el aprovechamiento de su biomasa o de los metabolitos que producen.

Ganoderma lucidum Karst un hongo medicinal, perteneciente a Basidiomycetes, Aphyllophorales, Ganodermataceae, es extensamente utilizado de forma terapéutica por la medicina oriental. Los polisacáridos y triterpenoides son los principales componentes de *Ganoderma lucidum* considerados responsables de la mayor parte de sus actividades farmacológicas por ejemplo, aumento de energía, mejora del sistema inmune y aumento de longevidad y salud (Cheng et al., 2013).

Los ácidos ganodéricos son una clase de triterpenoides estrechamente relacionados (derivados del lanosterol) que se encuentran en los hongos del género *Ganoderma*. Los triterpenoides son lanostanos altamente oxigenados, y hasta el momento se han aislado más de 140 triterpenoides de los cuerpos fructíferos, esporas y micelios de *G. lucidum* (Guo et al., 2013). Hay docenas de ácidos ganodéricos que se han aislado y caracterizado, de los cuales el ácido ganodérico A, B, C y el ácido desacetil ganodérico F son los mejor caracterizados (Figura 1).

Recientemente se reportó que el ácido desacetil ganodérico F (DeGA F) inhibió la producción de NO desencadenada por lipopolisacárido (LPS) y la expresión de iNOS, afectando así la secreción y los niveles de ARNm de citoquinas inflamatorias relativas. DeGA F inhibió la activación inducida por LPS de la vía NF- κ B, como lo demuestra la disminución de la fosforilación de IKK e I κ B

y la translocación nuclear de P65. *In vivo*, el tratamiento con DeGA F inhibió eficazmente la producción de NO en embriones de pez cebra. Además, DeGA F suprimió los niveles séricos de citoquinas proinflamatorias, incluidas TNF- α e IL-6 en un modelo de ratones estimulados con LPS. DeGA F redujo la respuesta inflamatoria al suprimir la activación de microglía y astrocitos, además, suprimió la activación de NF- κ B inducida por LPS en cerebros de ratones. En conjunto, DeGA F exhibió notables efectos antiinflamatorios y un prometedor potencial terapéutico para las enfermedades asociadas a la inflamación neural (Sheng et al., 2020). Además, el ácido ganodérico B (BB) redujo significativamente el peso seco/húmedo del pulmón y la actividad mieloperoxidasa, restauró los cambios histopatológicos pulmonares. BB también aumentó SOD, disminuyó MDA, TNF- α , IL-1 β e IL-6 en ratones y células A549. Además, BB inhibió la vía Rho/NF- κ B en ratones y células A549. BB tiene un efecto protector sobre la neumonía inducida por LPS en ratones, y su mecanismo está relacionado con la regulación de la vía de señalización de Rho/NF- κ B (Shi et al., 2020).

En base a los antecedentes mencionados, se podría especular que los ácidos ganodéricos afectan a una serie de vías de señalización para llevar a cabo su función terapéutica. Sin embargo, no existe evidencia de la interacción directa de estos compuestos con algún blanco específico de la vía de señalización.

El uso de métodos computacionales en el diseño de fármacos, ha llevado al descubrimiento de varias moléculas similares a fármacos que se encuentran en ensayos clínicos, reduciendo así tiempos y costos de desarrollo (Lin et al., 2020; Zheng et al., 2013). Además, este campo ha cobrado impulso para encontrar nuevos inmunomoduladores contra enfermedades inmunitarias con fines inmunoterapéuticos (Romano & Tatonetti, 2019).



Figura 1. Cuerpo fructífero de *Ganoderma lucidum* y sus principales triterpenoides

SwissTargetPrediction es una herramienta web, en línea desde 2014, que tiene como objetivo predecir para moléculas pequeñas (incluye fitoquímicos) cuales sus blancos proteicos más probables. Las predicciones se basan en el principio de similitud, a través de la proyección inversa. En la nueva versión, las predicciones se realizan mediante la búsqueda de moléculas similares, en 2D y 3D, dentro de una colección más grande de 376,342 compuestos que se conocen que son experimentalmente activos en un conjunto ampliado de 3,068 blancos macromoleculares (Daina et al., 2019).

La metodología de acoplamiento molecular explora el comportamiento de las moléculas pequeñas a un sitio de unión en una proteína blanco (Pagadala et al., 2017). Uno de los servidores de modelado molecular ampliamente empleados es GalaxyDock, que da cuenta de la flexibilidad de las cadenas laterales de las proteínas preseleccionadas mediante la optimización global de una función de energía basada en AutoDock capacitada para el acoplamiento flexible de las cadenas laterales. Además, el algoritmo de este programa de acoplamiento molecular realiza una búsqueda en el que se evalúa recursivamente la conformación del ligando hasta alcanzar la convergencia a la energía mínima. Finalmente, se emplea una función de puntuación de afinidad, ΔG [U total en kcal/mol], para clasificar las posturas candidatas como la suma de las energías electrostática y de van der Waals. Las fuerzas impulsoras de estas interacciones específicas en los sistemas biológicos apuntan hacia la complementariedad entre la forma y la electrostática de las superficies del sitio de unión y el ligando o sustrato (Shin & Seok, 2012).

El uso de moduladores alostéricos como agentes terapéuticos contra los ligandos ortostéricos clásicos tiene enormes ventajas, que incluyen una mayor especificidad, menos efectos secundarios y menor toxicidad. Por lo tanto, la predicción computacional de sitios alostéricos en proteínas está recibiendo una mayor atención en el campo del descubrimiento de fármacos. AlloSite es una herramienta automática recientemente desarrollada para la predicción de sitios alostéricos en proteínas de interés y ahora está disponible a través de un servidor web (Huang et al., 2013).

Este estudio se centró en el descubrimiento de blancos moleculares mediante análisis *in silico* para los ácidos ganodéricos para reducir la inflamación y los trastornos relacionados causados por la desregulación de diversas vías de señalización.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la Figura 2 se muestra el proceso de trabajo, donde inicialmente se obtuvieron los formatos "Canonical SMILES" de cada ácido ganodérico (A, B, C y F) a través de la base de datos PUBCHEM (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Por ejemplo, para el ácido ganodérico A, el formato canonical SMILE es:

```
CC(CC(=O)CC(C)C(=O)O)C1CC(C2(C1(CC(=O)C3=C2C(CC4C3(CCC(=O)C4(C)C)C)O)C)O)
```

A continuación, el formato canonical SMILE se coloca en el servidor de Swiss Target Prediction del Swiss Institute of Bioinformatics (<http://swisstargetprediction.ch/>).

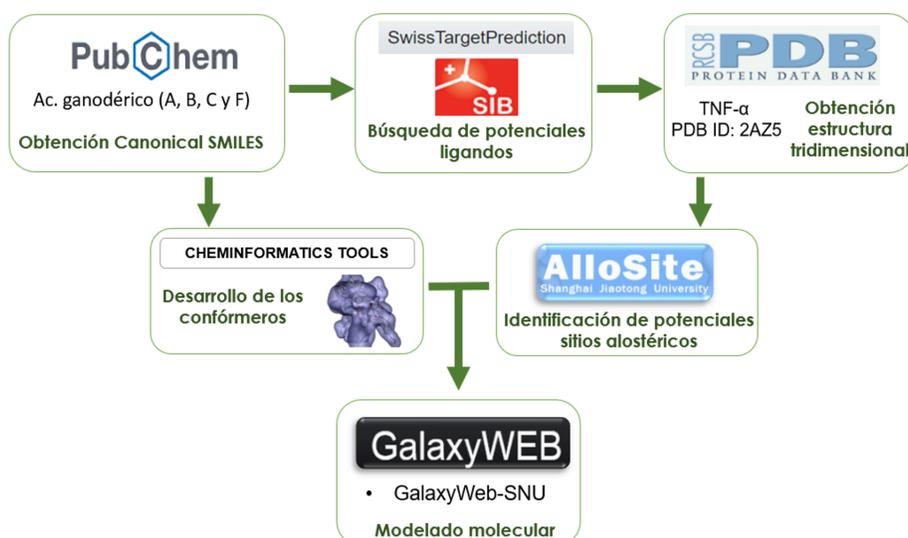


Figura 2. Diagrama de flujo de la cronología de programas empleados para la obtención de resultados del presente estudio.

La estructura tridimensional de la proteína blanco se descargó de la base de datos de proteínas (PDB, por sus siglas en inglés) mediante el siguiente enlace: <https://www.rcsb.org/>. Para este trabajo se seleccionó la estructura 2AZ5.

Para el desarrollo de los conformeros de cada ácido ganodérico (A,B, C y F) se empleó el formato canonical SMILES y con el apoyo del servidor en línea Cheminformatics Tools and Databases for Pharmacology en el enlace <https://chemoinfo.ipmc.cnrs.fr/LEA3D/drawonline.html>

Para el modelado molecular se empleó el servidor en línea GalaxyWeb-SNU con la aplicación GalaxyDockWEB con el enlace de acceso: <https://galaxy.seoklab.org/cgi-bin/submit.cgi?type=DOCK>

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante el buscador Swiss TargetPrediction se encontró que varios ácidos ganodéricos son potenciales ligandos del factor de necrosis tumoral α (TNF-alfa) ya que presentan un valor de probabilidad de 0.868. Además, estos compuestos pueden inhibir otras enzimas, pero su probabilidad es baja (Tabla 1). Por lo cual se decidió realizar un estudio más afondo para conocer cómo estos compuestos pueden interactuar con el TNF- α .

El TNF- α es una citocina secretada por los macrófagos en respuesta al choque séptico, agentes inflamatorios y caquexia. El TNF- α desempeña un papel clave en el sistema inmunitario y la muerte celular (p. ej., apoptosis y necrosis) (Sethi et al., 2009). El TNF- α está involucrado

en una serie de enfermedades autoinmunes, como la psoriasis, la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide, la esclerosis sistémica, el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis múltiple, la diabetes y la espondilitis anquilosante (Idriss & Naismith, 2000). Dado que el TNF- α es un mediador importante en infecciones y tumores, se han desarrollado una serie de agentes biológicos dirigidos al TNF- α para el tratamiento del cáncer y la autoinmunidad (Caminero et al., 2011).

Las terapias preventivas contra el TNF- α pueden reducir los síntomas de estas condiciones patológicas. Se puede observar una mejora significativa en el tratamiento de la enfermedad relacionada con el TNF- α al alterar la interacción entre el receptor TNF- α /TNF- α (Jackson, 2007), por lo tanto, dirigirse a esta interfaz proteína-proteína puede ser una terapia eficaz (Silva, L. C et al., 2010). Por lo general, los anticuerpos monoclonales se usan contra el TNF- α ; sin embargo, estos anticuerpos tienen varios efectos secundarios y tienen un alto costo (Bullock et al., 2019).

Por tanto, se realizó una búsqueda de la estructura tridimensional de TNF- α en la base de datos de proteínas (PDB) y se seleccionó la estructura 2AZ5, la cual se obtuvo mediante su expresión en *Escherichia coli* BL21 (DE3) mediante difracción de rayos equis con una resolución de 2.1 Å. A continuación, se empleó el servidor AlloSite de la Universidad de Shanghai Jiaotong para identificar los potenciales sitios alostéricos más significativos de acuerdo a los puntajes de perturbación y AllositePro presentes en la estructura tridimensional de TNF- α , los cuales se muestran en la Tabla 2. La segunda cavidad presentó los mejores resultados con un volumen de

Tabla 1. Resultados de la búsqueda del blanco molecular de los ácidos ganodéricos sobre las proteínas de humano de acuerdo al buscador Swiss Target Prediction.

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability	Known active (3D/2D)
TNF-alpha	TNF	PO1375	1825	Secreted protein	0.868889810065	10 / 8
Nitric oxide synthase inducible (by homology)	NOS2	P35228	4481	Enzyme	0.224774771492	8 / 21
Squalene synthetase	FDFT1	P37268	3338	Enzyme	0.150460995568	115 / 1
Protein farnesyltransferase	FNTA FNTB	P49354 P49356	2094108	Enzyme	0.142209034952	196 / 13
Niemann-Pick C1-like protein 1	NPC1L1	Q9UHC9	2027	Other membrane protein	0.133944629355	0 / 11
Nuclear receptor ROR-alpha	RORA	P35398	5868	Nuclear receptor	0.133944629355	0 / 3

Tabla 2. Resultados de los potenciales sitios alostéricos presentes en el TNF- α

Pocket Volume	Total SASA	Feature Score	Perturbation Score	AlloSite Score	Druggability
711.05	291.49	0.826	0.367	0.734	0.878
843.31	385.13	0.786	1.00	0.829	0.079
720.30	283.10	0.841	0.485	0.770	0.772
1275.93	577.13	0.546	1.00	0.637	0.463
963.63	432.35	0.386	1.00	0.509	0.138
417.07	250.33	0.394	1.00	0.516	0.018
383.95	247.13	0.649	1.00	0.719	0.117

843.31, un valor de SASA total de 385.139, un puntaje característico de 0.786, un puntaje de perturbación de 1.0 y un puntaje de alosteria de 0.829.

Volumen del bolsillo (pocket volumen): volumen del sitio alostérico predicho.

SASA total: área de superficie accesible al solvente del sitio alostérico.

Puntaje de característica (Feature Score): Es un rango de 0 a 1 que se deriva de un modelo de regresión logística, el cual se basa en las características topológicas y fisicoquímicas del sitio alostérico.

Puntaje de perturbación: Evalúa el efecto alostérico (cambios dinámicos de la proteína) inducidos por un pseudo-ligando empleando un análisis de modo normal.

Puntaje Allosite: Este valor se obtiene de la combinación del puntaje de característica y del puntaje de perturbación.

En la **Figura 2** se muestra el sitio alostérico entre la interfase de la subunidad B y D (A) y las interacciones

no covalentes entre el ácido ganodérico C y la proteína TNF- α (B).

Al igual que el ácido ganodérico C, los otros triterpenoides ensayados presentan energías de unión similares y solo varían un poco en el número de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas que forman con el sitio alostérico de TNF- α , esto se debe a que todos los compuestos presentan una estructura muy semejante y solo el estado de oxidación de los oxígenos de los grupos carbonilo y/o alcohol son diferentes (Tabla 3 y Figura 1).

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF), originalmente descubierto por su actividad antitumoral, es una de las citocinas más pleiotrópicas que actúa como factor de defensa del huésped en las respuestas inmunológicas e inflamatorias. Aunque la actividad antitumoral y la mediación de la inflamación por parte del TNF podrían ser beneficiosas para el huésped, ahora se sabe que el TNF no regulado es la base para el desarrollo de varias enfermedades, incluido el shock séptico, la enfermedad consuntiva, la caquexia y varias enfermedades inflamatorias y/o autoinmunes.

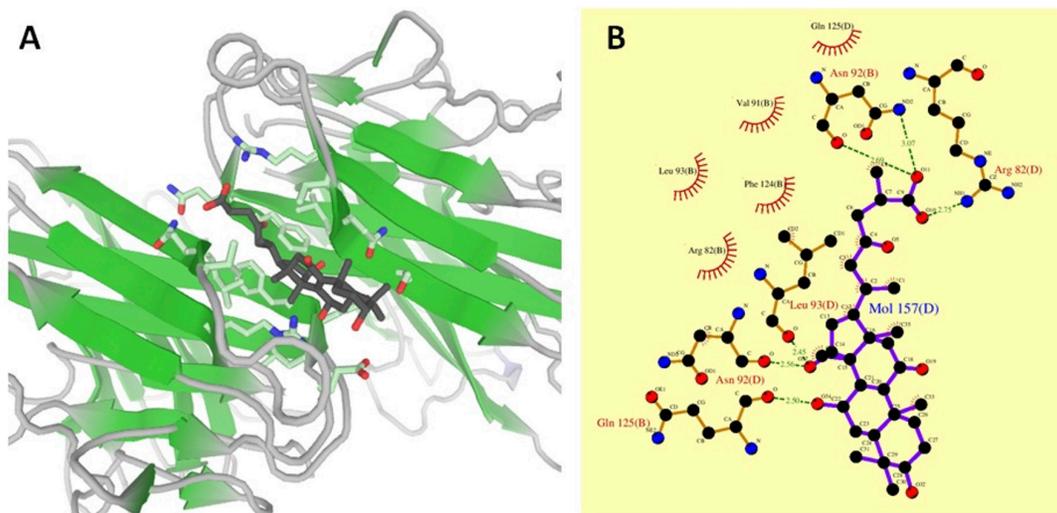


Figura 2. Interacciones no covalentes entre el ácido ganodérico C y la proteína TNF α .

Tabla 3. Tipo de interacciones que estabilizan los ácidos ganodéricos y al sitio alostérico de TNF α .

Ácido ganodérico	Residuos que forman puentes de hidrogeno	Residuos con Interacciones hidrofóbicas	Energía de unión (kcal/mol)
A	Arg82D, Asn92D, Ser95D	Val91D, Val91B, Asn92B, Arg82B, Leu93D, Leu93B, Phe124D, Phe124B	-24.00
B	Arg82B, Glu127B, Asn92D	Glu53D, Phe124D, Leu93D, Val91D, Leu93D, Val91B	-24.33
C	Asn92B, Arg82D, Leu93D, Asn92D, Gln128B	Gln125D, Val91B, Phe124B, Arg82B, Leu93B	-25.03
F	Glu127B, Arg82B, Asn92D, Leu93D, Arg82D	Asn92B, Leu93B, Val91B, Val91D, Gln125B	-24.61

Se sabe que los fitoquímicos, como curcumina, shogaol, paradol y el equol tiene funciones cruciales en la inhibición del TNF- α con efectos secundarios menores (Subedi et al., 2020). Recientes hallazgos han sugerido que los fitoquímicos, como el isotiocianato de alilo (AITC), la apigenina, la naringenina y la miricetina, la quercetina y el kaempferol muestra potencial para controlar los trastornos neuronales al inhibir la producción de TNF- α (Zahedipour F et al., 2022). Además, el 6-shogaol, el gingerol y sus derivados de Ginger (*Zingiber officinale*), llevan gran potencial para limitar la actividad del TNF- α , ya sea inhibiendo la unión o induciendo la degradación (Morvaridzadeh et al., 2020).

Hericium erinaceus inhibió notablemente la angiogénesis inducida por TNF- α en células endoteliales EA.hy926 humanas a través de la regulación negativa de la señalización de MMP-9/NF- κ B y la regulación positiva de genes antioxidantes mediados por Nrf2 (Chang et al., 2016).

Los hongos White Button y Honey Brown (ambos *Agaricus bisporus*), Shiitake (*Lentinus edodes*), Enoki (*Flammulina velutipes*) y hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) fueron probados para determinar su actividad antiinflamatoria en lipopolisacáridos (LPS) e interferón- γ (IFN- γ) en macrófagos RAW 264.7 murinos activados. Se pudo detectar una potente actividad antiinflamatoria ($IC_{50} < 0,1$ mg/ml), medida como inhibición de la producción de óxido nítrico, en todas las preparaciones de champiñones crudos, pero solo en ostra cruda ($IC_{50} = 0,035$ mg/ml), shiitake ($IC_{50} = 0,047$ mg/mL) y hongos Enoki ($IC_{50} = 0,099$ mg/ml) también mostraron una potente inhibición de la producción de TNF- α (Gunawardena et al., 2014).

A pesar de que existen estudios que reportan como los extractos de *Ganoderma lucidum* pueden inhibir significativamente la liberación de IL-8, IL-6, MMP-

2 y MMP-9 en células cancerosas en condiciones proinflamatorias (Barbieri et al., 2017) y que compuestos aislados como el ácido triterpénico ganodérico C1 (GAC1) puede inhibir la producción de TNF- α y otras citocinas proinflamatorias por parte de las células mononucleares de sangre periférica de la enfermedad de Crohn debido al bloqueo de la activación de NF- κ B (Liu et al., 2015). Ninguno de estos antecedentes menciona la posibilidad de que algún componente del extracto de *Ganoderma lucidum* actúe como un inhibidor de TNF- α . Por tanto, este estudio es el primero en demostrar por análisis *in silico* que los ácidos ganodéricos pueden interactuar directamente con el TNF- α al unirse a un sitio alostérico preformado entre las subunidades B y D de la proteína.

CONCLUSIÓN

Este estudio demostró por primera vez un sitio alostérico en la interface de las subunidades B y D de TNF- α , en el cual se pueden unir los ácidos ganodéricos presentes en *Ganoderma lucidum*. Sin embargo, es necesario realizar ensayos experimentales para demostrar que los triterpenoides son inhibidores de TNF- α .

REFERENCIAS

- Barbieri, A., Quagliariello, V., Del Vecchio, V., Falco, M., Luciano, A., Amruthraj, N. J., Nasti, G., Ottaiano, A., Berretta, M., Iaffaioli, R. V., & Arra, C. (2017). Anticancer and anti-inflammatory properties of ganoderma lucidum extract effects on melanoma and triple-negative breast cancer treatment. *Nutrients*, 9(3), 210. <https://doi.org/10.3390/nu9030210>
- Bullock, J., Rizvi, S. A. A., Saleh, A. M., Ahmed, S. S., Do, D. P., Ansari, R. A., & Ahmed, J. (2019). Rheumatoid arthritis: A brief overview of the treatment. *Medical Principles and Practice*, 27(6), 501-507. <https://doi.org/10.1159/000493390>

- Caminero, A., Comabella, M., & Montalban, X. (2011). Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), anti-TNF- α and demyelination revisited: An ongoing story. *Journal of Neuroimmunology*, 234(1-2), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2011.03.004>
- Chang, H. C., Yang, H. L., Pan, J. H., Korivi, M., Pan, J. Y., Hsieh, M. C., Chao, P. M., Huang, P. J., Tsai, C. T., & Hseu, Y. C. (2016). Hericium erinaceus inhibits TNF- α -induced angiogenesis and ROS generation through suppression of MMP-9/NF- κ B signaling and activation of Nrf2-mediated antioxidant genes in human EA.hy926 endothelial cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8257238>
- Cheng, P. G., Phan, C. W., Sabaratnam, V., Abdullah, N., Abdulla, M. A., & Kuppusamy, U. R. (2013). Polysaccharides-rich extract of Ganoderma lucidum (M.A. Curtis:Fr.) P. Karst accelerates wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/671252>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W357-W364.
- Gunawardena, D., Bennett, L., Shanmugam, K., King, K., Williams, R., Zabarar, D., Head, R., Ooi, L., Gyengesi, E., & Münch, G. (2014). Anti-inflammatory effects of five commercially available mushroom species determined in lipopolysaccharide and interferon- γ activated murine macrophages. *Food Chemistry*, 148, 92-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.015>
- Guo, X. Y., Liu, D., Ye, M., Han, J., Deng, S., Ma, X. C., Zhao, Y. Y., Zhang, B., Shen, X., & Che, Q. M. (2013). Structural characterization of minor metabolites and pharmacokinetics of ganoderic acid C2 in rat plasma by HPLC coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 75, 64-73. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.11.024>
- Huang, W., Lu, S., Huang, Z., Liu, X., Mou, L., Luo, Y., Zhao, Y., Liu, Y., Chen, Z., Hou, T., & Zhang, J. (2013). Allosite: A method for predicting allosteric sites. *Bioinformatics*, 29(18), 2357-2359. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt399>
- Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). *Microscopy Research and Technique*, 50(3), 184-195. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000801\)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000801)50:3<184::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H)
- Jackson, J. M. (2007). TNF- α inhibitors. *Dermatologic Therapy*, 20(4), 251-264.
- Lin, X., Li, X., & Lin, X. (2020). A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules*, 25(6), 1375.
- Liu, C., Dunkin, D., Lai, J., Song, Y., Ceballos, C., Benkov, K., & Li, X. M. (2015). Anti-inflammatory effects of Ganoderma lucidum triterpenoid in human Crohn's disease associated with downregulation of NF- κ B signaling. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(8), 1918-1925. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000439>
- Morvaridzadeh, M., Fazelian, S., Agah, S., Khazdouz, M., Rahimlou, M., Agh, F., Potter, E., Heshmati, S., & Heshmati, J. (2020). Effect of ginger (Zingiber officinale) on inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Cytokine*, 135, 155224. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155224>
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91-102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
- Romano, J. D., & Tatonetti, N. P. (2019). Informatics and computational methods in natural product drug discovery: a review and perspectives. *Frontiers in Genetics*, 10, 368.
- Sethi, G., Sung, B., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2009). Targeting TNF for treatment of cancer and autoimmunity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 647, 37-51. https://doi.org/10.1007/978-0-387-89520-8_3
- Sheng, F., Zhang, L., Wang, S., Yang, L., & Li, P. (2020). Deacetyl ganoderic acid F inhibits LPS-induced neural inflammation via NF- κ B pathway both in vitro and in vivo. *Nutrients*, 12(1), 85. <https://doi.org/10.3390/nu12010085>
- Shi, J., Wang, H., Liu, J., Zhang, Y., Luo, J., Li, Y., Yang, C., & Jiang, J. (2020). Ganoderic acid B attenuates LPS-induced lung injury. *International Immunopharmacology*, 88, 106990. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106990>

- Shin, W. H., & Seok, C. (2012). GalaxyDock: Protein-ligand docking with flexible protein side-chains. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(12), 3225–3232. <https://doi.org/10.1021/ci300342z>
- Subedi, L., Lee, S. E., Madiha, S., Gaire, B. P., Jin, M., Yumnam, S., & Kim, S. Y. (2020). Phytochemicals against TNF α -mediated neuroinflammatory diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 764.
- Zheng, M., Liu, X., Xu, Y., Li, H., Luo, C., & Jiang, H. (2013). Computational methods for drug design and discovery: focus on China. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(10), 549–559.

Extracción de peroxidasas de *Sechium edule* y su aplicación en la detección de contaminantes fenólicos

¹Flores-Loyola Erika, ¹Moreno Moreno Gabriela, ¹Marszalek Jolanta Elzbieta, ¹Pineda Escareño María Guadalupe, ¹Gámez Escobedo Idalia Anali, ¹Ramírez Moreno Agustina, ²Galindo Guzmán Magdalena.

¹Facultad de Ciencias Biológicas UA de C

²Universidad Politécnica Región Laguna.

*Email: erika-flores@uadec.edu.mx

RESUMEN

Los fenoles son compuestos químicos ampliamente utilizados en la agricultura como plaguicidas, herbicidas, germicidas, fungicidas, entre otros. Su uso extendido los ha convertido en contaminantes comunes con efectos tóxicos en animales y plantas. Por tanto es importante el desarrollo de métodos sensibles y fiables para detectar estos compuestos. Una alternativa a los métodos tradicionales de análisis para detectar compuestos específicos es el uso de enzimas como las peroxidasas de chayote (*Sechium edule*) capaces de detectar de manera específica contaminantes fenólicos en el ambiente.

El extracto enzimático de chayote crudo fue utilizado para la detección selectiva de contaminantes como guaiacol, fenol, catecol, 4-aminofenol y anilina. La actividad enzimática de las peroxidasas de chayote fue analizada por espectroscopia UV-Vis siendo la concentración mínima detectable de compuestos fenólicos de 10 mM.

El extracto enzimático crudo presentó actividad equiparable después de hasta 15 días de almacenamiento en refrigeración lo que muestra una alta estabilidad con respecto al tiempo.

Palabras clave: peroxidasa, actividad enzimática, contaminantes fenólicos.

ABSTRACT

Phenols are chemical compounds widely used in agriculture as pesticides, herbicides, germicides, fungicides and others. Its widespread use has become them common contaminants with toxic effects in animals and plants. It is therefore important to develop sensitive and reliable methods to detect these compounds. An alternative to the traditional methods of analysis to detect specific compounds is the use of enzymes such as peroxidases from chayote (*Sechium edule*), which can detect specifically phenolic contaminants in the environment.

The raw enzymatic extract from chayote can be used for specific detection of contaminants such as guaiacol, phenol, catechol, 4-aminophenol and aniline. The enzymatic activity of this extract was analyzed by UV Vis spectroscopy, being the minimal detectable concentration of phenolic compounds of 10 mM. This extract showed an enzymatic activity comparable after up to 15 days at fridge storing, which indicates a high stability with the time.

Keywords: Peroxidase, enzyme activity, phenolic pollutants.

INTRODUCCIÓN

Los fenoles están dentro de las 50 sustancias químicas más producidas a nivel mundial. Estos son compuestos químicos, ampliamente utilizados en la industria agrícola, farmacéutica, papelera, de plásticos, textilera, de petróleo, entre otras. Su uso extendido los ha convertido en contaminantes comunes con efectos tóxicos en animales y plantas (Su & Ruey, 2009). Dependiendo del número de sustituyentes y su posición en el anillo aromático esta toxicidad puede ser variable siendo todos persistentes en el medio ambiente. Una alternativa a los métodos tradicionales de análisis para detectar fenoles de manera específica es a través del uso de enzimas peroxidasas, las cuales catalizan la reacción de oxidación de estos compuestos dando lugar a la formación de productos coloreados los cuales pueden ser cuantificados por técnicas colorimétricas o espectrofotométricas simples. Las peroxidasas pueden ser extraídas de fuentes vegetales o microbianas. Entre los vegetales empleados para tal fin destaca *Sechium edule*, también conocido comúnmente como chayote. Este vegetal es de uso común en las cocinas mexicanas y es fácilmente disponible en los supermercados locales y de bajo costo, además de que se ha reportado, contiene altas concentraciones de peroxidasas con una alta actividad catalítica. Por lo cual el objetivo de este trabajo es obtener un extracto enzimático crudo de *Sechium edule* con alta actividad catalítica del tipo peroxidasa y evaluar su efectividad en la detección de diversos compuestos fenólicos.

Justificación.

El fenol y sus derivados clorados, nitrados y alquilados han sido definidos como contaminantes peligrosos y están incluidos en la lista de sustancias peligrosas y contaminantes prioritarios de la Comunidad Europea (CE) y de la Agencia de Protección Ambiental Norteamericana (EPA). Su detección rápida y oportuna evitaría que alimentos contaminados pudieran ser comercializados en el mercado, además de que permitiría hacer análisis de aguas de desecho industrial en campo y en tiempo real. Por tanto, es importante el desarrollo de métodos sensibles y fiables para su detección. Los procesos enzimáticos además de ser muy específicos permiten realizar análisis en segundos, mientras que el uso de extractos enzimáticos crudos reduce el costo de estos y los hace asequibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el proceso de extracción de peroxidasas se empleó un buffer de fosfatos de pH 0.1 M el cual fue utilizado para triturar y homogeneizar el material vegetal. Esta mezcla fue dejada en refrigeración a 4°C durante 24 h y posteriormente fue centrifugada a 4°C y 10000 rpm durante 20 min en una centrifuga refrigerada Thermoscientific. Después del centrifugado el sólido fue desechado y el sobrenadante fue utilizado como extracto enzimático crudo para su uso en la detección de fenoles por vía espectrofotométrica usando un espectrofotómetro Genesys UV10.

En una etapa por separado, el extracto enzimático fue sometido a un proceso de concentración por precipitación utilizando sulfato de amonio al 80%. El precipitado fue recuperado por centrifugado a 4°C y 10000 rpm por 30 minutos.

La cuantificación de actividad catalítica del extracto crudo y el concentrado fue realizado usando guayacol 50 mM y peróxido de hidrógeno 24.6 mM en buffer fosfatos 0.1 M, pH 7.0 midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 436 nm.

La capacidad de las peroxidasas para detectar diferentes contaminantes fenólicos fue determinada frente a fenol, catecol, 4-aminofenol y anilina; con diferentes concentraciones desde 10 hasta 100 mM para establecer los límites de detección del extracto enzimático.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se muestran los resultados de actividad enzimática del extracto crudo de peroxidasas, además de la del extracto parcialmente purificado con sulfato de amonio. Aquí se observa que no hay diferencia apreciable en ambas actividades por lo que se reporta en lo subsecuente el uso del extracto enzimático crudo por obtenerse a través de un proceso que emplea menos tiempo, es de menor costo y presenta actividad similar al purificado. La actividad enzimática de las peroxidasas extraídas de chayote es similar a las reportadas por (Villegas et al., 2003) para obtención de enzimas con aplicación biotecnológica.

Tabla 1. Determinación de actividad enzimática peroxidasa en diferentes extractos enzimáticos.

Tipo de extracto Enzimático	Actividad enzimática (DO) a 436 nm
Crudo	0.904
Concentrado	0.895

La actividad enzimática del extracto crudo de chayote fue evaluada en función del tiempo de almacenamiento a 4°C, midiendo su actividad recién obtenido y después de 8 días, esto con el fin de establecer las condiciones más adecuadas para su almacenamiento. En la Tabla 2 se presenta la actividad enzimática en los diferentes tiempos de estudio; de aquí se observa que después de una semana la actividad enzimática no se reduce de manera importante. De igual manera se evaluó después de 2 semanas sin presentar variaciones en los valores de actividad. Por tal motivo es posible establecer que las peroxidasa obtenidas del extracto crudo a partir de chayote son estables bajo las condiciones de almacenamiento manteniendo su actividad enzimática a 4°C sin pérdida significativa de actividad. (Gutiérrez, 2011).

Tabla 2. Actividad peroxidasa con respecto al tiempo de almacenamiento del extracto crudo.

Extracto crudo de chayote	Actividad enzimática (DO) a 436 nm
Fresco	0.904
Después de 8 días de almacenamiento	0.877

Efecto de la concentración de peróxido de hidrógeno

La determinación de la actividad enzimática fue realizada utilizando diferentes concentraciones del agente oxidante empleado como cofactor. Para este fin se evaluaron las concentraciones de 6.15, 12.3, 18.45, 24.6 y 30.75 mM de H₂O₂. Los resultados de esta evaluación se presentan en la Figura 1.

Como puede observarse en la Figura 1 a concentraciones de 24.6 mM de H₂O₂ existe un valor máximo en la actividad enzimática, el cual comienza a disminuir conforme se incrementa la concentración de oxidante. Esto es debido

a que las peroxidasa catalizan la oxidación de un amplio número de sustratos orgánicos e inorgánicos, debido a la presencia de un grupo prostético hemo en su sitio activo y utilizan el peróxido de hidrógeno como sustrato oxidante (Duarte et al., 2001). Sin embargo, en presencia de un exceso de agente oxidante este grupo puede sufrir oxidación inhibiendo la actividad catalítica por efecto de oxidación de este grupo. En estudios subsecuentes se establece 24.6 mM de H₂O₂ como la concentración óptima para determinación de actividad enzimática frente a los diferentes sustratos fenólicos de este estudio (Calderón et al., 2008).

Efecto de la concentración de sustrato

Una vez determinada la concentración de oxidante adecuado, se llevó a cabo la reacción enzimática utilizando diferentes concentraciones de guayacol, sustrato oxidable más usado en la determinación de actividad peroxidasa. Este es transformado por acción de la enzima en un complejo coloreado de tetraguayacol el cual es fácilmente cuantificado por espectroscopía UV-VIS (Jebara et al., 2005).

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2, en donde se observa que El comportamiento enzimático es de tipo Michaeliano (Nelson, 2000) teniendo un comportamiento lineal con concentraciones de sustrato por debajo de 20 mM. Aunque a concentraciones de 50 mM la actividad enzimática aumenta, el cambio no representa un aumento importante, por lo que es posible establecer que el extracto enzimático crudo de *Sechium edule* puede ser utilizado para detección de bajas concentraciones de compuestos fenólicos con una respuesta confiable dada la linealidad de la respuesta.

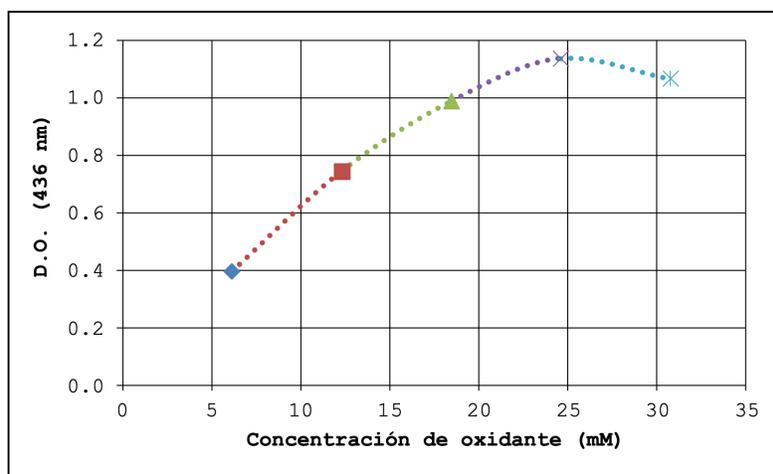


Figura 1. Determinación de la concentración de oxidante H₂O₂ necesaria para la catálisis

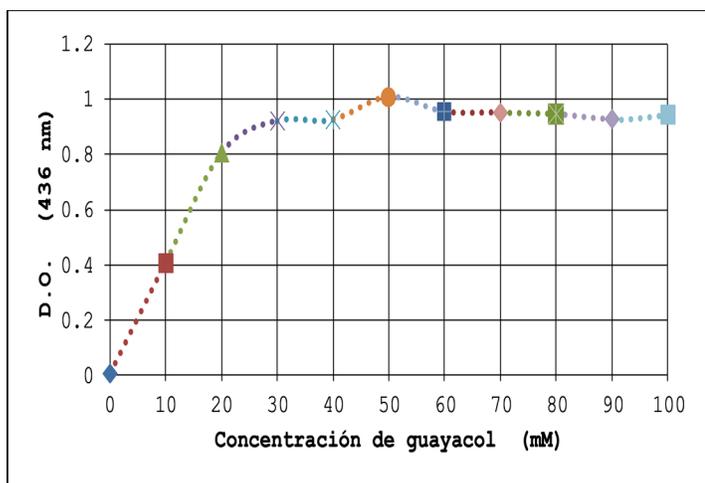


Figura 2. Determinación de la actividad enzimática en función de la concentración de guayacol.

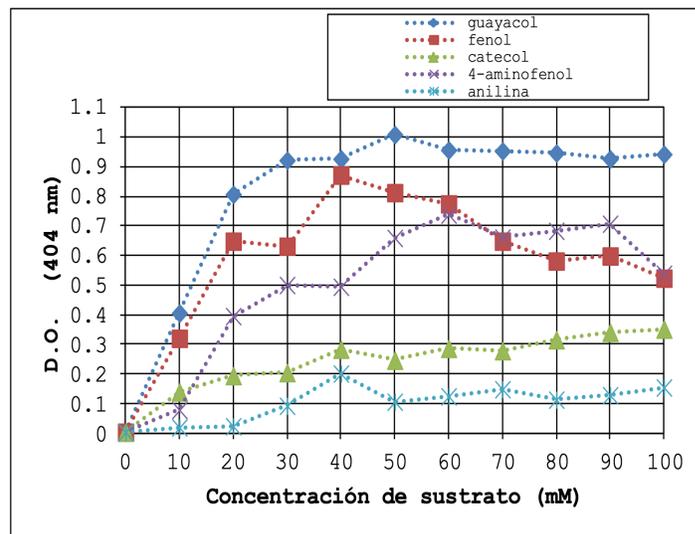


Figura 3. Actividad enzimática del extracto de *Sechium edule* frente a diferentes sustratos y concentraciones.

Determinación de actividad enzimática frente a diferentes compuestos fenólicos. Influencia de la concentración

Con la finalidad de establecer si el extracto enzimático de *Sechium edule* puede ser utilizado para la detección de diferentes compuestos fenólicos, se determinó la actividad enzimática del extracto utilizando a éstos como sustrato de reacción. Se evaluaron diferentes concentraciones de sustrato con el fin de establecer el límite de concentración mínimo que puede ser detectado en solución. En la Figura 3 se muestra el producto formado por la reacción del extracto enzimático de chayote con contaminantes fenólicos como sustratos (guayacol, fenol, catecol, 4-aminofenol y anilina) en presencia de peróxido de hidrogeno como cofactor.

En la Figura 4 se observa que, en la mayoría de los casos, el extracto enzimático presenta una respuesta lineal a bajas concentraciones de sustrato (menor a 20mM), lo que indica que es posible detectar positivamente a todos los sustratos estudiados, sin embargo, la anilina presenta una respuesta mucho menor comparada con la del fenol, esto indica la mayor selectividad de la peroxidasa por compuestos con grupos OH en su estructura.

Los resultados anteriores muestran que concentraciones tan bajas como 10 mM de estos sustratos generan una señal espectrofotométrica incluso en el sustrato anilina, lo que indica que estos compuestos contaminantes pueden ser detectados a concentraciones muy bajas a través de una reacción enzimática con el extracto crudo de *Sechium edule*.

CONCLUSIONES

El extracto enzimático crudo de *Sechium edule* presenta actividad catalítica peroxidasa que se mantiene en condiciones de almacenamiento a 4 °C.

El extracto no requiere purificación adicional por lo que representa una alternativa de bajo costo para la detección de compuestos fenólicos.

Compuestos como fenol, catecol nitrofenol y anilina pueden ser detectados por vía espectrofotométrica en presencia del extracto enzimático de *Sechium edule* en concentraciones tan bajas como 10 mM.

REFERENCIAS

- Calderón Alonso, et al.; 2008. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 4 (2):278 -284.
- Duarte M., et al.; 2001. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 78(1):43-45.
- Gutiérrez Salazar P. M., 2011. Escuela Politécnica del Ejército Sangolquí. Departamento de Ciencias de la Vida.
- Jebara, S., et al.; 2005. Journal of Plant Physiology 162: 929 - 936.
- Nelson D. L., et al.; 2000. Lehninger Principles of Biochemistry. Worth Publishers, U.S.A. 3rd Ed.
- Villegas Rosas M. L., et al.; 2003. Rev. Int. Contam. Ambient. 19(2):73-81.

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

PERFIL DE INGRESO

Conocimientos básicos e interés en las áreas de: Química, Física, Matemáticas y Biología.

Ser creativo y observador, capacidad de síntesis y análisis crítico, afinidad y gusto por la investigación y el trabajo en el laboratorio.

Ser responsable, perseverante, propositivo y tener interés por el mejoramiento sociocultural y económico.

PERFIL DE EGRESO

- Controlar, diseñar y analizar procesos fisicoquímicos y biológicos en alimentos
- Desarrollar tecnología propia para el procesamiento, conservación y empaques de alimentos
- Investigación y desarrollo de nuevos productos alimenticios



Cuerpo académico UJE-CA-103 Ciencia y Tecnología de Alimentos

LGAC: Desarrollo e innovación de Alimentos

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Desarrollo de alimentos precocidos por extrusión a base de maíz pigmentado (<i>Zea mays</i> L.)	Miguel Aguilera Ortiz 	
Caracterización y purificación de la enzima coagulante de la leche presente en la <i>Moringa oleifera</i> y su uso potencial en la elaboración del queso de soya.	Erick Sierra Campos 	
La inhibición de la proteína desacoplante por el extracto de la hoja de la <i>Moringa oleifera</i> favorece la recuperación de las células β pancreáticas en ratas diabéticas		
Los polifenoles del extracto de <i>Moringa oleifera</i> evitan la disfunción mitocondrial y estimulan el estado REDOX celular en ratas con diabetes tipo II.		
Identificación y efecto farmacológico de los polifenoles presentes en los azahares de la <i>Moringa oleifera</i>		
El extracto de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> protege contra la dislipidemia metabólica en ratas diabéticas al regular la paraoxonosa-1 y la óxido nítrico sintasa		
Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en <i>Cnidioscolus chayamansa</i> (chaya), <i>Euphorbia prostrata</i> (Hierba de la golondrina), y <i>Jathrophia dioica</i> (Sangre de drago).	Juan Ramón Esparza Rivera 	
Producción de hortalizas de alta rentabilidad con sustratos y soluciones nutritivas orgánicas bajo invernadero.		
Diseño y uso de cubiertas comestibles a base de polisacáridos para aumentar la vida de anaquel de frutas y hortalizas	Jorge Armando Meza Velázquez 	
Aplicación de tecnologías emergentes para la conservación de alimentos		

ALIMENTOS

(Alimentos funcionales, biotecnología e innovación de los alimentos)



*“La experiencia es la enfermedad que ofrece el menor peligro de contagio”
Oliverio Girondo (1891-1967); poeta argentino.*

Propiedades fisicoquímicas y contenido de antocianinas en maíz (*Zea mays L.*) rojo sometido a proceso de nixtamalización asistido con ultrasonido

¹Mota Ituarte María del Socorro, ¹Reza-Vargas María del Carmen, ¹Sierra-Campos Erick, ¹Esparza-Rivera Juan Ramón, ¹Meza-Velázquez Jorge Armando, ¹Aguilera-Ortiz Miguel*

¹Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n. Fracc. Filadelfia. 35010. Gómez Palacio, Durango, México.

*Email: maguilerao@ujed.mx

RESUMEN

La nixtamalización es un proceso antiguo mediante el cual el maíz (*Zea más L.*) se cuece en una solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Es un proceso largo que involucra alto consumo de energía, y tiene como consecuencia la pérdida de compuestos bioactivos como las antocianinas, presentes en el maíz pigmentado, y conocidas por sus propiedades antioxidantes. Por lo anterior, nuevas alternativas a la nixtamalización están siendo investigadas, entre ellas el ultrasonido de alta potencia. Las ondas de ultrasonido permiten la apertura de la pared de las células, lo que estimula, en el caso del maíz, una mejor liberación de los compuestos bioactivos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la nixtamalización asistida con ultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas y el contenido de antocianinas del maíz rojo. Se usaron tres niveles de intensidad de potencia (1.6×10^5 , 2.1×10^5 y $3.3 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$), dos temperaturas (75° y 85°C) y diferentes tiempos (15, 30, 45, 60 min de cocción y 2, 4, 6, y 8 h de reposo). Se encontró que la potencia de ultrasonido, tal y como fue aplicada, tuvo efectos importantes sobre las propiedades fisicoquímicas del nixtamal de maíz rojo. Mejoró su retención de antocianinas, observándose que a las 2 horas de reposo es un tiempo adecuado para finalizar con la segunda etapa de la nixtamalización. Los sólidos solubles y suspendidos medidos en el líquido de cocción, registraron niveles óptimos. La aplicación de ultrasonido a la nixtamalización del maíz rojo podría representar una mejora en la remoción de pericarpio, la absorción de calcio y agua en tiempos más cortos, comparado con la nixtamalización tradicional. En general, la nixtamalización asistida con ultrasonido redujo el tiempo de proceso comparado con un proceso tradicional.

Palabras clave: maíz pigmentado, antocianinas, ultrasonido, nixtamalización.

ABSTRACT

Nixtamalization is an old process by which maize (*Zea más L.*) is cooked in a solution of $\text{Ca}(\text{OH})_2$. It is a long process that involves a high energy consumption, and has the consequence the loss of bioactive compounds, such as anthocyanins, which exist in pigmented maize, and that are known for their antioxidant properties. This is why new alternatives to nixtamalization are being investigated, like high power ultrasound. Ultrasound waves cause the opening of cellular walls which stimulates, in the case of corn, a better release of bioactive compounds. The object of this study was to evaluate the effect of ultrasound assisted nixtamalization on the red maize's physicochemically properties and anthocyanins. Three power levels (1.6×10^5 , 2.1×10^5 y $3.3 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$), two temperatures (75° y 85°C) and different times (15, 30, 45, 60 min of cooking time, and 2, 4, 6, y 8 h of steeping) were used. We found that ultrasound power, as it was applied, had important effects over the red corn, both physically and chemically. It improved the retention of total anthocyanins and it was observed that two hours of steeping is an adequate time for the second phase of nixtamalization. Soluble and suspended solids measured in the cooking liquid registered optimal levels. The use of ultrasound in red maize nixtamalization could represent an improvement in the removal of the pericarp and shorter calcium and water absorption times when compared to traditional nixtamalization. In general, ultrasound assisted nixtamalization of red maize, reduced the required processing time when compared to traditional nixtamalization.

Key words: pigmented maize, anthocyanins, ultrasound, nixtamalization.

INTRODUCCIÓN

El maíz es la planta más domesticada alrededor el mundo. Existen diferentes genotipos pigmentados, con colores como el blanco, rojo, amarillo, morado, negro, y azul (Montilla y col., 2017). A estos maíces se les ha conferido un valor agregado debido a su alto contenido de compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides, entre los que destacan las antocianinas y los ácidos fenólicos (Lee y col., 2017; Masuoka y col., 2018). Las antocianinas poseen actividad biológica benéfica (antioxidante) derivada de sus metabolitos secundarios (Mora-Rochin y col., 2017; Mendoza-Díaz y col., 2018). Para el consumo del maíz es necesario el proceso de nixtamalización, el cual consiste en la cocción de éste con agua e hidróxido de calcio; éste proceso provoca efectos en las propiedades del maíz (Paredes-López, 2017). Los principales cambios son respecto al contenido de agua y la absorción de calcio, provocada por la interacción del líquido de cocción (nejayote) con los componentes del maíz (Ruiz-Gutiérrez y col., 2017 y 2018), además de la pérdida de antocianinas y fenoles totales por la remoción del pericarpio (López-Martínez y col., 2017). Durante la nixtamalización, el almidón del maíz se pregelatiniza, la proteína se desnaturaliza y el pericarpio o salvado se hidroliza parcialmente. Nutritionalmente, el maíz cocido o nixtamal contiene una alta cantidad de calcio biodisponible y mejor disponibilidad de la niacina (Serna-Saldívar y col., 2019). Aunado a los beneficios de la nixtamalización, también conlleva elevados gastos por energía y tiempo, además de que implica la pérdida de hasta el 100 % de las antocianinas que contiene el maíz pigmentado (Aguayo-Rojas y col., 2018; Escalante-Aburto y col., 2019; Mora-Rochín y col., 2017). Por ello se hace necesario investigar nuevas alternativas a la nixtamalización, como el ultrasonido de alta potencia (Chemat y col., 2017). Las ondas de ultrasonido que se propagan a través de un medio líquido, provocan pequeños huecos (cavitación); estas pequeñas burbujas al reventar incitan la apertura de la pared de las células, lo que estimula, en el caso del maíz, una mejor liberación de los compuestos bioactivos (Chemat y col., 2017; 2018). La mayoría del consumo del maíz rojo es principalmente local; sin embargo, por las propiedades nutraceuticas que se conocen del maíz en general, se considera como un área donde la investigación puede aportar datos específicos que puedan ampliar sus usos y aplicaciones.

Existen estudios sobre propiedades fisicoquímicas en maíz pigmentado de variedades que se cultivan en estados de la República Mexicana como Veracruz, Chiapas y

Estado de México. No obstante, las variedades del maíz en estas regiones varían con respecto a las cosechadas en el norte del país, como la Sierra de Durango. En esta última región no se han realizado estudios sobre el contenido de antocianinas u otras propiedades del maíz pigmentado rojo. Actualmente, se estudian y utilizan técnicas que pueden ayudar a reducir los efectos del calor sobre los alimentos, en este caso particular se pretende determinar el efecto del proceso de nixtamalización a través de la aplicación de ultrasonido de alta potencia sobre las propiedades físicas y químicas del maíz rojo seco y nixtamalizado. Por otra parte, el ultrasonido es una alternativa tecnológica que está siendo investigada para superar los problemas causados por el elevado consumo de energía y tiempo en el procesamiento de alimentos. El presente proyecto tiene como objetivo evaluar las propiedades fisicoquímicas y el contenido de antocianinas en maíz rojo nixtamalizado aplicando ultrasonido en diferentes condiciones de temperatura, tiempo y potencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental de ésta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación A de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, Campus Gómez Palacio.

Muestras experimentales

Para esta investigación se trabajó con maíz (*Zea mays* L.) rojo que se cultiva en Pueblo Nuevo en la Sierra de Durango. Se utilizan muestra de 100 g por cada unidad experimental, con un total de 10 kg de maíz rojo para toda la investigación.

Preparación de las muestras experimentales

El maíz rojo se obtuvo de Pueblo Nuevo en la Sierra de Durango, después de la obtención de la muestra se realizaron los análisis pertinentes para determinar contenido de antocianinas en maíz rojo sin ningún tratamiento, directamente en la semilla. Se nixtamalizó el maíz por proceso tradicional y se molió, para enseguida determinar contenido de antocianinas, así como humedad, porcentaje de pericarpio eliminado, contenido de calcio; además de sólidos solubles y suspendidos en nejayote. El nixtamal se dejó reposar 8 h para luego ser analizado con las mismas pruebas hechas antes del reposo. Como parte principal de éste proyecto, el maíz se nixtamalizó con aplicación de

ultrasonido a diferentes potencias (1.6×10^5 , 2.1×10^5 y $3.3 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$) y temperaturas (75° y 85°C) y a tiempos de cocción varios de 15, 30, 45 y 60 min, enseguida se dejó en reposo 2, 4, 6 u 8 h en el líquido de cocción. Posteriormente, el maíz se secó en secador de bandejas y fue molido con el objeto de determinar de igual forma contenido de antocianinas, humedad, porcentaje de pericarpio eliminado, y contenido de calcio; además de sólidos solubles y suspendidos en nejayote. Al finalizar se realizó el análisis de datos para su discusión.

Antocianinas

De acuerdo con Abdel-Aal y Hucl (2019), al extracto se le midió la absorbancia a 535 y 700 nm en el Espectrofotómetro HASH DR/400 UV y se calculó el contenido con la expresión matemática indicada. Los resultados se expresaron en mg/100 g en base a cianidina-3-glucósido con la siguiente expresión:

$$C = \left[\frac{A_{535} - A_{700}}{\epsilon} \right] \cdot (\text{vol. extracto}) \cdot PM \cdot \left(\frac{1}{\text{peso muestra}} \right)$$

Dónde:

Concentración total de antocianinas en mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido por 100 g de muestra.

Absorbancia a 535 y 700 nm.

$\epsilon = 25965$ absortividad molar de la cianidina-3-glucósido.

PM = 440.2 peso molecular de la cianidina-3-glucósido.

Humedad

Se empleó un horno de secado y una balanza analítica de sensibilidad 0.1 mg, de acuerdo con el método gravimétrico 950.02 AOAC, 2019. Las cápsulas perfectamente limpias se secaron en estufa a 103°C durante 24 h. Después de este tiempo se enfriaron en desecador hasta temperatura ambiente y se pesaron en balanza analítica. La manipulación debe hacerse con pinzas. Se colocaron en la cápsula 10 g de muestra. Se introdujo la cápsula en la estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ se mantuvo 24 h. Transcurrido este tiempo, se sacó la cápsula de la estufa y se dejó en un desecador, se procedió a pesar cuando se alcanzó la temperatura ambiente. El secado y pesado se repitieron hasta que dos pesadas consecutivas fueron constantes. En ese momento se comprobó que toda el agua del alimento había sido extraída. El contenido en agua de la muestra se calculó por diferencia de peso y se expresó en % de humedad (g de $\text{H}_2\text{O}/100$

g de muestra).

Porcentaje de pericarpio eliminado

Se pesaron muestras de diez granos de maíz en una balanza analítica y se secaron a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 h. Una vez seca la muestra, se remojaron en 40 mL de agua destilada durante 10 min, el pericarpio se retiró manualmente y se secó a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ en horno de secado, durante 24 h. El pericarpio en el grano se calculó por diferencia de peso y se reportó como porcentaje. El análisis se realizó por duplicado (Moreno-Castro, 2020).

Sólidos solubles

Los sólidos solubles se determinaron utilizando método refractométrico en el líquido de cocción, midiendo el índice de refracción con un refractómetro Abbe (Atago, Japón). El análisis de cada tratamiento se llevó a cabo por duplicado (Urizar, 2017).

Sólidos suspendidos

20 mL de nejayote se filtraron en papel whatman, a peso constante, colocado en un embudo büschner con matraz de kitasato, se filtró la muestra y el papel con los residuos se secaron en horno de secado a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 24, hasta obtener peso constante. Se realizó el cálculo por diferencia de peso (Urizar, 2017).

Contenido de calcio

0.3 g de muestra seca es prepararon simulando una digestión con HCl 3N. Se inició calcinando la muestra a $550 \pm 5^\circ\text{C}$, se diluyó con HCl 3N y se filtró. Para determinar la concentración de Ca, se preparó una curva estándar con soluciones de 0 a 25 ppm de Ca, se usó óxido de lantano como modificador de matriz. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro de absorción atómica con flama de aire acetileno de acuerdo con el método 968.08 de la AOAC, 2019.

$$Ca = \frac{y * \text{Vol. sol.} * \text{Factor Dil.}}{\text{Peso muestra}}$$

Análisis estadístico

El análisis de datos se llevó a cabo por medio de un ANOVA bifactorial ($p < 0.05$). Las comparaciones post hoc se hicieron por el método de Diferencia Mínima Significativa de Fisher en el software Statistics 7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antocianinas

La aplicación de tres niveles de potencia de ultrasonido durante la nixtamalización de maíz rojo tuvo efecto significativo sobre el contenido de antocianinas. La Tabla 1 en conjunto con la Figura 1, muestran los resultados obtenidos para las dos temperaturas utilizadas en este experimento y el comportamiento de las muestras durante el los diferentes tiempos de cocción y reposo. En primera instancia se observa que los indicadores en negro de la temperatura más baja (75°C) tienden a situarse por encima de los de la temperatura más alta (85°C), los que nos hace evidente el efecto de la temperatura sobre la pérdida de antocianinas, observándose diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo 15, a 75°C en la potencia media, así como a los 45 min de cocción, a 85°C en la potencia más baja, de igual forma vemos diferencia significativa ($p < 0.05$) a las dos h de reposo, a 75°C en la potencia más baja. Los controles se sitúan en un promedio de 10 mg de equivalentes de cianidina-3-glucosido por 100 g ss. Al respecto, Xiupeng Mei y col. (2020), encontraron que la estabilidad térmica de la antocianina no se ve afectada en temperaturas de cocción de 30 a 60°C, no obstante de 80 a 100°C disminuyó ligeramente durante los primeros 30 minutos, mientras que la de antocianina disminuyó rápidamente entre 30 y 120 minutos, lo que coincide con lo encontrado en el presente estudio. Estos resultados indican que la antocianina tiene una buena estabilidad térmica y la formación de la antocianina se promueve calentando adecuadamente.

Tabla 1. Resultados del contenido total de antocianinas en mg de equivalentes de cianidina-3-glucosido por 100 g de maíz rojo seco nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y 3.3×10^5 W·m⁻² a 75 y 85°C, con (180 a 540 min) y sin reposo (15 a 60 min).

P (W/m ²)	T	tiempo (min)			
		15	30	45	60
1. 6×10^5	75	13.03 ± 1.68 aB	11.92 ± 1.10 aA	14.78 ± 1.06 aA	13.70 ± 1.23 aA
	85	12.84 ± 0.66 aA	12.07 ± 1.58 aA	16.15 ± 0.93 aA	11.30 ± 2.78 aA
2. 1×10^5	75	18.53 ± 3.27 aA	12.53 ± 1.41 bA	14.60 ± 2.56 abA	12.67 ± 1.05 bA
	85	12.20 ± 1.40 aA	12.69 ± 0.70 aA	10.55 ± 3.26 aB	9.93 ± 1.33 aA
3. 3×10^5	75	14.78 ± 3.19 aAB	16.03 ± 4.34 aA	13.71 ± 0.45 aA	12.04 ± 4.83 aA
	85	15.56 ± 4.39 aA	12.90 ± 3.03 aA	12.12 ± 4.53 aAB	10.60 ± 1.02 aA

P (W/m ²)	T	tiempo (min)			
		180	300	420	540
1. 6×10^5	75	15.26 ± 0.11 aA	10.86 ± 1.72 bA	11.97 ± 12.64 abA	10.91 ± 10.94 bA
	85	12.12 ± 1.26 aA	12.12 ± 2.47 aA	9.80 ± 1.45 aA	8.86 ± 2.46 aA
2. 1×10^5	75	11.82 ± 0.90 aA	12.43 ± 0.20 aA	12.02 ± 5.05 aA	10.15 ± 1.71 aA
	85	9.58 ± 0.85 aA	9.21 ± 0.34 aA	9.83 ± 0.67 aA	9.36 ± 0.25 aA
3. 3×10^5	75	13.90 ± 12.02 aA	13.28 ± 11.06 aA	12.86 ± 2.94 aA	8.33 ± 1.65 bA
	85	12.39 ± 2.42 aA	9.00 ± 0.08 abA	8.45 ± 1.16 bA	11.00 ± 1.35 abA

Medias de los tratamientos (n=2). Diferencias encontradas mediante el método LSD ($p < 0.05$)
 Valores comparados por columna seguidos de letra minúscula diferente son significativamente diferentes.
 Valores comparados por renglón seguidos de letra mayúscula diferente son significativamente diferentes.

La nixtamalización comprende dos etapas, la primera consiste en cocinar el maíz y la segunda etapa consiste en dejar que el maíz repose en el líquido de cocción. Ambas etapas involucran una combinación de fenómenos de transporte: transferencia de calor y masa (Gutiérrez-Cortez y col., 2017). Cornejo-Villegas y col. (2017), informaron que durante la nixtamalización del maíz, el transporte es mayor en el pericarpio con tiempos de reposo cortos. Recientemente ha aumentado el consumo de alimentos que contienen antocianinas y compuestos fenólicos debido a las propiedades antioxidantes de estos componentes (Li y col., 2018). A las antocianinas y fenólicos se les asocia con efectos benéficos para la salud, como anticancerígeno (Nikkhah y col., 2017), de desintoxicación (Ajiboye y col., 2017), enfermedades cardiovasculares (Wallace, 2017) y antiinflamatorio (Bowen-Forbes y col., 2017). Actualmente, se conocen varias fuentes naturales de antioxidantes como son las frutas, verduras y cereales (Menga y col., 2017). En este sentido, en épocas anteriores el único interés sobre el maíz era el de aumentar su rendimiento, hoy en día se ha dado atención al contenido de compuestos fenólicos relevantes para la conservación de la salud de quien lo consume.

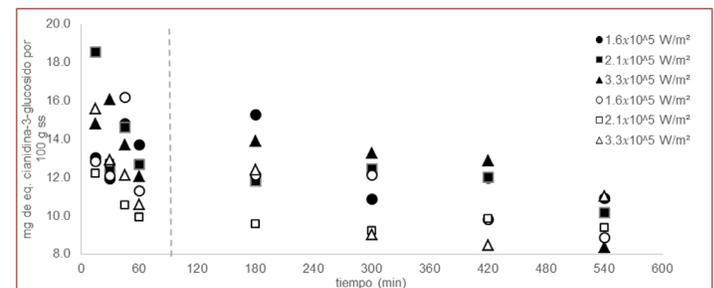


Figura 1. Contenido total de antocianinas en mg de equivalentes de cianidina-3-glucosido por 100 g de maíz rojo seco nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y 3.3×10^5 W·m⁻² a 75 y 85°C, con (a la derecha de la línea punteada) y sin reposo (izquierda de la línea punteada).

Humedad

El efecto de la nixtamalización con ultrasonido de alta potencia sobre la absorción de agua del maíz rojo se muestra en la Tabla 2 y se ilustra en la Figura 2. En la Figura 2 se puede observar que hay mayor absorción de agua en los tratamientos de mayor temperatura, durante los primeros minutos de cocción, lo cual concuerda con lo reportado por Gutiérrez-Cortez y col., (2021) quien afirma que la mayor difusividad en los primeros veinte a cuarenta minutos con 80 a 90°C. Lo que podría deberse a la difusividad está marcadamente influenciada por la temperatura del tratamiento aplicado al maíz, por lo que el efecto de la potencia de ultrasonido no se percibe.

Tabla 2. Resultados de % Humedad en maíz rojo nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y 3.3×10^5 $W \cdot m^{-2}$ a 75 y 85°C, con (180 a 540 min) y sin reposo (15 a 60 min).

P (W/m^2)	T	tiempo (min)			
		15	30	45	60
1.6×10^5	75	28.77 bA	31.98 aA	35.32 aA	35.25 aA
	85	29.27 bA	39.30 bA	43.46 aA	42.92 aA
2.1×10^5	75	26.56 bB	28.95 bA	35.60 aA	37.22 aA
	85	29.81 bA	36.47 bA	38.76 aA	43.01 aA
3.3×10^5	75	32.34 bA	30.73 bA	37.28 aA	40.59 aA
	85	30.54 bA	36.17 aA	38.77 aA	39.81 aA

P (W/m^2)	T	tiempo (min)			
		180	300	420	540
1.6×10^5	75	43.52 bA	44.85 aA	48.59 aA	47.27 aA
	85	45.52 bA	45.22 aA	48.91 aA	50.56 aA
2.1×10^5	75	41.13 bA	45.22 aA	48.05 aA	47.44 aA
	85	46.94 aA	46.65 aA	47.70 aA	47.60 aA
3.3×10^5	75	44.46 aA	45.64 aA	46.42 aA	48.47 aA
	85	41.36 aB	42.82 aB	45.15 aA	43.29 aB

Medias de los tratamientos (n=2). Diferencias encontradas mediante el método LSD ($p < 0.05$). Valores comparados por columna seguidos de letra minúscula diferente son significativamente diferentes. Valores comparados por renglón seguidos de letra mayúscula diferente son significativamente diferentes.

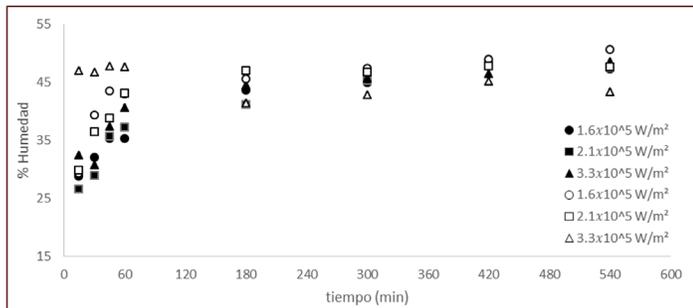


Figura 2. Humedad (%) de maíz rojo nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y 3.3×10^5 $W \cdot m^{-2}$ a 75 y 85°C, con (a la derecha de la línea punteada) y sin reposo (izquierda de la línea punteada).

Calcio

La Tabla 3 muestra que la absorción de calcio en el nixtamal se vio afectada significativamente ($p < 0.05$) por la potencia de ultrasonido, pero no se observó una interacción significativa entre variables. La absorción de calcio en grano mostró variaciones en las tendencias de absorción a lo largo del proceso (Figura 3). La absorción de Ca^{2+} aumentó durante los primeros 15 minutos, pero luego disminuyó. La absorción aumentó nuevamente después de la cocción durante las primeras horas de reposo para las dos temperaturas y tres potencias utilizadas en este estudio. Las concentraciones máximas obtenidas de calcio en los granos nixtamalizados corresponden a los tratamientos de ultrasonido a potencia media y baja con contenidos de calcio de 109.36 y 100.52 mg Ca/100 g ss a 75°C con y sin reposo, para potencia baja y 145.48 y 110.34 mg Ca/100 g ss a 75 y 85°C con y sin reposo, para potencia media. El comportamiento observado de la absorción de calcio (Figura 3) durante la cocción, que disminuye al final de la misma, se puede explicar con lo encontrado por Moreno-Castro y col.

(2021), quienes explican que los iones de calcio son retenidos en el pericarpio principalmente por los grupos ácidos de hemicelulosas, principalmente ácido urónico. Sin embargo, durante la cocción alcalina, el pericarpio se degrada progresivamente y pierde la capacidad de retener Ca^{2+} porque la fracción de hemicelulosa pasa al líquido de cocción, disminuyendo la cantidad de calcio inicialmente retenido.

Tabla 3. Análisis de varianza para calcio, pericarpio removido, sólidos solubles y suspendidos.

Fuente de variación	GL	Absorción de Calcio		Pericarpio Removido		Sólidos Solubles		Sólidos Suspendidos	
		c^1	r^2	c^1	r^2	c^1	r^2	c^1	r^2
Potencia (P)	2	0.568	0.037	0.229	0.004	0.638	0.491	0.001	0.000
Temperatura (T)	1	0.209	0.454	0.008	0.986	0.973	0.800	0.007	0.006
tiempo (t)	3	0.510	0.549	0.000	0.261	0.899	0.948	0.000	0.399
P*T	2	0.658	0.400	0.839	0.457	0.041	0.850	0.754	0.109
P*t	6	0.393	0.328	0.073	0.385	0.500	1.000	0.001	0.977
T*t	3	0.232	0.487	0.861	0.454	0.734	0.944	0.091	0.609
P*T*t	6	0.217	0.595	0.680	0.336	0.779	0.735	0.757	0.371

Diferencia significativa con $P < 0.05$

c^1 . Etapa 1 de la nixtamalización con ultrasonido de alta potencia, cocción.

r^2 . Etapa 2 de la nixtamalización, reposo

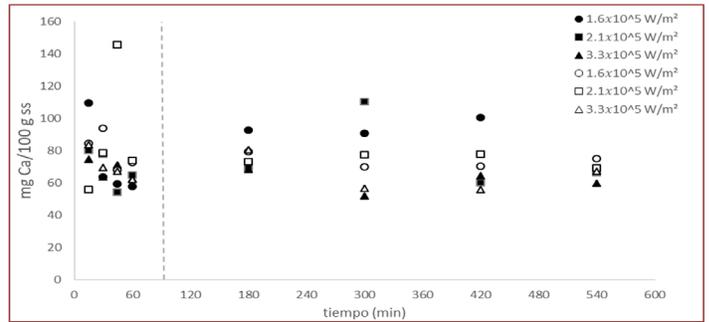


Figura 3. Contenido de calcio en mg Ca/100 g ss de maíz rojo nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y 3.3×10^5 $W \cdot m^{-2}$ a 75 y 85°C, con (a la derecha de la línea punteada) y sin reposo (izquierda de la línea punteada).

Pericarpio

De acuerdo con el análisis de varianza (Tabla 3), la temperatura, tiempo de cocción y el ultrasonido tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) en la eliminación del pericarpio. La eliminación del pericarpio durante la nixtamalización (Figura 4) aumentó con el tiempo de cocción a ambas temperaturas. Se observó una tendencia lineal al comienzo de la cocción, mientras que se detectó un comportamiento asintótico después de la cocción. Se eliminaron altas cantidades de pericarpio en tiempos de cocción cortos. La nixtamalización a 85°C con el tratamiento con ultrasonido mostró un efecto marcado en la eliminación del pericarpio y una reducción en el tiempo de cocción en comparación con la nixtamalización sin ultrasonido a la misma temperatura. Estos resultados se deben a la hidrólisis y el ablandamiento de la celulosa de grano en la solución alcalina (González y col., 2017; 2017; Laria y col., 2017; 2017), que se favorecen a altas temperaturas, con un efecto nulo de ultrasonido en estas condiciones. Esto se debe posiblemente al efecto de la temperatura que contrarresta el de la sonicación, es decir, se minimiza el fenómeno de cavitación a

altas temperaturas (Pardo-Rueda y col., 2020; Mason, 2017). Otros informes muestran que la hidrólisis y el reblandecimiento de la celulosa se aceleran al aumentar las temperaturas (Ruiz-Gutiérrez y col., 2017) y la sonicación causa el ablandamiento y la eliminación del pericarpio de maíz (Yang y col., 2017; Wang y col., 2017) que, a su vez, promueve la absorción de agua y calcio en el grano.

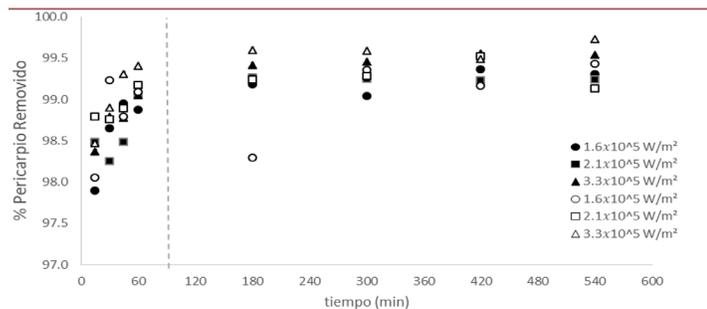


Figura 4. Pericarpio removido (%) en maíz rojo nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y $3.3 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ a 75 y 85°C, con (a la derecha de la línea punteada) y sin reposo (izquierda de la línea punteada).

Sólidos solubles y suspendidos

En el análisis de varianza que se muestra en la Tabla 3, la interacción de la temperatura y la potencia de ultrasonido tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en los sólidos solubles durante la primera etapa del proceso termoalcalino. Los sólidos solubles durante la nixtamalización (Figura 5) aumentaron con el tiempo de cocción a ambas temperaturas. La nixtamalización a 85°C con el tratamiento con ultrasonido a la potencia más alta mostró un efecto marcado en la cantidad de sólidos solubles en el líquido de cocción y una reducción en el tiempo de cocción en comparación con la nixtamalización sin ultrasonido a la misma temperatura. El análisis de varianza también muestra un efecto significativo ($p < 0.05$), tanto en la cocción como en el reposo, de la potencia de ultrasonido, la temperatura y el tiempo.

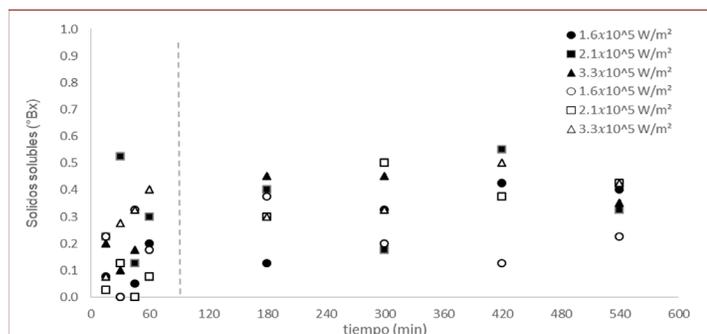


Figura 5. Sólidos solubles (°Bx) en maíz rojo nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y $3.3 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ a 75 y 85°C, con (a la derecha de la línea punteada) y sin reposo (izquierda de la línea punteada).

Podemos observar en la Figura 6, que en los primeros minutos de cocción se han encontrado grandes

cantidades de sólidos suspendidos en el nejayote, lo que coincide con lo encontrado en el análisis de pericarpio removido. Estos resultados se deben a la hidrólisis y el ablandamiento de la celulosa de grano en la solución alcalina, como ya se mencionó con anterioridad.

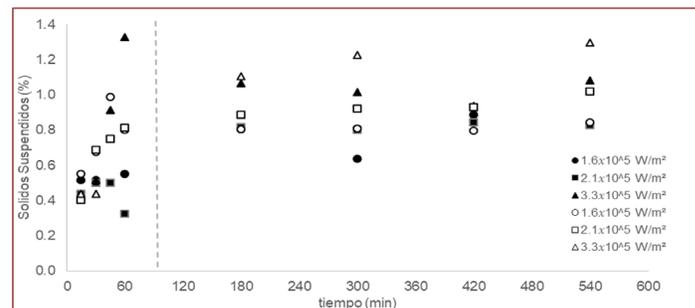


Figura 6. Sólidos suspendidos (%) en maíz rojo nixtamalizado con ultrasonido a 1.6×10^5 , 2.1×10^5 y $3.3 \times 10^5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ a 75 y 85°C, con (a la derecha de la línea punteada) y sin reposo (izquierda de la línea punteada).

CONCLUSIÓN

Por lo anteriormente descrito, la potencia de ultrasonido, tal y como fue aplicada, tuvo efectos importantes sobre las propiedades fisicoquímicas del nixtamal de maíz rojo. Mejora su retención de antocianinas, observándose que a las 2 h de reposo es un tiempo adecuado para finalizar con la segunda etapa de la nixtamalización. El porcentaje de humedad se mantiene en los niveles adecuados reportados por la literatura, por lo que se observa un efecto positivo de la nixtamalización con ultrasonido sobre esta propiedad en el maíz rojo.

Los sólidos solubles y suspendidos medidos en el líquido de cocción tienen una relación directa con la eliminación de pericarpio, los cuales han registrado buenos niveles durante los primeros minutos de cocción y primeras horas de reposo.

La aplicación de la tecnología de ultrasonido a la nixtamalización del maíz rojo podría representar una mejora en la absorción de calcio y remoción de pericarpio en tiempos más cortos comparado con la nixtamalización tradicional.

REFERENCIAS

- Abdel-Aal, E.S. y Hucl, P.A. 2019. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem*, 76: 350-354.
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E., Serna-Saldivar, S. Gutiérrez-Urbe, J., Reyes-Moreno, C. y Milán-Carrillo, J. 2017. Phytochemicals And Antioxidant Capacity Of Tortillas Obtained After Lime-Cooking Extrusion Process Of Whole Pigmented Mexican-Maize. *Springer Science+Business Media* (10-1007)
- Ajiboye, T. O., Salawu, N. A., Yakubu, M. T., Oladiji, A. T., Akanji, M. A. y Okogun, J. I. 2017. Antioxidant and drug detoxification potentials of Hibiscus sabdariffa anthocyanin extract. *Drug and Chemical Toxicology* 34(2): 109-115.
- AOAC, 2018. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 15th ed. Keneth Helrich, MD: Association of Official Analytical Chemists
- AOAC, 2019. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists.
- Bowen-Forbes, C. S., Zhang, Y. y Nair, M. G. 2017. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 23(6): 554-560.
- Chemat, F., Hume, Z. y Khan, M.K. 2017. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 18, 813-835.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. N., y Abert-Vian, M. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: a review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.
- Contreras-Jiménez, B., Gaytán-Martínez, M., Figueroa-Cárdenas, J., Avalos-Zúñiga, R., y Morales-Sánchez, E. 2018. Effect of steeping time and calcium hydroxide concentration on the water absorption and pasting profile of corn grits. *Journal of Food Engineering* 122 (2014) 72-77.
- Cornejo-Villegas, M.A., Acosta-Osorio, A.A., Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortez, E., Quiroga, M.A., Gaytán, M., Herrera, G., Rodríguez, M.E., 2017. Study of the physicochemical and pasting properties of instant corn flour added with calcium and fibers from nopal powder. *J. Food Eng.* 96 (3), 401-409.
- Cortés, A., San Martín, E., Martínez, F. y Vázquez, G. 2017. Tortilla of blue maize (*Zea mays* L.) prepared by a fractionated process of nixtamalization: Analysis using response surface methodology. *J. Food Eng.* 66, 273-281.
- Damián-Reyna, A.A., González-Hernández, J.C y Chávez-Parga, M. 2020. Procedimientos actuales para la extracción y purificación de flavonoides cítricos. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XVIII No. 1, 135-147.
- Dawson-Hughes, B., Harris, S., Palermo, N.J., Castaneda-Sceppa, C., Rasmussen, H.M. y Dallal, G.E 2017. Treatment with potassium bicarbonate lowers calcium excretion and bone resorption in older men and women. *J. Clin. End. Metab.* 94, 96-102.
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P., Barrón-Hoyos, J., Figueroa-Cárdenas, J. y López-Cervantes, J. 2019. La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (4): 429 - 437.
- FAO. 2019. El maíz en la nutrición humana. En O. d. Alimentación. Roma, Italia: Colección FAO.
- Fernández-Muñoz, J.L., Rodríguez, M.E., Pless, R.C., Martínez-Flores, H.E., Leal, M. y Martínez, J.L., 2017. Changes in nixtamalized corn flour dependent postcooking steeping time. *Cereal Chemistry* 79 (1), 162-166.
- Food and Nutrition Board. 2017. Committee to review intakes of vitamin D and calcium. Institute of Medicine. Dietary intakes for calcium and vitamin D. Washington DC: National Academy Press.
- González, R., Reguera, E., Mendoza, L., Figueroa, J.M., y Sánchez-Sinencio, F. 2017. Physicochemical changes in the hull of corn grains during their alkaline cooking. *Food Chem.* 52, 3831-3837.
- González, R., Reguera, E., Figueroa, J.M. y Sánchez-Sinencio, F. 2017. On the nature of the Ca binding to the hull of nixtamalized corn grains. *LWT-Food Science and Technology* 38, 119-124.

- Gutiérrez-Cortez, E., Rojas-Molina, J.I., Rojas, A., Arjona, J.L., Cornejo-Villegas, M.A., Zepeda-Benítez, Y., Velázquez-Hernández, R., Ibarra-Alvarado, C., Rodríguez-García, M.E., 2017. Microstructural changes in the maize kernel pericarp during cooking stage in nixtamalization process. *J. Cereal Sci.* 51 (1), 81–88.
- Gutiérrez-Cortez, G., Rojas-Molina, I., Zambrano-Zaragoza, M.L., Espinosa-Arbeláez, D.G., Rojas, A., García, J.C., Cornejo-Villegas, M.A., y Rodríguez-García, M.E. 2020. The mass transport phenomenon through pericarp during the nixtamalization process. *Food and Bioprocess Technology* 100, 477–486.
- Laria, J., Meza, E., Mondragón, M., Silva, R., y Peña, J.L., 2017. Comparison of overall water uptake by corn kernel with and without dissolution calcium hydroxide at room temperature. *Journal of Food Engineering* 67 (4), 451–456.
- Laria, J., Meza, E., y Peña, J.L., 2017. Water and calcium uptake by corn kernel during alkaline treatment with different temperature profiles. *Journal of Food Engineering* 78, 288–295.
- Lee, C.H., García, H. S. y Parkin, K.L. 2017. Bioactivities of kernel extracts of 18 strains of maize (*Zea mays* L.). *J. Food Sci.* 75: C667-C672.
- Li, H., Deng, Z., Zhu, H., Hu, C., Liu, R., Young, J. C. and Tsao, R. 2018. Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. *Food Research International* 46(1): 250- 259.
- Lopez-Martinez, L. X., Parkin, K.L. y García, H.S. 2017. Phase II-Inducing, Polyphenols content and antioxidant capacity of corn (*Zea mays* L.) from phenotypes of white, blue, red, and purple colors processed into masa and tortillas. *Plant Food Hum. Nutr.* 66:41-47.
- Mason, T.J. 2017. Sonochemistry. *Oxford Chemistry Primers*, pp. 68. Oxford, UK.
- Masuoka, N., Matsuda, M. y Kubo, I. 2018. Characterisation of the antioxidant activity of flavonoids. *Food Chem.* 131:541-545.
- Mendoza-Díaz, Ortiz-Valerio, C., Castaño-Tostado, E., Figueroa-Cárdenas, J., Reynoso-Camacho R., Ramos-Gómez, M., Campos-Vega, R. y Loarca-Piña, G. 2018. Antioxidant capacity and antimutagenic activity of anthocyanin and carotenoid extracts from nixtamalized pigmented creole maize races. *Springer Science Business Media New York. Plant Foods Hum Nutr* 67:442–449
- Menga, V., Fares, C., Troccoli, A., Cattivelli, L. y Baiano, A. 2017. Effects of genotype, location and baking on the phenolic content and some antioxidant properties of cereal species. *International Journal of Food Science and Technology* 45(1): 7-16.
- Montilla, C. E., Hillebrand, S., Antezana, A. y Winterhalter, P. 2017. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 59: 7068-7074.
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O., Sánchez- Peña, S., Reyes-Moreno, C. y Milán-Carrillo, J. 2017. Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization cooking. *J. Cereal Sci.* 52:502-508.
- Moreno-Castro, L.E., Quintero-Ramos, A., Ruíz-Gutiérrez, M.G., Sánchez-Madrugal, M.A., Meléndez-Pizarro, C.O., Pérez-Reyes, I. y Lardizábal-Gutiérrez, D. 2021. Nixtamalization assisted with ultrasound: effect on mass transfer and physicochemical properties of nixtamal, masa and tortilla. *Revista Mexicana De Ingeniería Química (Vol.14, Num.2)* Pp. 265-279
- Nikkha, E., Khayami, M. y Heidari, R. 2017. In vitro screening for antioxidant activity and cancer suppressive effect on blackberry (*Morus nigra*). *Iranian Journal of Cancer Prevention* 1: 167-172.
- Pardo-Rueda, A.J., Quintero-Ramos, A., Genovese, D.B., Camacho-Dávila, A., Zepeda-Rodríguez, A., Contreras-Esquivel, J.C. y Bizarro, A.P. 2021. Efficient extraction of fructans from sotol plant (*Dasyliion leiophyllum*) enhanced by a combination of enzymatic and sonothermal treatments. *Food Bioprocess Technology* 94, 398-404.

- Paredes-López, O., Guevara-Lara F. y Bello-Pérez L.A. 2017. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* 92-93, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, pp. 60-70.
- Pineda-Gómez, P., Coral, D.F., Ramos-Rivera, D. y Rosales-Rivera, A., 2017. Estudio de las propiedades térmicas de harinas de maíz producidas por tratamiento térmico-alkalino. *Ingeniería y Ciencia* 7 (14), 119-142.
- Pineda-Gómez, P., Rosales-Rivera, A. y Rodríguez-García, M.E., 2018. Modeling calcium and water intake in threshed corn grain during thermo-alkaline treatment. *Journal of Food Engineering* 113, 434-441.
- Ruiz-Gutiérrez, M.G., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C., Talamás-Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Meléndez, R. y Lardizábal-Gutiérrez, D. 2017. Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *Journal of Process Engineering* (10.1111) Pp. 772-783
- Ruiz-Gutiérrez, M. G., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C. O., Talamás-Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Meléndez, R., y Lardizábal-Gutiérrez, D. 2018. Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortillas. *Journal of Food Process Engineering*, 35(5), 772-783.
- Serna-Saldívar, S.O., Gutiérrez-Urbe, J.A., Mora-Rochin, S. y García-Lara, S. 2019. Potencial nutracéutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 Supl. 3-A: 295 - 304.
- Urizar, A. 2017. Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fítico, calcio y hierro. Tesis de Licenciatura de Ingeniería en Ciencias de Alimentos, Universidad del Valle de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Guatemala.
- Valderrama-Bravo, C., Rojas-Molina, A., Gutiérrez-Cortez, E., Rojas-Molina, I., Oaxaca-Luna, A., De la Rosa-Rincón, E. y Rodríguez-García, M.E., 2017. Changes in mass transfer, thermal and physicochemical properties during nixtamalization of corn with and without agitation at different temperatures. *Journal of Food Engineering* 98, 76-8
- Wallace, T. C. 2017. Anthocyanins in cardiovascular disease. *Advances in Nutrition. An International Review Journal* 2(1): 1-7.
- Wang, S., Chen, P., Jiang, W., Wu, L., Chen, L., Fan, X., Wang, Y. y Cheng, Y. 2020. Identification of the effective constituents for anti-inflammatory activity of Ju-Zhi-Jiang-Tang, an ancient traditional Chinese medicine formula. *Journal of Chromatography A*, 1348, 105-124.
- Wang, Y.J., Chong, S.W. y Yang, W. 2017. Effect of pericarp removal on properties of wet-milled corn starch. *Cereal Chemistry* 83, 25-27.
- Xiupeng Mei, Hongni Qin, Jiuguang Wang, Guoqiang Wang, Chaoxian Liu y Yilin Cai, 2020. Studies on Physicochemical Characteristics of Anthocyanin from Super Dark Maize. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2014, Vol. 2, No. 3, 109-114.
- Yang, W., Liu, Z. y Siebenmorgen, T. 2017. Ultrasound processing of foods-A case study of corn component separation. *ASAE Paper No. 026022*. ASAE: St. Joseph, MI.

AGUARDIENTES Y ETANOL OBTENIDOS A PARTIR DE MATERIAS PRIMAS NO CONVENCIONALES

SPIRITS AND ETHANOL OBTAINED FROM UNCONVENTIONAL RAW MATERIALS

¹Leyva-Arámburo A. A., ²Femenia, A., ¹Olivas-Calderón, E. H., ¹Martínez-García, J. J.,
³González-Laredo, R. F., ^{1*}Rodríguez-González, V. M.

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n
Fracc. Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. México.

²Área de Ingeniería Química, Departamento de Química, Universitat de les Illes Balears,
Ctra. Valldemossa Km. 7.5, E-07071 Palma de Mallorca, España.

³Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Durango,
Blvd. 10 Felipe Pescador 1830 Ote., 34080, Durango, Dgo. Mexico.

*Email: vicrogfcq7@ujed.mx

RESUMEN

En nuestro país México y a nivel mundial, existe la necesidad de encontrar y explorar diversas alternativas del uso de nuevas materias primas que no provengan de fuentes naturales directas para producción, consumo y suministro de alimentos. Existe la controversia de la utilización de cultivos y tierras que por mucho tiempo han sido utilizadas para tal propósito, y a últimas fechas, se han tratado de destinar a la producción de biocombustibles. De tal manera que se han realizado un gran número de investigaciones científicas con el objetivo de proponer materiales novedosos que permitan optimizar la producción de aguardientes y etanol, para el consumo humano y para el uso como biocombustibles. Por lo anterior, la presente investigación bibliográfica presenta al lector, diversas opciones de producción de aguardientes y bioetanol, a partir de materia primas no convencionales, como los son frutos y vegetales que anteriormente no han sido utilizados para tal efecto, así como biomasas, materia lignocelulósica, productos intermedios como cáscaras y bagazos; además de desechos orgánicos de la industria turística y alimentaria, con los cuales se ha realizado experimentación, nuevos procesos y tecnologías innovadoras, con la finalidad de evitar la utilización de cultivos destinados a la alimentación del ser humano.

Palabras clave: Aguardientes, etanol, materias primas no convencionales.

ABSTRACT

In our country Mexico and worldwide, there is a need to find and explore various alternatives for the use of new raw materials that do not come from direct natural sources for production, consumption and food supply. There is a controversy over the use of crops and land that have long been used for this purpose, and in recent times, they have been tried to be used for the production of biofuels. In such a way that a large number of scientific researches have been carried out with the aim of proposing novel materials that allow optimizing the production of spirits and ethanol, for human consumption and for use as biofuels. Therefore, this bibliographic study presents to the reader, options for the production of spirits and bioethanol, from unconventional raw materials, such as fruits and vegetables that have not previously been used for this purpose, as well as biomass, lignocellulosic matter, intermediate products such as peels and bagasse; In addition to organic waste from the tourism and food industry, with which experimentation, new processes and innovative technologies have been carried out, in order to avoid the use of crops intended for human food.

Key words: Spirits, ethanol, unconventional raw materials.

INTRODUCCIÓN

Los aguardientes o bebidas destiladas, son aquellas bebidas alcohólicas de alta graduación obtenidas por evaporación y condensación de los líquidos de mostos o pastas fermentadas. Esta palabra deriva del término latín “agua ardens”, con el que designaba al alcohol obtenido por medio de la destilación.

La destilación de vinos fermentados de frutas ha sido utilizada en numerosos países durante muchos años para obtener bebidas de sabores agradables con altos contenidos de alcohol. Los destilados alcohólicos de alta graduación más importantes y que se han procesado durante cientos de años, son elaborados de diversas materias primas como uvas (Brandy, Coñac, Grappa, Orujo), Malta (Whiskey), Caña de azúcar (Ron), además de diversos cereales, semillas, bayas de enebro, etc.

Los productos novel o novedosos son aquellos que de acuerdo a los estándares o tradición de los procesos en el área de los alimentos, se elaboran a base de materias primas que no habían sido utilizadas previamente o de los cuales se ha llevado a cabo experimentación en los últimos años.

Otras bebidas destiladas provienen de la destilación de frutas fermentadas, nombradas en algunas zonas “vinos de frutas”, como son cerezas, manzanas o peras. Varios países producen bebidas alcohólicas obtenidas del vapor de destilación del hollejo de uva anaeróticamente fermentada, después de que las uvas han sido estrujadas durante la fabricación del vino. Estas bebidas contienen entre el 30-40% (v/v) de alcohol y son altamente apreciadas, especialmente después de alguna comida gourmet.

En algunos casos, se han llegado a combinar diferentes materias primas con otro tipo de materias que son consideradas de tipo desecho, como lo son diversos tipos de frutas, vegetales, tubérculos, cortezas, cáscaras, raíces, hojas en las cuales se ha encontrado una forma de aprovechamiento de las mismas y con esto utilizar en su totalidad el producto que sea considerado para la elaboración.

Existen muchas alternativas para dar valor agregado a productos agrícolas, en especial a los cultivos frutales y vegetales.

Algunas frutas, vegetales y tubérculos llegan a tener un

menor aprovechamiento, ya que no son seleccionadas en su totalidad por lo que se pierde gran cantidad de producto, debido a que no cuentan con los aspectos y calidad necesarios para su selección y comercialización como lo son la forma, tamaño, color, madurez, firmeza, daño mecánico, por lo que se considera para descarte (Clementz, et al, 2014). Este problema afecta en lo comercial en mayor medida al productor, es por ello que se consideran alternativas de uso, ya que algunos de ellos podrían llegar a tener un gran potencial en el desarrollo de nuevos productos y una alternativa para la industria.

Los productos agrícolas son perecederos, no pueden ser almacenados y preservados por mucho tiempo, por lo que su tiempo de vida son menores. La transformación agroalimentaria es una actividad que va adquiriendo cada vez más importancia porque permite una utilización completa de las materias primas locales (FAO, 2008; Aimaretti et al, 2012). La información que existe sobre aguardientes y etanol elaborados con distintas materias primas no convencionales, se encuentra por el momento dispersa y poco difundida. A través de la presente investigación bibliográfica, se pretende exponer información actualizada y relevante sobre los principales factores que influyen en los procesos y elaboración de aguardientes y etanol utilizando diversas materias primas no convencionales, con la finalidad de proporcionar al lector, una fuente confiable de referencias, que coadyuve al máximo aprovechamiento de los recursos naturales y propicie la inquietud para quien quiera abordar el tema y hacer posteriores investigaciones referentes a esta tecnología o procesos y tecnologías innovadoras, tratando de promover el evitar la utilización de cultivos destinados a la alimentación humana para estos fines.

LOS AGUARDIENTES

El término español aguardiente, proviene del latín “*aqua ardens*”, es el utilizado para, designar genéricamente a las bebidas con alto contenido alcohólico, obtenidas mediante destilación de mostos fermentados cuyos componentes contengan azúcares o el poder de transformarse en ellos para convertirse en alcohol, o sea, materias tales como, frutas, cereales, tubérculos, caña de azúcar, etcétera (Font, 2019).

Según la Norma Oficial Mexicana, se designa al aguardiente como la Bebida alcohólica destilada que se denomina con las palabras “Aguardiente de _____”, seguida del nombre de la materia prima vegetal que

aporte por lo menos el 51% de los azúcares fermentables. De acuerdo a su materia prima y/o lugar de origen podrá tener un nombre característico sancionado por la costumbre. Su contenido alcohólico es de 35% a 55% Alc. Vol. (NOM-199-SCFI-2017).

Materias primas utilizadas

Para la obtención de aguardiente, se parte de la obtención de alcohol mediante la destilación a partir de líquidos alcohólicos, estos pueden contener alcohol, resultar de la fermentación alcohólica de substratos que contengan azúcares fermentables o generarse mediante hidrólisis. Como materias primas para elaborar aguardiente sirven los líquidos alcohólicos (vino y cerveza), sustancias azucaradas (azúcar de caña o de remolacha, entre otras) y materias primas que contengan almidón e inulina (frutas, vegetales, alcachofas, maguey, cereales y patatas) (Cussianovich Aguirre, 2016).

Materias no convencionales para la obtención de aguardientes

Dentro de los avances en la utilización de nuevas materias primas para la elaboración de aguardientes, empieza a crecer poco a poco con nuevas innovaciones, las cuales traen consigo una alternativa a las materias primas convencionales. Algunos de ellos son los siguientes:

Frutas

Papaya (*Carica papaya*): Se obtiene del árbol conocido como papayo, y es originario de las zonas tropicales de México y Centroamérica. Tiene una pulpa carnosa de 2,5-5 cm de espesor, jugosa, de sabor y aroma agradables y de color amarillo, anaranjado o rojizo. La elaboración de licor de papaya, fue empleado mediante procesos fermentativos durante cuatro días usando como inóculo la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El producto resultante fue de color amarillo claro, limpio y profundo, olor característico y alcohol, sabor dulce, fresco y estructurado (Zeta Tineo D, 2018).

Maracuyá (*Passiflora edulis*): Es originaria de Sudamérica, aunque se cultiva en todos los países tropicales y subtropicales. Es ovalada y de color amarillento, al igual que su pulpa. Es rica en vitamina A y C. Se consume en zumo, dulces y batidos. Su mayor virtud, es que es muy refrescante. La elaboración de licor mediante esta fruta, se realiza con el empleo de levadura para la fermentación (Lastra J, 2012; Zeta Tineo D, 2018).

Limón (*Citrus limon*): El licor de limón, conocido como limoncello, tradicionalmente se obtiene por la maceración alcohólica de la parte externa (flavedo) de la cáscara de limón para lograr un producto final con grado alcohólico (Reyes A, et al, 2011).

Fresa (*Fragaria*): El fruto de la fresa es conocido por sus características organolépticas y nutrimentales, ya que aporta 35Kcal/100g, con un contenido de 89,6% de agua, 7% de hidratos de carbono, 0,7% de proteínas, 0,5% de lípidos y 2,2% de fibra, minerales de importancia como el potasio es el componente mayoritario, seguido del fósforo, calcio y magnesio (Chordi S, 2013).

Grosella (*Phyllanthus acidus*): Es una fruta exótica apta para el procesamiento agroindustrial, sus características físico-químicas como pH, acidez y sólidos solubles cumplen con especificaciones industriales, posee ventajas y oportunidades en el mercado nacional, se trabajo tuvo la finalidad de obtener una bebida alcohólica a partir de la grosella blanca (*Phyllanthus acidus*), mediante el empleo de levaduras de panificación *Saccharomyces cerevisiae* y en el período de fermentación y trasiegos se realizaron análisis fisicoquímicos, °Brix, pH y acidez. Por último, una fase de maduración en botellas de vidrio de 750mL por un lapso de 65 días en condiciones ambientales ($\pm 20^{\circ}\text{C}$), donde se obtuvo una bebida con gran aceptabilidad (Gonzales Villalva, 2012).

Pechiche (*Vitex cymosa*): El pechiche es una fruta carnosa, negra o púrpura de forma ovoide, su propagación es por semilla y tiene crecimiento medio, con el que se trabajó para obtener un licor mediante extracción sólido - líquido del sistema pechiche alcohol potable, utilizando tres métodos de extracción: maceración alcohólica, extracción dinámica bajo presión y Soxhlet. Además, se estudió el fenómeno de extracción del sistema mediante modelación matemática. Los extractos obtenidos fueron diluidos con agua destilada y jarabe de azúcar hasta obtener dos licores cuya composición son: el primero de 20°Gl y 20°Brix, y el segundo de 19°Gl y 15°Brix (Yaguachi Cuenca, 2020).

Higo (*Ficus Carica*) "pulpa": Un licor muy aromático y elegante que extrae lo mejor de la fruta, sin embargo, agradecería más contenido alcohólico. El proyecto se desarrolla en dos partes, una fase inicial que consiste en una preselección e identificación de los diferentes rendimientos de fermentación en la fruta; y tras un análisis organoléptico, teniendo en cuenta los datos obtenidos, se procede a la segunda fase del proyecto, la

destilación. El contenido alcohólico del destilado final oscila el 20% v/v, sensación acuosa propia del bajo contenido alcohólico, licor muy aromático. De 20 kg de materia prima inicial se obtuvo 1 L de producto final (Marín-Díaz, 2020).

Higo (*Ficus Carica*) “cáscara”: Tiene un perfil muy aromático: tierra, cáscara. Sin embargo, se pierde su sabor en boca a pesar de que cuenta con una buena acidez. El proyecto se desarrolla en dos partes, una fase inicial que consiste en una preselección e identificación de los diferentes rendimientos de fermentación en la fruta; y tras un análisis organoléptico, teniendo en cuenta los datos obtenidos, se procede a la segunda fase del proyecto, la destilación. El contenido alcohólico del destilado final oscila los 5%v/v, esto ya que la cáscara tiene poca fructosa fermentable y se esperaban concentraciones de ese orden, sin embargo, es más aromático que la pulpa. Solo se obtuvo 300 ml de destilado final (Marín-Díaz, 2020).

Tuna (*Opuntia ficus indica*): Las cactáceas son endémicas del continente americano, con una prosperidad en regiones áridas y semiáridas, este proyecto fue orientado en el desarrollo tecnológico de una nueva bebida alcohólica, basándose en el proceso de producción del vino de Oporto (El proceso es muy similar a la producción de vino tinto, ya que la gran mayoría de los estilos de Oporto son empleados con variedades de la vid tintas). El destilado obtenido en la fase de destilación, se puso a prueba para determinar su concentración de etanol, dando un resultado de 40% vol. alc. siendo el necesario para la fortificación de la bebida alcohólica (Hernández, 2015).

Melón (*Cucumis melo* L): Es un cultivo importante en la región de La Mancha (España) y el gran tamaño de la cosecha da como resultado altos niveles de producción excedente que debe comercializarse en un período de tiempo muy corto. Se decidió procesar y elaborar un licor a base del melón, analizando diferentes partes, como el jugo, la pulpa sin cáscara y pulpa. Para los 3 procesos se cortó de la misma forma para cada uno, para el jugo se utilizó una prensa para su extracción, y para la pulpa sin cáscara se peló cada trozo. La fermentación se llevó a cabo a 20 °C y los sustratos se inocularon con una levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae* UCLM 325), los fermentados se destilaron inmediatamente con lías de levadura de dos formas en ensayos anteriores: en columna de vidrio rectificador y en olla de cobre tipo francés, el destilado se recogió en fracciones de

diferentes volúmenes dependiendo del equipo utilizado. En este tipo de procesos y con el fin de evitar la pérdida de aromas, todas las fracciones se recogieron en hielo y se mantuvieron a 4°C hasta su análisis. Después del proceso, se obtuvo que el melón en forma de jugo o pasta sin piel, constituye un sustrato de fermentación apropiado, siendo consumidos los azúcares durante la fermentación para producir rendimientos alcohólicos de acuerdo a las expectativas, en cuanto a los destilados, depende mucho del tipo de sustrato que se utilice al igual que el equipo empleado, las 3 materias empleadas tuvo diferentes comportamientos en sus fracciones extraídas, los que tuvieron mejores rendimientos fue el jugo con 58° G.L. en olla de cobre y 50.8°G.L. en columna, mientras que la pulpa 59° G.L. en olla de cobre y 46.5°G.L. en columna (Briones, et al, 2012).

Vegetales

Yuca (*Manihot esculenta*): Es uno de los tubérculos más tradicionales de los Andes, se caracteriza por su valor nutritivo ya que contiene entre 30-50% de carbohidratos, calcio, vitamina C, complejo B y fósforo (Guerrero-Yepez, 2018) Para la producción de etanol se aplicó hidrólisis enzimática con la cual se pudo obtener un rendimiento del 40% al utilizar alfa-amilasas, amiloglucosidasas y pectinasas (Collares R, 2012).

Zanahoria (*Daucus carota*): Es una raíz con alto valor nutricional, su mayor componente son los carbohidratos totales (27,04%) de los cuales 18,45% son almidones y 0,6% es fibra, contiene bajas cantidades de grasa (0,1%) y 1,25% de proteínas (Guerrero-Yepez, 2018).

Batata (*Ipomoea batatas*): La batata, camote o patata, se utiliza como alimento humano en forma cocida, pasta dulce, harina para adicionar al pan sustituyendo hasta en un 30% la harina de trigo, y como forraje para ganado porcino en fase de desarrollo. Con el fin de obtener alternativas de utilización y transformación, se propuso obtener un aguardiente a nivel laboratorio. La investigación consistió en adaptar el proceso de elaboración de aguardientes, evaluando la hidrólisis del almidón, utilizando cuatro concentraciones de cebada germinada (0, 10, 15 y 20% p/v) y dos tiempos de calentamiento a 60 °C (20 y 60 mini). Los mostos obtenidos se sometieron a fermentación alcohólica utilizando como inóculo *Saccharomyces cerevisiae*, destilándolos y evaluando la aceptabilidad de los aguardientes mediante una prueba hedónica. El tratamiento correspondiente a 0% de cebada germinada y 20 minutos de calentamiento a

60 °C, mostró la mayor cantidad de azúcares reductores, presentando diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) con respecto a los demás tratamientos y la evaluación sensorial demostró que los aguardientes más aceptados fueron los que contenían 15% de cebada, 20 y 60 minutos de calentamiento y los que contenían 20% de cebada, 20 y 60 minutos de calentamiento (Andrade, et al, 2009).

Cereales

Bebida alcohólica a base de maíz morado (*Zea mays*).

La investigación sobre la obtención de la bebida alcohólica se realizó con la extracción de jugos de especias y cascara de piña más el maíz morado por 60 minutos, más un filtrado estandarizando con ácido cítrico y azúcar para así luego realizar su almacenado, para luego realizar la mezcla con aguardiente rectificado y llegar a concentraciones de 3, 6, 9, 12, 15 y 18°GL hasta obtener el producto final (Alcívar Martínez, 2020).

Hierbas, plantas y otras variedades

Menta (*Mentha*)

Botánicamente la menta perteneciente a la familia de las Labiadas, es una planta que se cultiva en suelos húmedos y en climas templados. El licor de menta puede ser ingerido después de haber comido en exceso ya que por sus propiedades digestivas ayudara a aliviar los dolores de la indigestión (Criollo M, 2017).

Anís (*Pimpinella anisum* L.)

El anís verde fue macerado por 15 días en aguardiente a 52 °G.L. (mezcla de alcohol extraneutro a 96 °G.L. y agua desionizada) y luego fue destilado mediante la destilación simple. El derivado alcohólico de anís es incoloro y líquido cristalino, de sabor ácido ligeramente dulce y con olor ligeramente a anís. El producto obtenido tuvo un grado alcohólico elevado adecuado para el tipo de bebida alcohólica que se produce al igual que su densidad. Posee componentes aromáticos ideales y deseados para el producto final, sin embargo, estos pueden concentrarse más si se utiliza otro tipo de destilación, como la fraccionada o por arrastre de vapor (Tunqui, et al, 2018).

Pétalos de rosa (*Rosa sp*)

Obtención de licor con características específicas, las cuales se deben a la presencia de un aceite esencial proveniente de los pétalos de rosas, estos pétalos son considerados como rechazo de la industria florícola y su destino final es el compostaje. El aprovechamiento de este subproducto radica en que el aceite esencial logra modificar el sabor y color del licor elaborado, dándole un valor agregado al producto final. El proceso más adecuado para llevar a cabo este producto es la extracción sólido-líquido a temperatura ambiente con etanol como solvente, esto se debe a que el etanol es parte de la composición del producto final y además mantiene las propiedades características del aceite esencial que se extrae de los pétalos de rosas (Mendoza-Pico, 2020).

Extracto de alfa ácidos del lúpulo (*Humulus lupulus*)

En el proceso de producción de aguardiente o “cachaça”, utilizando como substrato jugo de caña de azúcar, uno de los problemas que surgen frecuentemente durante la fermentación es la contaminación del mosto por bacterias como la *Leuconostoc mesenteroides* y especies de *Lactobacillus*, se observó que en los mostos con una concentración de 40 ppm de alfa ácidos hubo una reducción de las células vivas de las bacterias *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus plantarum*. Se fermentaron de 200 litros de mosto con concentración de 40 ppm de alfa-ácidos, reutilizando la levadura en 14 ciclos, sin observar contaminación del medio. Los mostos fermentados fueron destilados en un destilador de cobre de 160 L, las bebidas obtenidas fueron separadas para su posterior análisis. Las “cachaças” producidas con y sin alfa ácidos fueron analizadas en el laboratorio de Alcoholes y Bebidas, no se comprobó la presencia de contaminación por bacterias hasta el ciclo 14 de fermentación, el análisis sensorial de las “cachaças” producidas con concentraciones de alfa ácidos de 40ppm, mostró que en estos niveles no hay percepción de ninguna diferencia sensorial cuando fueron comparados con la “cachaça” producida sin alfa ácidos (Oliveira e Silva, et al, 2016).

Residuos de la industria pisquera

Durante la producción de pisco, que es el producto obtenido exclusivamente por destilación de mostos frescos de “Uvas pisqueras” (*vitis vinifera*) recientemente fermentados, utilizando métodos que mantengan el principio tradicional de calidad, las uvas pisqueras corresponden a los frutos de las vides cultivadas en la región costera del sur de Perú (Flores Mendoza, 2019).

Se obtienen residuos como la borra (residuos densos y fangosos que se generan durante el trasiego del mosto al finalizar la fermentación), cabeza (fracción primera de la destilación), cola (última fracción de la destilación), orujo (está constituido por el hollejo o piel de la baya de la uva y las semillas de la uva) y vinaza (es un residuo líquido turbio de color café rojizo con un olor a alcohol-caramelo, que se genera en el proceso de destilación), fueron recolectados para analizar y elaborar un aguardiente por medio de la destilación (Flores Mendoza, 2019).

Bebidas gasificadas de descarte

Fueron recuperadas 4 tipos de bebidas gaseosas, con las cuales se aprovecha el contenido de azúcares con la finalidad de elaborar un aguardiente. Para ello, fue necesario el acondicionamiento de la bebida, donde se ajustó el contenido de gas, pH y se añadió nutrientes, antes de adicionar levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) para la fermentación, por último, se destiló para obtener un aguardiente de 40°GL (Cussianovich Aguirre, 2016).

ETANOL

También conocido bajo el nombre de alcohol etílico o simplemente alcohol, se caracteriza por ser líquido, incoloro y con gusto a quemado. Este compuesto es un alcohol primario que muestra condiciones estándar de presión y temperatura además de ser un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78.4 °C (Tabla 1). El etanol es el principal producto de las bebidas alcohólicas como el vino (alrededor de un 13 %), la cerveza (5 %), los licores (hasta un 50 %) o los aguardientes hasta un 70 % (Aguirre Inga, 2019). Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del etanol. (Martínez Zarate, 2019).

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del etanol. (Martínez Zarate, 2019).

FÍSICAS	QUÍMICAS
Densidad 810 kg/m ³ ; (0.810 g/cm ³)	Peso Molecular: 46.07 g/mol.
Punto de fusión 158.9 K (-114.1 °C)	Composición N: C: 52.24 %; H: 13.13 % y O: 34.73 %.
Punto de ebullición 351.6 K (78.4 °C)	Miscible con agua en todas proporciones, éter, metanol, cloroformo y acetona
Punto de congelación: -114.1 °C	Momento dipolar: 1.699 debyes
Temperatura crítica 514 K (241 °C)	Reacciones vigorosas con ácidos, cloruros de ácidos, agentes oxidantes y reductores, y metales alcalinos.
Presión crítica 63 atm.	Presión de vapor: 59 mm de Hg a 20 °C.
Volumen crítico: 0.167 l/mol.	Densidad de vapor: 1.59 g / m
Viscosidad (cP): 1.17 (a 20°C).	Calor de vaporización en el punto normal de ebullición (J/ g): 839.31
Conductividad térmica (W/m K): 0.17 (a 20 °C).	Calor de combustión (J/g): 29,677.69 (a 25 °C)

Materias no convencionales para la obtención de bioetanol

Residuos de cáscara de piña (*Ananas comosus*)

Buscando nuevas alternativas de obtención de biocombustibles en México a partir de biomasa, recursos renovables y desechos orgánicos además de poder desarrollar nuevas tecnologías. El objetivo principal de este trabajo de investigación fue obtener celulosa y bioetanol del bagazo de piña. Pensando que el aprovechamiento de este bagazo evitará el consumo de cultivos destinados a la alimentación humana, evitando también el uso excesivo de tierras. Se estudió un proceso para extraer la celulosa del bagazo de piña, y mediante la hidrólisis ácida de la celulosa y del bagazo se obtuvo glucosa, utilizando microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* en un biorreactor discontinuo tipo Batch con turbinas. Una vez recolectados los residuos de piña se sometieron a secado al sol, posteriormente se realizó una trituración con una licuadora industrial de 10 L mínimo hasta conseguir una consistencia homogénea, después se adicionó NaOH con agitación mecánica constante para luego lavar con agua destilada y por último filtrar para purificar la celulosa obtenida. Después se llevó a cabo una hidrólisis ácida con H₂SO₄ por medio de dos fases de aproximadamente 6 horas. Después de estos procedimientos se realizó la fermentación en el biorreactor, añadiendo de acuerdo a cálculos la cantidad necesaria de levadura, ajustando el pH a 5.0, manteniendo una temperatura de 30°C. Pasado el proceso y el tiempo de fermentación, el líquido obtenido se sometió a destilación simple y se obtuvieron 630 g de etanol al 40% de pureza. El rendimiento obtenido fue menor al teórico y al estequiométrico, esto pudo haberse debido a que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* no convirtió todos los azúcares disponibles en etanol, se cree que uno de los motivos fue la oxidación del etanol a otros compuestos como ácido acético, además de que el grado de pureza relativamente bajo del etanol, se debió al método de separación utilizado que resultó ineficiente (Segura, et al, 2020).

Yuca (mandioca)

En un estudio de investigación de obtención de etanol a partir de harina de yuca (mandioca) en un sistema de hidrólisis ácida enzimática y fermentación simultánea, se integraron las etapas de hidrólisis enzimática (licuefacción y sacarificación) y fermentación simultáneamente (HEFS), mediante el uso del complejo enzimático Stargen™ 001. El diseño experimental fue

una Superficie de Respuesta de un diseño Central Compuesto de dos factores a dos niveles (48 - 80 °C y 400 - 600 rpm) en la etapa de prelicuado, y luego la temperatura de ajusto a 37 °C manteniendo las otras condiciones de proceso en la integración de las etapas. La experimentación se desarrolló con una concentración de los sólidos de la harina de yuca de 28% p/v, pH 5.3, inóculo de 0.75 g/L de la levadura Ethanol Red® y una carga enzimática de 4 mL/L. La temperatura fue la variable de mayor efecto sobre la producción de etanol si se compara con la agitación, aunque, ambos factores presentaron significancia estadística sobre la variable de respuesta. A 64 °C y 500 rpm se alcanza una concentración de etanol de 14.6% v/v y una productividad de 2.5 g/Lh en 48 h de proceso (Castaño, et al, 2011).

Residuos de poda

En esta investigación se buscó el aprovechamiento de los residuos de poda de un campus universitario a través de la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica, con el fin de conseguir jarabes glucosados para, potencialmente, ser convertidos en bioetanol. Fueron aplicadas dos metodologías, la primera mediante hidrólisis ácida utilizando ácido sulfúrico y la otra con hidrólisis enzimática, con enzimas celulasas. En primer término, se llevó a cabo la caracterización de los residuos de hojas, tallos y frutos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución, para determinar los contenidos de celulosa, hemicelulosa, lignocelulosa y glucosa iniciales. Posteriormente se efectuó la eliminación de la lignina con NaOH 0.01 N y sulfato de calcio (0.816 g), en reposo por 3 h, posteriormente se separó el material particulado de la solución, eliminando la lignina. Enseguida se realizó la hidrólisis ácida con ácido sulfúrico y sometiendo las muestras en un esterilizador eléctrico a 15 psi de presión y 125 °C durante 15 min. Para la hidrólisis enzimática también se utilizaron muestras sin lignina, utilizando un biorreactor y enzimas celulasas bajo condiciones de pH y humedad controladas. De los resultados se obtuvo una mayor conversión con la hidrólisis ácida de todas las muestras (entre 10 y 30 g/L de glucosa) que con la hidrólisis enzimática de los residuos mezclados (8.83 g/L de glucosa), quedando abierta la posibilidad de obtener biocombustible a partir de este tipo de residuos. Por lo anterior, se sugirió la necesidad de la optimización de los procesos con el propósito de mejorar el rendimiento en la producción de glucosa (Tejada, et al, 2011).

Biomasa lignocelulósica

Se trabajó con la obtención de etanol a partir de hidrolizados lignocelulósicos, que en la actualidad se considera una alternativa muy estudiada en el mundo, con la finalidad de disminuir los costos de los biocombustibles de etanol. Se reportaron como materiales lignocelulósicos de estudio más utilizados el bagazo de caña de azúcar los derivados del maíz. Se presentaron métodos de pretratamiento, purificación del hidrolizado, fraccionamiento de la celulosa, obtención de microorganismos genéticamente modificados y producción a nivel planta piloto e industrial. Los métodos de pretratamiento por exposición a vapor y de purificación por "overliming" son los más estudiados con resultados satisfactorios. Entre los métodos de fraccionamiento de la celulosa, la sacarificación y fermentación simultánea (SSF) se reporta como el proceso más novedoso y eficiente para la obtención de etanol a partir de biomasa, aunque a nivel planta piloto e industrial se continúa trabajando con el sistema de hidrólisis ácida. Se muestran algunos resultados obtenidos con microorganismos genéticamente modificados como la levadura *Saccharomyces* y la bacteria *Escherichia coli* (Viñals-Verde, et al, 2012).

Cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)

En el estudio de la hidrólisis ácida de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) para la obtención de etanol, se trabajó como una de las alternativas encontradas para la producción de jarabes glucosados a partir de residuos lignocelulósicos para convertirlos en etanol carburante. Para la obtención de los jarabes son necesarios diversos procesos entre los cuales tiene lugar una conversión de la celulosa en glucosa para su posterior fermentación. Esta conversión puede realizarse mediante hidrólisis ácida o alcalina. Se realizó el estudio de la hidrólisis ácida de cáscaras de naranja molidas provenientes de una industria de vinos. El procedimiento se llevó a cabo con ácido sulfúrico a distintas concentraciones (3,5 y 7%) con las cáscaras previamente deslignificadas, con vapor a temperatura de 125 °C y 101 kPa de presión, durante 15 minutos. Los jarabes glucosados obtenidos se caracterizaron determinando los sólidos solubles expresados como °Brix mediante un refractómetro y los azúcares reductores totales, con un espectrofotómetro de luz ultravioleta visible (EFUV) con ácido dinitrosalicílico.

De los resultados se observó un comportamiento proporcional en la producción de azúcar, a mayor

concentración de ácido sulfúrico se obtuvo mejor contenido de azúcares. Sin embargo, concentraciones de ácido demasiado altas aumentan el costo de utilización de reactivos, lo cual hace necesario añadir cal para neutralizar el ácido, por lo que se elevarían los costos de producción. Por otro lado, esta neutralización produce sulfato de calcio, cuya eliminación traería costos adicionales.

Al realizar el balance de masa, se calcularon los rendimientos, y se encontró que para el mejor caso (usando ácido sulfúrico al 7%) se obtiene 25 mg de azúcares por cada gramo de cáscaras de naranja empleadas. De lo anterior se destaca que el rendimiento en la extracción de etanol a partir de cáscaras de frutas es bajo, sin embargo, teniendo en cuenta que las cáscaras son un residuo no aprovechado y de alta producción en los sectores turístico e industrial, a gran escala podría ser una alternativa interesante (Alvear, et al, 2014).

Subproductos de la industria azucarera

En la investigación sobre la incorporación de otras materias primas como fuentes de azúcares fermentables en destilerías existentes de alcohol, se estudiaron diferentes alternativas para satisfacer el déficit de sustratos azucarados, con el fin de lograr el uso planificado de la capacidad instalada de la producción de etanol en un área de varios ingenios y destilerías, primero minimizando el porcentaje de residuos en un 25.92%, a través del uso de corrientes secundarias y jugos diluidos, generados del proceso de producción de azúcar. La optimización del vínculo de mieles y del bagazo, entre los ingenios y las destilerías, permite resolver una importante incógnita que es el aprovechar la capacidad instalada durante todo el año, lo que significa incrementar el aprovechamiento hasta 154.96% de lo inicialmente planificado. Para los estudios de la mezcla de sustratos azucarados, se utilizaron como materias primas o sustratos fermentativos: miel final, el jugo de los filtros y el jugo secundario de una fábrica de azúcar de una región. Los sustratos fermentativos empleados se caracterizaron de acuerdo a los parámetros de: °Brix, azúcares reductores, pH, acidez y %Pol, con el objetivo de conocer las condiciones y la calidad de cada uno de ellos antes de ser utilizados en el experimento. Para estudiar el efecto de diferentes porcentajes de extracción del jugo de filtros y de la extracción del jugo del último molino, en los balances de materia y energía, se realizaron los cálculos para una fábrica de azúcar con una molida de 7750 t/d de caña.

Los balances de materia y energía se realizaron con los parámetros operacionales obtenidos directamente del proceso mediante corridas experimentales. De lo anterior se concluyó que la extracción de los jugos diluidos de la producción de azúcar de caña, aunque limita la producción de azúcar permite, a través de una tecnología adecuadamente asimilada de mezcla de sustratos, minimizar los déficit de mieles anuales, en relación con la producción planificada e incrementar el aprovechamiento y volumen por instalación de producción de etanol, disminuyendo también los gastos de transportación de mieles y los costos energéticos con un incremento de la disponibilidad de bagazo sobrante por ingenio (García-Prado, et al, 2015).

PROCEDIMIENTOS DE ANÁLISIS

Entre las múltiples formas de analizar la presencia de etanol en el aguardiente, una de estas técnicas es la determinación con un cromatógrafo de gases.

El contenido de metanol y etanol del que fue cuantificado con un cromatógrafo de gases (GC, por sus siglas en inglés) marca Agilent technologies 7890^a - GC system, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent technologies 5975C, equipado con un puerto de inyección split (relación 1:50), un inyector Agilent y un sistema de recolección de datos HP Chem Station. El flujo de helio como gas portador se fijó en 1.2 mL/min. Las temperaturas en el puerto inyector y detector se fijaron en 250 °C y 300 °C, respectivamente. La temperatura del horno se controló con un programa de elevación de temperatura durante el análisis, que se estableció inicialmente en 40 °C durante 1 min, seguido con un incremento de 40 °C/min hasta 250 °C y se mantuvo por un 1 min. Previamente, se establecieron las curvas de calibración partiendo de los estándares de metanol y etanol. Una vez con las condiciones estipuladas, se inyectaron las muestras de ñeque directamente al equipo (Tirado, et al, 2017).

De acuerdo con Castaño, et al, 2011; los perfiles de fermentación (concentración vs tiempo) de etanol y glucosa se cuantificaron por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) utilizando un cromatógrafo (300x 7.8mm); como fase móvil se utilizó una solución 0.012 N de ácido sulfúrico grado HPLC con un flujo de 0.5 mL/min, con una temperatura de columna de 65 °C utilizando un detector de índice de refracción Agilent. Los azúcares reductores se determinaron por el método de Miller usando una un espectrofotómetro UV visible Genesys 20.

García-Pardo, et al, en 2015; analizaron y determinaron la concentración de azúcares reductores por el método de Eynon-Lane y el grado de alcohol fue determinado por picnometría. Mientras que Alvear, et al en 2013, determinaron el contenido de azúcares reductores en jarabes hidrolizados con ácido sulfúrico, mediante espectrofotometría de luz ultravioleta visible (EFUV) con ácido dinitrosalicílico (DNS).

CONCLUSIONES

El proceso de elaboración para aguardientes y etanol depende en gran medida de la materia prima utilizada, debido a que la composición final tiene una combinación de alcohol, agua, azúcar y la materia vegetal que permitirá aportar su aroma y sabor además del color en algunos casos. Conociendo estos elementos nos permite dar una clasificación a nuestro mosto preparado, ya sea por los grados de alcohol o los compuestos empleados determinando el tipo de aguardiente a elaborar y así poder establecer el proceso más adecuado para su elaboración.

En el desarrollo del proceso se describen las fases necesarias además de los parámetros requeridos para poder realizar un aguardiente de calidad con las características y requisitos fisicoquímicos establecidos, con una producción adecuada de etanol.

La elaboración de aguardientes a base de materias primas ha ido evolucionando de una manera constante dentro del mercado de bebidas alcohólicas, debido a las diferentes características que posee cada preparado, obteniendo bebidas alcohólicas de alta calidad con sabor y aroma que permiten generar un alto grado de aceptación en los consumidores. Se pretende que con la elaboración del aguardiente con cualquier materia prima no convencional proporcione un valor agregado a la fruta, vegetal, hierba u otra variedad con el que se trabaje, debido a que gran mayoría de estos frutos no son aprovechados en su mayoría y dejando de lado que contienen muchas propiedades nutrimentales y beneficiosas.

REFERENCIAS

- Aguirre Inga, E. R. (2019). Evaluación económica para la comercialización del aguardiente en la provincia de Rodríguez de Mendoza - Amazonas. Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero en Agronegocios. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios Y Biotecnología.
- Alcívar Martínez, J. S. (2020). Evaluación sensorial de una bebida alcohólica a base de maíz morado (*zea mays L.*) con adición de aguardiente rectificado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, facultad ciencias pecuarias, carrera de ingeniería en alimentos.
- Alvear, M. R.; Castillo, C. R.; Henao, D. L.; Marimón, W.; Tejada, C. N.; Tejada, L. P.; Villabona, A. (2013). Estudio de la hidrólisis ácida de cáscara de naranja *Citrus sinensis* para la obtención de alcohol. Memorias del IV Simposio de química aplicada - SIQUIA-2009. Universidad de Cartagena. Facultad de Ingeniería. Cartagena de Indias, Colombia. Páginas 1-8. <https://www.researchgate.net/publication/256474373>
- Andrade Luna, S. A. (2016). Estudio de percepción y análisis de evaluación sensorial del mezcal de Laguna Seca. Tesis. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Contaduría y Administración.
- Andrade, R. D.; Torres, R.; Montes, E. J.; Pérez, O. A.; Acuña, C. A.; Nerváez, G. J. (2009). Obtención de aguardiente a partir de batata (*Ipomoeas batatas*). Temas agrarios. Departamento de ingeniería
- Briones, A.; Ubeda-Iranzo, J. y Hernández-Gómez, L. (2012). Spirits and Liqueurs from Melon Fruits (*Cucumis melo L.*). Laboratorio de Biotecnología de Levaduras, Universidad de Castilla. La Mancha, Ciudad Real. España.
- Castaño, P. H.; Cardona, B. M.; Mejía, G. C.; Acosta, C. A. (2011). Producción de etanol a partir de harina de yuca en un sistema de hidrólisis enzimática y fermentación simultánea. Dyna, año 78, Nro. 169, pp. 158-166. Medellín, Colombia.
- Chordi S (2013). Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa minimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad. Tesis de grado de la universidad de Lleida.
- Collares, R. M. (2012). Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars. Journal of Zhejiang University.

- Criollo, M. (2017). Propuesta de elaboración de licores artesanales con base en menta, hinojo, cedrón y toronjil y su maridaje con postres cuencanos. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias de La Hospitalidad. Cuenca, Ecuador.
- CRT. (2019). Proceso de Elaboración de Tequila: Maduración. Consejo Regulador del Tequila. Zapopan, Jalisco México.
- Cussianovich Aguirre, K. A. (2016). Obtención y caracterización de aguardiente de 40 °g.L. A partir de gaseosas y néctar de descarte. Tesis para optar el título de ingeniero en industrias alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Industrias Alimentarias.
- Díaz Franco, D. P. (2020). Enia. Trabajo de grado para optar al título de Diseñador Industrial. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.
- Flores Mendoza, J. (2019). Producción de aguardiente por destilación en columna a partir de residuos de la industria pisquera. Tesis para optar el grado de maestro en ciencias ambientales. Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Posgrado, Maestría en Ciencias Ambientales.
- Font, A. (2019). Historia, elaboración y tipos de licores y aguardientes.
- García-Prado, R.; Pérez-Martínez, A.; Diéguez-Santana, K.; Mesa-Garriga, L.; González-Herrera, I.; González-Cortés, M.; González-Suarez, E. (2015). Incorporación de otras materias primas como fuentes de azúcares fermentables en destilerías existentes de alcohol. Rev. Fac. Ing. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. No. 75, pp.130-142. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43038630013>
- Guerrero, E.; Yepez, A. (2018). Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada a partir de Yuca (*Manihot esculenta*) y Zanahoria Blanca (*Arracacia xanthorrhiza*). Universidad San Francisco De Quito USFQ. Colegio de Ciencias e Ingeniería.
- Hernández Zenteno, S. (2015). Bebida alcohólica estilo vino de oporto a base de tuna (*Opuntia ficus - indica*). Tesis profesional. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química.
- Lastra, J. (2012). Plan para la Elaboración de Licores de Frutas Tropicales del Ecuador. Escuela Politécnica Del Ejército, Sangolquí, Ecuador.
- Marín Mena, D. M.; Díaz Bautista, J. M. (2020). Obtención de licores destilados a partir de frutos exóticos nacionales. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- Martínez, A.; Romero, A. (2006). Elaboración de licor de tuna. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
- Martínez Zarate, J. (2019). Determinación de los parámetros de etanol en el proceso de fermentación y destilación para la producción artesanal de Pox con sabor. Informe técnico de residencia profesional. Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.
- Mendoza-Pico, V. (2020). Procesos de obtención del licor de pétalos de rosas. Universidad de Jaén, UJA. Jaén, España. Revista Científica "INGENIAR": Ingeniería, Tecnología e Investigación. Vol 3, Num 6 (jul-dic) ISSN: 2737-6249.
- NOM-199-SCFI-2017, Bebidas alcohólicas, Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- Oliveira e Silva, T. A.; Batista Ferreira, F.; Bernadete Medeiros, M. y Almeida e Silva, J. B. (2016). Producción de aguardiente utilizando extracto de alfa ácidos del lúpulo en el control biocida del proceso fermentativo. Departamento de Biología da Universidade de Taubate, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Revista Centro Açúcar, Vol 43, Enero-Marzo, 2016 Editora: Yaillet Albernás Carvajal ISSN: 2223- 4861.
- Quevedo Villacres, A. M. (2020). Optimización del proceso de añejamiento acelerado de aguardiente de la provincia de Pastaza. Proyecto de investigación previo a la obtención del título de ingeniera agroindustrial. Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra, Carrera De Ingeniería Agroindustrial.
- Reyes, A.; Pino, J.; Moreira, V. (2011). Aspectos generales para la elaboración de licor de limón. ICICA. Sobre los Derivados de Caña de Azúcar.
- Rodríguez Madrera R y Suárez Valles B. (2015). Manual de elaboración de aguardiente de sidra. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) Consejería de Agro ganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias. Editorial: Graficas Eujoa S.A. ISBN: 978-84-606-9367-3

- Segura, A.; Manríquez, A.; Santos, D.; Ambriz, E.; Casas, P.; Serafín M., A. H. (2020). Obtención de bioetanol a partir de residuos de cascara de piña (*Ananas comosus*). Jóvenes en la Ciencia. Revista de innovación en la ciencia. Vol. 8. 1-8. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3234>
- Tejada, L.; Quintana, J.; Pérez, J.; Young, H. (2011). Obtención de etanol a partir de residuos de poda, mediante hidrólisis ácida e hidrólisis enzimática. Rev. U.D.C.A. Act. E Div. Cient. 14(1): 111-116.
- Tirado, D. F.; González-Morelo, K. J. & Correa, D. A. (2017). Determinación de los niveles metanol, etanol y metales pesados en el ñeque elaborado en tres municipios de Sucre (Colombia). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 135-141.
- Tunqui Quispe, C.; Figueroa Dianderas, A.; Tejada Flores, G. y Cjuro Farfán, I. (2018). Evaluación de las características del destilado alcohólico de Anís verde (*Pimpinella anisum* L.) obtenido por destilación simple. Artículo. Revista de la Sociedad Química del Perú, vol.84 no.4 Lima oct./dic. 2018.
- Viñals-Verde, M.; Ramil-Mesa, M.; Bell-García, A.; Michelana-Álvarez, G. (2012). Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. ICIDCA, sobre derivados de la caña de azúcar. 46(1). 7 - 16.
- Yaguachi Cuenca, L. P. (2020). Obtención de licor de pechiche mediante extracción sólido - líquido. Trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación para la obtención del título de Ingeniería Química. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ingeniería Química, Carrera de Ingeniería Química.
- Yáñez Velázquez, D. A. (2020). Bebidas alcohólicas artesanales a base de frutos endémicos del estado de Chiapas. Tesis profesional que para obtener el título de licenciado en gastronomía. Universidad de Ciencias y Artes de Chipas. Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos.
- Zeta Tineo, D. (2018). Obtención y caracterización de licor a partir de la papaya (*Carica papaya* L.) y maracuyá (*Passiflora edulis form. Flavicarpa*). Tesis. Universidad Nacional de Piura, Facultad de Ingeniería Industrial, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial e Industrias Alimentarias.

Nanopartículas de óxido de cobre mejoran el rendimiento y la biosíntesis de compuestos bioactivos en sandía

¹Pérez García Salma Carina, ¹Vázquez Vázquez Cirilo, ²Gaucin-Delgado Jazmín M, ¹Orona Castillo Ignacio

¹Maestría en Agricultura Orgánica Sustentable. Facultad de Agricultura y Zootecnia (UJED)
Carretera Gómez Palacio - Tlahualilo Km. 32. Venecia, Gómez Palacio, Dgo. México.

²Doctorado en Agua y Suelo. Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Torreón.
Carretera Torreón-San Pedro km 7.5. Torreón, Coahuila, 27170, México

*Email: jazmontse@hotmail.com ; salma.perg@gmail.com

RESUMEN

El uso de nanopartículas metálicas mejora el contenido de compuestos bioactivos en alimentos de origen vegetal y en compuestos con beneficios para la salud humana. El objetivo de esta investigación fue determinar si la aplicación foliar de nanopartículas de cobre (NPs Cu) puede incrementar el contenido de compuestos bioactivos en frutos de sandía. Nuestro estudio consideró seis tratamientos con diferentes concentraciones de NPs Cu: (0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg L⁻¹). Se determinaron los efectos sobre la calidad nutracéutica y la actividad enzimática. La aspersión foliar de Cu NPs indujo un aumento en la biosíntesis de compuestos bioactivos, además de un aumento en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en frutos de sandía. Por lo tanto, con la aplicación de NPs de Cu se producen frutos de sandía de mejor calidad para la dieta humana debido a la mayor producción de compuestos bioactivos.

Palabras clave: Nanobiofortificación, antioxidantes, *Citrullus lanatus*

ABSTRACT

The use of metal nanoparticles improves the content of bioactive compounds in plant foods and compounds with benefits for human health. The objective of this research was to determine if the foliar application of copper nanoparticles (Cu NPs) can increase the content of bioactive compounds in watermelon fruits. Our study considered six treatments with different concentrations of Cu NPs: (0, 50, 100, 150, 200 and 250 mg L⁻¹). The effects on nutraceutical quality and enzymatic activity were determined. Foliar spraying of Cu NPs induced an increase in the biosynthesis of bioactive compounds, as well as an increase in the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) in watermelon fruits. Therefore, with the application of Cu NPs, watermelon fruits of better quality for human diet are produced due to the increased production of bioactive compounds.

Keywords: Nanobiofortification, antioxidants, *Citrullus lanatus*

INTRODUCCIÓN

Los nanomateriales como las NP de Cu son de suma importancia debido a su estabilidad con diversas funcionalidades y aplicaciones (Mali, Raj *et al.*, 2019), en ciencia como la energía, la medicina, la agricultura, la producción de alimentos, etc. Por poseer excelentes características fisicoquímicas, antimicrobianas y biológicas, ya que la nanopartículas interacciona conjuntamente con la célula viva a nivel molecular, confiriendo algunos impactos rentables al cultivo (Kumar, Muthukrishnan *et al.*, 2020), al incrementar su contenido en componentes bioquímicos y bioactivos, brindando tolerancia a varios factores bióticos y abióticos (Lopez-Lima *et al.*, 2020).

Una de las estrategias para aumentar el contenido de Cu en los alimentos es a través de la nanobiofortificación, que consiste en potencializar la bioactividad y contenido de Cu en las partes comestibles de las plantas (Hernández *et al.*, 2019). La fertilización química es la manera más práctica de introducir el Cu en la cadena alimenticia, la biofortificación se ha realizado con éxito en diferentes cultivos, aumentando el rendimiento, calidad y contenido de compuestos fitoquímicos (Hossain *et al.*, 2021).

Por otro lado, la sandía (*Citrullus lanatus*), es un cultivo de cucurbitáceas importante que se cultiva y se consume en todo el mundo por ser una fuente importante de bioactivos, incluidos los carotenos, compuestos fenólicos y vitaminas (Preciado *et al.*, 2019), estos compuestos son importantes para la salud humana, por lo tanto, estudios relacionados con el incremento de la productividad y compuestos fitoquímicos a través de la biofortificación es de interés mundial (Salas *et al.*, 2018). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la nanobiofortificación con NP Cu para mejorar los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la sandía.

JUSTIFICACIÓN

El uso de nanoproductos está innovando la agricultura al reducir el impacto ambiental y aumentar los compuestos bioactivos (Hernández-Hernández *et al.*, 2019). Entre los principales nanoproductos se encuentran las nanopartículas metálicas (NPs), que pueden inducir que las plantas toleren el estrés biótico o abiótico, favoreciendo un manejo más eficiente de los nutrientes, además que reduce los efectos indeseables de los métodos tradicionales de producción (Kranjc y Drobne,

2019), así mismo mejorara el contenido de compuestos bioactivos en alimentos de origen vegetal (Kumar *et al.*, 2020), que ayudan a prevenir enfermedades crónicas y degenerativas, generando efectos positivos que permitan promover y restaurar las funciones fisiológicas del organismo humano (Yusefi-Tanha *et al.*, 2020). En particular, las NP de cobre (Cu) han llamado la atención para fines agroalimentarios debido a sus diversas características y propiedades (Das Jana *et al.*, 2020).

Asimismo, una abundante aplicación de NPs metálicas en las plantas produce estrés y/o toxicidad, generando especies reactivas de oxígeno (ROS) y un trastorno del metabolismo celular, en este estado, las plantas aumentan el contenido de enzimas antioxidantes y componentes no enzimáticos para la actividad de protección celular (Khan *et al.*, 2020), entre ellos se encuentran: glutatión, vitamina C, carotenoides, ascorbato peroxidasa (APX), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), entre otros (Gabdhi y Shende, 2021).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de cultivo.

El estudio se llevó a cabo en la granja “El general”, ubicado en la localidad del 13 de marzo, Gómez Palacio, Dgo. a 25° 34' y 5'' N, longitud 103 ° 29' y 31'' W a 1200 msnm. Se utilizó semilla de sandía (Roja Variedad *Sangria Syngenta*).

Nanopartículas de Cobre (Cu-NP)

Las Cu-NPs se obtuvieron por donación del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Saltillo, Coahuila, México. El tamaño de las nanopartículas fue de 95 nm, morfología hemisférica, polvo negro-marrón de aspecto oscuro, con una pureza del 99,8% y se obtuvieron por síntesis verde.

Tratamientos y diseño experimental

Se empleó un diseño de bloques completos al azar, con tres repeticiones por tratamiento, aplicando seis dosis (0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg L⁻¹) de NP Cu (Hernández *et al.*, 2019). Los tratamientos con NP Cu se aplicaron cada 15 días con un total de 7 aplicaciones a través de pulverizaciones. Se determinó: rendimiento, y calidad nutracéutica del fruto.

Rendimiento. Para determinar el peso fresco (rendimiento del cultivo, g planta⁻¹), las sandías se cosecharon y pesaron en una balanza analítica (Ohaus Corporation, Pine Brook, NJ, EE. UU.).

Calidad nutracéutica del fruto

Obtención de extracto

Se mezclaron 2 g de muestra fresca en 10 ml de etanol al 80% en tubos de ensaye, los cuales fueron colocados en un agitador orbital (AAH3D1265U, OS-3000 Shaker) en la oscuridad durante 24 h a 20 rpm a temperatura ambiente. Posteriormente el sobrenadante fue extraído para las pruebas analíticas correspondientes.

El contenido fenólico total se analizó por el método de Folin-Ciocalteu modificado (Souza et al., 2014). Se tomaron 50 µL de extracto etanólico y se diluyeron en 3 mL de agua destilada y 250 µL de Folin-Ciocalteu (1N), se agitó y se dejó reaccionar por 3 min. Después se añadieron 750 µL de Na₂CO₃ (20%) y 950 µL de agua destilada. Por último, la muestra se dejó reposar por 2 h y se cuantificaron las muestras en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 760 nm. La solución estándar se preparó con ácido gálico.

Los flavonoides totales se analizaron por espectrofotometría (Salas-Pérez et al., 2018). Se utilizaron 250 µL de extracto etanólico y se mezclaron con 1.25 mL de agua destilada y 75 µL de NaNO₂ (5%), posteriormente se dejaron reposar por 5 min y se agregaron 150 µL de AlCl₃ (10%). A continuación, se añadieran 500 µL de NaOH (1 M) y 275 µL de agua destilada. Se agitaron para posteriormente cuantificarse en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 510 nm. La solución estándar se elaboró con quercetina disuelta en etanol absoluto ($y = 0.0122x - 0.0067$; $r^2 = 0.965$).

La capacidad antioxidante total, se determinó por el método DPPH + *in vitro* (Brand-Williams et al., 1995). Se elaboró una solución de DPPH⁺ (Aldrich) con etanol, a una concentración de 0.025 mg mL⁻¹. Posteriormente, Se añadieron 50 µL del extracto etanólico con 1.950 µL de solución DPPH⁺, transcurrido un tiempo de 30 min se analizaron las muestras en un espectrofotómetro UV-Vis (CGOLDENWALL, rango de longitud de onda a 340-1000 nm y un ancho de banda espectral: 5nm) a 517 nm.

Vitamina C en fruto, se determinó por el método de titulación (Padayatt et al., 2001). Se tomaron 10 g de muestra de fruto fresco para posteriormente triturarse con 10 mL de ácido clorhídrico al 2 %. Después se filtró y se aforó a 100 mL con agua destilada. Con una muestra de 10 mL del diluido, se tituló con 2,6 diclorofenolindofenol (1x10⁻³ N) y se determinó el contenido de vitamina C con la fórmula:

$$vit\ C = \frac{(\text{mL de 2.6 diclorofenolindofenol}) (0.088)(\text{volumen total})(100)}{(\text{volumen de la alicuota})(\text{peso de la muestra})}$$

Actividad enzimática

El superóxido dismutasa (SOD) (U mL⁻¹, donde U se define como la cantidad de enzima necesaria para exhibir 50% de dismutación del radical superóxido) se determinó mediante el kit SOD Cayman 706002®. Se añadió una mezcla de 20 µL de extracto, 200 µL del detector de radicales (sal de tetrazolio) y 20 µL de solución de xantina oxidasa en una microplaca. La microplaca se cubrió con una tapa transparente (kit), se colocó en agitación durante 10 s y luego se incubó a 26 °C durante 30 min. Por último, se midió la absorbancia a una longitud de 450 nm utilizando un lector de placas (BioTek, modelo ELx808, Winooski, VT, EE. UU.). El principio de la prueba se basó en el uso de una sal de tetrazolio para la detección de radicales superóxidos generados por la xantina oxidasa y la hipoxantina (Hernández-Hernández, 2019).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System Institute) versión 9.3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento. El uso foliar de Cu-NPs no afectó el rendimiento (Figura 1), sin embargo, el mayor peso del fruto se logró en las tratadas con la dosis de 250 mg mL⁻¹. La respuesta del cultivo a la aplicación de Cu-NPs depende de la concentración empleada (Rizwan et al., 2017); ya que a dosis bajas se ha demostrado que se promueve el rendimiento mientras que a dosis altas lo reducen por fitotoxicidad (Abreu-Naranjo et al., 2020), lo cual coincide con lo reportado por Olkhovych et al., (2016), al mencionar que a dosis altas de Cu-NPs se reduce el rendimiento de los cultivos, debido a que se incrementa la producción de radicales libres

provocando estrés oxidativo (Liu *et al.*, 2018), mientras que en bajas concentraciones se mejora el rendimiento, ya que previene la oxidación celular al aumentar la capacidad de las plantas para resistir el estrés oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno (Younes *et al.*, 2020).

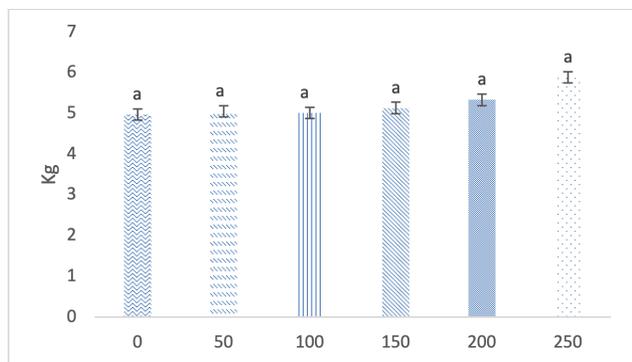


Figura 1. Componentes del rendimiento por efecto de las diferentes concentraciones de Cu-NPs aplicadas vía foliar. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) según la prueba de Tukey.

Calidad nutracéutica. La aplicación foliar de Cu-NPs transformó positivamente la biosíntesis de compuestos fitoquímicos como contenido fenólico total, flavonoides y actividad antioxidante (Cuadro 1), mostrando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) de acuerdo al ANOVA, obteniendo los valores más altos de estos metabolitos con la concentración de 250 mg mL⁻¹, superando al tratamiento testigo en 15.76% en fenoles, 12.96% flavonoides, y 14.79% para la capacidad antioxidante. Las NP pueden aumentar la supervivencia de las plantas cultivadas bajo estrés a través de muchos mecanismos, como mejorar el sistema de defensa antioxidante, promover la fotosíntesis, incrementar la absorción de agua, nutrientes y fitohormonas (Kohatsu *et al.*, 2021). Este tipo de respuesta depende de la dosis utilizada, ya que las Cu-NPs pueden provocar respuestas negativas a determinadas dosis, mientras que en otras pueden inducir el efecto contrario o simplemente no tener efecto (Hernández-Hernández *et al.*, 2019; Rizwan *et al.*, 2017). Los efectos beneficiosos de las Cu-NPs en los frutos de sandía pueden deberse a su modificación en el sistema de fotosíntesis de plantas con mayor tasa de transpiración y mayor conductancia estomática (Kranjc y Drobne, 2019; Rawat *et al.*, 2021). Los resultados indican que las Cu-NPs pueden ser utilizadas como un agente que incrementa estos compuestos bioactivos, lo que beneficia a la planta al participar como coenzima en sistemas enzimáticos involucrados en la formación (Shabbir *et al.*, 2020) y conversión de aminoácidos, como así como en la desintoxicación de radicales superóxido, además esto les permite formar lignina en las paredes

celulares (Abbasi-Parizad *et al.*, 2022), brindando soporte en posición vertical a las plantas, así mismo esto les permite interactuar en la formación de polen, semillas y resistencia al estrés (Sorani *et al.*, 2021).

Cuadro 1. Contenido de compuestos nutracéuticos por efecto de diferentes dosis de Cu-NPs aplicadas en sandía.

Tratamiento	Fenoles	Flavonoides	Antioxidantes	Vitamina C
mg mL ⁻¹	(mg GAE 100 g ⁻¹ PF)	(mg QE 100 g ⁻¹ PF)	(Mequiv TROLOX 100g ⁻¹ PF)	(mg 100 g ⁻¹ PF)
0	208.657 ^e	112.924 ^b	98.927 ^b	16.5627 ^a
50	213.975 ^d	118.575 ^{ab}	104.575 ^{ab}	16.9057 ^a
100	227.365 ^c	127.965 ^{ab}	109.965 ^{ab}	16.5427 ^a
150	232.660 ^b	122.994 ^{ab}	108.994 ^{ab}	16.7203 ^a
200	239.188 ^a	123.188 ^{ab}	109.188 ^{ab}	16.1327 ^a
250	241.559 ^a	127.559 ^a	113.559 ^a	17.4643 ^a

Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) según la prueba de Tukey.

El contenido de vitamina C en sandía no se vio afectado por las concentraciones de Cu-NP utilizadas; además de no mostrar diferencia estadística significativa entre los tratamientos. Sin embargo, la mayor concentración de vitamina C correspondió a aquellos frutos de sandía aplicadas con 250 mg L⁻¹ de Cu-NPs obteniendo 17.4643 mg 10 g⁻¹ PF, aumentando un 5.44% en comparación al testigo. Este estudio demostró que las NPs Cu aumentaron la cantidad de vitamina C en los frutos de sandía; debido a la estimulación de las NP en el aparato fotosintético al protegerlo de la alta radiación en los complejos de captación de luz (ciclo de la xantofila) (Mortezaei *et al.*, 2019). López-Vargas *et al.*, (2018) mostraron que aplicaciones de 250 mg L⁻¹ Cu-NPs aumentan el contenido de vitamina C coincidiendo con los datos obtenidos en este estudio, mientras que Bonilla-Bird *et al.*, (2020) afirman que el cobre participa en la activación de enzimas, en el proceso de fotosíntesis, respiración de las plantas y coadyuvante de estas en el metabolismo de carbohidratos y proteínas. La vitamina C es el antioxidante más abundante en las plantas y se emplea como cofactor de enzimas redox por su donación de electrones que participan en la reducción del estrés oxidativo en enfermedades humanas como el cáncer.

Actividad enzimática. Las Cu-NPs incrementaron la actividad enzimática (Figura. 2) en un 22.09% en superóxido dismutasa (SOD) en relación al testigo con la aplicación de 250 mg L⁻¹. El cobre actúa como centros catalíticos de proteínas en el metabolismo de las células vegetales (Rastogi *et al.*, 2017) y regula las actividades de enzimas como SOD, CAT, entre otras, que son importantes secuestradores de especies reactivas de oxígeno ya que forman la primera línea de defensa frente al estrés oxidativo (Rai *et al.*, 2018). En un estudio se demostró que las Cu-NP aumentan la actividad SOD en los frutos de sandía (Hernandez-Hernandez *et al.*,

2019). Además, las Cu-NP aumentan la actividad de enzimas antioxidantes como el ascorbato peroxidasa (APX), el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y el glutatión peroxidasa (GPX) (Hernández-Hernández et al., 2018; Kohatsu *et al.*, 2021), ya que estas enzimas reducen el estrés oxidativo (Sathiyabama y Manikandan, 2018).

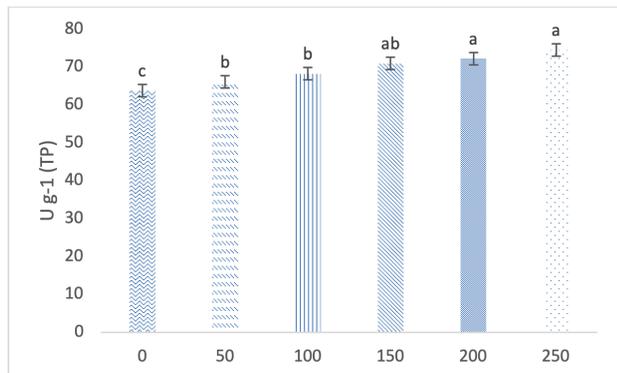


Figura 2. Contenido de superóxido dismutasa por efecto de diferentes dosis de Cu-NPs aplicadas en sandía. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) según la prueba de Tukey.

CONCLUSIÓN

El uso foliar de Cu-NPs en el cultivo de sandía mejoran la calidad nutracéutica y la capacidad antioxidante en los frutos, además producen un incremento en la actividad de la enzima (SOD). Por lo tanto, con la aplicación de Cu-NPs se obtienen frutos de sandía con una mejor calidad para la dieta humana debido al aumento de compuestos bioactivos.

REFERENCIAS

- Abbasi-Parizad, P., De Nisi, P., Sciarria, T. P., Scarafoni, A., Squillace, P., Adani, F., & Scaglia, B. (2022). Polyphenol bioactivity evolution during the spontaneous fermentation of vegetal by-products. *Food Chemistry*, 374, 131791.
- Abedin, M., Islam, MA, Rahman, FN, Reza, HM, Hossain, MZ, Hossain, MA, ... & Hossain, A. (2021). Voluntad de vacunar contra COVID-19 entre adultos de Bangladesh: comprensión de las estrategias para optimizar la cobertura de vacunación. *PLoS One*, 16 (4), e0250495.
- Abreu-Naranjo, R., Paredes-Moreta, JG, Granda-Albuja, G., Iturralde, G., González-Paramás, AM, & Alvarez-Suarez, JM (2020). Compuestos bioactivos, perfil fenólico, capacidad antioxidante y eficacia contra la peroxidación lipídica de las membranas celulares de extractos del fruto de *Mauritia flexuosa* L. de tres biomas de la Amazonía ecuatoriana. *Heliyon*, 6 (10), e05211.
- Balsano C, Porcu C, Sideri S (2018). Is copper a new target to counteract the progression of chronic diseases?. *Metallomics* 10:1712-1722.
- Bonilla-Bird N, Ye Y, Akter T, Valdes-Bracamontes C, Darrouzet-Nardi A, Saupe G, Flores-Marges J, Ma L, Hernandez-Viezcas J, Peralta-Videa J (2020). Effect of copper oxide nanoparticles on two varieties of sweetpotato plants. *Plant Physiology Biochemistry* 154:277-286.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science Technology* 28:25-30.
- Buendía-García A, Lozano-Cavazos CJ, Rodríguez-Ortiz JC, de Jesús Carballo-Méndez F, Moreno-Reséndez A, de los Ángeles Sariñana-Navarrete M, Preciado-Rangel P (2021). La biofortificación con selenio mejora la calidad nutracéutica y la capacidad antioxidante de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 8:e3104-e3112.
- Chaudhary RG, Bhusari GS, Tiple AD, Rai AR, Somkuvar SR, Potbhare AK, Lambat TL, Ingle PP, Abdala AAJ (2019). Metal/metal oxide nanoparticles: toxicity, applications, and future prospects. *Current Pharmaceutical Design* 25:4013-4029.
- Das Jana I, Kumbhakar P, Banerjee S, Gowda CC, Kedia N, Kuila SK, Banerjee S, Das NC, Das AK, Manna I (2020). Copper nanoparticle-graphene composite-based transparent surface coating with antiviral activity against influenza virus. *ACS Applied Nano Materials* 4:352-362.
- Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32:93-101.

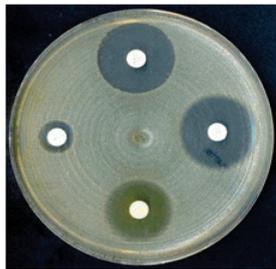
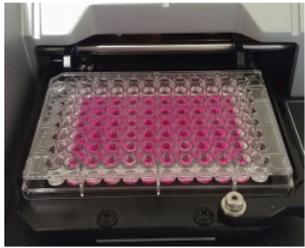
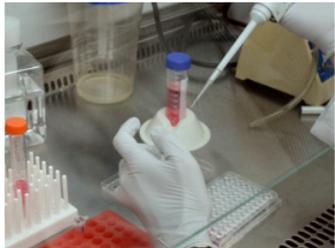
- Flohe L, Günzler W, Schock H (1973). Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Letters* 32:132-134.
- Gandhi, S. y Shende, P. (2021). Nanopartículas metálicas modificadas con ciclodextrinas para una terapia eficaz contra el cáncer. *Diario de Liberación Controlada* , 339 , 41-50.
- Giampietro R, Spinelli F, Contino M, Colabufo NA (2018). The pivotal role of copper in neurodegeneration: a new strategy for the therapy of neurodegenerative disorders. *Molecular Pharmaceutics* 15:808-820.
- Hasan M, Mehmood K, Mustafa G, Zafar A, Tariq T, Hassan SG, Loomba S, Zia M, Mazher A, Mahmood N (2021). Phytotoxic evaluation of phytosynthesized silver nanoparticles on lettuce. *Coatings* 11:225-236.
- Hernández-Hernández H, González-Morales S, Benavides-Mendoza A, Ortega-Ortiz H, Cadenas-Pliego G, Juárez-Maldonado A (2018). Effects of chitosan-PVA and Cu nanoparticles on the growth and antioxidant capacity of tomato under saline stress. *Molecules* 23:178-187.
- Hernández-Hernández H, Quiterio-Gutiérrez T, Cadenas-Pliego G, Ortega-Ortiz H, Hernández-Fuentes AD, Cabrera de la Fuente M, Valdés-Reyna J, Juárez-Maldonado A (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. *Plants* 8:355-366.
- Khan, SAR, Yu, Z., Belhadi, A. y Mardani, A. (2020). Investigar los efectos de las energías renovables en el comercio internacional y la calidad ambiental. *Revista de gestión ambiental* , 272 , 111089.
- Kohatsu, M. Y., Lange, C. N., Pelegrino, M. T., Pieretti, J. C., Tortella, G., Rubilar, O., ... & de Jesus, T. A. (2021). Foliar spraying of biogenic CuO nanoparticles protects the defence system and photosynthetic pigments of lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal of Cleaner Production*, 324, 129264.
- Kranjc, E. y Drobne, D. (2019). Nanomateriales en plantas: una revisión del peligro y aplicaciones en el sector agroalimentario. *Nanomateriales* , 9 (8), 1094.
- Kumar A, Pandey G. A review on the factors affecting the photocatalytic degradation of hazardous materials. *Material Science & Engineering International* 2017, 1, 1-10, doi:10.15406 / mseij.2017.01.00018
- Liu, F., Zhang, S., Li, J., McClements, DJ y Liu, X. (2018). Desarrollo reciente de vehículos a base de lactoferrina para la entrega de compuestos bioactivos: complejos, emulsiones y nanopartículas. *Tendencias en ciencia y tecnología de los alimentos* , 79 , 67-77.
- Lopez-Lima, D., Mtz-Enriquez, AI, Carrión, G., Basurto-Cereceda, S., & Pariona, N. (2021). El papel bifuncional de las nanopartículas de cobre en tomate: tratamiento eficaz para el marchitamiento por *Fusarium* y promotor del crecimiento vegetal. *Scientia Horticulturae* , 277 , 109810.
- López-Vargas, E. R., Ortega-Ortíz, H., Cadenas-Pliego, G., de Alba Romenus, K., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2018). Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes. *Applied Sciences*, 8(7), 1020.
- Malí, SC, Raj, S. y Trivedi, R. (2019). Biosíntesis de nanopartículas de óxido de cobre utilizando extracto de hoja de *Enicostemma axillare* (Lam.). *Informes de bioquímica y biofísica* , 20 , 100699.
- Mortezaee, K., Najafi, M., Samadian, H., Barabadi, H., Azarnezhad, A., & Ahmadi, A. (2019). Redox interactions and genotoxicity of metal-based nanoparticles: A comprehensive review. *Chemico-biological interactions*, 312, 108814.
- Olkhovych, O., Volkogon, M., Taran, N., Batsmanova, L. y Kravchenko, I. (2016). Efecto de nanopartículas de cobre y zinc sobre los parámetros de crecimiento, contenido de ácido ascórbico y composición cualitativa de aminoácidos y acilcarnitinas en *Pistia stratiotes* L.(Araceae). *Cartas de investigación a nanoescala* , 11 (1), 1-9
- Preciado-Rangel, P., Hernández-Montiel, LG, Valdez-Cepeda, RD, Cruz-Lázaro, EDL, Lara-Capistrán, L., Morales-Morales, B., & Gaucin-Delgado, JM (2021). La biofortificación con selenio aumenta los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en frutos de tomate. *Tierra Latinoamericana* , 39 .
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, HM, He, X., Mbarkhi, S. y Brestic, M. (2017). Impacto de las nanopartículas de metal y óxido de metal en la planta: una revisión crítica. *Fronteras en química* , 5 , 78.

- Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Adrees, M., Ibrahim, M., ... & Abbas, F. (2017). Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. *Journal of hazardous materials*, 322, 2-16.
- Salas-Lopez, F., Gutierrez-Dorado, R., Milan-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E., Canizalez-Roman, V., León-Sicairos, C. D., & Reyes-Moreno, C. (2018). Potencial nutricional y antioxidante de una leguminosa subutilizada del desierto: frijol tepary (*Phaseolus acutifolius*). Optimización del bioproceso de germinación. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 38, 254-262.
- Sathiyabama, M. y Manikandan, A. (2018). La aplicación de nanopartículas de cobre-quitosano estimula el crecimiento e induce resistencia en plantas de mijo africano (*Eleusine coracana* Gaertn.) contra la enfermedad del añublo. *Revista de química agrícola y alimentaria*, 66 (8), 1784-1790.
- Shabbir, U., Rubab, M., Tyagi, A. y Oh, D. H. (2020). La curcumina y sus derivados como agentes terapéuticos en la enfermedad de Alzheimer: la implicación de la nanotecnología. *Revista internacional de ciencias moleculares*, 22 (1), 196.
- Soran, M. L., Lung, I., Oprea, O., Culicov, O., Ciorîță, A., Stegarescu, A., ... & Borodi, G. (2021). El efecto de las nanopartículas de TiO₂ en la composición y ultraestructura del trigo. *Nanomateriales*, 11 (12), 3413.
- Younes, A., Li, M. y Karboune, S. (2022). Cáscaras de granos de cacao: una revisión del perfil químico, la bioactividad y la biotransformación para mejorar sus aplicaciones potenciales en los alimentos. *Reseñas críticas en ciencia de los alimentos y nutrición*, 1-25.4
- Yusefi-Tanha, E., Fallah, S., Rostamnejadi, A. y Pokhrel, L. R. (2020). Nanopartículas de óxido de zinc (ZnONP) como nanofertilizante novedoso: influencia en el rendimiento de la semilla y el sistema de defensa antioxidante en la soja cultivada en el suelo (*Glycine max* cv. Kowsar). *Ciencia del Medio Ambiente Total*

Cuerpo Académico UJED-CA-131 Farmacia y productos naturales

LGAC: Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los productos naturales

Evaluación y desarrollo de formas farmacéuticas de productos naturales

Nombre del proyecto	Investigador responsable	
Actividad biológica de extractos vegetales de especies del semidesierto	Dra. Concepción García Luján	
Patrones de resistencia a los antimicrobianos en cepas bacterianas y fúngicas de origen nosocomial		
Evaluación de la actividad cicatrizante y antioxidante del extracto etanólico de propóleo	Dr. Miguel Téllez López	
Evaluación de la actividad citotóxica de los extractos vegetales en líneas celulares	Dr. Joaquín Avalos Soto	 

QUÍMICA FARMACÉUTICA Y CLÍNICA

(Biotecnología, Toxicología, Farmacéutica, Clínica)



*“La integridad no tiene necesidad de reglas”
Albert Camus (1933-1960); novelista y dramaturgo francés,
premio Nobel de Literatura.*

Influencia de extracto de *Moringa oleifera* en la adherencia de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* a resinas para uso dental. Estudio *in vitro*.

Influence of *Moringa oleifera* extract on the adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* to dental resins. *In vitro* study.

¹Sustaita-Rangel, J.A., ¹Delgadillo-Delgadillo, Z., ¹Martínez-Martínez, M.A., ¹Pedroza-Escobar, D.,

¹Mora-Alva, B.E. & ^{1*}Hernández-Morales, C.

¹Facultad de Odontología. ² Facultad de Medicina, UAdeC. U.T. Av. Morelos 2845 ote., Centro Torreón C.P. 27000.

*Email: cehm@yahoo.com, Tel. 8711340476.

RESUMEN

Una de las principales razones para el reemplazo de la restauración de resina dental está relacionada con la caries secundaria promovida por la producción de ácido de bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans*, otros microorganismos pueden contribuir en su patogénesis como *Candida albicans* al formar biopelículas. Las hojas de *Moringa oleifera* (MO) muestran actividad antiinflamatoria y antibacteriana debido a que contienen flavonoides e isotiocianatos. Por lo que fue determinar la influencia de extracto de *Moringa oleifera* en la adherencia de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* a resinas de uso dental Smart y Coltene mediante un estudio analítico, *in vitro*. El extracto de hojas de MO se obtuvo por maceración utilizando alcohol etílico, se utilizaron las cepas de *Streptococcus mutans* (ATTC 25175) y *Candida albicans* (ATTC 18804), clohexidina como control positivo y solución salina sin extracto como control negativo. Para medir el efecto de inhibitorio de la adhesión a las resina Smart y Coltene se trabajó con el protocolo estándar de Burton y cols., (2007). El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico GraphPad Prism 8, usando ANOVA con post hoc de Dunett, la significancia estadística se tomó como $p \leq 0.05$.

Los resultados mostraron que las dos resinas estudiadas permiten la adherencia de *S. mutans* y *C. albicans* y la inhibición del biopelícula *S. mutans* + *C. albicans*, donde el porcentaje de adherencia es mayor en la resina Brilliant Coltene sin diferencia estadística significativa. El extracto de *Moringa oleifera* si tiene Influencia en la adherencia de *Streptococcus mutans* a resinas para uso dental. Solo se encontró diferencia estadística entre el control negativo y el % de inhibición a una concentración de MO de 2000 $\mu\text{g/ml}$ $p=0.0001$ por lo que la MO inhibió la adherencia de la biopelícula de *S. mutans* en las resinas de uso odontológico por lo que podría aumentar la duración de la restauración dental.

Palabras clave: *Moringa oleifera*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, Resinas dentales.

ABSTRACT

One of the main reasons for the replacement of dental resin restoration is related to secondary caries promoted by the acid production of cariogenic bacteria such as *Streptococcus mutans*, other microorganisms can contribute in its pathogenesis such as *Candida albicans* by forming biofilms. *Moringa oleifera* (MO) leaves show anti-inflammatory and antibacterial activity because they contain flavonoids and isothiocyanates. Therefore, the objective of this study was to determine the influence of *Moringa oleifera* extract on the adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* to Smart and Coltene dental resins by means of an analytical, *in vitro* study. MO leaf extract was obtained by maceration using ethyl alcohol, *Streptococcus mutans* (ATTC 25175) and *Candida albicans* (ATTC 18804), clohexidine as a positive control and saline without extract as a negative control. To measure the inhibitory effect of adherence to the Smart and Coltene resins, the standard protocol of Burton *et al.*, (2007) was used. Statistical analysis was performed in the GraphPad Prism 8 statistical package, using ANOVA with Dunett's post hoc, statistical significance was taken as $p \leq 0.05$.

The results showed that the two resins studied allow adherence of *S. mutans* and *C. albicans* and inhibition of *S. mutans*+*C. albicans* biofilm, where the percentage of adherence is higher in Brilliant Coltene resin with no significant statistical difference. *Moringa oleifera* extract does have an influence on the adherence of *Streptococcus mutans* to resins for dental use. Statistical difference was only found between the negative control and the % inhibition at a MO concentration of 2000 $\mu\text{g/ml}$ $p=0.0001$ so that the MO inhibited the adherence of the biofilm of *S. mutans* in the resins for dental use and could increase

the duration of the dental restoration.

Key words: *Moringa oleifera*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, Dental resins.

INTRODUCCIÓN

Moringa oleifera Lam (MO) es un árbol que se conoce como el árbol de baquetas que crece ampliamente en muchos países, las semillas, las hojas, el aceite, la savia, la corteza, las raíces y las flores se utilizan ampliamente en la medicina tradicional. Las hojas de MO contiene varios compuestos antioxidantes, flavonoides, fenoles, carotenoides, ácido ascórbico, entre otros; diversas preparaciones de MO se utilizan por su actividad antiinflamatoria, antihipertensiva, diurética, antimicrobiana y antioxidante (Stohs & Hartman, 2015).

Las biopelículas son comunidades microbianas organizadas estructuralmente que se adhieren a las superficies bióticas y abióticas. Aproximadamente, el 65% de todas las infecciones microbianas humanas involucran la formación de biopelículas, las cuales están formadas por hongos y bacterias lo que provoca que sean menos sensibles a los agentes antimicrobianos aumentando su virulencia (Atriwal y cols., 2021).

Estudios han demostrado el mecanismo de interacción entre bacterias y hongos, mediante el cual las exoenzimas (derivadas de *S. mutans*) como las glucosiltransferasas B (GtfB) producen glucanos extracelulares que en presencia de sacarosa promueven la posterior unión de *S. mutans* a *C. albicans*. *S. mutans* facilita la disolución del esmalte en la superficie del diente debido a sus características acidogénicas y acidúricas en un medio rico en carbohidratos (Kim y cols., 2021).

C. albicans ha sido estudiado en procesos de adhesión importante en la patogénesis de estomatitis protésica. Además, esta adherencia se ha visto influenciada por otros factores, tales como la rugosidad de la superficie, la biopelícula, la energía libre de la superficie y el tipo de material de restauración

Las resinas dentales son materiales sintéticos mezclados heterogéneamente formando un compuesto, que en odontología se utiliza para reparar piezas dentales dañadas ya sea por caries o traumatismos principalmente, aunque también para tratamientos puramente estéticos.

Las propiedades físicas, mecánicas, estéticas y el comportamiento clínico dependen de la estructura

del material, básicamente las resinas dentales están compuestas por tres materiales químicamente diferentes: la matriz orgánica o fase orgánica, una matriz inorgánica, material de relleno o fase dispersa y un órgano-silano o agente de unión entre la resina orgánica y el relleno cuya molécula posee grupos silánicos en un extremo (unión iónica con SiO₂) y grupos metacrilatos en el otro extremo (unión covalente con la resina) (Khoury, 2020).

Las resinas también parecen favorecer el crecimiento de bacterias cariogénicas en su superficie, lo que se ha asociado con propiedades superficiales específicas como liberación de componentes y falta de propiedades antibacterianas, Lo que puede atribuirse a los diferentes perfiles de riesgo de caries de los pacientes, o al procedimiento de colocación sensible a la técnica de las resinas compuestas (Nedeljkovic y cols., 2015).

Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la influencia del extracto de *Moringa oleifera* en la adherencia de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* a resinas para uso dental.

MATERIALES Y MÉTODO

Estudio experimental, analítico, trasversal e *in vitro*.

Recolección y extracción del *Moringa oleifera*

Las hojas frescas de MO fueron recolectadas en San Juan de Guadalupe, Dgo., y posteriormente identificadas en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango.

El material recolectado, se lavó con agua embotellada, posteriormente se pusieron en papel estroza a secar evitando la exposición directa a la luz. Una vez secas se pulverizaron y pesaron.

El extracto se obtuvo mediante maceración para lo cual se pesaron 200 gr de hojas de *Moringa oleifera* a los cuales se añadieron 1.8 lts de etanol al 96% por un periodo de 8 días, haciendo recambios del solvente cada 48 h. la solución resultante se filtró utilizando papel filtro Whatman #40, posteriormente concentró en un rotavapor a 60° hasta la evaporación del solvente, el residuo de llevó a desecación a 45° hasta la completa evaporación del solvente, obteniendo un extracto etanólico crudo. A partir del extracto seco se preparó a una concentración de 7mg/ml.

Microorganismos

Se utilizaron cepas de referencia de *Streptococcus mutans* (ATTC 25175) y *Candida albicans* (ATTC 18804).

C. albicans se cultivó por 18 h a 37°C en medio dextrosa saboraud, *S. mutans* se cultivó en caldo de infusión cerebro-corazón (BHI) suplementado con sacarosa al 5% durante 12 h a 37°C bajo una presión parcial de CO₂ al 5%. Las suspensiones de cada microorganismo se estandarizaron en solución salina al tubo 0.5 de la escala de McFarland correspondiente a una concentración de 1.5x10⁸ células/ml.

Preparación de Resinas: Spectra (Dentsply) y Brilliant (Coltene)

Se utilizaron Placas de poliestireno de 96 multipozos (Nunc™). En cada pocillo se colocaron 0.2 g de resina adhiriéndose a las paredes del pocillo, cada pocillo se polimerizó con luz LED según las especificaciones de cada fabricante, posteriormente se pulió con discos de hule.

Evaluación de la adherencia de *S. mutans* y *C. albicans* a resinas para uso dental

Formación de la biopelícula

Las placas de poliestireno de 96 multipozos de fondo plano (Nuc™) se sometieron a envejecimiento con solución salina durante 24 horas a 37° C en ambiente húmedo.

En seguida a cada pocillo se añadieron 100 µl de medio BHI estéril y 100 µl de microorganismo *S. mutans*, *C. albicans* y *S. mutans* + *C. albicans* previamente preparadas (cada microorganismo y los 2 microorganismos juntos se hicieron por duplicado)

Se procedió a añadir extracto etanólico de *Moringa oleifera* a concentraciones finales de 2000, 1500, 1000, 500 y 250 µg/ml, como control positivo se añadió digluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo cultivos sin extracto de MO, en su lugar se añadió solución salina. Las placas fueron incubadas durante 24 h a 37°C en medio húmedo.

Después de la incubación el medio y las células flotantes se eliminaron completamente usando una micropipeta. La biopelícula en el fondo de los pocillos se lavó con solución salina tres veces, la bacteria adherida se tiñó

con cristal violeta al 0.4% de (500 µl) durante 15 minutos a temperatura ambiente, se lavaron los pocillos 3 veces con solución salina para eliminar el colorante no unido.

El colorante cristal violeta retenido por el microorganismo se solubilizó en 500 µl de ácido acético al 33% y se transfirió a una placa de poliestireno de 96 pocillos para leer absorbancia a una longitud de onda de 620 nm en espectrofotómetro Dynatech. Los valores se expresaron como media de 2±DE (Burton y cols., 2007; Barbosa, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados demostraron que las dos resinas estudiadas permiten la adherencia de *S. mutans*, *C. albicans* y *S. mutans*-*C. albicans*.

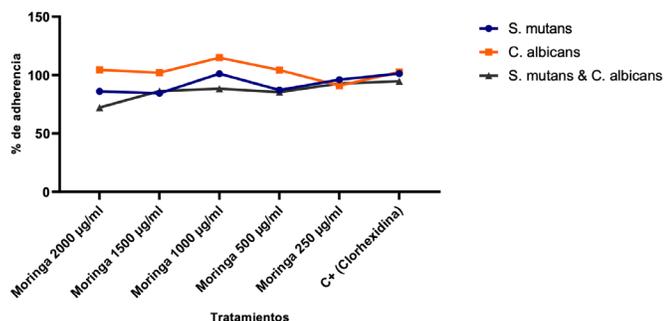
La capa más externa de la pared celular de *C. albicans* consta de un complejo de polisacáridos principalmente manáanos, glucáanos y quitina, además de proteínas y una proporción variable de lípidos, los cuales están involucrados en la adhesión (Pineda & Mosquera, 2017).

Pineda & Mosquera, (2017), mencionaron que *C. albicans* tiene gran capacidad de adherencia no solo a células del hospedero sino también a materiales inertes como la resina, resultados que concuerdan a este estudio.

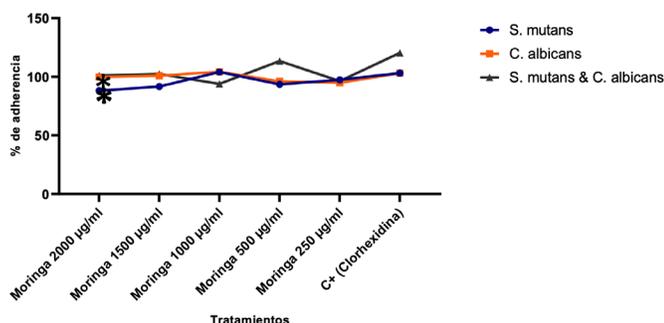
MO no inhibió la adherencia de *C. albicans* en las resinas Spectra ni Brilliant. La menor adherencia de *S. mutans* y *C. albicans* se observó en la resina Spectra a 2000 µg/ml, posiblemente por su composición, resultados que se muestran en la figura 1 y en las gráficas 1 y 2.

Extracto etanólico <i>Moringa oleifera</i> Concentración (µg/ml)	Porcentaje de adherencia a resina Spectra (Dentsply)			Porcentaje de adherencia a resina Brilliant (Coltene)		
	<i>S. mutans</i>			<i>S. mutans</i>		
	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>	+	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>	+
2000	86.105	104.41	72.24	88.2	137.99	107.06
1500	84.47	102.12	86.25	91.645	100.91	102.435
1000	101.20	114.935	88.35	104.025	104.29	93.99
500	87.165	104.3	85.38	93.55	96.1	113.485
250	95.1	84.97	92.83	97.385	56.905	96.315
Clorhexidina	101.25	102.69	94.62	103.22	103.11	146.41

Figura 1. Promedio de los porcentajes de adherencia de los microorganismos en las resinas Spectra y Brilliant en presencia del extracto de *Moringa oleifera*



Gráfica 1. Porcentaje de adherencia los microorganismos en la resina de uso dental Spectra expuestos a diferentes concentraciones de extracto de *Moringa oleifera*.



Gráfica 2. Porcentaje de adherencia los microorganismos en la resina de uso dental Brilliant expuestos a diferentes concentraciones de extracto de *Moringa oleifera*.

Los hallazgos de este estudio contrastan con Mahdi y cols., (2014) quienes informaron que los extractos etanol y acetona de hojas mostraron actividad antifúngica contra *C. albicans*. La diferencia podría atribuirse a la variación en el medio ambiente donde se recogió la planta, la estación y la etapa fisiológica de la planta cuando se recogieron las hojas.

Los resultados obtenidos mostraron que el extracto etanólico demostró actividad antibacteriana contra *S. mutans*, por el contrario no mostró actividad antifúngica contra *C. albicans*, resultados parecidos con estudios previos realizados por Elgamily y cols., (2016), quienes demostraron que el extracto de hoja etanólico no tiene efecto antifúngico contra *C. albicans*.

CONCLUSIÓN

Los resultados mostraron que las dos resinas estudiadas permiten la adherencia de *S. mutans* y *C. albicans* y la inhibición del biopelícula *S. mutans* + *C. albicans*, donde el porcentaje de adherencia es mayor en la resina Brilliant Coltene sin diferencia estadística significativa. El extracto de *Moringa oleifera* si tiene influencia en la adherencia de *Streptococcus mutans* a resinas para uso dental. Solo se encontró diferencia estadística entre el control negativo y el % de inhibición a una concentración de MO de 2000 µg/ml $p=0.0001$ por lo que la MO inhibió la adherencia de la biopelícula de *S. mutans* en las resinas de uso

odontológico por lo que podría aumentar la duración de la restauración dental.

Se requieren más estudios para determinar la concentración óptima para mayor inhibición de la adherencia a resinas dentales y la estabilidad física antes de su aplicación clínica.

REFERENCIAS

- Atriwal, T., Azeem, K., Husain, F. M., Hussain, A., Khan, M. N., Alajmi, M. F., & Abid, M. (2021). Mechanistic Understanding of *Candida albicans* Biofilm Formation and Approaches for Its Inhibition. *Frontiers in microbiology*, 12, 638609. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.638609>
- Barbosa, J. O., Rossoni, R. D., Vilela, S. F. G., de Alvarenga, J. A., Velloso, M. dos S., Prata, M. C. de A., ... Junqueira, J. C. (2016). *Streptococcus mutans* Can Modulate Biofilm Formation and Attenuate the Virulence of *Candida albicans*. *PLOS ONE*, 11(3), e0150457. doi:10.1371/journal.pone.0150457
- Burton, E., Yakandawala, N., LoVetri, K. & Madhyastha, M. (2007). A microplate spectrophotometric assay for bacterial biofilms. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 34:1-4 DOI: 10.1007/s10295-006-0086-3
- Elgamily, H., Moussa, A., Elboraey, A., El-Sayed, H., Al-Moghazy, M., & Abdalla, A. (2016). Microbiological Assessment of *Moringa Oleifera* Extracts and Its Incorporation in Novel Dental Remedies against Some Oral Pathogens. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 4(4), 585-590. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.132>
- Kim, H. E., Liu, Y., Dhall, A., Bawazir, M., Koo, H., & Hwang, G. (2021). Synergism of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* Reinforces Biofilm Maturation and Acidogenicity in Saliva: An *In Vitro* Study. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 623980. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.623980>
- Khoury, ZH, Vila, T., Puthran, TR, Sultan, AS, Montelongo-Jauregui, D., Melo, M. y Jabra-Rizk, MA (2020). El papel de los polisacáridos secretados por *Candida albicans* en el aumento de la adherencia de *Streptococcus mutans* y la formación de biopelículas mixtas: estudios in vitro e in vivo . *Fronteras en microbiología* , 11 , 307. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00307>

- Mahdi Lika, Ali Shafiq S., Kadhem A. G., Muslem S. N. (2014) Effect of plant extracted moringa oleifera lam.on some isolated pathogens from mouth and teeth. *World Journal of Pharmaceutical Research* Volume 3, Issue 10, 17-22.
- Pineda SE, Mosquera J. (2017)Adherencia de Candida albicans a resinas acrílicas y poliamidas. Estudio in vitro. *Revista Biosalud* 2017; 16 (1): 43-50 DOI: 10.17151/biosa..16.1.6
- Nedeljkovic, I., Teughels, W., De Munck, J., Van Meerbeek, B., & Van Landuyt, K. L. (2015). Is secondary caries with composites a material-based problem?. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, 31(11), e247–e277. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.09.001>
- Stohs, S. J., & Hartman, M. J. (2015). Review of the Safety and Efficacy of Moringa oleifera. *Phytotherapy research : PTR*, 29(6), 796–804. <https://doi.org/10.1002/ptr.5325>

Cuerpo académico UJED-CA-137 Patologías de origen ambiental

LGAC: Alteraciones bioquímicas y moleculares asociadas a enfermedades de origen ambiental

Nombre proyecto	Investigador responsable	
Identificación de biomarcadores pronóstico en pacientes diagnosticados con COVID-19, su asociación con el estado general de salud y su calidad de vida postinfección en población de la Comarca Lagunera de Durango	<p data-bbox="1149 674 1263 695">Polimorfismo</p>  <p data-bbox="1149 856 1421 890"> ■ Susceptibilidad a enfermedad ▲ Protección a enfermedad ● Resistencia a fármaco ★ Metabolizador lento </p>	
Estudios de los efectos adversos causados por la exposición a nitratos en mujeres embarazadas		
Contaminantes asociados al síndrome de ovario poliquístico	<p data-bbox="792 877 1003 940">Dra. Rebeca Pérez Morales</p> 	
Alteraciones de la glándula tiroides y determinación de oncogenes por consumo de agua contaminada por nitratos		
Toxicología, farmacología y ambiente asociado a la salud infantil	<p data-bbox="764 1255 1031 1318">Dra. Esperanza Yasmín Calleros Rincón</p>  <p data-bbox="764 1461 1031 1524">Dr. Edgar Héctor Olivas Calderón</p>	

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PERFIL DE INGRESO

Conocimientos generales de: Química, Física, Matemáticas y Biología

Ser creativo y observador, tener capacidad de síntesis y análisis crítico

Tener espíritu emprendedor, una actividad proactiva y capacidad para trabajar en equipo.

PERFIL DE EGRESO

- Resuelve problemas en las áreas de biotecnología, ciencias de los alimentos, diagnóstico clínico, ambiental y farmacéutico
- Se dedica a la producción de bienes y servicios en las áreas relacionadas con la salud, química-farmacéutica, legal, patología, forense, diagnóstico clínico, etc.
- Se desarrolla con ética y responsabilidad la innovación de productos farmacéuticos con el propósito de mejorar la calidad de vida del paciente.



CIENCIAS BIOMÉDICAS

(Salud, Epidemiología, Nutrición)



“Espera mil años y verás que se vuelve preciosa hasta la basura dejada atrás por una civilización extinta”

Isaac Asimov (1920-1992); escritor estadounidense.

Diagnóstico molecular de SARS – CoV – 2 por RT – qPCR y la variabilidad genética del gen N en muestras nasofaríngeas de población de la Comarca Lagunera, México.

¹Pérez-Morales Rebeca, ¹González-Delgado María Fernanda, ¹Ríos Sánchez Efraín, ²Alba Romero José de Jesús, ³Ruíz-Reyes Yoselyn, ¹Sánchez-Rojas Irlanda Mel B, ¹Calleros Rincón Esperanza Yasmín, ¹Olivas Calderón Edgar Héctor, ³González-Zamora Alberto.

¹Laboratorio de Biología Celular y Molecular. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Gómez Palacio, Durango., México.

²Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Gómez Palacio, Durango., México.

³Laboratorio de Biología Evolutiva. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Gómez Palacio, Durango. México.

*E-mail: rebecapms@ujed.mx

RESUMEN

La enfermedad COVID-19 es causada por el virus SARS-CoV-2 que se propagó rápidamente por todo el mundo debido a su alta tasa de transmisión y mutación. La técnica RT – qPCR es el estándar para detectar la presencia del virus SARS-CoV-2 en cualquier tipo de muestra, sin embargo, existen factores como la variabilidad en los blancos moleculares que pueden afectar la sensibilidad de la prueba diagnóstica. En este trabajo se analizaron 128 muestras de las cuales 62 fueron diagnosticadas como positivas a SARS-CoV-2 con distintos valores de Ct, se confirmaron los resultados por PCR anidada y por secuenciación en 14 muestras. Se encontró una concordancia del 93% en el diagnóstico molecular y el 91 % de los resultados fueron replicados en un segundo ensayo de RT-qPCR; mientras que en la validación por PCR anidada se encontró una coincidencia del 97%, ya que se amplificó al menos 1 de los marcadores N1, N2 y N3. Los resultados positivos fueron confirmados por secuenciación donde se observaron algunas variaciones, entre las que destacan mutaciones puntuales, deleciones puntuales de T y A. Aunque no se pudo secuenciar el gen completo y mapear todas las mutaciones, se logró obtener un alto porcentaje amplicones de bajo peso molecular, lo que sugiere que las secuencias blanco siguen siendo reconocidas por los oligonucleótidos y las sondas. Con lo anterior se concluye el método diagnóstico es capaz de reconocer las variantes genéticas circulantes del virus debido a la conservación del reconocimiento de los blancos moleculares.

Palabras clave: SARS-CoV-2, variabilidad genética, RT – qPCR, diagnóstico molecular.

ABSTRACT

The COVID-19 disease is caused by the SARS-CoV-2 virus that spread rapidly throughout the world due to its high rate of transmission and mutation. The RT – qPCR technique is the gold standard to detect the presence of the SARS-CoV-2 virus in any type of sample, however, there are factors such as variability in molecular targets that can affect the sensitivity of the diagnostic test. In this work, 128 samples were analyzed of which 62 were diagnosed as positive for SARS-CoV-2, with different Ct values, the results were confirmed by nested PCR and by sequencing in 14 samples. A 93% concordance was found in the molecular diagnosis and 91% of the results were replicated in a second RT-qPCR assay; while in the validation by nested PCR a coincidence of 97% was found, since at least 1 of the markers N1, N2 and N3 was amplified. The positive results were confirmed by sequencing where some variations were observed, among which point mutations, point deletions of T and A, and double deletions of T. Although it was not possible to sequence the complete gene and map all the mutations, it was possible to obtain a high percentage of amplicons of low molecular weight, suggesting that target sequences are still recognized by oligonucleotides and probes. With the above, it is concluded that the diagnostic method is capable of recognizing the circulating genetic variants of the virus due to the conservation of the recognition of molecular targets.

Keywords: SARS-CoV-2, genetic variability; RT – qPCR, molecular diagnostic.

INTRODUCCIÓN

El SARS-CoV-2 es un virus con genoma de RNA con polaridad positiva, que se identificó a finales del 2019 y se extendió rápidamente en todo el mundo debido a su alta transmisibilidad; el primer brote se detectó en Wuhan, China en diciembre de 2019 y el 30 de enero de 2020 la Organización Mundial de la Salud (<https://www.who.int/es/health-topics/coronavirus>) declaró la existencia del COVID-19 como una enfermedad infecciosa causada por el virus SARS-CoV-2. El 28 de febrero de 2020 se presentó el primer caso confirmado en México, iniciando su propagación en el territorio nacional; mientras que en Durango el primer caso fue confirmado el 12 de marzo del 2020. Según el último reporte de la Secretaría de Salud de Durango hasta el 30 de septiembre del 2022 se reportaron en el estado 79311 casos positivos, de los cuales 14975 corresponden a Gómez Palacio (<http://covid.durango.gob.mx/>).

Alrededor del 85% de los pacientes con COVID-19 desarrollan síntomas leves, con o sin neumonía; mientras que el 15% puede desarrollar síntomas moderados, graves o muy graves que alcanzan estado crítico donde la principal causa de mortalidad es la insuficiencia respiratoria (53%) y el daño al miocárdico con insuficiencia cardíaca (7%), la mortalidad por ambas complicaciones a nivel mundial es del 33% (1) y la mortalidad general a nivel global es del 6.6% (2).

México se encuentra entre los países con mayor mortalidad por COVID-19, según datos reportados al 30 de septiembre de 2022 el número de casos fue de 7.09 M y el número de defunciones de 330 k, (<https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>), también se ha observado un exceso de mortalidad, por todas las causas, del 8.3% en México y del 6.7% en Durango durante el desarrollo de la pandemia, lo cual se puede deber a los retos que ha significado la atención sanitaria en el país y los estados, las comorbilidades de la población y el estado socioeconómico que afecta la atención a la salud (3).

La pandemia ha causado numerosas muertes y un gran impacto en la economía mundial debido a las medidas implementadas para disminuir el contagio y la mortalidad, sin embargo, la alta tasa de mutación del SARS-CoV-2 ha generado variantes genéticas que causan incertidumbre sobre los efectos que podría tener en el desarrollo de la pandemia, por lo que el diagnóstico eficaz y oportuno es una prioridad (4).

El diagnóstico del SARS-CoV-2 se realiza utilizando diferentes tipos de muestras que incluyen orina, heces, plasma, saliva, aunque las muestras más utilizadas son las nasales y de mucosa oral. Existen distintas pruebas de laboratorio para la identificación, entre ellas la detección de antígenos virales presentes en la partícula viral, por lo que detecta la presencia del virus en ese momento; otra técnica analiza la presencia de anticuerpos contra el virus SARS-CoV-2 en el plasma o suero de los pacientes que tuvieron una respuesta inmune ante la infección, una desventaja de este método es que los anticuerpos se sintetizan semanas después de contraer la infección, por lo que este método no es recomendable para diagnosticar la presencia del virus en la fase aguda de la infección (5).

Por otro lado, la detección del genoma viral por amplificación de ácidos nucleicos se puede realizar en cualquier fase de la infección y con una alta sensibilidad, actualmente el estándar de oro para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 es el método basado en la técnica transcripción reversa - reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT - qPCR), el cual permite la detección de secuencias específicas del RNA viral. Primero se realiza la transcripción reversa para generar DNA complementario (cDNA) y posteriormente se amplifica una secuencia específica del virus que es detectada por la fluorescencia de una sonda de hidrolisis marcada, los oligonucleótidos y las sondas marcadas se diseñan de acuerdo con las secuencias específicas del genoma del virus; los blancos moleculares más utilizados para el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2 son los genes E, RdRp, Orf1ab, S y el gen N, los kits de diagnóstico pueden contener 1 o 2 blancos moleculares (6).

Para el diagnóstico de SARS-CoV-2 se deben seguir los protocolos diseñados y validados para su uso en la emergencia sanitaria; uno de ellos fue diseñado por el CDC (Center for Disease Control and Prevention, USA), el cual está basado en la secuencia del gen de la nucleocápside (N) del virus. Se sintetizaron tres pares de oligonucleótidos que amplifican las regiones denominadas N1, N2 (específicas de SARS-CoV-2) y N3 (que detecta otros coronavirus); además de 3 sondas marcadas con el fluoróforo FAM para detectar la amplificación en tiempo real. Adicionalmente se incluyó el gen de la RNasa P humana (RP) como un control interno que analiza la calidad de la muestra tomada (7). Actualmente este método está ampliamente validado y es reconocido por la OMS y el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos de México (InDRE), para

realizar la detección de SARS-CoV-2 y el diagnóstico de la COVID-19.

Como ocurre con otras pruebas diagnósticas existe el riesgo de obtener resultados falsos negativos y falsos positivos, en algunas ocasiones los resultados son inciertos y se pueden deber a una mala implementación de los protocolos, o una inadecuada interpretación de resultados por parte del personal técnico (8). Se estima que el período de incubación del virus es de 5 días, por lo que los falsos negativos son comunes dentro de los 7 días posteriores al contagio, también pueden producirse resultados falsos negativos por mutaciones en el genoma del SARS-CoV-2 que afectan las regiones de reconocimiento del oligonucleótido y de la sonda (9). La mayoría de los casos falsos negativos ocurren en pacientes asintomáticos o levemente sintomáticos que presentan una baja carga viral debido al inicio de la infección viral o por la acción del sistema inmune que controla la replicación del virus; en ambos casos hay una baja carga viral que afecta la sensibilidad analítica de la RT - qPCR (10).

El SARS-CoV-2 ha demostrado gran transmisibilidad entre personas, la principal vía de transmisión es el contacto cercano a través de gotas respiratorias con diámetros que van de 5 - 10 μm , las gotas son dispersadas por la tos y los estornudos de personas contagiadas; también se ha identificado la transmisión por fómites en el entorno inmediato de una persona infectada, por lo que el contagio puede ser por contacto directo con las secreciones de una persona infectada y de forma indirecta por contacto con superficies que contienen el virus (11). La rápida diseminación del virus y su alta tasa de infección llevó a una investigación exhaustiva para encontrar mejores herramientas diagnósticas que permitan identificar portadores asintomáticos y evitar que sigan distribuyendo el virus; por lo anterior es necesario ampliar y actualizar el conocimiento que nos permita entender los aspectos biológicos y epidemiológicos de estas variaciones en el virus, así como el impacto en su detección a través de métodos diagnósticos para evitar la propagación.

El virus SARS-CoV-2 tiene una alta tasa de mutación, lo que ha dado lugar a una amplia variación genética en las poblaciones virales, por lo que las pruebas diagnósticas pueden disminuir su sensibilidad aumentando la incidencia de falsos negativos debido a la pérdida del reconocimiento del blanco molecular, o afectando el comportamiento de las curvas de amplificación lo que

supone un reto en la interpretación de resultados, por lo que es necesario realizar un monitoreo continuo de la especificidad y sensibilidad de las pruebas diagnósticas disponibles y que son utilizadas en los laboratorios que apoyan la vigilancia epidemiológica en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de muestras positivas a SARS-CoV-2

Se incluyeron 128 muestras nasofaríngeas conservadas en medio de transporte viral (Solución de Hanks) que fueron procesadas en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular (LBCM) de la Facultad de Ciencias Químicas campus Gómez Palacio, adscrita a la Universidad Juárez del Estado de Durango (FCQ-GP, UJED). El estudio fue aprobado por el Comité de ética de la FCQ-GP, UJED con el registro R-2021-123301538X0201-04 y el LBCM está avalado por el InDRE con el folio 05290, por lo que cuenta con todos los permisos y experiencia para el manejo técnico y manipulación del microorganismo.

Extracción de RNA viral

El manejo de las muestras se realizó con base en los lineamientos del InDRE y la CDC, utilizando el equipo de protección personal que consistió en cubrebocas quirúrgico triple capa, respirador N95, protección ocular, gorro desechable, overol de bioseguridad y doble guantes de nitrilo. Las muestras seleccionadas fueron almacenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su conservación a largo plazo, debido a que son consideradas de alto potencial infeccioso poseen triple embalaje. La extracción de RNA viral se realizó con el kit Quick-RNA™ Viral R1035 (Qiagen) a partir de 200 μl de muestra de exudado nasofaríngeo en medio de transporte viral, siguiendo las instrucciones de fabricante. Una vez extraído el RNA fue almacenado a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de proceder a la RT - qPCR y a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ si el almacenaje fue por un tiempo mayor para la síntesis de cDNA. El ensayo RT - qPCR se llevó a cabo con el kit CDC-2019 (Integrated DNA Technologies, IDT, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Transcripción reversa

Se sintetizó el cDNA a partir de $\sim 1\text{ }\mu\text{g}$ del RNA extraído, utilizando la enzima transcriptasa reversa M-MLV (Promega) y oligo dT (Promega), siguiendo las recomendaciones del fabricante. La cuantificación de RNA y cDNA se realizó por espectrofotometría en un Nanodrop 2000 (Thermo Fisher®).

PCR punto final del gen N

El cDNA sintetizado fue utilizado como templado para amplificar los 1260 pb del gen N completo con los oligonucleótidos SC2F 5' ATGTCTGATAATGGACCCCAA 3' y SC2R 5' TTAGGCCTGAGTTGAGTCAGC 3', con los oligonucleótidos SC2F y N1R 5' TCTGGTACTGCCAGTTGAATCTG 3' se obtuvo un amplicón de 85 pb, con los oligonucleótidos N2F 5' TTACAAACATTGGCCGCAAA 3' y SC2R un amplicón de 370 pb; finalmente con los oligonucleótidos N3F 5' GGGAGCCTTGAATACACCAAAA 3' y N3R 5' TGTAGCACGATTGCAGCATTG 3' un amplicón de 72 pb. Para la amplificación del gen N completo se realizó un ciclo de 10 min a 95 ° C para la desnaturalización inicial, seguido de 40 ciclos a 30 s a 95 ° C, 30 s a 58 ° C, 60 s a 72 ° C, finalizando con un ciclo de 5 min a 72 ° C. Para los fragmentos N1, N2 y N3 se realizó un ciclo de 10 min, 95 ° C para la desnaturalización inicial, seguido de 40 ciclos de 20 s a 95 ° C, 20 s a 59 ° C, 20 s a 72 ° C, finalizando con un ciclo de 5 min a 72 ° C. Los productos de amplificación fueron visualizados en gel de agarosa al 1.5 - 2 %, teñido con Gel Red® (Promega) y visualizado bajo luz UV en un fotodocumentador MiniBis® (DNR).

Secuenciación del gen N

Una vez confirmada la amplificación de los fragmentos esperados se purificaron las muestras con el kit de purificación de PCR (BS364 Biobasic®), se emplearon 20 µl de la muestra de PCR a una concentración de 50 ng/µl. Las muestras fueron enviadas a la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología de la UNAM, los resultados de la secuenciación fueron analizados en el programa BioEdit 7.2 para la visualización y edición de los electroferogramas.

Análisis de las secuencias y similitud

Se realizó un alineamiento BLAST para confirmar la identidad de las secuencias obtenidas y se utilizaron las referencias GenBank MW307301.1, MN908947, OU806235.1, OK435285, OK546752 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>) para el alineamiento y la comparación de secuencias que fue realizada con el programa Mega V10.2.1 (12).

RESULTADOS

Los resultados de la técnica RT - qPCR mostraron la característica curva sigmoidal en el marcador RP (control endógeno) de todas las muestras analizadas, en las curvas de los marcadores N1 y N2 del genoma viral

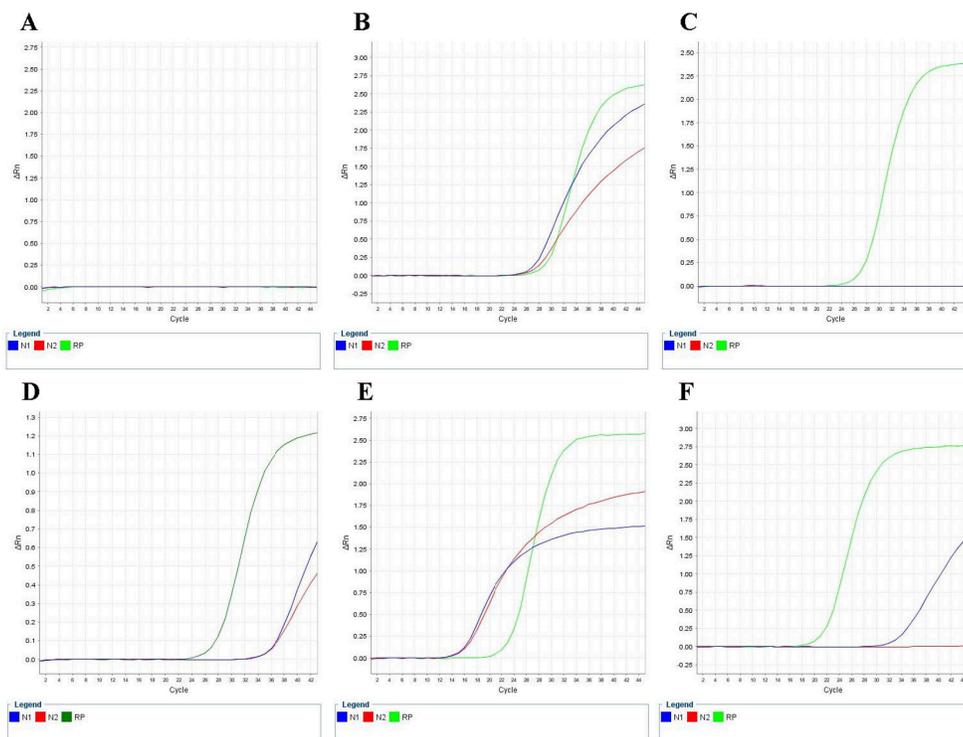


Figura 1. Curvas de amplificación de la RT - qPCR. A) Control negativo, B) Control positivo, C) Muestra negativa, D) Muestra positiva Ct = 36, E) Muestra positiva Ct = 16, F) Muestra inconsistente.

algunas presentaron el patrón esperado y en otros casos solo se amplificaba uno de los marcadores (Figura 1). Se realizó el diagnóstico por medio de dos interpretaciones independientes de personal técnico altamente calificado, tomando en cuenta las curvas de amplificación de los marcadores endógenos y virales. Se encontró que 60 muestras fueron clasificadas como negativas, 60 como positivas y hubo 8 muestras con inconsistencias, el análisis de concordancia fue del 93% y el índice Kappa fue de 0.73.

Las muestras clasificadas como positivas a SARS-CoV-2 presentaron valores de Ct entre 7 y 36, las inconsistentes solo amplificaron un marcador o ambos en Ct 37 - 39; algunas muestras tenían alrededor de 6 meses almacenadas por lo que se realizó una segunda extracción de RNA para verificar el resultado obtenido en el primer ensayo de RT - qPCR y para obtener el RNA necesario para la síntesis de cDNA. En el segundo ensayo se encontró que el 91.17 % de los casos fue replicado como positivo; mientras que el 8.83 % mostró un resultado inconsistente que solo amplificó un marcador (N1 o N2) con Ct entre 28 - 39. En el caso de algunas muestras sintomáticas, negativas a SARS-CoV-2, se confirmó la presencia de influenza por medio de RT - qPCR y se incluyeron como control negativo para la PCR anidada de SARS-CoV-2.

Se extrajo RNA de las 68 muestras clasificadas como positivas e inconsistentes y 12 negativas para incluirlas como controles en la PCR anidada. Todos los RNA extraídos se cuantificaron para proceder a la síntesis de cDNA, se obtuvo una concentración promedio de RNA de 43.51 ± 8.82 ng/ μ l, el promedio de RNA total fue de 870.27 ± 176.47 y la pureza determinada por la relación de las absorbancias 260/280 fue de 3.03 ± 0.23 . En la síntesis de cDNA se obtuvo una concentración promedio de 2191.60 ± 764.91 ng/ μ l, el promedio de cDNA total fue 43832.17 ± 15298.38 y la pureza fue de 1.84 ± 0.03 . El cDNA sintetizado fue utilizado como templado para amplificar el gen N viral y sus fragmentos denominados N1, N2 y N3 (Figura 2).

En la amplificación de los 1260 pb que corresponden al gen completo solo amplificaron 7 muestras, lo que corresponde al 10.29 %; en el caso de los marcadores que amplifican los fragmentos de menor peso molecular se encontró que el 95.58 % fue positivo para N1, el 86.76 % para N2 y el 91.17 % para N3 y solo dos muestras inconsistentes no amplificaron ningún fragmento. Se seleccionaron 14 muestras para realizar la secuenciación, entre éstas 4 que amplificaron los 1260 pb del gen N y 10 muestras que amplificaron 370 pb que contienen el fragmento N2. Las secuencias recuperadas fueron de distintas longitudes donde se obtuvieron 550 nucleótidos

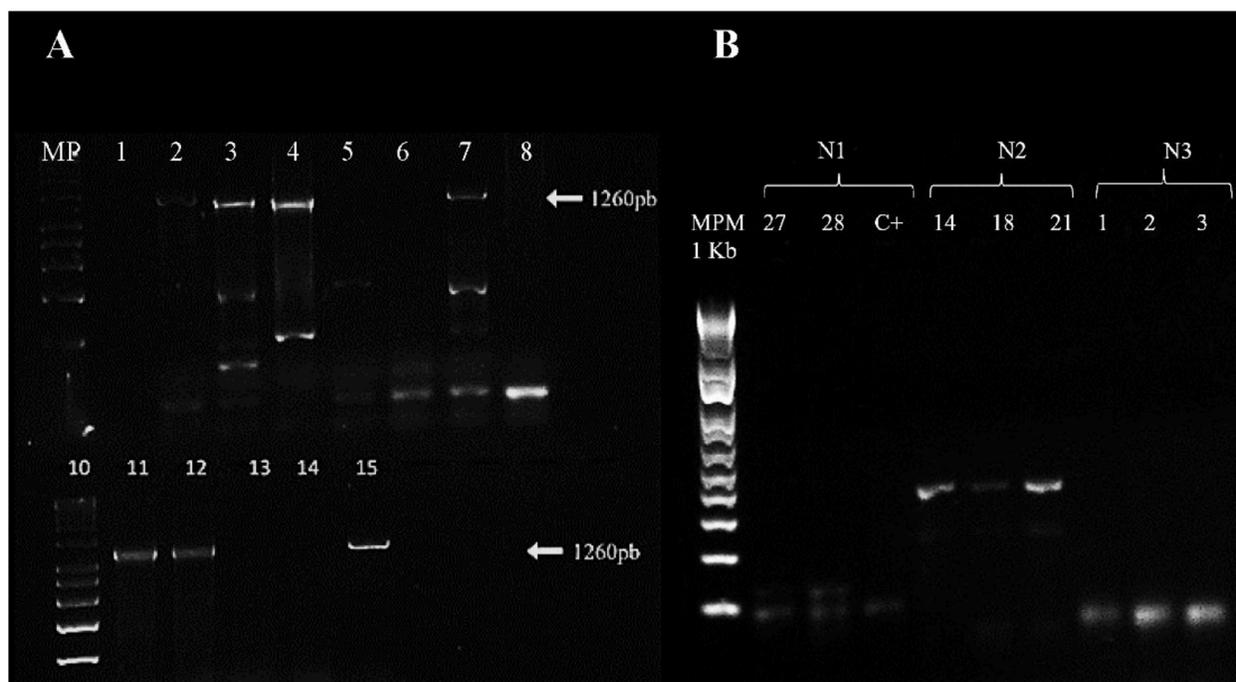


Figura 2. Productos de amplificación de la PCR anidada del gen N de SARS-CoV-2. A) Gen completo 1260 pb. Se muestra un gel doble con las muestras del 1 al 15, donde 3, 4, 7, 11, 12 y 15 amplificaron el gen completo. B) Fragmentos del gen N (N1 = 85 pb, N2 = 370 pb, N3 = 72 pb). En los carriles se indica el número de muestra amplificada.

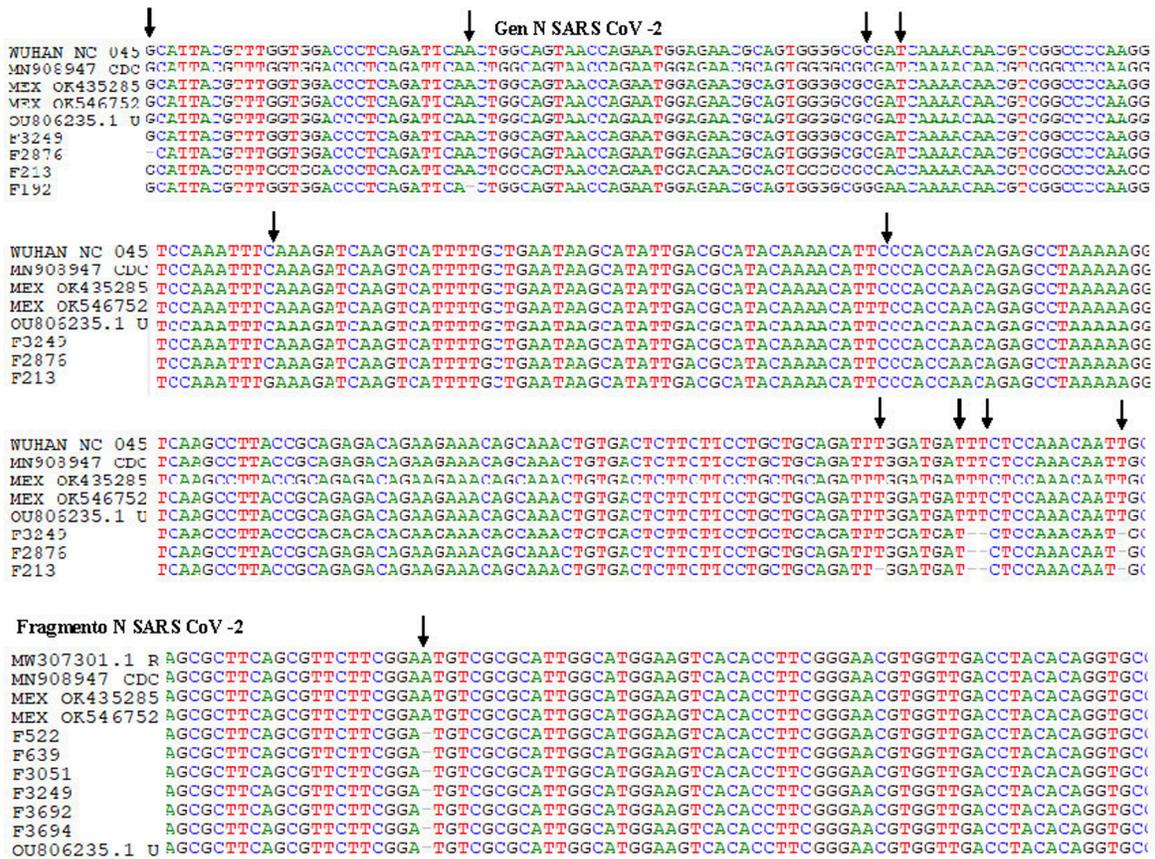


Figura 3. Secuencias recuperadas del gen N de SARS-CoV-2. Las flechas indican los cambios de interés.

de los 1260 del gen N completo y 334 nucleótidos de los 370 que representan la región N2; aunque no se logró una secuenciación completa se recuperó una porción representativa del genoma de SARS-CoV-2 que fue del 39.28% para el gen completo y del 90% para la región N2 (370 pb).

En el alineamiento se utilizaron secuencias de referencia incluyendo la primera secuencia de Wuhan, la secuencia usada por el CDC para diseñar en método diagnóstico y otras secuencias de interés, entre ellas una procedente de Reino Unido y dos secuencias de SARS-CoV-2 de México. Se observó que el cambio más común fue en la Timina, se encontraron deleciones en las posiciones 29470, 29480, 29481 y 29493 en distintas muestras; también se encontraron las transiciones T > C en la posición 28382 y C > T en 29218; además de tres transversiones T > A en la posición 28382, C > G en 29311 y 29472. Finalmente, se encontró una deleción de A en la posición 29101 en 7 de las muestras analizadas, esta deleción también fue encontrada en la secuencia GenBank: OU8062235.1 depositada por el Reino Unido (Figura 3).

DISCUSIÓN

Desde el comienzo de la pandemia COVID-19 las pruebas RT - qPCR han desempeñado un papel fundamental para detectar el SARS-CoV-2 y disminuir la propagación del virus (13). Existen varias pruebas diagnósticas disponibles con diferentes sensibilidades, la mayoría fueron diseñadas al inicio de la pandemia con el material biológico y las secuencias del genoma disponibles en ese momento; sin embargo, los virus presentan mutaciones generando distintas variantes por lo que es necesario realizar un monitoreo constante de los métodos diagnósticos para garantizar su especificidad y sensibilidad. En este trabajo analizamos la concordancia del ensayo RT - qPCR diseñado por el CDC para detectar el virus SARS-CoV-2 en muestras nasofaríngeas de población de la Comarca Lagunera de Durango; además se analizó la variabilidad presente en el gen N del SARS-CoV-2 que podría afectar el reconocimiento de los marcadores N1 y N2, disminuyendo la sensibilidad del método o aumentando la proporción de falsos negativos o positivos por problemas técnicos.

Algunos autores sugieren que los resultados deben manejarse con precaución, ya que el resultado de una muestra con baja carga viral representa un problema de interpretación debido a que no se detecta suficiente fluorescencia para alcanzar el umbral de detección y se puede encontrar un valor de $Ct \geq 37$ en alguno de los marcadores N1/N2 o en ambos, lo que dificulta la interpretación del resultado (14), como ocurrió en 8 muestras de este estudio que tuvieron inconsistencias al clasificarse y fueron denominadas como indeterminadas, como lo marca el protocolo. En el trascurso de la pandemia se han realizado cambios en el umbral de detección que debe tener una muestra para considerarse positiva, al inicio el CDC indicó que un $Ct \leq 36$ en ambos marcadores se consideraría como un resultado positivo, posteriormente este valor se amplió hasta un $Ct = 40$ para garantizar la detección de una baja carga viral; sin embargo una desventaja es que el umbral de detección es sensible a la fluorescencia de fondo, es decir un Ct es válido cuando la fluorescencia de la muestra rebasa el umbral determinado por la fluorescencia basal y el problema de un diagnóstico basado en el valor de Ct es que no existe un punto de corte absoluto o constante, sino que debe interpretarse en términos de distintas variables biológicas, técnicas y clínicas (15), estas variables también pueden incidir en un sobrediagnóstico al tener falsos positivos por contaminación o una mala interpretación de los resultados (16).

Debido a la dificultad de interpretación que puede presentarse en muestras con baja carga viral se ha propuesto la confirmación con otros kits que tengan mayor sensibilidad al que fue utilizado, en este sentido existen kits con una sensibilidad de 100 copias, otros que detectan 50 copias y los de mayor sensibilidad que detectan 10, 5 y 1 copia del genoma viral, en este caso el kit CDC-2019 detecta hasta 5 copias por reacción y aunque tiene una alta sensibilidad también puede generar falsos negativos o falsos positivos. Algunos autores mencionan que la principal desventaja de este kit es que cada marcador se analiza en una reacción separada, aumentando así el trabajo técnico y el tiempo de respuesta del diagnóstico ya que requiere tres reacciones (N1, N2 y RP) para hacer una interpretación adecuada del caso; sin embargo la mayoría de los ensayos de configuración múltiple tienen menor sensibilidad de 10, 50 y 100 copias, además de que una reacción múltiple representa una competencia entre las reacciones enzimáticas que amplifican cada blanco molecular, simultáneamente, por lo que suelen tener más inconsistencias entre resultados y por lo tanto la interpretación sigue siendo un problema a resolver.

Se ha propuesto realizar una validación de los resultados a través de la determinación directa de la secuencia del cDNA viral, un estudio propuso un ensayo de RT-PCR anidada convencional, donde se realiza la transcripción reversa del RNA viral para obtener primero el cDNA en una reacción, este cDNA se utiliza como templado para amplificar los fragmentos virales por PCR punto final, que finalmente son confirmados por secuenciación (17). El autor sugiere que esta validación interna de la capacidad técnica y de interpretación es crucial para evitar generar falsas alarmas tanto de casos positivos diagnosticados como casos negativos y que pueden infectar a un número considerable de individuos, o bien diagnosticar casos falsos positivos que dan lugar a un falso brote reemergente que impacta negativamente en la economía.

En este estudio se encontró un alto porcentaje de concordancia entre resultados y 66 casos diagnosticados como positivos también fueron amplificados por PCR anidada, incluso algunos fueron secuenciados, lo cual confirma que realmente eran casos positivos, aunque solo amplificaran un marcador o tenían baja carga viral que se reflejaba en un $Ct = 37$, los dos casos que no amplificaron en PCR anidada tenían Ct de 38 y 39 en N2. Aunque el resultado fue satisfactorio es interesante notar que la eficiencia de amplificación del gen completo fue muy baja y solo obtuvimos 7 muestras con un amplicón de 1260 pb, en este sentido los genomas de RNA son vulnerables a la degradación por factores ambientales, degradación enzimática por RNA asas y por destrucción mediada por la respuesta inmune; algunos autores sugieren que los problemas relacionados con la amplificación completa del gen N pueden estar relacionados con la integridad de RNA, la baja carga viral de las muestras y el complejo proceso de transcripción del RNA del virus, de tal forma que tener una mayor integridad del RNA viral permite la síntesis de cDNA más largos (18 - 20).

Por otro lado, los virus de RNA han desarrollado una transcripción discontinua para proteger la integridad de su genoma, esta es una característica del orden Nidovirales en el que se produce un subconjunto RNA subgenómicos procesados; por lo que es probable que la fragmentación del genoma de SARS-CoV-2 dificulte la detección efectiva de fragmentos largos (21). Debido a la baja eficiencia de la PCR sobre el gen N completo se amplificaron fragmentos más pequeños (N1, N2 y N3) y se realizó una relación de resultados comparando los datos obtenidos por RT-qPCR y PCR punto final; donde se observó que el 97% de los casos fueron

replicados como positivos. Estos resultados se deben a que la qPCR es más sensible que la PCR punto final ya que permite detectar cargas virales de hasta 5 copias donde ha mostrado una especificidad del 100% y una sensibilidad del 91,8% (22). En contraste, la PCR punto final necesita mayor número de copias del genoma viral para visualizar una banda débil en geles de agarosa. Comparando los porcentajes de coincidencia de los resultados positivos con las regiones N1 (95.58%), N2 (86.76) y N3 (91.17), en la región N2 se observó una menor eficiencia de amplificación; estos resultados coinciden con varios autores que reportan una mayor eficiencia de amplificación para el blanco viral N1 en comparación con N2 (23, 24). Khan et al., (25) sugieren que la región más susceptible a degradación es la región 3', lo que explicaría que el blanco N2 tenga una menor eficiencia de amplificación; por otro lado, Chomczynski et al., (26) menciona que la fragmentación del genoma viral podría interferir con la amplificación si los productos de la PCR son mayores a 100 pb de longitud y que la fragmentación del genoma no impide la detección efectiva de amplicones cortos como las secuencias N1 de 71 pb y N2 de 67 pb en la prueba de SARS-CoV-2 del kit RT - qPCR utilizado, sin embargo en la PCR anidada reportada en este estudio se modificó la longitud de este fragmento N2 para obtener un amplicón de 370 pb, que aunque tuvo menor eficiencia de amplificación el resultado fue satisfactorio con respecto al gen completo.

Las mutaciones del virus desempeñan un papel importante en su evolución a través de la adaptación y sobrevivencia, en el caso de SARS-CoV-2 la proteína N es fundamental para proteger el genoma y dirigir su transcripción, las mutaciones en este gen pueden ocasionar la pérdida de los sitios de reconocimiento de oligonucleótidos y sondas utilizados en el diagnóstico molecular (27). Sin embargo, en el alineamiento de las secuencias obtenidas en este estudio encontramos algunos cambios puntuales que fueron verificados en el electroferograma, deleciones puntuales en una sola secuencia que pueden interpretarse como errores de secuenciación; en tres casos se encontró una deleción de dos T contiguas y otra deleción de una T en 12 nucleótidos río arriba de la primera deleción. Aunque se han reportado varias mutaciones en el gen N y existen variantes de SARS-CoV-2 que podrían interferir con el diagnóstico molecular (28), este trabajo demostró un alto porcentaje de concordancia entre el RT - qPCR y la PCR anidada confirmando el diagnóstico positivo y negativo en muestras de la población de la Comarca Lagunera de

Durango, también podemos inferir que la variabilidad presente en las muestras no interfiere con las regiones N1 o N2 que son reconocidas por los oligonucleótidos y las sondas, por lo que se concluye que el método utilizado aún es altamente sensible y la interpretación técnica es eficiente y confiable.

REFERENCIAS

- Accinelli RA, Mingxiong C, Xu Z, Wang J, Yachachin-Chávez JM, Caceres-Pizarro JA. COVID-19: La pandemia por el nuevo virus SARS-CoV-2. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2020; 37(2): 302-11. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.372.5411>
- Toyoshima Y, Nemoto K, Matsumoto S, Nakamura Y, Kiyotani K. SARS-CoV-2 genomic variations associated with mortality rate of COVID-19. *J Hum Genet.* 2020; 65(12):1075-1082. doi: 10.1038/s10038-020-0808-9
- Palacios-Mejía LS, Wheatley-Fernández JL, Ordoñez-Hernández I, López-Ridaura R, Lopez-Gatell Ramírez H, Hernández-Ávila M, et al. Estimación del exceso de mortalidad por todas las causas durante la pandemia del Covid-19 en México. *Salud Publica Mex.* 2021; 63(2):211-224. doi: 10.21149/12225.
- Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1):221-36. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902
- Díaz-Jiménez IV. Interpretación de las pruebas diagnósticas del virus SARS- Cov-2. *Acta Pediatr Mex.* 2020;41(1):S51-7. doi.org/10.18233/APM41No4S1ppS51-S572079
- Ruiz-Bravo A, Jiménez-Valera M. SARS-CoV-2 and acute respiratory syndrome pandemic (COVID-19). *Ars Pharmaceutica (Internet).* 2020; 61(2):63-79. <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v61i2.15177>
- Lu X, Wang L, Sakthivel S, Whitaker B, Murray J, Kamili S, Lynch B, et al. US CDC Real-Time Reverse Transcription PCR Panel for Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26(8):1654-65. doi: 10.3201/eid2608.201246.
- Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020; 20(5):453-4. doi: 10.1080/14737159.2020.1757437.

- Böger B, Fachi MM, Vilhena RO, Cobre AF, Tonin FS, Pontarolo R. Systematic review with meta-analysis of the accuracy of diagnostic tests for COVID-19. *Am J Infect Control*. 2020; 49(1): 21-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2020.07.011>
- Aguilar-Ramírez P, Enríquez-Valencia Y, Quiroz-Carrillo C, Valencia-Ayala E, de León Delgado J, Pareja-Cruz A. Pruebas diagnósticas para la COVID-19: la importancia del antes y el después. *Horizonte Médico (Lima)*. 2020; 20(2): e1231. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2020.v20n2.14>
- Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, Prasad V, Steele M, Brooks JT, et al. SARS-CoV-2 transmission from people without COVID-19 symptoms. *JAMA New Open*. 2021; 4(1):e2035057. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.35057
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A, Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 10.2.1. *Mol Biol Evol*. 2013; 30(12):2725-9. doi: 10.1093/molbev/mst197
- Hasan MR, Sundararaju S, Manickam C, Mirza F, Al-Hail H, Lorenz S, et al. A novel point mutation in the N gene of SARS-CoV-2 may affect the detection of the virus by reverse transcription-quantitative PCR. *J Clin Microbiol*. 2021; 59(4): e03278-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.03278-20>
- Falasca F, Sciandra I, Di Carlo D, Gentile M, Deales A, Antonelli G, et al. Detection of SARS-COV N2 gene: very low amounts of viral RNA or false positive? *J Clin Virol*. 2020; 133:104660. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104660
- Chang MC, Hur J, Park D. Interpreting the COVID-19 Test Results: A guide for physiatrists. *Am J Phys Med Rehabil*. 2020; 99(7):583-5. doi: 10.1097/PHM.0000000000001471
- Braunstein G, Schwartz L, Hymel P, Fielding J. False positive results with SARS-CoV-2 RT-PCR tests and how to evaluate a RT-PCR-positive test for the possibility of a false positive result. *J Occup Environ Med*. 2021; 63(3): e159-e162. Doi:10.1097/JOM.0000000000002138
- Lee SH. 2020. Testing for SARS-CoV-2 in cellular components by routine nested RT-PCR followed by DNA sequencing. *Int Journal Geriatrics Rehab*. 2020; 2(1): 69-96.
- Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020; 181(4):914-21.e10. doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011
- Cao C, Cai Z, Xiao X, Rao J, Chen J, Hu N, et al. The architecture of the SARS-CoV-2 RNA genome inside virion. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 3917. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22785>
- Castro-Brant A, Tian W, Majerciak V, Yang W, Zheng Z. SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. *Cell Biosci*. 2021; 11(1):136. doi: 10.1186/s13578-021-00643-z
- Sola I, Almazán F, Zúñiga S, Enjuanes L. Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses. *Annu Rev Virol*. 2015; 2(1):265-88. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055218>
- Serrano-Cumplido A, Ruíz-García A, Segura-Fragoso A, Olmo-Quintana V, Micó-Pérez RM, Barquilla-García A, et al. Aplicación del valor umbral del número de ciclos (Ct) de PCR en la COVID-19. *Semergen*, 2021; 47(5), 337-341. <https://doi.org/10.1016/j.semereg.2021.05.003>
- Genoud V, Stortz M, Waisman A, Berardino BG, Vernerri P, Dansey V, et al. Extraction-free protocol combining proteinase K and heat inactivation for detection of SARS-CoV-2 by RT-qPCR. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0247792. doi: 10.1371/journal.pone.0247792
- Nayar G, Seabolt EE, Kunitomi M, Agarwal A, Beck KL, Mukherjee V, et al. Analysis and forecasting of global real time RT-PCR primers and probes for SARS-CoV-2. *Sci Reports*. 2021; 11(1):8988. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88532-w>
- Khan KA, Cheung P. Presence of mismatches between diagnostic PCR assays and coronavirus SARS-CoV-2 genome. *R Soc Open Sci*. 2020; 7(6):200636. doi: 10.1098/rsos.200636.
- Chomczynski P, Chomczynski PW, Kennedy A, Rymaszewski M, Wilfinger WW, Heiny J. Rapid processing of SARS-CoV-2 containing specimens for direct RT-PCR. *PloS one*. 2021; 16(2):e0246867. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246867>

- Chagas-Lesbon J, Poleti MD, de Mattos-Oliveira EC, Patané J, Clemente LG, Viala VL, et al. Nucleocapsid (N) gene mutations of SARS-CoV-2 can affect real-time RT-PCR diagnostic and impact false-negative results. *Viruses*. 2021; 13(12):2474. doi: 10.3390/v13122474
- Hasan MR, Sundararaju S, Manickam C, Mirza F, Al-Hail H, Lorenz S, et al. A novel point mutation in the N gene of SARS-CoV-2 may affect the detection of the virus by reverse transcription-quantitative PCR. *J Clin Microbiol*. 2021; 59(4):e03278-20. 421 <https://doi.org/10.1128/JCM.03278-20>

Fuentes de internet

- Estadísticas coronavirus Durango [Consultado 15 abril 2022] Disponible en: <http://covid.durango.gob.mx/>
- Estadísticas coronavirus México [Consultado 15 abril 2022] Disponible en: <https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>
- National Center for Biotechnology Information [Consultado 15 enero 2022] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>
- Organización mundial de la salud [Consultado 15 abril 2022] Disponible en: <https://www.who.int/es/health-topics/coronavirus>

Asociación de Pro12Ala de *PPARG* con porcentaje de grasa visceral en individuos con enfermedades metabólicas

¹Guangorena Gómez Janeth Oliva, ¹Orozco Meraz Naomi Viridiana, ¹Maravilla Dominguez María Aurora, ¹Martínez Sandoval Alondra, ¹Zavaleta Muñiz Soraya Amalí, ¹Muñoz Yáñez Claudia

¹Facultad de Ciencias de la Salud, UJED Gómez Palacio, Dgo.

*Email: claumuya@ujed.mx

RESÚMEN

Las enfermedades crónicas no transmisibles son la principal causa de muerte en México, estas enfermedades comparten como factor de riesgo la obesidad. La obesidad se ha incrementado a proporciones pandémicas en las últimas décadas, su estudio y propuesta de abordaje deben ser multifactorial. A este respecto una de las variantes génicas más evaluadas es el polimorfismo Pro12Ala de *PPARG*, aunque se ha asociado con obesidad, aún hay controversia en el efecto que tiene cada alelo. Por lo anterior en este trabajo se consideró el estudio del polimorfismo Pro12Ala de *PPARG* y la dieta en personas con enfermedades metabólicas. En este estudio transversal se reclutaron 83 pacientes de UNME-EC de Gómez Palacio y Lerdo, Dgo. Se invitó a participar a todos los pacientes que acudían en el periodo de Febrero-Marzo de 2019. Se registraron los datos sociodemográficos, se aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, se hicieron mediciones antropométricas y se tomó muestra de sangre en tubo con anticoagulante, para la extracción de ADN. La genotipificación de Pro12Ala se realizó por PCR tiempo real con sondas Taqman de acuerdo al proveedor. Para el análisis bivariado se utilizaron la prueba de chi cuadrada para variables cualitativas y U-Mann-Whitney para variables cuantitativas, además se analizó razón de momios y regresión lineal. Se observó que los homocigotos Pro/Pro tenían mayor riesgo de presentar obesidad (OR=3.69, p=0.013) y niveles muy altos de grasa visceral (OR=3.06, p=0.043), este riesgo se aumentaba al considerar el consumo de hidratos de carbono OR=5.28 (p=0.013) para obesidad y OR=3.06 (p=0.043) para niveles de grasa visceral. Debido a la alta prevalencia del alelo Pro en la población de estudio es importante considerarlo en los tratamientos de enfermedades multifactoriales como las enfermedades metabólicas.

Palabras clave: Pro12Ala, obesidad, grasa visceral

ABSTRACT

Chronic non-communicable diseases are the main cause of death in Mexico, these diseases share obesity as a risk factor. Obesity has increased to pandemic proportions in recent decades, its study and must be multifactorial. In this regard, one of the most evaluated gene variants is the *PPARG* Pro12Ala polymorphism. Although it has been associated with obesity, there is still controversy regarding the effect of each allele. Therefore, in this work the study of the Pro12Ala polymorphism of *PPARG* and the diet in people with metabolic diseases was considered. In this cross-sectional study, 83 patients were recruited from the UNME-EC of Gómez Palacio and Lerdo, Dgo. All patients who attended in the period February-March 2019 were invited to participate. Sociodemographic data were recorded, a food consumption frequency questionnaire was applied, anthropometric measurements were made, and a blood sample was taken in a tube with anticoagulant for DNA extraction. Pro12Ala genotyping was performed by real-time PCR with probes Taqman according to the supplier. For the bivariate analysis, the chi-square test was used for qualitative variables and the Mann-Whitney U test for quantitative variables, in addition, odds ratio and linear regression were analyzed. The analyzes were performed in the STATA 14.0 program. Homozygotes Pro/Pro were observed to have a higher risk of obesity (OR=3.69, p=0.013) and very high levels of visceral fat (OR=3.06, p =0.043), this risk was increased when considering the consumption of carbohydrates OR=5.28 (p=0.013) for obesity and OR=3.06 (p=0.043) for visceral fat levels. Due to the high prevalence of the Pro allele in the study population, it is important to consider it in the treatment of multifactorial diseases such as metabolic diseases.

Keywords: Pro12Ala, obesity, visceral fat

INTRODUCCIÓN

En México la principal causa de muerte son enfermedades crónicas no transmisibles, siendo las primeras las enfermedades cardíacas (19.9%) seguidas de la diabetes mellitus (DM) (15.4%) y tumores malignos (12.9%) concentrando 47% de las muertes totales en el país (Shama Levy et al., 2016). Quienes mueren por estas causas, pasan varios años de su vida manejando su padecimiento, por lo que reducen la calidad de vida, no sólo para el paciente sino también para sus familiares, estas enfermedades tienen como factor de riesgo común la obesidad (Rivera Dommarco et al., 2018). Uno de los principales factores asociados al desarrollo de obesidad es la alimentación. México, al igual que otros países de Latinoamérica, experimenta transiciones epidemiológicas, dejando de lado los alimentos ricos en fibra, y aumento del consumo de dietas altas en grasas saturadas, carbohidratos refinados y azúcares añadidos, estas dietas interactúan con la estructura genética de cada población provocando el aumento de enfermedades metabólicas (Aguayo-Armendáriz et al., 2018; Gadde et al., 2018).

Estudios de heredabilidad han mostrado que los factores genéticos tienen un papel importante en el metabolismo energético y la susceptibilidad a obesidad (Singh et al., 2017). Una de las variantes más estudiadas es el polimorfismo Pro12Ala del gen Proliferador de peroxisomas activado por receptor gamma (*PPARG*), donde el cambio de una citocina por una guanina resulta en el cambio de una prolina por una alanina, provocando que la proteína, que un factor de transcripción, tenga menor capacidad de unión al ADN y por lo tanto debería verse disminuida la adipogénesis; sin embargo, esto no siempre se observa, mientras que en la mayoría de los estudios el alelo Ala se asocia a obesidad, a mayor acúmulo de grasa visceral, a diabetes y peor respuesta a intervenciones para bajar de peso, en otras tiene un papel protector (Chtourou et al., 2021; Ciudin et al., 2021; Lapice & Vaccaro, 2014) and to what extent, diet modulates the effects of the Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 (*PPAR γ 2*). Estas diferencias en la relación del polimorfismo con obesidad puede deberse a la presencia de otras variantes génicas, y la dieta. En personas con enfermedades metabólicas como la diabetes e hipertensión la obesidad es un factor de riesgo añadido para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, por lo que es importante evaluar la relación de este polimorfismo en conjunto con la dieta especial que se les recomienda. Debido a lo anterior, en

este trabajo se evaluó además del polimorfismo Pro12Ala de *PPARG*, los componentes dietéticos en pacientes con enfermedades metabólicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

Se llevó a cabo un estudio transversal, donde se invitó a participar a todos los pacientes que asistían a tratamiento a las unidades de especialidades médicas de enfermedades metabólicas (UNEME-EC) de Gómez Palacio y Lerdo, Dgo., en los meses de Febrero y Marzo de 2019. En las mismas UNEME-EC se llevó a cabo el muestreo. Se aceptó no más de un integrante de la misma familia. Los criterios de inclusión de las UNEME-EC son presencia de diabetes, hipertensión, dislipidemia, obesidad y sus criterios de exclusión son sin enfermedad renal, pulmonar, amputación y embarazo (Secretaría de Salud, 2011). El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de FACS (PI-01-2021), antes del reclutamiento se explicó el estudio y se solicitó consentimiento informado firmado a todos los participantes.

Mediciones antropométricas

Las mediciones antropométricas se realizaron en ayuno, con ropa ligera y sin calzado; el peso, porcentaje de grasa corporal, porcentaje de músculo corporal y nivel de grasa visceral se hizo en báscula de bioimpedancia (Omron® HBF-514CLA). La talla se midió con estadímetro portátil (Seca®213) y la circunferencia de cintura y cadera se midió con cinta inelástica (Seca®201). Se calculó el índice de masa corporal (IMC)(Kg/m²), así como índice cintura/cadera (ICC).

Dieta

Se aplicó un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos (INSP, 2018), los encuestadores fueron previamente capacitados, y el cuestionario se aplicó el mismo día de las mediciones antropométricas y toma de muestra de sangre. Se elaboró una base de datos en excel y las respuestas fueron analizadas de acuerdo al Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (Pérez Lizaur, 2014), para obtener el consumo de macronutrientes.

Extracción de ADN y genotipificación

Se tomó muestra de sangre con EDTA para la extracción de ADN, la extracción se realizó mediante el método

DTAB/CTAB para sangre total y se almacenó el ADN a -20°C hasta su análisis. Previo a la genotipificación la cantidad y calidad del ADN se analizó por luz UV en espectrofotómetro (Nonodrop LITE, Thermo Fisher®). La genotipificación del polimorfismo Pro12Ala de *PPARG* (rs1805192) se realizó mediante PCR tiempo real con sondas TaqMan® en equipo Rotor Gene Q (QIAGEN®) de acuerdo a las condiciones del proveedor. Se confirmó la genotipificación del 20% de las muestras.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico a las variables cuantitativas, se les hizo la prueba de normalidad Shapiro Wilk. Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo Pro12Ala de *PPARG*, se calculó chi cuadrada de las frecuencias alélicas esperadas (en consorcio Ensembl) (Genome Reference Consortium, 2021) y encontradas para el equilibrio de Hardy-Weinberg. Para el análisis bivariado se utilizaron la prueba de chi cuadrada para variables cualitativas y U-Mann-Whitney para variables cuantitativas. Posteriormente se hizo el análisis de razón de momios y regresión lineal. Se estableció nivel de significancia estadística una $p \leq 0.05$. Los análisis se realizaron en el programa STATA 14.0.

RESULTADOS

Se reclutaron 83 pacientes, en los cuales predominó el sexo femenino (83.33%) y la mayoría de los participantes vivían en zona rural (65.48%), la mediana de la edad fue de 53 años (p25-p75:46-61). Todos los participantes presentaban alguna enfermedad metabólica, siendo la más prevalente diabetes mellitus (83.75%), seguida de hipertensión (56.96%), y el 45.57% presentaba las dos patologías, además el 54.44% refirió haber presentado dislipidemia.

La frecuencia alélica para Pro12Ala, fue Pro (0.86) y Ala (0.14) y las frecuencias genotípicas fueron Pro/Pro (0.74), Pro/Ala (0.24), Ala/Ala (0.02) encontrándose en equilibrio de Hardy-Weinberg. Se utilizó el modelo dominante ya que solo dos personas fueron homocigoto de Ala, quedando los genotipos Pro/Pro y Ala/X (Ala/Ala y Ala/Pro). En cuanto a las variables sociodemográficas y de enfermedades metabólicas no se encontró diferencias por genotipo (datos no mostrados).

El análisis de las mediciones antropométricas mostró que los homocigotos Pro/Pro tuvieron mayores niveles

de grasa visceral, mayor IMC y circunferencia de cintura, pero menor circunferencia de cadera; sin embargo, no hubo diferencias en el ICC (Tabla 1). Además, se evaluó la dieta, para lo cual se midió el consumo total de kilocalorías por día, siendo la mediana general de 2304.44 Kcal (RI:1922.07-2853.22) y se calculó la cantidad en gramos de macronutrientes consumidos, no se encontraron diferencias en la dieta entre genotipos.

Tabla 1. Características sociodemográficas y antropométricas por genotipo

Características	General	Pro/Pro	Ala/X
Antropometría, mediana (p25-p75)			
IMC	32 (29-35.7)	33.5 (30.5-36)	30.05 (27.6-31.6)
Circunferencia de cintura, cm	102.7 (96.0-110.5)	105 (99.0-111.0)	97.15 (93.0-104.0)
Circunferencia de cadera, cm	107 (100.0-116.0)	109.5 (102.0-0.99)	100.75 (98.0-106.0)
Índice cintura/cadera	0.83 (0.94-1.0)	0.94 (0.91-0.99)	0.94 (0.88-1.0)
Músculo corporal, n (%)	23.5 (21.3-25.4)	22.9 (21.3-25.8)	23.9 (22.7-25.1)
Grasa corporal, n (%)	45.9 (40.3-49.7)	46.6 (40.4-49.9)	43.7 (40.3-47.8)
Grasa visceral, n (%)	12 (9-14)	12.0 (10.5-15.0)	11.0 (8.0-12.0)
Dieta mediana (p25-p75)			
Energía total, Kcal	2304.44 (1922.07-2853.22)	2316.68 (1924.75-2850.65)	2193.34 (1888.33-2855.80)
Fibra dietética, g	21.21 (17.84-24.43)	21.02 (17.89-24.12)	21.77 (17.79-25.48)
Carbohidratos, g	307.85 (251.93-358.53)	311.03 (248.48-354.64)	302.64 (263.73-362.42)
Proteínas, g	87.51 (71.19-102.42)	90.47 (71.54-108.43)	84.55 (67.41-99.02)
Lípidos, g	80.63 (62.37-99.88)	81.51 (66.08-101.85)	76.21 (58.21-95.27)
Ácidos grasos saturados, g	21.98 (15.71-27.32)	22.14 (15.56-27.81)	20.55 (15.87-27.04)
Ácidos grasos poliinsaturados, g	15.10 (11.52-19.73)	15.63 (11.69-19.81)	14.14 (10.69-18.79)

p25-p75 (percentil25 - percentil75). Prueba estadística: U de Mann-Whitney. Significancia estadística en negritas: $p < 0.05$

En la tabla 2 se puede observar que ninguno de los pacientes tenía normopeso, el 28.92% presentaba sobrepeso, y el 71.08% tenía obesidad, además el 53.84% de los pacientes tenía niveles muy altos de grasa corporal total, y la mayoría tenía niveles altos (50.65%) y muy altos (23.38%) de grasa visceral (Tabla 2). En el grupo de homocigotos Pro/Pro había más personas con obesidad y niveles muy altos de grasa visceral.

Tabla 2. Variables antropométricas cualitativas

Características n (%)	General	Pro/Pro	Ala/X
IMC			
Sobrepeso	24 (28.92)	13 (54.17)	11 (45.83)
Obesidad	59 (71.08)	48 (78.69)	11 (18.64)
Músculo esquelético			
Bajo	53 (68.83)	40 (75.47)	13 (24.53)
Normal	23 (29.87)	16 (69.57)	7 (30.43)
Elevado	1 (1.30)	0 (0)	1 (100.0)
Grasa corporal			
Normal	2 (2.53)	1 (50.0)	1 (50.0)
Elevado	11 (13.92)	8 (72.73)	3 (27.27)
Muy elevado	86 (53.84)	49 (74.24)	17 (25.76)
Grasa visceral			
Normal	20 (25.97)	11 (55.0)	9 (45.0)
Alto	39 (50.65)	28 (71.79)	11 (28.21)
Muy alto	18 (23.38)	17 (94.44)	1 (5.56)

Prueba estadística: Chi cuadrada. Significancia estadística en negritas: $p < 0.05$

Posteriormente se realizó un análisis de regresión logística, para obesidad y grasa visceral, se utilizaron diferentes modelos, ajustando por el consumo de macronutrientes (Tabla 1A).

Tabla 1A. Asociación de Pro12Ala con obesidad y grasa visceral considerando consumo de macronutrientes

Obesidad	OR	IC(95%)	p
Modelo 1	3.69	1.30-10.40	0.013
Modelo 2	3.65	1.24-10.74	0.018
Modelo 3	4.38	1.30-14.72	0.017
Modelo 4	5.28	1.42-19.60	0.013
Modelo 5	3.57	1.12-11.31	0.030
Modelo 6	4.05	1.31-12.47	0.015
Grasa visceral			
Modelo 1	3.06	1.03-9.09	0.043
Modelo 2	4.70	1.23-17.92	0.023
Modelo 3	4.21	0.95-18.69	0.058
Modelo 4	5.72	1.16-28.04	0.031
Modelo 5	4.04	0.96-16.94	0.056
Modelo 6	3.86	0.96-15.39	0.056

Modelo 1, sin ajustar. Modelo 2, ajustado por edad y sexo. Modelo 3, ajustado por edad, sexo e ingesta calórica diaria. Modelo 4, ajustado por edad, sexo y gramos de carbohidratos diarios. Modelo 5, ajustado por edad, sexo y gramos de lípidos diarios. Modelo 6, ajustado por edad, sexo y gramos de proteína diarios. Prueba estadística: Regresión logística. Significancia estadística: $p < 0.05$.

Se observa que el riesgo de presentar obesidad es de 3.65 (IC95% = 1.24-10.74, $p = 0.018$) para los homocigotos Pro/Pro, al ajustar por edad y sexo, pero al introducir las variables de dieta el riesgo se ve aumentado, principalmente con el consumo de hidratos de carbono

(OR=5.28, IC95% = 1.42-19.60, $p = 0.013$) (Tabla 3). En el caso de los niveles de grasa visceral, aquellos sujetos homocigotos Pro/Pro, tuvieron un OR de 4.7 (IC95% = 1.23-17.92, $p = 0.023$), y de forma similar a la obesidad, el riesgo se aumentó al considerar el consumo de hidratos de carbono (OR=5.72, IC95% = 1.16-28.04, $p = 0.031$).

Tabla 3. Asociación de Pro12Ala con obesidad y grasa visceral

Obesidad	OR	IC(95%)	p
Modelo 1	3.65	1.24-10.74	0.018
Modelo 2	5.28	1.42-19.60	0.013
Grasa visceral			
Modelo 1	4.7	1.23-17.92	0.023
Modelo 2	5.72	1.16-28.04	0.031

Modelo 1, ajustado por edad y sexo. Modelo 2, ajustado por: edad, sexo, consumo de hidratos de carbono (g). Prueba estadística: Regresión logística. Significancia estadística en negritas: $p < 0.05$

DISCUSIÓN

El hallazgo más sobresaliente fue la asociación del genotipo Pro/Pro a obesidad y niveles muy altos de grasa visceral (Tabla 3). Esto coincide con lo reportado en población de Brasil, donde adultos que practicaban ejercicio aeróbico, los portadores del genotipo Pro/Pro tenían mayor porcentaje de grasa corporal, índice cintura/cadera y porcentaje de grasa visceral que los portadores del alelo Ala, esto solo en hombres, además las asociaciones del Pro/Pro con la composición corporal fueron independientes a la carga de ejercicio, pero en el caso del índice cintura/estatura y el porcentaje de grasa total se observó que dejó de ser significativa cuando se ajustó por la dieta y la edad (Chtourou et al., 2021), lo que apoya la posible relación con la dieta que se observa en nuestra población de estudio Sin embargo, en otro estudio también en población de Brasil, adultos jóvenes sedentarios no mostraron diferencias en la composición corporal, ni en la respuesta a entrenamiento físico cuando se compararon por genotipo (Alexa Cardoso et al., 2020) 40-60 min per session, and intensity between the aerobic and anaerobic threshold, en este estudio se evaluó la dieta y se observó que los homocigotos Pro/Pro tenían una ingesta mayor de calorías, de hidratos de carbonos y proteína, sin embargo no se hicieron análisis de regresión logística, como si pudimos verlo en nuestro estudio donde el riesgo de obesidad en los homocigotos Pro/Pro se aumenta cuando se considera el consumo de hidratos de carbono, además no hubo diferencias en la dieta por genotipo (Tabla 3). En población mexicana, con adolescentes del estado de Chihuahua, Mex., con diferente etnicidad se observó menor riesgo de obesidad en los portadores del alelo Ala (OR=0.46, RI:0.25-0.84),

sin embargo tenían mayor riesgo de tener elevado índice cintura/estatura (OR=1.79, RI:1.03-3.08) (Carrillo-Venzor et al., 2020). El carácter protector del alelo Ala en estos casos se explica porque este alelo provoca que la proteína de *PPARG*, que es un factor de transcripción, tenga menor afinidad por ADN de tal forma que disminuye la transcripción de las diferentes vías que regula entre ellas la adipogénesis y la lipólisis.

Cuando se evaluó la dieta por consumo de macronutrientes, y se consideró en los modelos de regresión logística, se observó un aumento en el riesgo de obesidad (OR=3.69, IC95%= 1.30-10.40 vs OR=5.28, IC95%= 1.42-19.60) y tener niveles muy altos de grasa visceral (OR=4.07, IC95%=1.23-17.92 vs OR=5.72, IC95%= 1.16-28.04) por el consumo más alto de hidratos de carbono. A este respecto, se ha visto la relación de una dieta alta en carbohidratos con la composición corporal, específicamente con la grasa visceral. En un estudio con 167 jordanos aparentemente sanos se observó que el grupo con mayor grasa visceral tenían el consumo más alto de energía proveniente de hidratos de carbono (T3:66.1 ± 1.6% vs T2:61.2±1.0% y T1:61.8±1.2%) (Tayyem et al., 2019), similar a los encontrado en nuestro estudio donde mayor consumo de hidratos de carbono se asoció a niveles más elevados de grasa visceral. De igual forma en un estudio en Dinamarca con 60 personas sanas se comparó el consumo de refresco endulzado con sacarosa, leche semidescremada, refresco endulzado con aspartame o de dieta y agua natural, y se encontró que la ingesta diaria de 1 litro de refresco con sacarosa durante 6 meses aumenta la acumulación de grasa ectópica y las concentraciones de triglicéridos y colesterol total (Maersk et al., 2012). En otro estudio de intervención pero en Estados Unidos se observó que, durante el período de intervención ambulatoria, cuando las personas consumían 25% del requerimiento diario de energía como bebidas endulzadas con glucosa o fructosa con dietas *ad libitum*, ambos grupos tuvieron aumento significativo de masa grasa (+3.2 ± 0.6 con glucosa y +2.8 ± 1.0 con fructosa), al igual que se encontró un incremento del tejido adiposo visceral en los sujetos que consumieron fructosa (+14.0 ± 5.5) (Stanhope et al., 2009). Otro estudio con adolescentes canadienses reportó que la ingesta diaria total de azúcar fue mayor en los adolescentes con obesidad visceral que sin ella (149 en comparación con 112g/d, respectivamente), de igual manera, la ingesta de carbohidratos disponibles se asoció positivamente con el índice de tejido adiposo subcutáneo y visceral ($\beta = 0.54$, $p = 0.03$) (Mollard et al.,

2014), estos resultados apoyan lo encontrado en nuestro estudio en pacientes con enfermedad metabólica que consumían más hidratos de carbono (Figura 1).

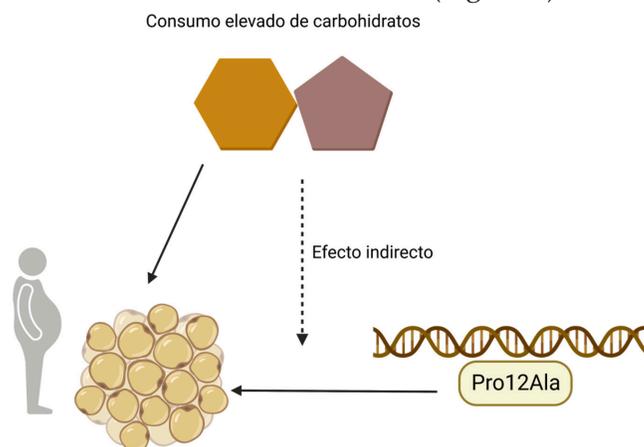


Figura 1. Relación entre el tejido adiposo visceral elevado, la presencia del polimorfismo Pro12Ala y el consumo elevado de carbohidratos. Las flechas muestran el riesgo de presentar mayores niveles de grasa visceral en quienes presentaron el polimorfismo, siendo aumentado con el consumo de carbohidratos.

Finalmente, en cuanto a la relación de Pro12Ala de *PPARG* con la dieta, se ha considerado principalmente a las grasas, particularmente por la proporción de ácidos grasos polinsaturados y saturados (Curti et al., 2011) o la ingesta calórica completa (Lapice & Vaccaro, 2014). En una población de 69 adultos mexicanos que presentaba un alto consumo de grasas, Aguayo-Armendáriz y colaboradores encontraron una asociación entre el polimorfismo Pro12Ala y el porcentaje de grasa en quienes consumían en mayor cantidad ácidos grasos saturados (>10% de la energía total) (Aguayo-Armendáriz et al., 2018). En población francesa, se observó que quienes eran homocigotos Pro/Pro y tenían un alto consumo de grasas se asociaban con un mayor riesgo de presentar diabetes (OR 1.85, $p = 0.001$) (Lamri et al., 2012), es interesante si se toma en cuenta que, en nuestra población, la diabetes fue la enfermedad más prevalente (83.75%), aunque no observamos un riesgo aumentado por el consumo de grasas. La proteína codificada por *PPARG*, *PPARG2*, es un factor de transcripción que participa además de en adipogénesis en la sensibilidad a insulina, de tal forma que puede aumentar o disminuirla dependiendo de la variante, lo que puede explicar su sensibilidad al consumo de hidratos de carbono, principalmente en pacientes con diabetes como era la mayoría de los participantes, además *PPARG2* es inducido por medicamentos de la familia de tiazolidinedionas usados en el tratamiento a la diabetes, sin embargo en este estudio no se incluyó el consumo de medicamentos, lo cual sería necesario para poder explicar mejor la relación observada

CONCLUSIÓN

El genotipo Pro/Pro se asoció a obesidad y mayor porcentaje de grasa visceral, y ese riesgo se ve aumentado por el consumo de hidratos de carbono. Las personas con enfermedades metabólicas requieren tratamientos farmacológicos y dietéticos más personalizados, conocer la estructura genética de esta población puede ayudar a establecer tratamientos que se hayan probado en personas con características similares.

REFERENCIAS

- Aguayo-Armendáriz, J., Montalvo-Corral, M., González-Martínez, K. A., Grijalva-Haro, M. I., Ballesteros-Vásquez, M. N., Caire-Juvera, G., & Moya-Camarena, S. Y. (2018). Central obesity and body fat, but not body mass index, are associated with the Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor γ gene in a population with a high consumption of saturated and trans-fatty acids. *Nutrition Research*, 57, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.05.003>
- Blüher, M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- Carrillo-Venzor, M. A., Erives-Anchondo, N. R., Moreno-González, J. G., Moreno-Brito, V., Licón-Trillo, A., González-Rodríguez, E., Del Carmen Hernández-Rodríguez, P., Reza-López, S. A., Loera-Castañeda, V., & Leal-Berumen, I. (2020). Pro12Ala PPAR- γ 2 and +294T/C PPAR- δ Polymorphisms and Association with Metabolic Traits in Teenagers from Northern Mexico. *Genes*, 11(776). <https://doi.org/10.3390/genes11070776>
- Chtourou, H., Ramón Alvero Cruz, J., Taheri, M., Sérgio Silva, A., RSBd, S., Fkl, B., MFd, S., KdF, S., Suelen Brito da Silva, R., Camati Persuhn, D., Karinny Lemos Barbosa, F., Ferreira de Souza, M., de Farias Sena, K., da Silveira Costa, M., Augusta Maciel Franca, G., Severo de Assis, C., & Alexa Cardoso, G. (2021). Relationship of the Pro12Ala Polymorphism on the PPAR γ 2 Gene With the Body Composition of Practitioners of Cyclic Exercises. *Front. Physiol*, 11(633721). <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.633721>
- Curti, M. L. R., Jacob, P., Borges, M. C., Rogero, M. M., & Ferreira, S. R. G. (2011). Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia, and obesity: Implications for a nutrigenetic approach. *Journal of Obesity*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/497401>
- Dos Santos Rodrigues, A. P., Souza Rosa, L. P., Delleon Da Silva, H., Silveira-Lacerda, E. de P., & Aparecida Silveira, E. (2018). The Single Nucleotide Polymorphism PPAR γ 2 Pro12Ala Affects Body Mass Index, Fat Mass, and Blood Pressure in Severely Obese Patients. *Journal of Obesity*, 2018(2743081), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/2743081>
- Gadde, K. M., Martin, C. K., Berthoud, H. R., & Heymsfield, S. B. (2018). Obesity: Pathophysiology and Management. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(1), 69–84. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.11.011>
- Grygiel-Górniak, B., Kaczmarek, E., Mosor, M., Przystawski, J., & Nowak, J. (2018). Gene-diet-related factors of hyperglycaemia in postmenopausal women. *Journal of Applied Genetics*, 59(2), 169–177. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0434-9>
- Zieleniak, A., Wójcik, M., & Woźniak, L. A. (2008). Structure and physiological functions of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 56(5), 331–345. <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0434-9>
- Kuo, C.-H., Caporossi, D., Korivi, M., Sérgio Silva, A., Alexa Cardoso, G., Camati Persuhn, D., Duarte Ribeiro, M., Rafael Virgínio de Sousa, B., de Farias Sena, K., Eduardo Monteiro de Almeida, A., Modesto-Filho, J., & Suelen Brito da Silva, R. (2020). Pro12Ala Polymorphism on the PPAR γ 2 Gene and Weight Loss After Aerobic Training: A Randomized Controlled Trial. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00385>
- Lamri, A., Abi Khalil, C., Jaziri, R., Velho, G., Lantieri, O., Vol, S., Froguel, P., Balkau, B., Marre, M., & Fumeron, F. (2012). Dietary fat intake and polymorphisms at the PPAR γ locus modulate BMI and type 2 diabetes risk in the D.E.S.I.R. prospective study. *International Journal of Obesity*, 36(2), 218–224. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.91>

- Lapice, E., & Vaccaro, O. (2014). Interaction Between Pro12Ala Polymorphism of PPAR γ 2 and Diet on Adiposity Phenotypes. *Current Atherosclerosis Reports*, 16(12), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11883-014-0462-9>
- Maersk, M., Belza, A., Stødkilde-Jørgensen, H., Ringgaard, S., Chabanova, E., Thomsen, H., Pedersen, S. B., Astrup, A., & Richelsen, B. (2012). Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: A 6-mo randomized intervention study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 95(2), 283–289. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.022533>
- Mollard, R. C., Señéchal, M., MacIntosh, A. C., Hay, J., Wicklow, B. A., Wittmeier, K. D. M., Sellers, E. A. C., Dean, H. J., Ryner, L., Berard, L., & McGavock, J. M. (2014). Dietary determinants of hepatic steatosis and visceral adiposity in overweight and obese youth at risk of type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 99(4), 804–812. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.079277>
- Pérez Lizaur, A. B. (2014). *Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes* (4a ed.). FNS.
- Saraf, N., Sharma, P. K., Mondal, S. C., Garg, V. K., & Singh, A. K. (2012). Role of PPAR γ 2 transcription factor in thiazolidinedione-induced insulin sensitization. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 64(2), 161–171. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01366.x>
- Schetz, M., De Jong, A., Deane, A. M., Druml, W., Hemelaar, P., Pelosi, P., Pickkers, P., Reintam-Blaser, A., Roberts, J., Sakr, Y., & Jaber, S. (2019). Obesity in the critically ill: a narrative review. *Intensive Care Medicine*, 45(6), 757–769. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05594-1>
- Secretaría de Salud. (2011). *Manual de implementación UNEME enfermedades crónicas: sobrepeso, riesgo cardiovascular diabetes*.
- Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity : A comprehensive review. *Comptes Rendus - Biologies*, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2016.11.007>
- Stanhope, K. L., Schwarz, J. M., Keim, N. L., Griffen, S. C., Bremer, A. A., Graham, J. L., Hatcher, B., Cox, C. L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J. P., Seibert, A., Krauss, R. M., Chiu, S., Schaefer, E. J., Ai, M., Otokozawa, S., Nakajima, K., Nakano, T., ... Havel, P. J. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *Journal of Clinical Investigation*, 119(5), 1322–1334. <https://doi.org/10.1172/JCI37385>
- Tayyem, R. F., Al-Radaideh, A. M., Hammad, S. S., Al-Hajaj, S., Allehdan, S. S., Agraib, L. M., Al-Fayomi, K. I., Malkawi, A. A., & Hijawi, N. S. (2019). Subcutaneous and visceral fat volumes measured by MRI and their relationships with nutrient intakes among adults. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 28(2), 300–309. [https://doi.org/10.6133/apjcn.201906_28\(2\).0012](https://doi.org/10.6133/apjcn.201906_28(2).0012)
- The GBD 2015 Obesity Collaborators. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*, 377(1), 13–27. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1614362>
- Zieleniak, A., Wójcik, M., & Woźniak, L. A. (2008). Structure and physiological functions of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 56(5), 331–345. <https://doi.org/10.1007/s00005-008-0037-y>

Aislamiento e identificación del género *Candida* en muestras clínicas de pacientes hospitalizados con COVID-19 de un sanatorio de norte de México

^{1,2*}Alba-Romero José de Jesús, ³Castro-Escarpulli Graciela, ¹Pérez-Morales Rebeca, ¹Calleros-Ricón Esperanza Yasmín, ¹Martínez-Romero Aurora

¹División de Estudios de Postgrado e Investigación. Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED).

²Laboratorio de biología molecular del Sanatorio San José de Gómez Palacio Durango SA de CV

³Laboratorio de Investigación Clínica y Ambiental, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México

*Email: jalbar_2021@hotmail.com

RESUMEN

La asociación entre COVID-19 y la fungemia son multifactoriales como una condición de la severidad de la enfermedad (la mayoría de los pacientes requieren ventilador, monitoreo hemodinámico invasivo y estancia prolongada en la unidad de cuidado intensivos) y el uso de antibióticos y esteroides. Los casos de infecciones secundarias por *Candida* spp. no se han documentado y estos aislamiento se han realizado de hemocultivos, incrementando las infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) por *Candida* en pacientes con COVID-19. El objetivo principal fue describir el panorama epidemiológico de las fungemias en paciente del área COVID. Se sembraron las muestras en medios de cultivo específicos, de los cuales, 135 muestras de diferentes sitios anatómicos en contrando que 44 cepas correspondieron *C. albicans*, representando el 70% del total de las cepas aisladas. El resto de los aislados correspondieron a *C. glabrata* (6 =9.6%), *C. haemulonii* (2=3.2%), *C. krusei* (4=6.4%), *C. tropicalis* (3=4.8%), *C. utilis* (3=4.8%), por lo que se considera que la identificación correcta de las especies es crucial en la vigilancia de las infecciones hospitalarias. *C. albicans* sigue siendo quien predomina en pacientes con COVID-19 y como biota de los hospitales.

INTRODUCCIÓN

La pandemia por Sars CoV-2 agente causa de COVID-19, ha generado estragos a nivel mundial en los sistemas de salud, algunos países como Estados Unidos y China ha hecho énfasis en las infecciones asociadas a la atención en la salud (IAAS) principalmente en pacientes con cuidados críticos. Los casos de infecciones secundarias por *Candida* spp. no se han documentado

y estos aislamientos se han realizado de hemocultivos, incrementando las IAAS por este microorganismo en pacientes con COVID-19 (Escudero X., et al 2021). La coinfección bacteriana y fúngica en adultos hospitalizados con enfermedad por el coronavirus SARS-CoV-2 agente causal del síndrome respiratorio agudo severo es poco conocida. Clínicamente, la diferenciación entre la infección viral aislada relacionada con COVID-19 y la posible infección bacteriana o micótica sobreañadida es un desafío (Hughes S., et al 2020). La asociación entre COVID-19 y la fungemia son multifactoriales como una condición de la severidad de la enfermedad (la mayoría de los pacientes requieren ventilador, monitoreo hemodinámico invasivo y estancia prolongada en la unidad de cuidado intensivos), además previo uso de antibióticos y esteroides (Chowdhury A., 2020). Antes de la llegada del SARS-CoV-2, *C. auris* se consideraba una gran amenaza para la salud mundial debido a las altas tasas de resistencia a los medicamentos y facilidad de transmisión en entornos hospitalarios. De hecho, *C. auris* multidrogoresistente se ha informado en más de 40 países desde su primera descripción hace una década. Así como, el contagio a nivel hospitalario por la COVID-19, las IAAS por *C. auris* es muy frecuente y causa una tasa de mortalidad que oscilan entre el 30% y el 72% (OPS, 2021). *Candida auris* es una levadura emergente resistente a múltiples fármacos que puede causar infecciones invasivas, está asociada con una alta mortalidad y puede diseminarse en entornos de atención médica. Esta levadura se describió por primera vez en 2009 y desde entonces se ha informado en más de 20 países de los cinco continentes. *C. auris* representa una amenaza para la salud mundial (García C. S., et al 2020). Aparentemente, el nuevo coronavirus (SARS-CoV-2) está armado con habilidades especiales para propagar y desregular los mecanismos inmunes. La administración

de antimicrobianos con fines preventivos ha generado primero un incremento en la resistencia bacteriana y la aparición de micosis por hongos filamentosos como el género *Aspergillus*, o levaduras del género *Candida* (Moser B., eta al 2021). Aún no se ha investigado la probabilidad de desarrollo de candidiasis orofaríngea (COF) en pacientes con COVID-19 con una lista de factores de riesgo atribuibles para infecciones orales. Sin embargo, la aparición de levaduras del género *Candida* ha exacerbado la patología de la COVID-19 (NamukobeJ., 2021), por esta razón tienen un riesgo sustancial de desarrollar candidiasis de las mucosas, OPC podría ser una probable causa de morbilidad en estos pacientes que comienza con la colonización de la especie *Candida* en la mucosa oral. Otros investigadores han encontrado configuraciones heterogéneas del microbioma fecal, con enriquecimiento de patógenos fúngicos de los géneros *Candida* y *Aspergillus*, durante la hospitalización de 30 pacientes con COVID-19; los microbiomas intestinales inestables y la disbiosis prolongada persistieron en un subconjunto de pacientes con COVID-19 hasta 12 días después del aclaramiento nasofaríngeo del SARS-CoV-2 (Zuo T., 2020).

El número de pacientes inmunodeprimidos y la aspergilosis invasiva subsiguiente sigue aumentando; un diagnóstico rápido y confiable que incluye la identificación correcta del patógeno se volvió muy complejo. El cultivo y el examen microscópico siguen siendo el “estándar de oro”, pero son insensibles. El

hallazgo de *Aspergillus* del esputo no necesariamente indica infección y las manifestaciones clínicas son inespecíficas (Las-Flörl C., 2019). Sin embargo, es muy común aislarlo en IAAS y sobre todo en pacientes con COVID-19 tiene impacto epidemiológico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 135 muestras clínicas de pacientes con COVID-19 y de cuidados intensivos con el mismo padecimiento de abril a diciembre de 2020 en sanatorio del norte de México, los cuales se clasificaron por sitio anatómico. Se sembraron en medios de cultivo específicos, como el agar Mac Conkey, agar Biggy, y agar Casman con sangre para bacterias y levaduras respectivamente. Se incubaron entre 18 y 24 h a 36.5 °C. Los hemocultivos se incubaron en sistema automatizado BACT/ALERT® 3D 60. Los hemocultivos positivos se resembraron en los mismos medios de cultivo. Todos los procedimientos se realizaron en cabina de bioseguridad Clase IIA, Figura 1. Al obtener los crecimientos bacterianos y fúngicos se procedió a tipificar los géneros y especies respectivamente, así como, la sensibilidad a los antimicrobianos y antifúngicos se realizó por el método Vitek 2 de Biomérieux. La interpretación de los géneros especies fue por porcentaje de probabilidad, siendo el más alto 99%, y la sensibilidad a los antimicrobianos fue por concentración mínima inhibitoria bajo los criterios de CLSI.

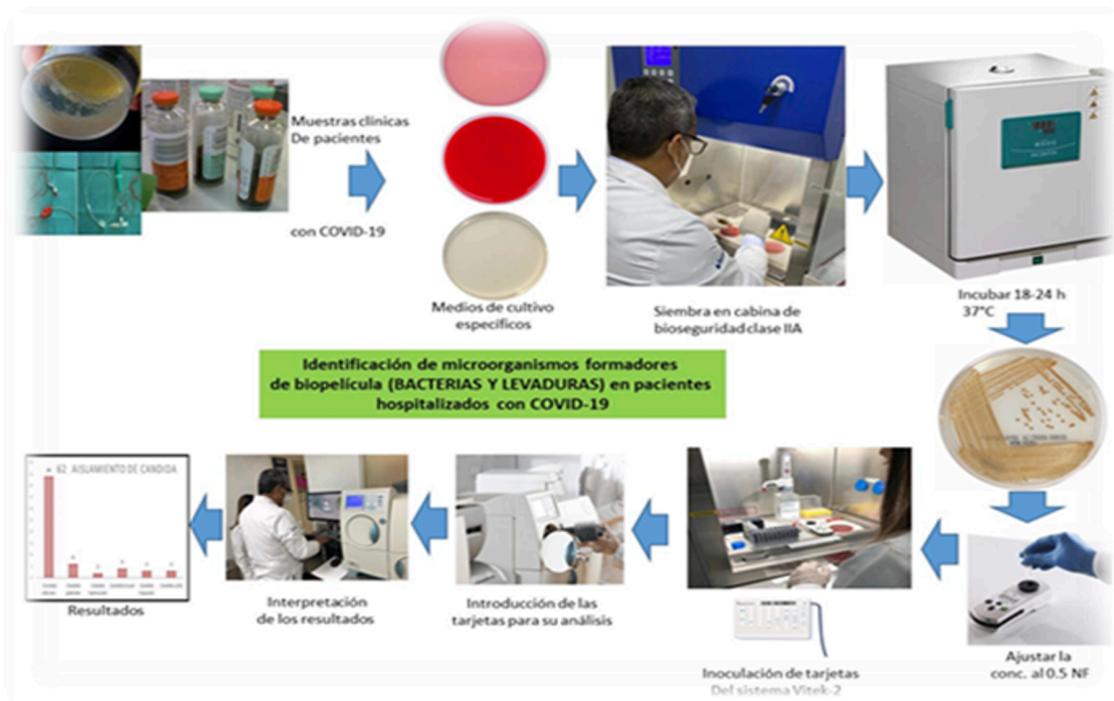


Figura 1. Protocolo general para aislamiento e identificación de *Candida* y sus especies.

RESULTADOS

De las 135 muestras clínicas de diferentes sitios anatómicos para el análisis microbiológico por el método descrito e identificadas por el sistema VITEK 2 de Biomerieux. Al clasificar las muestras por sitio anatómico, se obtuvo 58 hemocultivos, 38 muestras de expectoración, 19 puntas de catéter, 5 muestras de orina, y 5 de secreción orofaríngea, **Figura 2.**



Figura 2. Muestras analizadas para búsqueda del género *Candida* por sitio anatómico.

Se aislaron 62 cepas del género *Candida* correspondiendo al 45.9% de las muestras analizadas, además 44 cepas correspondieron *C. albicans*, representando el 70% del total de las cepas aisladas. El resto de los aislados correspondieron a *C. glabrata* (6 =9.6%), *C. haemulonii* (2=3.2%), *C. krusei* (4=6.4%), *C. tropicalis* (3=4.8%), *C. utilis* (3=4.8%), **Figura 3.** Se aislaron 4 hongos filamentosos los cuales, fueron identificados como *Aspergillus terreus* (1) y *Aspergillus niger* (3).

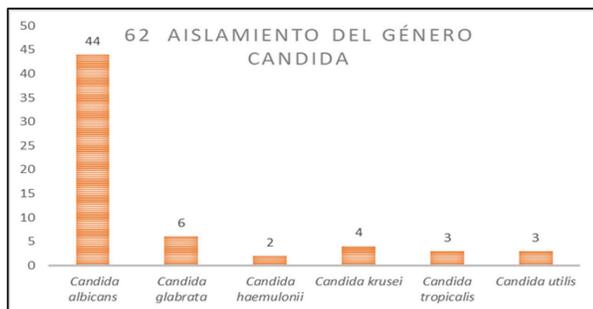


Figura 3. Número de aislamientos por género y especie

DISCUSIÓN

En el estudio se analizaron 135 muestras clínicas para estudio bacteriológico de pacientes con Covid-19. El objetivo del estudio fue analizar la frecuencia de aislamientos del género *Candida* y sus especies como agentes coinfectantes, debido a que no se describe la importancia de este género. El género *Candida* al igual que las bacterias, han desarrollado mecanismos eficientes de resistencias a los antifúngicos, tal el caso de

C. auris, lo cual coincide con los trabajos de Ahmad, S. et al (2019) al describir como hecho tiene importancia a nivel de infecciones asociadas a la atención en la salud. Sin embargo en nuestro caso no aislamos a *C. auris* pero aislamos a *C. haemulonii*, pero se considera que se debe hacer énfasis en estos aislamiento porque los sistemas Vitek 2 de Biomerieux no identifica a *C. auris* y los géneros *haemulonii* los reporta comúnmente en lugar de *C. auris*, tal como los describe Ambaraghassi, G. et al (2019) al afirmar que los sistemas de identificación comercial automatizados se basan en tarjetas desechables que contienen varias pruebas bioquímicas convencionales incorporadas en pocillos de microtitulación que se utilizan para identificar un microorganismo. Estos sistemas no incluyen a *C. auris* en sus bases de datos y, por lo tanto, pueden identificarla incorrectamente, informado a *C. auris* como *Candida haemulonii*, *Candida duobushaemulonii*, *Candida famata* y *Rhodotorula glutinis* tal como lo afirma Ambaraghassi G., (2019). El mayor número de aislamiento *Candida*, fue de la especie *albicans* con un 70% lo que indica que *C. albicans* sigue predominando en áreas hospitalarias representando un riesgo para los pacientes inmunocomprometidos, lo cual coincide con los trabajos realizados por Salehi M. et al (2020). Se han obtenido resultados similares a los obtenidos en el estudio y afirman la importancia de realizar más estudios para diseñar un programa de profilaxis apropiado y mejorar el manejo de coinfección por hongos en pacientes con COVID-19 críticamente enfermos, así lo describe Salehi M, (2020).

CONCLUSIONES

La búsqueda del género *Candida* y sobre todos sus especies, es de importancia epidemiológica a fin de establecer un manejo adecuado de pacientes crítico sobre todo aquellos que desarrollan síndrome respiratorio agudo por COVID-19 ya que se exaserva la morbilidad e incrementa el riesgo de morbilidad por coinfección con *C. auris* que es multirresistente. La identificación correcta de las pecies es crucial en la vigilancia de las infecciones hospitalarias. *C. albicans* sigue siendo quien predomina en pacientes con COVID-19 y como biota de los hospitales.

REFERENCIAS

- Escudero, Xavier, Guarner, Jeannette, Galindo-Fraga, Arturo, Escudero-Salamanca, Mara, Alcocer-Gamba, Marco A., & Río, Carlos Del. (2020). La pandemia de Coronavirus SARS-CoV-2 (COVID-19): Situación actual e implicaciones para México. *Archivos de cardiología de México*, 90(Supl. 1), 7-14. Epub 24 de marzo de 2021. <https://doi.org/10.24875/acm.m20000064>.
- Hughes, S., Troise, O., Donaldson, H., Mughal, N. y Moore, L. (2020). Cohorte bacteriana y micótica entre pacientes hospitalizados con COVID-19: un estudio de cohorte retrospectivo en un entorno de atención secundaria del Reino Unido. *Microbiología clínica e infección: publicación oficial de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas*, 26 (10), 1395-1399. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.025>.
- Chowdhary, A., & Sharma, A. (2020). The lurking scourge of multidrug resistant *Candida auris* in times of COVID-19 pandemic. *Journal of global antimicrobial resistance*, 22, 175-176. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.06.003>.
- Organización Panamericana de la Salud. (2021). *Candida auris*, un patógeno emergente. Acciones y prevención en Colombia. 6 febrero de 2021. <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-brotos-candida-auris-servicios-atencion-salud-contexto-pandemia>.
- García, C. S., Palop, N. T., Bayona, J., García, M. M., Rodríguez, D. N., Álvarez, M. B., Serrano, M., & Cardona, C. G. (2020). *Candida auris*: report of an outbreak. *Candida auris*: descripción de un brote. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)*, 38 Suppl 1, 39-44. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.007>.
- Moser, D., Biere, K., Han, B., Hoerl, M., Schelling, G., Choukér, A., & Woehrle, T. (2021). COVID-19 Impairs Immune Response to *Candida albicans*. *Frontiers in immunology*, 12, 640644. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.640644>
- Namukobe, J., Sekandi, P., Byamukama, R., Murungi, M., Namboze, J., Ekyibetenga, Y., Nagawa, C. B., & Asiiimwe, S. (2021). Antibacterial, antioxidant, and sun protection potential of selected ethno medicinal plants used for skin infections in Uganda. *Tropical medicine and health*, 49(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s41182-021-00342-y>.
- Zuo, T., Zhan, H., Zhang, F., Liu, Q., Tso, E., Lui, G., Chen, N., Li, A., Lu, W., Chan, F., Chan, P. y Ng, SC (2020). Alteraciones en el microbioma fúngico fecal de pacientes con COVID-19 durante el tiempo de hospitalización hasta el alta. *Gastroenterología*, 159 (4), 1302-1310.e5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.06.048>.
- Lass-Flörl C. (2019). How to make a fast diagnosis in invasive aspergillosis. *Medical mycology*, 57(Supplement_2), S155-S160. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy103>.
- Ambaraghassi, G., Dufresne, PJ, Dufresne, SF, Vallières, É., Muñoz, JF, Cuomo, CA, Berkow, EL, Lockhart, SR y Luong, ML (2019). Identificación de *Candida auris* mediante el uso del sistema de identificación de levadura Vitek 2 actualizado, versión 8.01: un estudio de evaluación multilaboratorio. *Revista de microbiología clínica*, 57 (11), e00884-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00884-19>.
- Salehi, M., Ahmadikia, K., Mahmoudi, S., Kalantari, S., Jamalimoghadasiahkali, S., Izadi, A., Kord, M., Dehghan Manshadi, S. A., Seifi, A., Ghiasvand, F., Khajavirad, N., Ebrahimi, S., Koohfar, A., Boekhout, T., & Khodavaisy, S. (2020). Oropharyngeal candidiasis in hospitalised COVID-19 patients from Iran: Species identification and antifungal susceptibility pattern. *Mycoses*, 63(8), 771-778. <https://doi.org/10.1111/myc.13137>.

Identificación de comunidades bacterianas intracelulares y fenotipo de *Escherichia coli* en infecciones crónicas del tracto urinario

^{1,2*}Alba-Romero José de Jesús, ¹Márquez-Hidrogo Joel, ¹Delgado-Zamago Nallely Alejandra, ¹Calleros-Ricón Esperanza Yasmín, ¹García-Lujan Concepción, ¹Martínez Romero Aurora

¹División de Estudios de Postgrado e Investigación. Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED).

²Laboratorio de Análisis Clínicos Asesores Especiales de La Laguna

*Email: Josedejesus.alba@ujed.mx

RESUMEN

En la actualidad las infecciones de vías urinarias por cepas bacterias patogénicas son un problema de salud debido a la alta resistencia a antibióticos, no solo por la presencia de enzimas como las lactamasas, sino también por estructuras como el biofilm. Las infecciones por *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC), representan un riesgo para la salud humana porque esta bacteria tiene la capacidad de formar la estructura conocida como biopelícula. La biopelícula es una comunidad de bacterias, que se caracteriza por la unión entre ellas. Las etapas de formación de la biopelícula son adhesión, colonización, maduración y dispersión. Una vez que las bacterias se encuentran inmersas en esta matriz extracelular de sustancias polimerizadas producidas por ellas, presentan un fenotipo que modifica su índice de crecimiento, debido a los cambios en la transcripción de sus genes y puede contribuir a la evasión de la respuesta inmune del huésped. A la fecha no existe un método que permita identificar de manera rápida la presencia de bacterias como UPEC formadoras de biopelícula, lo que permitiría aplicar y desarrollar mejores tratamientos. Por esta razón, en este trabajo, se propone el diseño de un método que permita la identificación de la presencia de biopelícula, a través de la tinción de Gram y el método de fluorescencia.

INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS) relevante, siendo más frecuente en áreas de pacientes críticos y fundamentalmente relacionada al uso de catéteres urinarios o instrumentalización de la vía urinaria (Durán, 2018). Estas afectan a hombres y mujeres de todas las edades y varían ampliamente en sus presentaciones clínicas y en sus secuelas. En la mayoría de los casos las infecciones urinarias son

producidas por bacterias y en menor proporción por virus y hongos (Cáceres, 2019). Se destaca que la mayoría de los patógenos urinarios forman parte de la microbiota intestinal normal y cuentan con factores de virulencia que le permiten colonizar el periné en la mujer y el prepucio en el hombre, para luego ascender a la vejiga y al riñón (Pinzón *et al.*, 2018). La ITU se encuentra dentro de las infecciones bacterianas más comunes, afectando aproximadamente a 150 millones de personas por año en todo el mundo. (Pérez *et al.*, 2022). En los últimos años se ha descrito un aumento progresivo de la resistencia a los antibióticos empleados como tratamiento empírico de ITU (Aguinaga *et al.*, 2018). Debido a que los factores de riesgo pueden tener variaciones entre diferentes áreas geográficas en el mundo o entre países desarrollados y no desarrollados, se hace necesario identificar qué factores de riesgo pueden estar participando en nuestra realidad local (Véliz *et al.*, 2020). La mayoría de las infecciones urinarias son causadas por anaerobios facultativos generalmente originarios de la flora intestinal (Guzmán y García, 2019). La *Escherichia coli* (*E. Coli*) es el agente causal más común de las infecciones del tracto urinario, representa el 85% de las adquiridas en la comunidad y el 50% de las nosocomiales (Guzmán y García, 2019). El 10 a 14% restante se distribuye mayoritariamente entre *Klebsiella spp*, *Proteus (vulgaris y mirabilis)*, *Enterobacters spp*, *Enterococcus spp* y *Pseudomona spp*. (Elías *et al.*, 2021). Existe poca información acerca de la asociación de la ITU con la infección con *Gardnerella vaginalis*, esta se ha aislado por aspiración de la vejiga en la orina de pacientes con nefropatía por reflujo y de sujetos con síntomas agudos de ITU (Pinzón *et al.*, 2018). La *Candida albicans* y otras especies no son causas frecuentes de ITU en individuos sanos, pero es común que lo sean en pacientes hospitalizados (10-15%) portadores de sonda vesical, enfermedades predisponentes o anomalías estructurales del riñón y del sistema colector (Pinzón *et al.*, 2018).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 361 muestras de orina de pacientes con diagnóstico de ITU, a las cuales se les realizó examen general de orina. Se realizó el examen químico por el método automatizado de Clinitek Status y con tiras de orina SG10 de Siemens. El sedimento se analizó con tinción de Sternheimer-Malbin para observación de elementos formes en orina. Del mismo sedimento se realizó un extendido, el cual se dejó secar al medio ambiente y posteriormente ser teñido por la tinción de Gram para la observación de bacterias y células proinflamatorias. Del sedimento también se realizó otro extendido para ser teñido por con colorante fluorescente de SYPRO® Ruby Matrix Stain de Invitrogen en ausencia de luz para la observación de biopelícula, para esta tinción se fija la muestra al termoblock a 37 °C, se adicionan 200µL de la solución para tinción en la muestra de biofilm. Adicionar muy suavemente para no alterar el biofilm. Agregue el colorante inmediatamente antes de que el biofilm se seque, incubar la muestra por 30 minutos a temperatura ambiente, protegido de la luz, se enjuaga la muestra gentilmente con agua destilada,

removiendo todo el exceso de colorante de la base del material de soporte, observar utilizando objetivo de 40X, y con una fluorescencia de excitación/emisión máxima aproximada: 280, 450/610nm. Para la identificación bacteriana, se inocularon los medios cultivo como agar Mac Conkey, agar Casman con sangre, posteriormente se incubaron durante la noche a 36.5°C, una vez que se obtuvieron los crecimientos bacterianos, se utilizó el sistema automático con el sistema automatizado de Vitek 2 de Biomerieux para identificar los fenotipos bacterianos y la prueba de sensibilidad a fármacos por concentración mínima inhibitoria.

RESULTADOS

Se analizaron 361 muestras de orina de pacientes con diagnóstico de ITU procedentes de San José Sanatorio de Gómez Palacio Durango SA de CV. Solo 225 presentaron el fenotipo *Escherichia coli*; el resto fueron otros morfotipos bacterianos. De las muestras positivas para *Escherichia coli*, fueron 132 mujeres, 45 hombres, 22 adolescentes, 26 niños **Figura 1**.

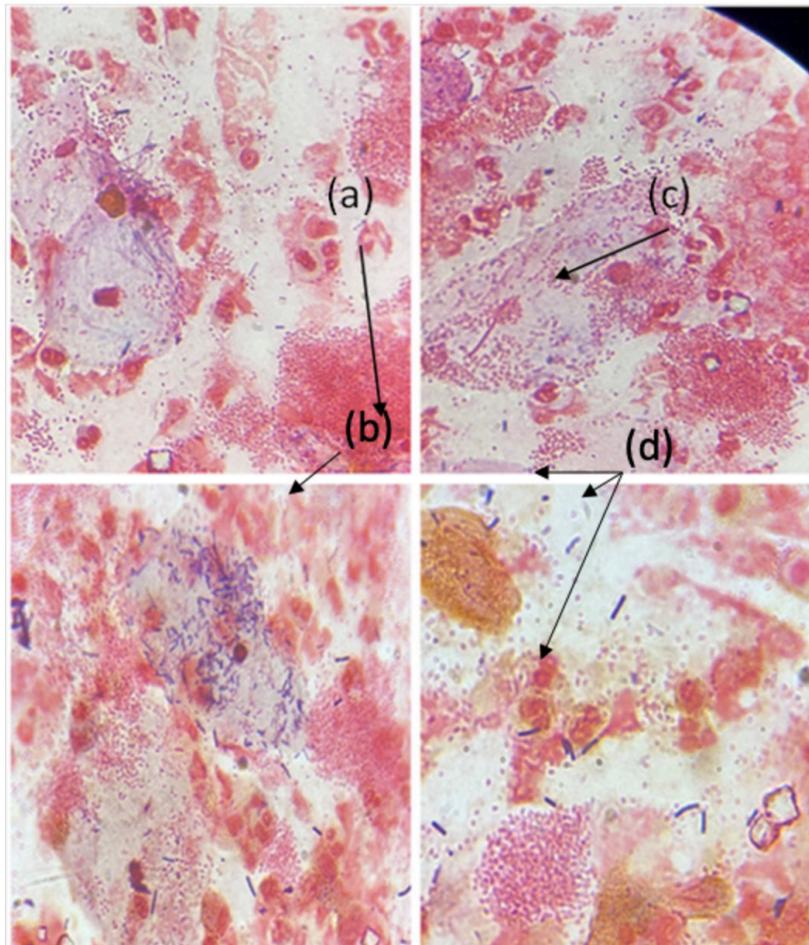
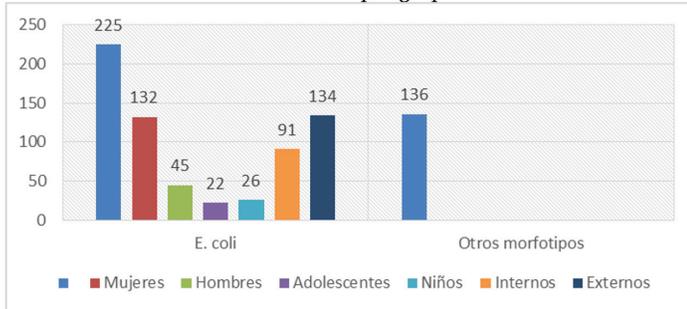


Figura 1. Frotis con tinción de Gram, observándose nichos bacterianos (a), comunidades bacterianas intracelulares (b), células inflamatorias (c) y filamentos bacterianos (d).

Al clasificar las muestras por su origen, fueron 91 hospitalizados y 134 pacientes externos. La observación de las formas filamentosas de las bacterias observadas en el frotis fueron 161 muestras que presentaron bacilos Gram negativos con formas filamentosas y 64 frotis no presentaron esta característica **Tabla 1**.

Tabla 1. Clasificación de las muestras por grupos etarios



Determinación de la presencia de biopelícula por el método de tinción SYPRO® Ruby Matrix Stain de Invitrogen, donde se encontró que 86 muestras dieron positiva la fluorescencia y 5 muestras negativas en los pacientes internos y en los pacientes externo 62 muestras dieron positiva la fluorescencia y 36 fueron negativas tal como se muestra en la **Figura 2**.

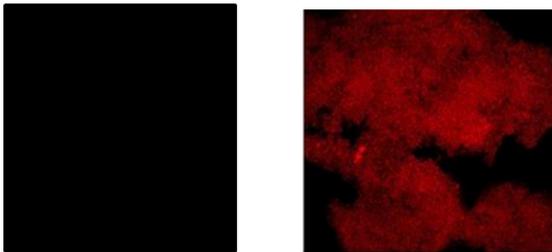


Figura 2. Prueba de fluorescencia negativa en color oscuro y prueba positiva en color rojo.

En la identificación de los fenotipos bacterianos por el sistema Vitek 2, mostró que la incidencia de *E. coli* fue la más alta siendo del 62.4% como se muestra en la **Tabla 2**. Los fenotipos de *E. coli* identificados, la prueba de sensibilidad a fármacos se clasificó en que 45 muestras mostraron resistencia a 3 antibióticos, 37 muestras a 4 antibióticos, 46 muestras a 5 antibióticos, 44 muestras a 6 antibióticos y 7 muestras a 18 antibióticos.

Tabla 2. Identificación de los fenotipos bacterianos

Fenotipos bacterianos	Incidencia en porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	62.4 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13.3 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	4.4 %
<i>Serratia marscesens</i>	2.3 %
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1.1 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.8 %
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	6.9 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	8.8 %

Discusión

En el estudio realizado se pudo clasificar el origen de las ITU de pacientes internos y externos para establecer epidemiológicamente los factores de riesgo asociados a este factor. Sin embargo, se observa que hay una relación entre la resistencia y la formación de biopelícula, la cual es mayor en pacientes hospitalizados sin embargo, los pacientes externos principalmente mujeres embarazadas y personas de la tercera edad muestran un patrón similar a los pacientes hospitalizados, lo cual impacta la calidad de vida de los pacientes, así lo describe Hughes (2021) al afirmar que para los pacientes, las infecciones recurrentes del tracto urinario pueden ser una carga perjudicial, difícil de manejar socioeconómicamente en los sistemas de salud afectando de manera sustancial. Además de afectar a la población adulta, se ha establecido la alta frecuencia de las ITU en pacientes pediátrico y su diagnóstico no es tan sencillo, debido a la complejidad en la toma de muestra adecuada para el análisis, coincidiendo con lo reportado por Korbel y colaboradores, (2017) al afirmar que las infecciones bacterianas son una de las más frecuentes y graves a las que se enfrentan los pediatras y los médicos de atención primaria aunque el diagnóstico y el tratamiento de la ITU parecen simplistas, siguen estando entre los temas más polémicos en pediatría. *Escherichia coli* es el patógeno más común asociado a ITU. La identificación de las

formas filamentosas de *Escherichia coli* y la presencia de Biopelícula (poblaciones bacterianas intracelulares) están asociadas a la fase crónica de la enfermedad, tal como lo describe Chakrabarty y colaboradores (2022). al afirmar que las infecciones recurrentes del tracto urinario son difíciles de tratar y disminuyen la calidad de vida. *Escherichia coli* es el patógeno con mayor incidencia de casos asociados a bacteriuria sintomática como asintomática que evoluciona bajo condiciones de inmunosupresión y estados fisiológicos como los ya mencionados lo cual, coincide con los trabajos de Kalinderil y colaboradores (2018), al afirmar que la infección bacteriana más común en el embarazo, lo que aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad materna y neonatal.

Las infecciones del tracto urinario pueden presentarse como bacteriuria asintomática, cistitis aguda o pielonefritis. En el estudio la observación al microscopio de las formas filamentosas de las bacterias en el sedimento urinarios y los parámetros de estersa leucocitaria, pH y nitritos nos sugieren probable ITU, sin embargo, las ITU tienen una evolución que puede llegar a ser compleja para el paciente, además la relación entre la filamentación bacteriana y la formación de biopelícula están relacionadas con la resistencia a fármacos. Yamamura y colaboradores, (2022), establecen de igual manera la relación de por lo menos 6 factores de virulencia de *Escherichia coli* con la sintomatología, la presencia de leucocitos polimorfonucleares y la resistencia a los antibióticos en ITU. La resistencia a los antibióticos en el estudio fue alta y tiene relación directa con la formación de biopelícula y la fase crónica de la ITU, estos hallazgos coinciden con los descritos por Wang y colaboradores, (2020) al afirmar en sus estudios realizados que la producción de factores de virulencia están relacionados con la resistencia a fármacos, Sharma y colaboradores, (2016) determinan que la comunicación bacteriana intra biopelícula, son la clave para el desarrollo de las ITU crónicas y sobre todo la resistencia al sistema inmune y antibióticos. Por medio del estudio aportamos conocimiento y proponemos que la búsqueda dirigida de los parámetros descritos ayudaremos al clínico a la prevención de las ITU crónicas y al tratamiento correcto.

CONCLUSIÓN

La búsqueda dirigida de los parámetros químicos, descripción de los patrones celulares del tracto urinario, la evidencia de la biopelícula en fresco y la resistencia a fármacos y la determinación de Beta Lactamasas de espectro extendido (BLEE) son la clave para la prevención de las ITU y la evolución de a la cronicidad.

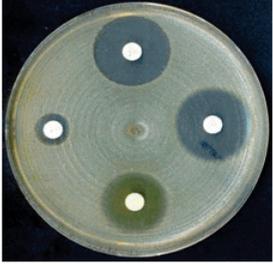
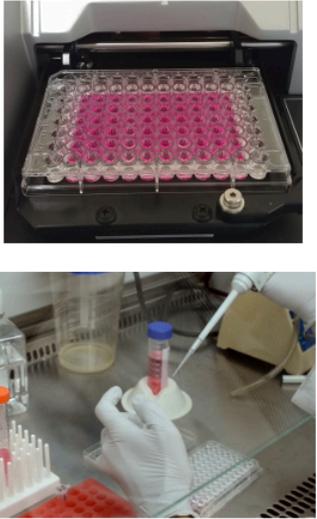
REFERENCIAS

- Aguinaga, A., Gil-Setas, A., Mazón Ramos, A., Alvaro, A., García-Irure, J. J., Navascués, A., & Ezpeleta Baquedano, C. (2018). Infecciones del tracto urinario. Estudio de sensibilidad antimicrobiana en Navarra [Uncomplicated urinary tract infections. Antimicrobial susceptibility study in Navarre]. *Anales del sistema sanitario de Navarra*, 41(1), 17-26.
- Cáceres, Rolando. (2019). Perfil de sensibilidad de *Escherichia coli* aislados de infecciones del tracto urinario de pacientes del Hospital Regional de Villarrica en el periodo de julio 2013 a agosto 2015., (52), pp. 17-22.
- Durán, Luisa. (2018). Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones del tracto urinario. *Med. Clin. Condes*, (29), pp.213-221.
- Elías, Y., Sánchez, M. R., Sánchez, Y. Y., Tamayo, A., Hernández, B. M. (2021). Factores de riesgo que influyen negativamente en la efectividad del tratamiento de la infección urinaria. *Multimed*, (25).
- Guzmán N. & García-Perdomo H. A. Novedades en el diagnóstico y tratamiento de la infección de tracto urinario en adultos. *Rev Mex Urol*. 2019;79(6): pp 1-14.
- Hevia, J., P. Alarcón, O., C. González, C., C. Nazal, Ch., V. Rosati, M., M. Pía. (2020). Recomendaciones sobre diagnóstico, manejo y estudio de la infección del tracto urinario en pediatría. Rama de Nefrología de la Sociedad Chilena de Pediatría. Parte 1. *Chilena de pediatría*, (91).
- Kalinderi, K., Delkos, D., Kalinderis, M., Athanasiadis, A., & Kalogiannidis, I. (2018). Urinary tract infection during pregnancy: current concepts on a common multifaceted problem. *Journal of obstetrics and gynaecology: the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology*, 38(4), 448-453.

- Pérez, T., Agüero, M., Troz, I. (2022). Tratamiento y profilaxis de la infección urinaria recurrente en la mujer. *Medica Sinergia*, (7).
- Pinzón-Fernández MV, Zúñiga-Cerón LF, Saavedra-Torres JS. [Urinary tract infection in children, one of the most prevalent infectious diseases]. *Rev. Fac. Med.* 2018;66(3):393-8.
- Sante, L., Lecuona, M., Aguirre, A., Arias, Á. (2019). Factores de riesgo en bacteriemias nosocomiales secundarias a ITU en un hospital terciario. *Sociedad Española de Quimioterapia*, (32(4)), pp. 311-316.
- Tandogdu, Z., & Wagenlehner, F. M. (2016). Global epidemiology of urinary tract infections. *Current opinion in infectious diseases*, 29(1), 73-79.
- Véliz, E., & Vergara, T. (2020). Factores de riesgo para infección del tracto urinario asociado al uso de catéter urinario permanente en pacientes adultos hospitalizados [Risk factors for urinary tract infection associated with the use
- Víquez, M., Chacon, C., Rivera, S. (2020). Infecciones del tracto urinario en mujeres embarazadas. *Revista Médica Sinergia*, (5). of urinary catheters in hospitalized adult]. *Revista chilena de infectología: organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 37(5), 509-514.
- Zboromyrska Y, de Cueto López M, Alonso-Tarrés C, Sánchez-Hellín V. 2019. 14b. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. Zboromyrska Y (coordinadora). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Micro-biología Clínica (SEIMC). 2019.

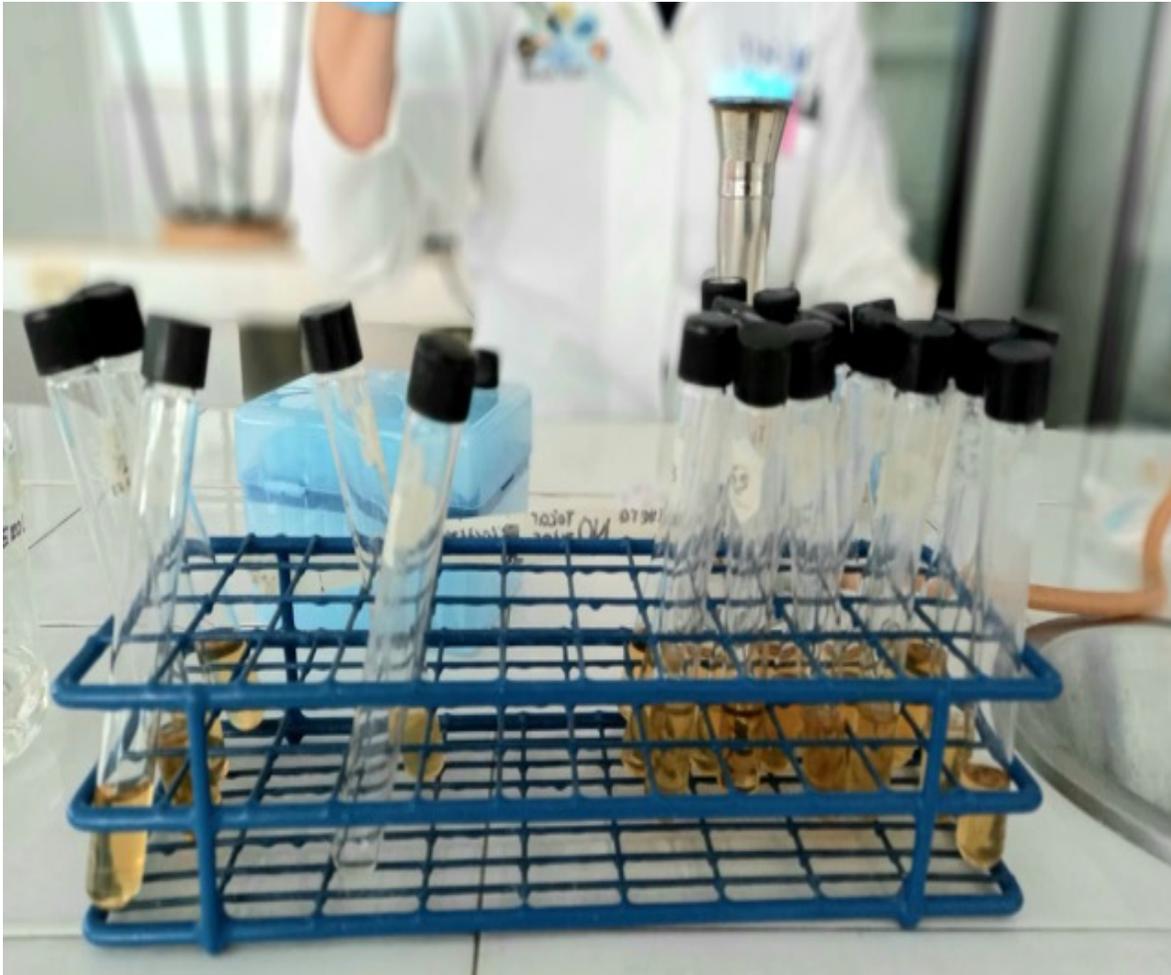
Cuerpo Académico UJED-CA-125 Bacteriología médica diagnóstica y salud pública

LGAC: Factores de virulencia y drogosensibilidad de las enfermedades infecciosas y salud pública

Nombre del proyecto	Investigador responsable	
Brucelosis	Dra. Aurora Martínez Romero	
Tuberculosis		
Leucemia		
<p>Determinación de metales pesados en cápsulas de gelatina dura y blanda para uso farmacéutico</p>	Dra. Sandra Hernández Hernández	
<p>Aislamiento e identificación de microorganismos nosocomiales más frecuentes y análisis de sus factores de virulencia</p> <p>Análisis de los factores de crecimiento obtenido de plasma rico en plaquetas y fibrina rica en plaquetas con leucocitos y su efecto inhibitor en microorganismos de importancia clínica</p>	Dr. José de Jesús Alba Romero	

MICROBIOLOGÍA

(Clínica, Veterinaria, Vegetal)



*“Saber es acordarse”
Aristóteles (384-322 a. C.); filósofo griego.*

Susceptibilidad en cepas bacterianas que afectan el tracto urinario ante extractos vegetales de *Prosopis glandulosa*

¹Avila-Reza CN, ¹Michel-Guzmán MS, ¹Favela-Hernández JMJ, ¹Avalos-Soto J, ¹Téllez-López MA, ¹*García-Luján C

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 S/N Fracc. Filadelfia Gómez Palacio Dgo. C.P. 35010

*Email: concepción.garcia@ujed.mx

RESUMEN

En la actualidad surgen un gran número de infecciones por agentes patógenos resistentes a los antibióticos. Por lo que la medicina tradicional es una excelente opción para coadyuvar al control de las infecciones. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antibacteriana de los extractos hexánico, clorofórmico y etanólico de hojas de *Prosopis glandulosa* sobre cepas de *E.coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* RM ATCC BAA-44, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. maltophilia* ATCC 13637, *K pneumoniae* ATCC 700603 y aislados clínicos (N=3) por el método de microdilución. Los resultados indicaron que el extracto hexánico mostró una CMI de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ frente a las cepas ATCC *E. coli* y *E. faecalis* y para aislados clínicos $>500 \mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente, mientras que el extracto clorofórmico mostró valores de CMI en el rango de 500 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* RM, *E. faecalis* de ATCC y para aislados clínicos los valores de CMI en el rango de 500 a 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. **En el caso del extracto etanólico, los valores de CMI están de igual manera en el rango de 500 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para cepas ATCC de *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* RM, *E. faecalis* y *K. pneumoniae* y para aislados clínicos los valores de CMI se mantuvieron en el rango de 500 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La levofloxacina se usó como referencia. Se concluye que los extractos clorofórmicos y etanólico son los más activos por su espectro bacteriano.**

Palabras claves: Antibacteriano, fármaco-resistencia, *Prosopis glandulosa*.

ABSTRACT

At present a large number of pathogenic infections arise caused by resistant pathogens agents. That's why the traditional medicine is an excellent option to fight infections. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of the hexanic, chloroform and ethanolic extracts from leaves of *Prosopis glandulosa* against *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* MRSA ATCC BAA-44, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. maltophilia* ATCC 13637, *K. pneumoniae* ATCC 700603 and Clinical Isolated (N=3) by the microdilution method. The results indicated that the hexane extract showed a MIC of 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ against ATCC strains of *E. coli* and *E. faecalis* and clinical isolates MIC values of 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, while the chloroform extract showed MIC values in the range 500 to 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for ATCC strains of *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *E. faecalis* and clinical isolates MIC values in the range of 500-125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. For the ethanol extract, the MIC values are likewise in the range of 500-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for ATCC strains of *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA, *E. faecalis* and *K. pneumoniae*, for clinical isolates MIC values in the range of 500-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Levofloxacin was used as reference. It is concluded that chloroform and ethanol extracts are the most active for its bacterial spectrum.

Keywords: Antibacterial, drug resistance, *Prosopis glandulosa*.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones en el tracto urinario son comúnmente encontradas en pacientes de las comunidades como también en los hospitales. Estas pueden ser complicadas o no complicadas, las no complicadas afectan a individuos que generalmente se encuentran sanos los cuales no presentan anormalidades estructurales del tracto urinario. Las infecciones son una de las principales amenazas a la salud pública mundial debido a la amplia resistencia de los agentes infecciosos, entre las infecciones más comunes se encuentran las del tracto urinario que comprenden una gran variedad de cuadros clínicos, cuyo denominador común es la proliferación de algunas especies uropatógenas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella pneumoniae*. Pueden conducir al deterioro de la función renal y ser la puerta de entrada de bacteriemias y sepsis (Rangel et al., 2001). Se han hecho estudios con las muestras de orina de pacientes con infecciones en el tracto urinario y por medio de un urocultivo ha denotado una mayor incidencia de *Escherichia coli* en la orina con un 90% de incidencia en los cultivos positivos (Kornfält-Isberg, Melander, Hedin, Mölsted, & Beckman, 2019). Se han realizado estudios de susceptibilidad a los organismos productores de beta lactamasas de espectro extendido, y los aislamientos de *E. coli* frecuentemente presentan resistencia a antibióticos (Ponce-de-Leon et al., 2018).

Por otro lado, los principios bioactivos generados por el metabolismo secundario de las especies vegetales provocan cambios fisiológicos sobre los organismos que las consumen o las utilizan, los compuestos orgánicos bioactivos como terpenos, terpenoides, flavonoides, lactonas y alcaloides son producidos por las plantas de uso medicinal y están presentes en sus aceites esenciales y extractos (González-Elizondo, López-Enriquez, González Elizondo, & Tena-Flores, 2004; Mittal & Nanda, 2017; Perczak et al., 2018).

Dichos compuestos bioactivos han captado el interés de la industria farmacéutica debido a su potencial como materia prima para la producción de medicamentos o como base para la síntesis de nuevas moléculas medicamentosas, así que actualmente se llevan a cabo investigaciones acerca de los diversos efectos que muestran estos compuestos y su presencia en las plantas medicinales (González-Elizondo et al., 2004; Suurbaar, Mosobil, & Donkor, 2017).

El *Prosopis* spp. o mezquite es un arbusto de crecimiento rápido, resistente, perenne, y que se distribuye en las zonas semiáridas de todo el mundo. El *Prosopis* cuenta con más de 50 especies y se estima que en México hay cerca de 4 millones de hectáreas de mezquite distribuidos principalmente en las regiones áridas y semiáridas del país, donde *Prosopis leavigata* y *Prosopis glandulosa* representan las especies más importantes. La importancia ecológica de esta especie radica en que funge como planta fijadora de nitrógeno, enriquece el suelo, promueve el crecimiento de matorrales asociados a ella, por su sistema radicular ayuda a retener la humedad y previene la erosión del suelo (Armijo, 2019).

Ante la problemática ya descrita, se propone una vía de acción que es promover el uso de compuestos naturales como una alternativa o un complemento a los antibióticos utilizados para el tratamiento de las infecciones, lo que reducirá la exposición que los agentes patógenos tienen ante los medicamentos contra los que podrían volverse resistentes, al igual que ofrecería una mayor variedad de alternativas que podrían ser más económicas o efectivas que los antibióticos existentes (Hacioglu, Dosler, Birteksoz-Tan, & Otuk, 2017).

El objetivo del presente estudio es evaluar la actividad antibacteriana de los extractos vegetales del mezquite (*Prosopis glandulosa*) ante cepas ATCC y aislamientos clínicos de bacterias que afectan el tracto urinario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Las hojas de *P. glandulosa* se recolectaron en el Municipio de San Ignacio en el Estado de Durango. La planta fue identificada por el encargado del herbario M.C. Eduardo Blanco Contreras, en la Universidad Autónoma Agraria, Antonio Narro Unidad Laguna, ubicada en la Carretera a Santa Fé y Periférico Raúl López Sánchez C.P. 27059 Torreón, Coah., Mex.

Preparación de los extractos vegetales

Se prepararon extractos hexánicos, clorofórmico y etanólico, las hojas secas de *P. glandulosa* (500 g) se limpiaron y trituraron en un mortero hasta obtener fragmentos pequeños, se colocaron en un matraz Erlenmeyer para posteriormente adicionar 2 litros de cada solvente por separado, para iniciar la extracción por medio de maceración durante 72 h una vez terminada

esta fase se filtraron a través de un filtro Wathman No. 4, enseguida se concentró el extracto mediante la separación de los solventes mediante rotavapor, para finalmente colocarlos en un frasco ámbar para protegerlos de la luz.

Descripción del proceso de preparación del inóculo bacteriano

Para la activación y preparación del inóculo bacteriano se utilizaron cepas Gram-negativas: *E. coli* ATCC 25922, *S. maltophilia* ATCC 13637, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y Gram-positivas: *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* RM ATCC BAA-44. Las cepas fueron inoculadas en placas preparadas con agar-sangre al 5%, cultivadas por 24 h a 37 °C. Para preparar el inóculo para el ensayo, fueron transferidas de tres a cinco colonias de cada cultivo a tubos con solución salina estéril, y la turbidez se ajustó a 0.5 del estándar de McFarland que es equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL. Se verifica la densidad correcta de la escala usando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm, donde el rango de absorbancia deber ser de 0.08 a 0.10. Posteriormente se transfirieron 10 μ L en 11 mL de caldo Mueller Hinton, para alcanzar una concentración estándar de 5×10^5 UFC/mL (Figura 1).

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos vegetales

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos fue determinada por el método de microdilución, el ensayo se realizó en microplacas de 96 pocillos estériles con tapa. Se adicionaron 100 μ L

de medio de cultivo a cada pocillo de toda la placa. Posteriormente, en la fila A se añadieron 100 μ L de la solución de trabajo con una concentración 4X, se mezclaron utilizando una pipeta multicanal, de la mezcla anterior se transfirieron 100 μ L a la fila B para realizar una dilución 1:2, se siguió haciendo diluciones 1:2 hasta la fila G y se desecharon los últimos 100 μ L. Posteriormente, 100 μ L de la suspensión bacteriana (10^5) se adicionaron a todos los pozos con muestra así como a los controles negativos y positivos excepto a los pozos de la hilera H1 a H12 para observar posible contaminación. Las concentraciones se evaluaron en el rango de 200 a 6.25 mg/mL. Cada concentración se evaluó por duplicado. Posteriormente, las microplacas se taparon, se desinfectaron por su parte externa y se incubaron a 37 °C por 16-20 h. Al término de la incubación, el crecimiento bacteriano se evaluó visualmente para determinar el crecimiento ó inhibición de la bacteria se observó la turbidez y nitidez de cada uno de los pocillos problema comparados con los controles positivos y negativos. El control negativo debe de presentar nitidez absoluta, en el caso contrario del control positivo el cual debe presentar turbidez. Los pozos que presentan nitidez deben ser comparados con el control negativo, cuando la semejanza entre ellos es más pronunciada, el efecto del extracto es satisfactorio, ya que inhibe el crecimiento. Esta técnica permite observar de manera fácil que pozos de la microplaca presentan crecimiento y cuales son inhibidos por el extracto, lo que permite determinar la concentración mínima inhibitoria. Todos los ensayos se realizaron por duplicado (Figura 1). Se

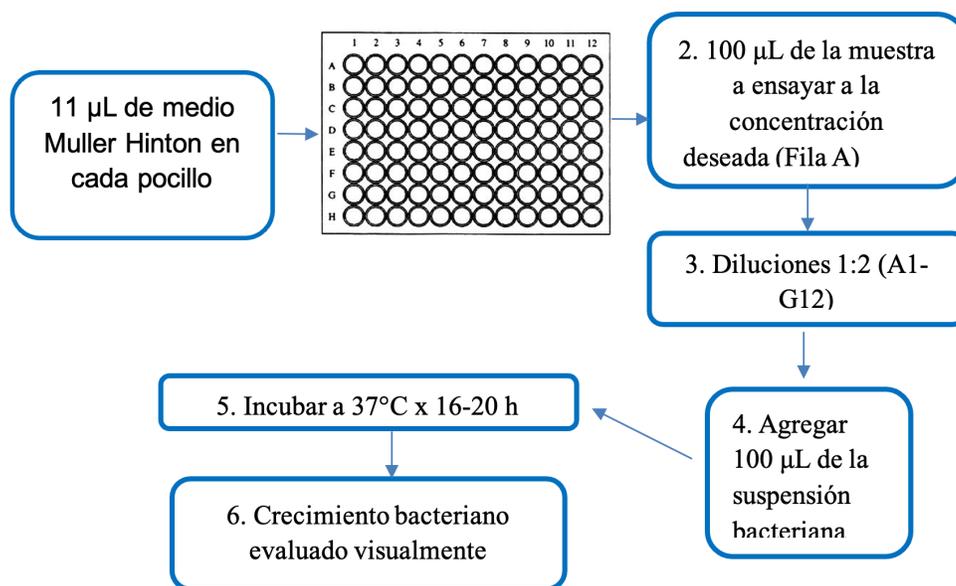


Figura 1. Procedimiento del ensayo biológico por el método de microdilución en placa de 96 pocillos.

utilizó levofloxacina pura como control. Se determinó la CMI como la mínima concentración del compuesto que inhibe el crecimiento de la bacteria, esta se identifica en función de la turbidez encontrada en cada pocillo, la concentración más baja en la que no haya turbidez, esa es la Concentración Mínima Inhibitoria.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de *P. glandulosa* frente a las cepas ATCC se muestran en la **Tabla 1**, en donde se puede observar que el extracto hexánico mostró actividad en contra de *E. coli* y *E. faecalis* (500 µg/ml), el extracto clorofórmico mostró actividad en contra todas de *S. aureus* (250 µg/ml), *S. aureus* RM (250 µg/ml), *E. faecalis* (250 µg/ml), *E. coli* (500 µg/ml), *S. maltophilia* (250 µg/ml) y *K. pneumoniae* (500 µg/ml) y el extracto etanólico mostró actividad en contra de *S. aureus* (250 µg/ml), *S. aureus* RM (500 µg/ml), *E. faecalis* (250 µg/ml), *E. coli* (500 µg/ml), *S. maltophilia* (500 µg/ml) y *K. pneumoniae* (500 µg/ml).

Los resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de *P. glandulosa* ante las cepas de aislado clínico (N=3) se muestran en la **Tabla 2**. Se observa que el extracto hexánico la CMI fue >500 mg/mL, el extracto clorofórmico mostró valores de CMI en el rango de 500 a 125 µg/mL para *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* RM, *E. faecalis*, mientras que el extracto etanólico, los valores de CMI están en el rango de 500 a 250 µg/mL para cepas ATCC de *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* RM, *E. faecalis* y *K. pneumoniae*.

Los extractos clorofórmicos y etanólicos de *P. glandulosa* mostraron un espectro antibacteriano moderado, debido a que las concentraciones mínimas inhibitorias están en el de rango de 500 a 250 µg/mL para las cepas ATCC y para aislados clínicos en el rango de 500 a 125 µg/mL. Esto puede deberse a que los componentes del extracto enmascaran la actividad o pudiera ser la baja concentración de compuestos como lo menciona Martínez (2000). Mientras que el extracto hexánico mostró un espectro antibacteriano bajo ya que solo fue activo para cepas ATCC de *E. coli* y *E. faecalis*. Debido al perfil

Tabla 1. Actividad antibacteriana de los extractos de *P. glandulosa* sobre cepas ATCC.

Bacteria Gram (+)	ATCC	(1)	(2)	(3)	Levofloxacino ATCC
		CMI µg/ml			
<i>S. aureus</i>	29213	>500	250	250	6.25
<i>S. aureus</i> RM	BAA-44	>500	250	500	6.25
<i>E. faecalis</i>	29212	500	250	250	0.78
Bacteria Gram (-)	ATCC	CMI µg/ml			
<i>E. coli</i>	25922	500	500	500	0.78
<i>S. maltophilia</i>	13637	>500	250	500	0.78
<i>K. pneumoniae</i>	700603	>500	500	500	0.78

ATCC: American Type Culture Collection, (1): Extracto hexánico, (2): Extracto clorofórmico, (3): Extracto etanólico, Levo: levofloxacina, CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.
N: número de cepas de aislados clínicos.

Tabla 2. Actividad antibacteriana de los extractos de *P. glandulosa* sobre cepas de aislados clínicos de pacientes con infecciones del tracto urinario.

Bacteria Gram (+)	A.C.	(1)	(2)	(3)	Levofloxacino
		CMI µg/ml			
<i>S. aureus</i>	N=3	>500	250-125	250	12.5-25
<i>S. aureus</i> RM	N=3	>500	500	500	12.5-50
<i>E. faecalis</i>	N=3	>500	250	250	0.78
Bacteria Gram (-)	A.C.	CMI µg/ml			
<i>E. coli</i>	N=3	>500	500-250	500-250	3.025
<i>S. maltophilia</i>	N=3	>500	500-250	500-250	3.025
<i>K. pneumoniae</i>	N=3	>500	500	500	3.025

(1): Extracto hexánico, (2): Extracto clorofórmico, (3): Extracto etanólico. A.C: Aislado clínico, Levo: levofloxacina, CMI: Concentración Mínima Inhibitoria, N: número de cepas de aislados clínicos.

liposoluble de los compuestos presentes en el extracto hexánico los cuales afectan la membrana celular de las bacterias, así como a las diferencias de susceptibilidad entre las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas lo cual se debe a la conformación estructural de sus paredes celulares (Troncoso, 2017). La pared celular de las bacterias Gram-positivas posee una gruesa capa de peptidoglucano y la pared celular de las bacterias Gram-negativas tienen una capa delgada de peptidoglucano. Estos componentes estructurales parecen actuar como una barrera para muchas sustancias incluyendo los antibióticos (Troncoso et al., 2017).

Con respecto a las diferencias entre actividad antibacteriana que presentaron los extractos sobre las cepas ATCC y sobre los aislados clínicos, el factor que influye en el efecto inhibitorio mostrado puede ser por las diferencias genotípicas y fenotípicas que existen entre los orígenes de las cepas utilizadas.

Son pocos los estudios referentes a la actividad antibacteriana de esta especie, la diversidad de especies, condiciones ambientales y metodologías empleadas son aspectos que dificultan la comparación de resultados, sin embargo se puede mencionar lo encontrado en el 2009 por Salinas, quien demostró la actividad antibacteriana de *P. glandulosa* ante cepas de *S. aureus* resistente a la metilicina y *Micobacterium intracelular* con una CMI de 0.35 y 0.9 µg/mL respectivamente.

CONCLUSIÓN

Los extractos clorofórmicos y etanólicos de *P. glandulosa* mostraron un espectro antibacteriano moderado, porque las concentraciones mínimas inhibitorias están en el rango de 500 a 250 µg/mL para las cepas ATCC y para aislados clínicos en el rango de 500 a 125 µg/mL.

Mientras que el extracto hexánico mostró un espectro antibacteriano bajo ya que solo fue activo para cepas ATCC de *E. coli* y *E. faecalis*.

REFERENCIAS

- Rangel, D., Garcia, I. et al. 2001. Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico, acetónico y acuoso de *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 42; 43-46.
- Kornfalt, I.H., Melander, E., Hedin, K., Molstad, S., Beckman, A. (2019). Uncomplicated urinary tract infections in Swedish primary care; etiology, resistance and treatment. *BMC Infectious Diseases*, 19;155.
- Ponce de Leon, A., Rodríguez-Noriega, A., Morfín-Otero, E., Cornejo-Juárez, R., Tinoco, J.C., Martínez-Gamboa, A., Sifuentes-Osornio, J. (2018). Antimicrobial susceptibility of gram-negative bacilli isolated from intra-abdominal and urinary-tract infections in México from 2009 to 2015: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *PLOS ONE*, 13(6);1-13.
- González-Elizondo, M., López-Enriquez, I. L., González-Elizondo, M.S., Tena-Flores, J. A. (2004). Plantas Medicinales del estado de Durango y zonas aledañas: Instituto Politécnico Nacional.
- Mittal, V., Nanda, A. (2017). Intensification of marrubiin concentration by optimization of microwave-assisted (low CO₂ yielding) extraction process for *Marrubium vulgare* using central composite design and antioxidant evaluation. *Pharmaceutical Biology*, 55(1); 1337-1347.
- Perczak, A., Juś, K., Marchwińska, K., Gwiazdowska, D., Waśkiewicz, A., Goliński, P. (2018). Degradation of Zearalenone by Essential Oils under *In vitro* Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 7(1224); 1-11.
- Suurbaar, J., Mosobil, R., Donkor, A. M. (2017). Antibacterial and antifungal activities and phytochemical profile of leaf extract from different extractants of *Ricinus communis* against selected pathogens. *BMC Research Notes*, 10(660); 1-6.
- Armijo M., Moreno A., Blanco E., Borroel V & Reyes J. (2019). Vaina de mezquite (*Prosopis* spp.) alimento para el ganado caprino en el semidesierto. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(1), pp. 113-122.
- Hacıoglu, M., Dosler S., Birteksoz T.A.S., Gulden, O. (2017). Antimicrobial activities of widely consumed herbal teas, alone or in combination with antibiotic: an *in vitro* study. *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.3467.

- Martínez, G.M. J., López, B.M., Morejon, R.Z., Rubalcaba, Y. 2000. Actividad antimicrobiana de un extracto fluído al 80% de *Schinus terebinthifolius raddi* (Copal). Rev Cubana Plant Med, 5(1); 23-5.
- Troncoso, C., Pavez, M., Santos, A., Salazar, R., Barrientos, L. (2017). Implicaciones estructurales y fisiológicas de la célula bacteriana en los mecanismos de resistencia antibiótica. Int. J. Morphol, 35(4);1214-1223.
- Salinas, S.D.O., Arteaga, N.G.L., León, R.I., et.al. (2009). Actividad antimicrobiana de las plantas medicinales de la Reserva de la biosfera Sierra Huautla en Morelos (México). Polibotánica, (28); 213-225.

Susceptibilidad de cepas microbiológicas de importancia clínica ante extractos vegetales de *Argemone* spp

¹Jurado-Pérez Margarita, ¹Favela-Hernández Juan Manuel de Jesús, ¹Alba-Romero José de Jesús, ¹Avalos-Soto Joaquín, ¹Téllez-López Miguel Angel, ^{1*}García-Luján Concepción.

¹Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango.
Av. Artículo 123 s/n Fracc. Filadelfia Gómez Palacio Dgo. C.P. 35010

*Email: concepcion.garcia@ujed.mx

RESUMEN

Las plantas del género *Argemone* spp, son utilizadas tradicionalmente para el tratamiento alternativo de diversas patologías y cuentan con una amplia distribución en el territorio mexicano, no obstante es fundamental aclarar que el conocimiento de la actividad biológica del género *Argemone* spp es limitado, por lo que el objetivo principal de este trabajo fue determinar la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y acéticos de *Argemone* spp. Las cepas microbiológicas estudiadas fueron: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*. Se realizó la determinación de la concentración mínima inhibitoria mediante el método de difusión en placa con sensidiscos. Los resultados mostraron que de manera casi absoluta los mayores halos de inhibición encontrados fueron en la concentración de 62.5 µg/ml con halos de hasta 18 mm en el caso de los extractos de semilla con ácido acético al 2% frente a cepas de *C. albicans*. Estos resultados permitieron reconocer el potencial antimicrobiano de esta especie vegetal, sin embargo, para determinar futuras aplicaciones de la planta, es conveniente y pertinente realizar estudios más profundos en torno a su comportamiento terapéutico.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, extractos vegetales, *Argemone* spp.

ABSTRACT

The plants of the genus *Argemone* spp, are traditionally used for the alternative treatment of various pathologies and have a wide distribution in the Mexican territory, however it is essential to clarify that the knowledge of the biological activity of the genus *Argemone* spp is limited, so The main objective of this work was to determine the antimicrobial activity of the ethanolic and acetic extracts of *Argemone* spp. The microbiological strains studied were: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and the yeast *Candida albicans*. The determination of the minimum inhibitory concentration was carried out by means of the plate diffusion method with sensidiscs. The results showed that almost absolutely the greatest inhibition halos found were at the concentration of 62.5 µg/ml with halos of up to 18 mm in the case of the seed extracts with ac. 2% acetic acid against strains of *C. albicans*. These results allowed us to recognize the antimicrobial potential of this plant species, however, to determine future applications of the plant, it is convenient and pertinent to carry out deeper studies on its therapeutic behavior.

Key words: Antimicrobial activity, vegetal extracts, *Argemone* spp.

INTRODUCCIÓN

Desde los inicios de la humanidad, los individuos han confiado en los medicamentos basados en plantas para la mayoría de sus necesidades de salud y enfermedad, lo que ha generado un aumento rápido y creciente en el uso mundial de hierbas medicinales en las últimas décadas, que sugiere que las medicinas botánicas, tanto tradicionales como modernas, cumplen un nicho terapéutico que no se aborda adecuadamente en los sistemas modernos de prestación de servicios de salud (Upton, 2015).

Sin embargo, solo un pequeño grupo de plantas medicinales han sido estudiadas farmacológica, fitoquímica y toxicológicamente hablando, lo que representa una brecha grande en el conocimiento. México es considerado como uno de los países más diversos del mundo, se estima que existen 23,400 plantas vasculares, de las cuales 3000 tienen efectos medicinales (Alonso-Castro *et al.*, 2017).

La familia Papaveraceae es conocida informalmente como la familia de la amapola, son una familia etnofarmacológica importante de 44 géneros y aproximadamente 760 especies de plantas con flores. *Argemone* es uno de los géneros pertenecientes a esta familia, son plantas con tallos, hojas y cápsulas espinosas, taxonómicamente es un género difícil de clasificar y se han identificado entre 24 y 32 especies, distribuidas en Norte y Sur de América, Hawái, Australia, India y diversas partes de África y Asia (Israilov, Chelombit'ko, Nazarova, 1986; Chaturvedi *et al.*, 1999; Mirtadzadini *et al.*, 2016).

Una de las especies, pertenecientes a este género, más ampliamente distribuida en México y Estados Unidos, es la *Argemone mexicana*, la cual, se usa en la medicina tradicional para diversas patologías, entre ellas, el tratamiento de verrugas, infecciones cutáneas, hidropesía e ictericia. La composición química de la planta incluye diversos alcaloides, entre ellos la protopina, sanguinarina, berberina, y benzofenantridina, flavonoles como quercetina, rutina y mexitina, así como ácidos fenólicos y aminoácidos (Bhattacharjee *et al.*, 2010; Singh, *et al.*, 2012; Sharanappa, & Vidyasagar, 2014).

Así mismo, la gran cantidad de metabolitos secundarios presentes en las plantas, ofrecen una enorme posibilidad de encontrar moléculas bioactivas que pudieran dar respuesta a la necesidad de conseguir alternativas

eficaces para el control de patologías emergentes en la actualidad, es por esto que se ha recurrido a la fitoquímica y a la fitofarmacología.

Por otro lado, la introducción de los antibióticos en la práctica clínica supuso una de las intervenciones más importantes para el control de las enfermedades infecciosas. Los antibióticos han salvado millones de vidas, así como también, han supuesto una revolución en la medicina. Sin embargo, debido a que los microorganismos tienen una adaptabilidad increíble tanto para las condiciones ambientales (son capaces de sobrevivir a temperaturas elevadas, heladas, a salinidad extrema, en ambientes de anaerobiosis, etc.), como a agentes bactericidas es que se ha generado una amenaza creciente que deteriora la eficacia de los antibióticos disponibles (Alemán, 2013; Alós, 2015).

Es por todo lo anterior que el propósito principal de este estudio es determinar la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales de *Argemone* spp ante cepas microbianas de importancia clínica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y preparación de los extractos vegetales

Se realizó la colecta de las plantas identificadas como *Argemone* spp. en la carretera Gómez Palacio - Tlahualilo, en la ubicación N 25° 36.975 W 103° 27.334 Km 5.87. Se recolectaron un total de 10 plantas completas, las cuales se separaron en partes (tallos, pétalos, órganos sexuales, hoja, vaina, semilla madura, y raíz) y posteriormente cada grupo se secó de manera individual en un desecador a 35°C durante el tiempo necesario. Una vez que todas las partes estuvieron secas se procedió a la molienda y al tamizaje (para el cual se utilizó el tamiz No.100). Una vez obtenido el polvo fino de cada tejido, este se conservó en oscuridad y en un ambiente seco. A un peso de 0.5 gramos del material vegetal molido y tamizado se le adicionaron un volumen de 5 mL de etanol al 85 % ó ac. acético al 2%, se procedió a homogenizar la mezcla para después llevarlo a un baño de ultrasonido en oscuridad durante un periodo de 60 minutos, una vez terminada la sonicación, se centrifugó a 3500 rpm x 10 minutos con lo que se obtuvo una pastilla, se recuperó el sobrenadante, y con la pastilla obtenida se realizó una segunda extracción de la misma manera, finalmente se juntaron ambos sobrenadantes en un solo tubo cónico de 50 mL y se almacenó hasta su uso, obteniendo un volumen final de 10 mL.

Determinación de la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en placa con sensidiscos

Para la determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Argemone* spp, se utilizaron cepas bacterianas y fúngicas de importancia médica obtenidas de muestras clínicas: se utilizaron las cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, así como de la levadura *Candida albicans*. Todas las cepas fueron identificadas y aisladas en el cepario de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio de la Universidad Juárez del Estado de Durango. Las cepas fueron recibidas en cajas Petri, correctamente identificadas y se mantuvieron en refrigeración a -4°C hasta su uso.

Estandarización del tamaño del inóculo

Se tomaron de 2 a 5 colonias de cada especie microbiana, se suspendieron en tubos con 3 ml de solución salina estéril, y la turbidez se ajustó a 0.5 del estándar de Mac Farland que equivalen a 1.5×10^8 UFC/mL. Posteriormente, se colocaron 100 μ L de esta muestra estandarizada sobre el centro de la caja Petri con el agar indicado para cada cepa microbiana y se homogenizaron con un hisopo estéril.

Preparación de las diluciones para la actividad antimicrobiana

Las soluciones stock para determinar la actividad antimicrobiana se prepararon disolviendo aproximadamente 0.002 g de los extractos etanólicos y acéticos de *Argemone* spp en agua estéril hasta alcanzar una concentración de 2 mg/mL. Enseguida se prepararon diluciones seriadas a concentraciones de 1000, 500, 250, 125 y 62.5 μ g/ml.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de difusión en placa con sensidiscos

Se realizó el ensayo para probar la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar con sensidiscos, en donde inicialmente se colocó el inóculo microbiano distribuido de manera uniforme con un hisopo estéril sobre la superficie de la placa. Una vez inoculadas las placas se colocaron los discos estériles de papel filtro Wathman No.4 con diámetro de 6 mm de manera equidistante, y se impregnaron con 12.5 μ L de cada concentración de los tratamientos a evaluar. Se colocó un control positivo con bacteria y un control negativo sin bacteria, también se incluyó un sensidisco con antibiótico específico para cada cepa, el cual sirvió de control. Posteriormente el material se incubó a una temperatura de 36°C durante 24 h. La zona de inhibición fue interpretada como el área de superficie radiada del disco que esté libre de crecimiento bacteriano. Se tomaron dos medidas perpendiculares a cada uno de los bordes del disco de papel al margen externo de la zona de inhibición y se promediaron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Argemone* spp se llevó a cabo mediante el método de difusión en placa con sensidiscos. De las cuatro cepas clínicas sometidas a pruebas con los extractos vegetales, la que mostro mayor susceptibilidad fue *C. albicans*, mientras que la cepa con menor susceptibilidad fue *E. coli*, con lo que se puede inferir que los extractos vegetales de *Argemone* spp presentan una mayor actividad fungicida que bactericida (Fig 1).

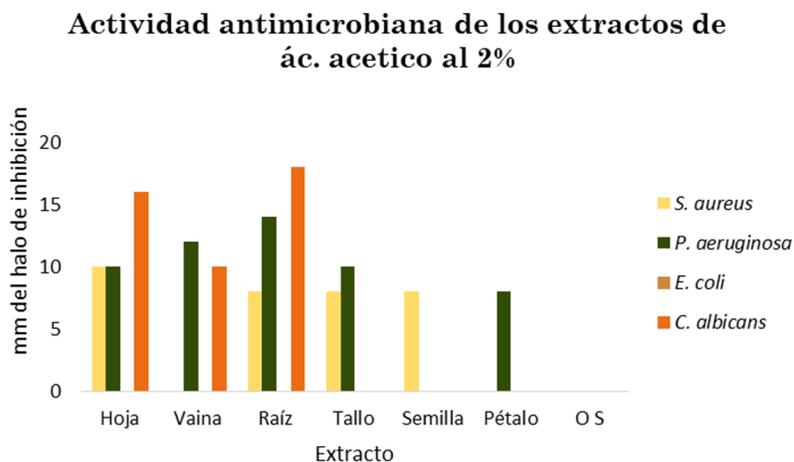


Figura 1. Actividad antimicrobiana de los diferentes extractos acéticos de *Argemone* spp (62.5 μ g/mL).

Actividad antimicrobiana de los extractos de etanol al 85%

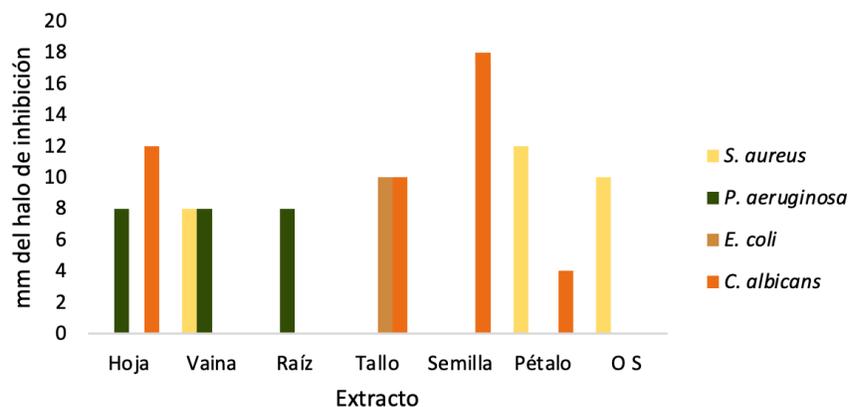


Figura 2. Actividad antimicrobiana de los diferentes extractos etanólicos de *Argemone* spp (62.5 µg/mL).

De manera casi absoluta los mayores halos de inhibición encontrados fueron en la concentración de 62.5 µg/ml con halos de hasta 18 mm en el caso de los extractos de semilla con ác. acético al 2% frente a cepas de *C. albicans*.

De las cepas bacterianas evaluadas la que presenta mayor susceptibilidad a los extractos fue *P. aeruginosa* con un mayor número de halos de inhibición, sin embargo, en estos casos, los halos no logran ser de relevancia clínica, ya que el control o estándar muestra halos más grandes a los encontrados con los extractos. En las Figuras 1 y 2 se muestran de manera gráfica los halos de inhibición obtenidos en las diferentes cepas a una concentración de 62.5 µg/ml.

De acuerdo con los resultados obtenidos (Figuras 1 y 2), la cepa de *C. albicans* resultó ser susceptible a los extractos etanólicos de semilla en mayor proporción, seguido de hoja tallo y pétalo, y también se encontraron halos de inhibición en los extractos acéticos de raíz, hoja y vaina.

De forma contraria, en la evaluación de la cepa de *P. aeruginosa*, se encontró una mayor actividad antimicrobiana en los extractos acéticos de hoja, vaina, raíz, tallo y pétalo, en orden ascendente. En el caso de los extractos etanólicos de hoja, vaina y raíz, la actividad antibacteriana se mantuvo igual con halos de 8 mm.

Y para el caso de la cepa de *S. aureus* la mayor actividad bactericida se reportó en los extractos de pétalo y órganos sexuales (flores y estambres) con etanol al 85%, seguido de los extractos de hoja, raíz, tallo y semilla preparados con ácido acético al 2%. Mientras que para *E. coli* únicamente se encontró un halo de inhibición en el extracto etanólico de tallo de *Argemone* spp.

Como control para todas las determinaciones se utilizaron diferentes agentes antimicrobianos, para la cepa de *S. aureus* se utilizó ciprofloxacino de 500 mg y la media de los halos de inhibición fue de 38 ± 3 mm, para *P. aeruginosa*, el antibiótico utilizado fue nuevamente ciprofloxacino de 500 mg y los halos de inhibición obtenidos fueron de 20 ± 1 mm, para el caso de *E. coli* se utilizó ciprofloxacino de 500 mg el cual generó halos de inhibición de 24 ± 2 mm. Finalmente en el caso de *C. albicans* se utilizó como control fluconazol de 150 mg y se obtuvo una media en los halos de inhibición de 20 ± 2 mm.

La determinación de la actividad antimicrobiana de los diferentes extractos se llevó a cabo determinando el halo de inhibición que se generó después de exponer a las bacterias a una concentración de los extractos. El halo de inhibición es el espacio en el cual no existe crecimiento microbiano.

Se encontraron halos de inhibición importantes especialmente en *Candida albicans* lo que sugiere que los extractos de *Argemone* spp presentan una mayor actividad antifúngica que antibacteriana, sobre todo los extractos de semilla. Según Dev et al., 2019, este tipo de actividad registrada puede deberse principalmente a los metabolitos secundarios presentes en la planta, más predominantemente en semilla, ya que esta contiene una alta cantidad de liposomas en estas estructuras se pueden transportar los metabolitos que tienen la capacidad de perforar las membranas celulares lo cual permite su ingreso al microorganismo y generar el efecto antibacteriano,

Resultados similares a los obtenidos, fueron reportados por Shing *et al.*, 2012, con *S. aureus* y *P. aeruginosa*, con extractos etanólicos de semilla, en donde obtuvieron halos de inhibición de 13 mm en su mayoría, en este estudio se reporta que los halos de inhibición encontrados no son de relevancia clínica, debido a su pequeña o nula dimensión, en comparación con los encontrados en los sensibilizados de control que alcanzaron de 20-38 mm de diámetro.

Dewick *et al.*, (2002) indica en sus resultados de investigación, que la falta de actividad antibacteriana puede deberse al bajo contenido de fenoles y flavonoides, pues es bien conocido que estas moléculas exhiben actividad antibacteriana. Los metabolitos a los que se atribuye actividad antimicrobiana son los ácidos fenólicos y la sanguinarina contenida especialmente en sus semillas. El tipo de solvente orgánico que se utilice para la extracción de los metabolitos tiene una afinidad por ciertos compuestos, esto se debe a su polaridad.

CONCLUSIONES

A pesar de que en las cepas bacterianas no se encontró actividad antibacteriana relevante por parte de los extractos de *Argemone* spp, si presentaron actividad antifúngica interesante frente a *Candida albicans*, por lo que sería conveniente realizar en un futuro estudios en torno al aceite esencial de la semilla, en donde se pruebe la actividad antifúngica de distintas maneras y con diferentes cepas.

Una vez más se hizo patente el nivel de resistencia microbiana en las cepas clínicas probadas, especialmente en las bacterias, lo cual nos muestra evidencia de la persistencia y relevancia de esta problemática en los hospitales.

REFERENCIAS

- Upton, R. (2015). Traditional herbal medicine, pharmacognosy, and pharmacopoeial standards: a discussion at the crossroads. Evidence-Based Validation of Herbal Medicine New York. Elsevier, 45-85.
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Castillo-Pérez, L. J., Carranza-Álvarez, C., Solano, E. et. al. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in México. Journal of ethnopharmacology, 198: 81-86.
- Israilov, I. A., Yunusov, M. S. (1986). Alkaloids of four species of *Argemone*. Chemistry of Natural compounds, 22(2): 189-192.
- Chaturvedi, M., Datta, K., Pal, M. (1999). Pollen anomaly-a clue to natural hybridity in *Argemone* (Papaveraceae). Grana, 38(6): 339-342.
- Mirtadzadini, M., Akbari, F., Hatami, E. (2016). *Argemone* (Papaveraceae), a new genus for the flora of Iran, 22(2): 79-81.
- Bhattacharjee, I., Chatterjee, S. K., & Chandra, G. (2010). Isolation and identification of antibacterial components in seed extracts of *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 3(7): 547-551.
- Singh, S., Pandey, V. B., Singh, T. D. (2012). Alkaloids and flavonoids of *Argemone mexicana*. Natural Product Research, 26(1): 16-21.
- Sharanappa, R., Vidyasagar, G. M. (2014). Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Argemone mexicana* Linn. A review. Int J Pharm Pharm Sci, 6(7): 45-53.
- Alemán, M. G. (2013). Resistencia antimicrobiana, una amenaza mundial. Revista Cubana de Pediatría, 85(4): 414-417.
- Alós, J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 33(10): 692-699.
- Dewick, P. M. (2002). Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 3rd. Edition. John Wiley & Sons Ed.

14° SIMPOSIUM INTERNACIONAL

DE CIENCIAS QUÍMICAS 2022.



Mayores informes
escanea el
código QR



17 AL 21 DE OCTUBRE

Gómez Palacio, Dgo.



Conferencias, cursos y carteles.

SECCIÓN DE CARTELES

(Clínica, Veterinaria, Vegetal)



“Cerrar los oídos a los argumentos contrarios será indicio de carácter fuerte, pero a veces lo es de imbecilidad”
Friedrich Nietzsche (1844-1900); filósofo alemán.

ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE PLANTAS MEDICINALES EMPLEADAS EN EL NORESTE DE MÉXICO SOBRE TROFOZOITOS DE *Trichomonas vaginalis*

¹Aguilar Luna Georgina Lizbeth, ²Hernández García Magda Elizabeth, ¹Verde Star María Julia, ¹Heredia Rojas José Antonio, ¹Bazaldúa Rodríguez Aldo Fabio.

¹Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

²Centro de Investigaciones Biomédicas del Noreste, IMSS.

*Email: aldo.bazalduarg@uanl.edu.mx.

Introducción. La tricomoniasis ocasionada por *Trichomonas vaginalis* es la enfermedad de transmisión sexual más común en todo el mundo, no obstante, son pocos los recursos y estudios destinados al control de esta parasitosis, la cual se asocia con complicaciones potencialmente graves como el parto prematuro y la adquisición del VIH. Cada año se reportan aproximadamente 142 millones de casos a nivel mundial. En México se reportaron 618,182 casos de ITS durante el 2020, de los cuales 23,030 corresponden a tricomoniasis urogenital, principalmente en mujeres. El tratamiento de esta parasitosis es el metronidazol, el cual presenta alta toxicidad y provoca efectos adversos, es por ello que se buscan tratamientos alternos derivados de productos naturales, en donde nuevos compuestos activos actúen sin causar graves efectos secundarios y sean efectivos contra cepas resistentes.

Objetivo. Determinar la actividad antiparasitaria de *Ambrosia confertiflora*, *Buddleja scordioides*, *Purshia plicata* y *Viguiera gregii* sobre trofozoitos de *T. vaginalis*.

Material y Métodos. En esta investigación se evaluaron los extractos metanólicos de *A. confertiflora*, *B. scordioides*, *P. plicata* y *V. gregii* los cuales fueron obtenidos por extracción Soxhlet. Los extractos crudos se evaluaron sobre trofozoitos de *T. vaginalis* a una concentración de 150 µg/mL siguiendo la metodología previamente reportada por el equipo de trabajo. Posteriormente, los extractos que mostraron un porcentaje de inhibición mayor el 50% fueron evaluados para determinar la IC₅₀.

Resultados y Discusión. Se encontró una mayor actividad antiparasitaria con los extractos de *B. scordioides* y *P. plicata* inhibiendo el crecimiento con un 84.10% (IC₅₀ 59.85 µg/ml) y 70.37% (IC₅₀ 96.22 µg/ml) respectivamente. Esta actividad identificada sobre los trofozoitos de *T. vaginalis* de ambas plantas medicinales no ha sido reportada previamente, sin embargo, la actividad antiparasitaria sobre otros agentes patógenos, como lo son céstodos, ha sido asociada a algunos compuestos previamente identificados en estas plantas. Por otro lado, obtuvimos menor actividad con los extractos de *A. confertiflora* y *V. gregii*, los cuales mostraron 32.97% y 26.21% de inhibición.

Conclusión. La principal actividad antiparasitaria sobre trofozoitos de *T. vaginalis* fue identificada en los extractos metanólicos de las plantas *B. scordioides* y *P. plicata*, con un valor de IC₅₀ representativo para la forma de extracto crudo, lo que abre una serie de oportunidades para futuros trabajos donde se busque identificar los metabolitos responsables de dicha actividad.

EXPRESIÓN DE CITOCINAS IFN- γ , TNF- α E INTERLEUCINAS 4,6 Y 10 EN CÉLULAS EPITELIALES NASOFARÍNGEAS DE PACIENTES POSITIVOS AL VIRUS DE INFLUENZA Y SARS-CoV-2

¹Zámago Amaro Alejandra de Jesús, ¹González Delgado María Fernanda, ¹Sánchez Rojas Irlanda Mel b, ²González Zamora Alberto, ¹*Pérez Morales Rebeca.

¹Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias Químicas - GómezPalacio, UJED,

²Laboratorio de Biología Evolutiva, Facultad de Ciencias Biológicas, UJED.

*Email: rebecapms@ujed.mx

Introducción: La gripe es causada por el virus de Influenza y la COVID-19 por el virus SARS-CoV-2, ambas son infecciones respiratorias agudas en las que se presentan síntomas como cefalea, tos, fiebre, odinofagia, disnea y rinorrea. Se ha reportado que estos virus inducen una respuesta inflamatoria para eliminar el virus; sin embargo, una respuesta sistémica exagerada de citocinas proinflamatorias puede ocasionar lesiones tisulares, formación de tromboémbolos, insuficiencia respiratoria aguda e insuficiencia multiorgánica.

Objetivo: Determinar la expresión de las citocinas IFN- γ , TNF- α , e interleucinas (ILs) 4, 6 y 10 en células de primer contacto como son las epiteliales nasofaríngeas.

Material y método: El estudio se realizó en el LBCM autorizado por el InDRE para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (oficio DGE-DDYR-05290), y el protocolo de investigación fue autorizado por el Comité de Ética de la FCQ-UJED. Se incluyeron 120 muestras divididas en 4 grupos de 30 individuos: Control, Influenza, SARS-CoV-2 sintomáticos y SARS-CoV-2 asintomáticos. La extracción de RNA se realizó con el kit de Qiagen® (N° Cat. 52906), el diagnóstico viral por RT-qPCR siguiendo los lineamientos del protocolo de la CDC-2019. La expresión génica de las citocinas de interés y el control endógeno β -actina se realizó por PCR tiempo real utilizando sondas marcadas (FAM®).

Resultados: Se observaron diferencias en la frecuencia de síntomas según el grupo, en Influenza fue común la cefalea, dolor de garganta y tos, mientras que en SARS-CoV-2 fue cefalea, anosmia y fiebre. Con respecto a la expresión génica se encontraron los valores más altos en la IL 4 (RFU = 8) e IFN- γ (RFU = 1.5); mientras que en la comparación por grupos se encontró un aumento de la expresión de IFN- γ ($p < 0.05$), TNF- α ($p < 0.05$), IL4 ($p < 0.05$) e IL6 ($p < 0.05$) en las muestras de pacientes positivos a SARS-CoV-2.

Conclusiones: Estos resultados indican que, en las células de primer contacto con el virus, como son las epiteliales nasales y las bucofaríngeas generan una respuesta *in situ*, en primer lugar, la expresión de IFN- γ es específico para infecciones virales y aumenta su expresión en el grupo de SARS-Cov-2, además de la expresión de TNF- α que desencadena la inflamación local para controlar la infección viral en este grupo.

CONCENTRACIONES DE FLÚOR Y ARSÉNICO EN ORINA DE NIÑOS DE LA CIUDAD DE GÓMEZ PALACIO, DGO.

¹Duarte Sustaita Jesus Jaime, ¹Reyes Moreno Karla Giselle, ¹Gaytán Jiménez Efraín, ¹García Vargas Gonzalo Gerardo.

¹Laboratorio de Toxicología Analítica de Metales-Facultad de Ciencias de la Salud, UJED

Introducción. El flúor (F) y el arsénico (As) son dos contaminantes inorgánicos comunes en el agua subterránea, fuente importante de agua potable para millones de personas en todo el mundo, algunos de estos acuíferos presentan As y/o F en concentraciones que puede ser peligroso para la salud humana, donde los principales efectos causados por la exposición al As está asociada con el cáncer, diabetes, disminución en la función intelectual, mientras que en el caso del F se ha asociado con efectos neurotóxicos en niños, siendo particularmente preocupante la exposición simultánea.

Objetivo. Determinar la concentración de As y F en muestras de orina de niños de la ciudad de Gómez Palacio, Dgo.

Materiales y métodos. Se determina la concentración de As en las muestras de orina por medio de espectrometría de absorción atómica por generador de hidruros (EAA-GH) y de F por potenciometría de ion selectivo.

Resultados. Se analizaron 48 muestras de orina y se observó que para As el 6% presenta valores por debajo de 10µg/L, 46% valores de 10-25 µg/L, 27% valores de 25-50 µg/L, 15% valores de 50-100 µg/L, 6% valores por mayores a 100 µg/L. Para el caso de F el 21% presentó valores por debajo de 0.7 ppm, 19% valores de 0.7-1 ppm, 38% valores de 1-2 ppm, 23% valores superiores a 2 ppm.

Conclusiones. Los valores obtenidos nos dicen que los niños han estado expuestos a niveles elevados de As y F debido a la utilización de agua contaminada, poniendo en riesgo la salud y el desarrollo adecuado de los niños.

CONCENTRACIÓN DE FLÚOR URINARIO EN NIÑOS RESIDENTES DE VELARDEÑA DURANGO

¹Peñaloza-Castillo E.Z., ²Salas-Pacheco J., ¹Calleros-Rincón E.Y., ¹Pérez-Morales R., ¹Rodríguez-Gonzalez V.M., ¹Recio-Vega R., ¹Facio-Campos R.A., ¹Olivas-Calderon E.H.

¹Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Químicas, Unidad Gómez Palacio.

²Universidad Juárez del Estado de Durango. Instituto de Investigación Científica. Durango, Durango.

Introducción: el flúor (F) es un elemento tóxico y reactivo que puede acumularse en el organismo, se encuentra presente en diferentes productos de uso común para la población, principalmente en agua, en la cual, su fluoración es intencional. Además, existen alimentos y productos dentales que contienen F de manera natural, por lo cual, la exposición es constante. Se han encontrado patologías asociadas a la exposición al F, ya que este elemento puede acumularse en el organismo y es capaz de provocar efectos en la salud.

Objetivo: evaluar la concentración de F urinario en niños residentes de Velardeña, Durango.

Materiales y métodos: se reclutaron 60 niños de 6 a 12 años de edad, la concentración de F en orina se evaluó a través de un electrodo de ion selectivo.

Resultados: La concentración de F urinario encontrada en la población de estudio fue de 1.06 ± 0.54 . Dividida la población por género, se observó; 1.19 ± 0.51 ppm en niñas y 0.97 ± 0.55 ppm en niños. **Conclusión:** La ingesta total acumulada de F a través del agua de consumo, dieta, así como el uso de los productos higiénico dentales, son posibles factores de riesgo. Diversos estudios han descrito asociación entre las concentraciones de F en orina (≥ 1.00 ppm) con enfermedades en el sistema osteo-esquelético, neurológico y endocrino, en población expuesta.

Palabras clave: fluor (F); exposición; fuente de exposición

SUSCEPTIBILIDAD DE CEPAS MICROBIOLÓGICAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA ANTE EXTRACTOS VEGETALES DE *Argemone* spp.

¹ Margarita Jurado-Pérez, ¹ Juan Manuel de Jesús Favela-Hernández, ¹ José de Jesús Alba- Romero,
¹ Joaquín Avalos-Soto, ¹ Miguel Angel Téllez-López, *¹ Concepción García-Luján

¹Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, Universidad Juárez del Estado de Durango. FCQ GP UJED

*Email: concepcion.garcia@ujed.mx

Introducción. Las plantas medicinales del género *Argemone* spp, son utilizadas para el tratamiento alternativo de diversas patologías y cuentan con una amplia distribución en el territorio mexicano, no obstante, el conocimiento de la actividad antimicrobiana del género *Argemone* spp es limitado.

Objetivo. El propósito de este trabajo fue determinar la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales de *Argemone* spp.

Materiales y métodos. Fueron utilizadas plantas colectadas en el municipio de Gómez Palacio Durango, con las cuales se realizaron extractos etanólicos y acéticos de las diferentes partes de la planta (hoja, vaina, raíz, tallo, semilla y órganos sexuales). Las cepas microbiológicas estudiadas fueron: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*. Se realizó la determinación de la concentración mínima inhibitoria de los extractos vegetales mediante el método de difusión en placa con sensidiscos.

Resultados. Los resultados de la actividad antimicrobiana de *Argemone* spp mostraron que de manera casi absoluta los mayores halos de inhibición encontrados fueron en la concentración de 62.5 µg/ml encontrando halos de hasta 18 mm en el caso de los extractos de semilla con ácido acético al 2% frente a cepas de *C. albicans*.

Conclusiones. Se pudo constatar la actividad antimicrobiana de *Argemone* spp, sin embargo, para determinar futuras aplicaciones de los extractos vegetales, sería conveniente y pertinente realizar estudios más profundos en torno al comportamiento terapéutico de los mismos.

INFLUENCIA DEL EXTRACTO DE *Moringa oleifera* LAM EN LA ADHERENCIA DE *Streptococcus mutans* Y *Candida albicans* A RESINAS PARA USO DENTAL.

¹Sustaita Rangel Jorge Alberto, ¹Delgadillo Delgadillo Zoila, ¹Martínez Martínez Marco Antonio, ²Pedroza Escobar David, ¹Mora Alva Brenda Elisa, ^{1*}Hernández Morales Cecilia

¹Facultad de Odontología, ²Facultad de Medicina, UAdeC. U.T.

*Email: cehm@yahoo.com

Una de las principales razones para el reemplazo de la restauración de resina dental está relacionada con la caries secundaria, promovida por la producción de ácido de bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans*, sin embargo otros microorganismos pueden contribuir con su patogénesis como *Candida albicans* al formar biopelículas. Las hojas de *Moringa oleifera* (MO) muestran eficacia antiinflamatoria y antibacteriana debido a que contienen flavonoides. Por lo que el objetivo de este estudio fue determinar la influencia de extracto de *Moringa oleifera* en la adherencia de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* a resinas de para uso dental Smart y Coltene mediante un estudio analítico, *in vitro*. El extracto de hojas de MO se obtuvo utilizando alcohol etílico, se utilizaron cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Candida albicans* (ATCC 18804), como control positivo se utilizó clohexidina y como control negativo solución salina sin extracto. Para medir el efecto inhibitorio de la adhesión a las resinas se siguió el protocolo estándar de Burton *et al.*, (2007). Para el análisis estadístico se realizó ANOVA con post hoc de Dunnett y la significancia estadística se tomó cuando $p \leq 0.05$, usando el programa GraphPad Prism 8.

Los resultados mostraron que las dos resinas estudiadas permiten la adherencia de *S. mutans* y *C. albicans*. MO inhibió la formación de la biopelícula de *S. mutans* + *C. albicans*, donde el porcentaje de adherencia es mayor en la resina Coltene sin diferencia estadística significativa. Se encontró diferencia estadística entre el control negativo y el % de inhibición a una concentración de 2000 $\mu\text{g/ml}$ ($p=0.0001$).

El extracto de *Moringa oleifera* si tiene Influencia en la adherencia de *Streptococcus mutans* a resinas para uso dental. Por lo que el extracto etanólico de MO puede utilizarse para prevenir caries secundaria lo que aumentaría la vida media de la restauración dental.

IDENTIFICACIÓN DE COMUNIDADES BACTERIANAS INTRACELULARES Y FENOTIPO DE *Escherichia coli* EN INFECCIONES CRÓNICAS DEL TRACTO URINARIO

^{1,2}Alba-Romero José de Jesús, ¹Marquez-Hidrogo Joel, ¹Delgado-Zamago Nallely Alejandra, ¹Calleros-Ricón Esperanza Yasmín, ¹García-Lujan Concepción, ¹Martínez-Romero Aurora.

¹División de Estudios de Postgrado e Investigación. Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED).

²Laboratorio de Análisis Clínicos Asesores Especiales de La Laguna

*Email: josedejesus.alba@ujed.mx

Resumen

En la actualidad las infecciones de vías urinarias por cepas bacterias patogénicas son un problema de salud debido a la alta resistencia a antibióticos, no solo por la presencia de enzimas como las β -lactamasas, sino también por estructuras como la biopelícula o biofilm. Las infecciones por *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC), representan un riesgo para la salud humana porque esta bacteria tiene la capacidad de formar la estructura conocida como biopelícula. La biopelícula es una comunidad de bacterias, que se caracteriza por la unión entre ellas. Las etapas de formación de la biopelícula son adhesión, colonización, maduración y dispersión. Una vez que las bacterias se encuentran inmersas en esta matriz extracelular de sustancias polimerizadas producidas por ellas, presentan un fenotipo que modifica su índice de crecimiento, debido a los cambios en la transcripción de sus genes y puede contribuir a la evasión de la respuesta inmune del huésped. A la fecha no existe un método que permita identificar de manera rápida la presencia de bacterias como UPEC formadoras de biopelícula, lo que permitiría aplicar y desarrollar mejores tratamientos. Por esta razón, en este trabajo, se propone el diseño de un método que permita la identificación de la presencia de biopelícula, a través de la tinción de Gram y el método de fluorescencia.

LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS DE *Cordyceps militaris* SON RICOS EN CORDICEPINA Y POSEEN ACTIVIDAD INHIBITORIA EN CONTRA DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

¹De Santiago Huerta Lorena Joseline, ¹Valdez Solana Mónica Andrea, ¹Corral Guerrero Iván Artemio, ¹Aguilera Ortiz Miguel, ¹Meza Velázquez Jorge Armando, ¹Sierra Campos Erick

¹Laboratorio A de investigación, Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Artículo 123 s/n Fracc, Filadelfia, 35010 Gómez Palacio, Dgo.

La inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) es considerada uno de los tratamientos importantes para la hipertensión, esta enzima es esencial para la respuesta del sistema renina angiotensina, que provoca ese aumento en la presión arterial. La cordicepina es un compuesto químico análogo de la adenosina que se extrae del hongo *Cordyceps militaris* y posee numerosos usos terapéuticos en la medicina tradicional China. Sin embargo, no existen estudios de las características terapéuticas de las cepas de *C. militaris* cultivadas en nuestro país. Por tanto, se realizó un análisis comparativo de los principales compuestos bioactivos entre el cuerpo fructífero de una muestra cultivada en México y otra importada de China. Se preparó un extracto etanólico en ambos hongos para determinar los metabolitos presentes en el extracto mediante un análisis por UHPLC. Los resultados mostraron que ambos extractos presentan altas concentraciones de adenosina y cordicepina. Sin embargo, el extracto mexicano presentó mayor presencia de cordicepina respecto al chino, en cuanto a la adenosina fue lo contrario, se encontró mayor concentración en el extracto de la muestra china. Para realizar el análisis de la inhibición de ECA a partir de los fitoquímicos presentes en el cuerpo fructífero del extracto de *C. militaris* se empleó el método espectrofotométrico que utiliza el Hipuril-1-Histidil-1-Leucina (HHL) como sustrato de la ECA. En los resultados obtenidos de los parámetros cinéticos se confirmó que la actividad de la ECA disminuyó ante la cordicepina de una forma dosis-dependiente, considerando el diagrama de Michaelis-Mendel se observó que V_{max} bajo su valor en presencia del extracto en comparación con la reacción sin inhibición, K_m indica que el extracto de *C. militaris* aumenta con el sustrato de manera dependiente de la concentración esto indica que realiza una inhibición de manera no competitiva. La constante de equilibrio (K_i) muestra que el extracto tiene mayor afinidad con el complejo ECA-HHL pues su valor fue de 8,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Todo lo obtenido sugiere la eficacia de cordicepina como inhibidor y la importancia en el área de productos farmacéuticos antihipertensivos a base de propiedades naturales.

Palabras clave: *Cordyceps militaris*, cordicepina, angiotensina, Hipertensión.

ESPECIACIÓN DE ARSÉNICO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN ACOPLADA UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS POR PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (HPLC-ICP-MS)

¹Duarte Sustaita Jesus Jaime, ¹García Vargas Gonzalo Gerardo.

¹Laboratorio de Toxicología Analítica de Metales-Facultad de Ciencias de la Salud, UJED

Introducción. La exposición al Arsénico (As) con el tiempo puede causar una variedad de efectos adversos a nivel respiratorio, cardiovascular, cutáneo y acción carcinógena. Existe evidencia que muestra que la toxicidad del As depende de su forma química y la capacidad metabólica del arsénico inorgánico en el humano para producir las cuatro especies principales: de Arsénico inorgánico trivalente (AsI^{+3}), Arsénico inorgánico pentavalente (AsI^{+5}), ácido dimetil-arsínico (DMA), ácido monometil-arsónico (MMA), de allí la importancia de contar con una metodología analítica adecuadas para poder determinar estas especies químicas.

Objetivo. Separar las diferentes especies de As por HPLC y utilizar el ICP-MS como detector cuantitativo.

Materiales y métodos. La separación se llevó acabo por método en gradiente utilizando: Solución 1.- $(NH_4)_2CO_3$ a 5 mM + Na_2 EDTA 0.05% pH=9 y solución 2 de $(NH_4)_2CO_3$ a 50 mM + Na_2 EDTA 0.05% pH=9.0, columna PRP-X100 30°C con un flujo de 0.5ml/min. Se utilizó una mezcla de As^{+3} , As^{+5} , DMA, MMA en concentración para As^{+3} /MMA/DMA de 0.25 a 2 μ g/L y para el As^{+5} de 0.5 a 4 μ g/L.

Resultados. Se obtuvo la separación y detección de las especies de As y se logró calcular una curva de calibración para cada especie con coeficiente de correlación de $r=0.983$ para As^{+3} , $r=0.993$ para As^{+5} , $r=0.995$ para DMA y $r=0.998$ para MMA. Se realizaron determinaciones de especies de As en orina de humanos con baja y alta exposición al metaloide.

Conclusiones. Se logró obtener un método operativo y factible para especiar los metabolitos de As en orina de humanos. De esta forma se cuenta con un método para evaluar mejor la exposición en poblaciones humanas, y predecir riesgos de susceptibilidad al metaloide.

SUSCEPTIBILIDAD EN CEPAS BACTERIANAS QUE AFECTAN EL TRACTO URINARIO ANTE EXTRACTOS VEGETALES DE *Prosopis glandulosa*

¹ Claudia Ninfa Avila-Reza, María del Sol Michel-Guzman, ¹ Juan Manuel de Jesús Favela-Hernández, ¹ Joaquín Avalos-Soto, ¹ Miguel Angel Téllez-López, ^{1*} Concepción García-Luján

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango.

*Email: concepcion.garcia@ujed.mx

Introducción. En la actualidad surgen un gran número de infecciones por agentes patógenos resistentes a los antibióticos. Gran parte de la población recurren a remedios tradicionales para el tratamiento de las afecciones del tracto urinario, por lo que se hace necesaria la validación científica de estos productos naturales utilizados para combatir las infecciones.

Objetivo. El propósito de este estudio fue determinar la actividad antibacteriana de los extractos vegetales del mezquite (*Prosopis glandulosa*) ante cepas ATCC y aislados clínicos de bacterias que afectan el tracto urinario.

Materiales y métodos. Se prepararon extractos hexánicos, clorofórmicos y etanólicos de hojas secas y molidas de *Prosopis glandulosa*, las cepas en estudio fueron: *E.coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* RM ATCC BAA-44, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. maltophilia* ATCC 13637, *K pneumoniae* ATCC 700603 y aislados clínicos. Los ensayos para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos ante las cepas en estudio se realizaron mediante el método de microdilución en placas de 96 pocillos, utilizando levofloxacin como control, se realizaron pruebas por triplicado.

Resultados. Los resultados indicaron que el extracto hexánico mostró una CMI de 500 $\mu\text{g/mL}$ frente a las cepas ATCC *E. coli* y *E. faecalis* y para aislados clínicos $>500 \mu\text{g/mL}$ respectivamente, mientras que el extracto clorofórmico mostró valores de CMI en el rango de 500 a 250 $\mu\text{g/mL}$ para *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* RM, *E. faecalis* de ATCC y para aislados clínicos los valores de CMI en el rango de 500 a 125 $\mu\text{g/mL}$. **En el caso del extracto etanólico, los valores de CMI están de igual manera en el rango de 500 a 250 $\mu\text{g/mL}$ para cepas ATCC de *S. maltophilia*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. aureus* RM, *E. faecalis* y *K. pneumoniae* y para aislados clínicos los valores de CMI se mantuvieron en el rango de 500 a 250 $\mu\text{g/mL}$. La levofloxacin se usó como control.**

Conclusiones. Los extractos clorofórmicos y etanólicos de *P. glandulosa* mostraron un espectro antibacteriano moderado, porque las concentraciones mínimas inhibitorias están en el de rango de 500 a 250 $\mu\text{g/mL}$ para las cepas ATCC y para aislados clínicos en el rango de 500 a 125 $\mu\text{g/mL}$. Mientras que el extracto hexánico mostró un espectro antibacteriano bajo ya que solo fue activo para cepas ATCC de *E. coli* y *E. faecalis*. Se concluye que los extractos clorofórmicos y etanólicos fueron los más bioactivos por su acción antibacteriana en varias de las especies estudiadas.

ASOCIACIÓN ENTRE ARSÉNICO URINARIO Y POLIMORFISMO DE LA MATRIZ METALOPROTEINASA-9 EN ADOLESCENTES DE COMUNIDADES RURALES DE LA COMARCA LAGUNERA. RESULTADOS PRELIMINARES.

¹Nohemí Barrios Aviña, ¹Gladis Michel Ramírez, ¹Rogelio Recio Vega, ²Dealmy Delgadillo Guzmán.

Facultad de Medicina. ¹Departamento de Salud Ambiental. ²Departamento de Farmacología. U.A. de C.

En la Comarca Lagunera se estima que hay 1,600,000 personas expuestas a arsénico (As) a través del agua de bebida. La exposición a este metaloide está relacionada con una amplia variedad de enfermedades, incluidas las cardiovasculares, resistencia a la insulina, el cáncer, enfermedades respiratorias, entre otras. En los últimos años se ha observado un aumento de la matriz metaloproteinasa 9 (MMP-9) tanto en personas que padecen estas patologías, como en personas con exposición crónica a As. La MMP-9 es una metaloproteasa que degrada el colágeno en la matriz extracelular, es principalmente secretada por macrófagos, neutrófilos y eosinófilos en los alveolos. Muchos estudios relacionan la MMP-9 con enfermedades respiratorias crónicas y diabetes. También se ha encontrado que existe una mutación de C a T en el sitio 1562 del promotor MMP-9, lo cual podría afectar el nivel de expresión del gen MMP-9 y, por lo tanto, causar un incremento anormal del nivel de expresión de MMP-9. El objetivo de este estudio transversal es evaluar la asociación que existe entre los niveles de MMP-9, niveles de arsénico urinario, y el polimorfismo de la matriz metaloproteinasa-9 en adolescentes de diversas comunidades rurales de la Comarca Lagunera. El tamaño de muestra es de 137 jóvenes residentes de los ejidos Jauja, El Lucero y Nazas, Durango; y El Porvenir, Coahuila. Se realizó la cuantificación y especiación de arsénico urinario mediante HPLC ICP-MS. Se utilizó sangre periférica de los participantes para extraer el ADN mediante el kit DNeasy de QIAGEN. Se determinarán las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs3918242 mediante PCR en tiempo real. Se cuantificarán los niveles de MMP-9 en suero mediante ELISA. Se realizará un análisis estadístico utilizando el paquete estadístico Stata/MP. La media de edad de los participantes fue de 16.5 años con un IMC de 22.3 kg/m². La mediana de As urinario total de los participantes fue de 48.23 µg/L, se observó una diferencia estadísticamente significativa en As(III) entre hombres y mujeres (p<0.05). Como conclusión, los jóvenes tuvieron una mediana de As urinario total de 48.2 µg/L y el 47.4% tuvo valores por encima del valor de referencia (50 µg/L).

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL GÉNERO *Candida* EN MUESTRAS CLÍNICAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS CON COVID-19 DE UN SANATORIO DE NORTE DE MÉXICO

^{1,2}Alba-Romero José de Jesús, ¹Calleros-Ricón Esperanza Yasmín, ¹García-Lujan Concepción,
¹Hernández-González Sandra Isabel, ¹Martínez-Romero Aurora

¹División de Estudios de Postgrado e Investigación. Facultad de Ciencias Químicas.
Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED).

²Laboratorio de Análisis Clínicos Asesores Especiales de La Laguna.

Resumen

La asociación entre COVID-19 y la fungemia son multifactoriales como una condición de la severidad de la enfermedad (la mayoría de los pacientes requieren ventilador, monitoreo hemodinámico invasivo y estancia prolongada en la unidad de cuidado intensivos), además previo uso de antibióticos y esteroides. Los casos de infecciones secundarias por *Candida* spp. no se han documentado y estos aislamientos se han realizado de hemocultivos, incrementando las infecciones asociadas a la atención IAAS por estos microorganismos en pacientes con COVID-19. El objetivo principal fue describir el panorama epidemiológico de las fungemias en pacientes del área COVID. En los materiales y métodos se sembraron en medios de cultivo específicos 135 muestras de diferentes sitios anatómicos encontrando que 44 cepas correspondieron a *C. albicans*, representando el 70% del total de las cepas aisladas. El resto de los aislados correspondieron a *C. glabrata* (6 =9.6%), *C. haemulonii* (2=3.2%), *C. krusei* (4=6.4%), *C. tropicalis* (3=4.8%), *C. utilis* (3=4.8%), por lo que se considera que la identificación correcta de las especies es crucial en la vigilancia de las infecciones hospitalarias. *C. albicans* sigue siendo quien predomina en pacientes con COVID-19 y como biota común en los hospitales.

COMPARACIÓN Y ANÁLISIS DE DISTINTAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE DOS MUESTRAS DE HOJAS DE NARANJA DULCE (*Citrus sinensis*).

¹Rodríguez de la Fuente Gabriel y ¹Villa Reyna Lizbeth Paola.

¹Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Químicas F.C.Q., Gómez Palacio, Durango.

Resumen: El objetivo del estudio es realizar una evaluación farmacognóstica de las hojas de naranja (*Citrus sinensis*). Para dicho estudio se necesitaron dos muestras de hojas de *C. sinensis* compradas y secadas al aire libre en el mercado Juárez en Gómez Palacio, Durango. Se realizaron estudios farmacognósticos donde se determinó el porcentaje de humedad y cenizas; así mismo, se obtuvieron extractos por método de maceración e infusión, además de que se realizó un estudio de cromatografía en capa fina. Los resultados para el porcentaje de cenizas fueron del 13.29% para la muestra A y 13.68% para la muestra B, mientras que para el porcentaje de humedad de la muestra A y B fue de 3.92% y 3.89% respectivamente. Los metabolitos de extracción en la fase móvil para la muestra A no se encontraron resultados de ácidos fenólicos ni de taninos, mientras que en la muestra B si se identificaron algunos metabolitos.

Palabras clave: *Citrus sinensis*, maceración, cromatografía, metabolitos, humedad, cenizas.

EXTRACCIÓN DE PEROXIDASAS DE *Sechium edule* Y SU APLICACIÓN EN LA DETECCIÓN DE CONTAMINANTES FENÓLICOS

¹Moreno Moreno Gabriela, ¹Flores Loyola Erika, ¹Marszalek Jolanta, ¹Pineda Escareño María Guadalupe, ¹Gómez Escobedo Idalia Analí, ¹Ramírez Moreno Agustina, ¹Rodríguez Sifuentes Lucio, ²Galindo Guzmán Magdalena.

¹Facultad de Ciencias Biológicas UA de C

²Universidad Politécnica Región Laguna.

*Email: erika-flores@uadec.edu.mx

Resumen

Los fenoles son compuestos químicos ampliamente utilizados en la agricultura como plaguicidas, herbicidas, germicidas, fungicidas, entre otros. Su uso extendido los ha convertido en contaminantes comunes con efectos tóxicos en animales y plantas. Estos contaminantes usualmente son detectados por procesos cromatográficos que implican altos costos para su detección. La importancia de su detección y cuantificación oportuna, principalmente en productos agrícolas de uso alimenticio, es de vital importancia para evitar su comercialización. Por tanto, es importante el desarrollo de métodos sensibles, fiables y de bajo costo para detectar estos compuestos. Una alternativa a los métodos tradicionales de análisis es el uso de enzimas como las peroxidasas de chayote (*Sechium edule*) capaces de detectar de manera específica contaminantes fenólicos en diferentes muestras ambientales.

Para la preparación del extracto enzimático crudo de chayote fue utilizado un buffer de extracción de fosfatos a pH 7. El cual fue dejado en contacto con el material vegetal macerado durante 24 horas y posteriormente fue separado por centrifugación durante 30 min a 10000 rpm a 4 °C. El sobrenadante fue utilizado en la detección selectiva de contaminantes como guayacol, fenol, catecol, 4-aminofenol y anilina. La actividad enzimática de las peroxidasas de chayote fue analizada por espectroscopia UV-Vis siendo la concentración mínima detectable de compuestos fenólicos de 10 mM. El extracto enzimático crudo presentó actividad equiparable después de hasta 15 días de almacenamiento en refrigeración lo que muestra una alta estabilidad con respecto al tiempo.

Palabras clave: *peroxidasa, actividad enzimática, contaminantes fenólicos.*

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FITOQUÍMICAS ENTRE EL ACEITE DE LA SEMILLA DE MORINGA Y ACEITE DE OLIVA.

Lesly Adamari Cueto Covarrubias, Mónica Andrea Valdez Solana, María del Carmen Reza Vargas, Dennise C. Arreola Berumen, Miguel Ángel Aguilera Ortiz,

Introducción. En los últimos años la *Moringa oleifera* adquirió gran relevancia económica debido a su versatilidad de aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética, nutrimental y biotecnológica. En el caso de la semilla se puede extraer aceite de alta calidad nutrimental. Sin embargo, su proceso de extracción es costoso y requiere de solventes orgánicos por lo que no es común encontrarlo en el mercado de los aceites comestibles y su principal uso se limita a la cosmética de alta gama. La extracción en seco podría ser una alternativa para optimizar la extracción y calidad del aceite de *M. oleifera* y facilitar su consumo por sus propiedades nutraceuticas.

El **objetivo** de este estudio es comparar las propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas del aceite de semilla de *Moringa oleifera* mediante la extracción en seco con el aceite de oliva extra virgen, para determinar su calidad y sus potenciales usos.

Material y método. La caracterización del aceite fue determina a partir de métodos fisicoquímicos validados por la AOAC, excepto el índice de yodo, el cual se realizó por el método de Rosenmund-kuhnhen. Las pruebas fitoquímicas fueron realizadas por ensayos colorimétricos cualitativos. Por último, la actividad antioxidante por DPPH se determinó espectrofotométricamente siguiendo el método de Govindarajan.

Resultados. El índice de acidez obtenido en los dos aceites se encuentra por debajo de 1 mg KOH/g por lo que está dentro del rango máximo permisible (4 mg de KOH/g) (FAO). La misma manera, el aceite de *M. oleifera* presentó un índice de peróxido de 12mEqO₂/Kg y cumple con la norma (FAO). En cuanto al índice de saponificación e índice de yodo, el aceite de *M. oleifera* presentó valores más bajos que el aceite de oliva, por lo que tiene mayor presencia de ácidos grasos de cadena larga y una menor presencia de insaturados. En las pruebas fitoquímicas se obtuvieron los mismos resultados para ambos aceites, donde se mostró la presencia de flavonoides y alcaloides. Finalmente, en el método de DPPH, el aceite de oliva presento una mayor actividad antioxidante, pero los valores obtenidos no muestran diferencia significativa entre ambos aceites.

Conclusión. En base a los resultados obtenidos, el aceite de *Moringa oleifera* que se obtuvo mediante la extracción en seco puede ser de uso comestible y sus propiedades sugieren que es útil en preparaciones donde se involucran altas temperaturas, como el horneado. Además, este aceite aporta un valor agregado al alimento por sus propiedades antioxidantes.

Palabras clave: *Moringa oleifera*, semilla, aceite, propiedades fitoquímicas y fisicoquímicas, extracción en seco.

**NIVEL DE AGRADO EN UN HELADO DE CREMA DE MANGO (*Mangifera indica*)
FORTIFICADO CON CEBADA (*Hordeum vulgare*)
Y SEMILLAS DE CÁÑAMO (*Cannabis sativa*)**

¹ Chew-Madinaveitia, R. G., ^{1*} Muro-Mendoza, A. A.

¹Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, FCQ.

*Email: muroamerica13@gmail.com

El helado es un producto pasteurizado elaborado con leche, mantequilla, azúcares, frutas o saborizantes (naturales o artificiales), es un conjunto de diminutos cristales de agua o líquido congelado y su tamaño podrá determinar la consistencia final. Se les denomina helados de crema a los productos que han sido elaborados a base de leche y adicionados con crema de leche y/o manteca. Su composición proteica oscila entre 1.5 a 3.5%, por lo que se pretende la adición de cebada y semillas de cáñamo para crear un alimento funcional, debido a que la cebada es fuente de proteína (12.48%), fibra, calcio, vitamina C, mientras que las semillas de cáñamo aportan 30.0 % de proteína, contiene todos los aminoácidos, ácidos grasos esenciales (Omega 3, Omega 6) y es de buena digestibilidad. Así mismo, y aunque no en cantidades elevadas el mango aporta proteína, tiamina, riboflavina, vitamina B₆, fibra y carbohidratos, haciendo posible reducir la cantidad de edulcorantes añadidos para la fabricación del presente producto. El objetivo de este trabajo es evaluar el nivel de agrado del helado de crema de mango fortificado con cebada y semillas de cáñamo, el cual se elaboró, a tres diferentes concentraciones (10, 15 y 20%), en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio y el nivel de agrado se realizó en la plaza pública de la colonia Valle de Chapala en Gómez Palacio, Dgo. El análisis estadístico del diseño experimental empleado fue un ANOVA unifactorial ($p < 0.05$). Los resultados emanados del análisis estadístico se observa que el tratamiento que más agradó a los jueces consumidores fue el que contenía el 15% de la mezcla de cebada y semillas de cáñamo, esto debido a que el 80% ($n=32$) contestó en la categoría de me gusta mucho. La adición de cebada y semillas de cáñamo en una proporción del 15% en el helado funcional de crema de mango obtuvo un mayor agrado por parte de los jueces encuestados, en comparación con las otras dos muestras con porcentajes de 10 y 20%.

NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE MEJORAN EL RENDIMIENTO Y LA BIOSÍNTESIS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN SANDÍA

¹Pérez García Salma Carina, ¹Vázquez Vázquez Cirilo, ²Gaucin-Delgado Jazmín M., ¹Orona Castillo Ignacio.

¹Maestría en Agricultura Orgánica Sustentable. Facultad de Agricultura y Zootecnia (UJED)
Carretera Gómez Palacio - Tlahualilo Km. 32. Venecia, Gómez Palacio, Dgo. México.

²Doctorado en Agua y Suelo. Tecnológico Nacional de México/ ITT.
Carretera Torreón-San Pedro km 7.5. Torreón, Coahuila, 27170, México

*Email: jazmontse@hotmail.com , salma.perg@gmail.com

Introducción: Las nanopartículas interaccionan conjuntamente con la célula viva a nivel molecular, confiriendo algunos impactos rentables al cultivo al incrementar su contenido en componentes bioquímicos y bioactivos. Una de las estrategias para aumentar el contenido de Cu en los alimentos es a través de la nanobiofortificación, que consiste en potencializar la bioactividad y contenido de Cu en las partes comestibles de las plantas.

Objetivo: Evaluar el efecto de la nanobiofortificación con NP Cu para mejorar los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de la sandía.

Material y métodos: Se empleó un diseño de bloques completos al azar, aplicando seis dosis (0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg L⁻¹) de NP Cu. Para determinar el peso fresco (rendimiento del cultivo, g planta⁻¹), las sandías se cosecharon y pesaron en una balanza analítica. El contenido fenólico total, se analizó por el método de Folin-Ciocalteu modificado, mientras que los flavonoides totales, se determinaron por espectrofotometría, la capacidad antioxidante total se midió mediante el método DPPH + in vitro, así como la Vitamina C en fruto se determinó por el método de titulación. Por último, el superóxido dismutasa (SOD) se llevó a cabo utilizando el kit SOD Cayman 706002®.

Resultados: La aplicación foliar de Cu-NPs no afectó el rendimiento, sin embargo, el mayor peso del fruto se logró en las tratadas con la dosis de 250 mg mL⁻¹. Por otro lado, se encontró un efecto positivo en la biosíntesis de compuestos fitoquímicos como lo son flavonoides, fenoles, vitamina C y capacidad antioxidante, mostrando un mayor efecto en la concentración de 250 mg mL⁻¹, así como también incrementó la actividad enzimática en un 125% en superóxido dismutasa (SOD).

Conclusiones: La aplicación foliar de Cu-NPs mejora la calidad nutracéutica, la capacidad antioxidante en frutos de sandía, además de incrementar la actividad de la enzima (SOD). Por lo tanto, con la aplicación de Cu-NPs producen frutos de sandía al mejor la calidad para la dieta humana debido a la acumulación de compuestos bioactivos.

NIVEL DE AGRADO, COLOR, COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA Y VIDA DE ANAQUEL DE UN CEREAL PARA DESAYUNO A BASE DE AISLADO DE PROTEÍNA DE SOYA (*Glycine max*), HARINA DE AVENA (*Avena sativa*) Y HARINA DE TRIGO INTEGRAL

¹Reyes Batres Mara, ¹Cortés Mejía Gisel Magaly, ¹Candelas Cadillo María Guadalupe.

¹Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Químicas. Gómez Palacio

*Email: 1098910@alumnos.ujed.mx

RESUMEN

El cereal para desayuno según Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, son copos o expandidos elaborados a base de granos de cereales sanos, limpios y de buena calidad. se elaboran mayoritariamente con trigo, maíz y arroz, aunque también se utiliza avena, cebada y, cada vez más, otros cereales como el centeno o el mijo. El objetivo de este trabajo es evaluar el color y nivel de agrado del cereal para desayuno a base de aislado de proteína de soya (*glycine max*), harina de avena (*avena sativa*) y harina de trigo integral, el cual se elaboró a diferentes concentraciones de aislado de proteína de soya, de harina de avena y harina de trigo integral (5:45:50, 10:40:50 y 15:35:50). El proceso se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos y el Laboratorio A de la Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio, Durango. Las pruebas del nivel de agrado se realizaron en la Escuela Secundaria Técnica 26 en Gómez Palacio, Durango y en el gimnasio 360 Perform en Torreón. El diseño experimental es unifactorial con cuatro repeticiones de cada tratamiento, además de contar con un cereal comercial como testigo. La medición de color fue mediante el sistema CIELab midiendo 10 veces Luminosidad, Cromaticidad y Tono (hue). Para evaluar el nivel de agrado participaron 50 jueces consumidores quienes plasmaron su opinión en una escala hedónica de 5 puntos. Los resultados mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) en luminosidad y tono, donde los más claros fueron los tratamientos con las proporciones de soya:avena:harina integral 5.45:50 y 10:40:50. Respecto al tono, este se ubicó entre 125° y 129° correspondientes al color amarillo, siendo más fuerte en las mezclas 5:45:50 y 10:40:50. Con respecto al nivel de agrado, los jueces consumidores indicaron que el mejor evaluado es el cereal elaborado con la mezcla 5:45:50 otorgándole una mediana de “me gusta mucho”; mientras que el peor evaluado fue el cereal comercial ubicando su mediana en “ni me gusta ni me disgusta”. Por lo tanto se sugiere elaborar el cereal con 5% de soya, 45% de avena y 50% de harina integral.

SÍNTESIS VERDE Y CARACTERIZACIÓN DE NANO PARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC Y SU EFECTO EN EL CULTIVO DE CHILE.

¹Daniela Monserrat Sánchez Pérez, ^{2*}Erika Flores Loyola, ²Jolanta Elzbieta Marszkalek, ¹Selenne Márquez Guerrero, ³Magdalena Galindo Guzmán y ¹Jorge Arnaldo Orozco Vidal.

¹Instituto Tecnológico de Torreón (ITT)-DEPI.

²Facultad de Ciencias Biológicas (UAdeC).

³Universidad Politécnica de la Región Laguna (UPRL).

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnNPs) tienen diversos beneficios al regular la síntesis de proteínas y triptófano en las plantas, por lo que en los últimos años la agroindustria ha implementado su uso como microfertilizantes y estimulantes. Los métodos tradicionales de obtención de nanopartículas (NPs) pueden causar daños al medio ambiente por la diversidad de compuestos que involucran. Esto puede evitarse a través del uso de métodos biológicos de síntesis que incluyen extractos naturales de plantas. Por tal motivo, el objetivo de este proyecto es obtener ZnNPs en presencia de extracto de *Larrea tridentata*, su caracterización y evaluación en el cultivo de Chile. Para esto fueron evaluadas las condiciones de biosíntesis de ZnNPs, las cuales, se obtuvieron a partir de nitrato de zinc y de un extracto hidroalcohólico de *L. tridentata*. Las ZnNPs fueron caracterizadas por espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) e infrarroja (FT-IR), y microscopía electrónica de barrido (SEM). Luego fueron aplicadas al cultivo de Chile durante las etapas de crecimiento de la planta, floración y crecimiento del fruto. Se evaluó su efecto en la calidad nutracéutica del fruto, fisiología del crecimiento de la planta y en el rendimiento. Los espectros UV-Vis mostraron picos de absorción típicos para ZnNPs alrededor de 359 nm, mientras que los espectros FT-IR mostraron las bandas características de las ZnNPs, además de las correspondientes a la materia orgánica residual del extracto que queda depositado sobre las nanopartículas. El análisis SEM mostró la estructura y morfología características de las ZnNPs, con un tamaño de 20 a 50 nm. Los resultados de la aplicación de ZnNPs en las plantas mostraron que el mejor tratamiento fue el de 25 ppm de NPs, aumentando en un 32% la biomasa total de las plantas de Chile con respecto al control y un aumento del 20% en las variables fisiológicas lo que indica un aumento altamente significativo en los compuestos bioactivos y en la calidad nutracéutica del fruto. El extracto de *L. tridentata* demostró ser excelente reductor de $Zn(NO_3)_2$ y actúa significativamente como agente estabilizante de las ZnNPs. Por otro lado, el Zn actúa como cofactor de importantes enzimas que contribuyen al buen funcionamiento del sistema de defensa antioxidante por lo que se obtuvo un aumento altamente significativo en la concentración de compuestos bioactivos en las plantas de Chile, además este es precursor en la producción de auxinas las cuales influyen en la elongación y división celular y por ende en la cantidad de biomasa.

Cuerpo académico UJED- CA- 134 Química y Tecnología de Biocompuestos

LGAC: Química y tecnología de biocompuestos alimenticios y de origen natural

Nombre proyecto	Investigador responsable	
<p>Propiedades funcionales y reológicas de sábila (<i>Aloe vera barbadensis</i> Miller) fresca y deshidratada.</p>	<p>María Guadalupe Candelas Cadillo</p>	 <p>Lycopeno un antiOX</p>
<p>Evaluación del impacto de las condiciones agroclimáticas de la región sobre los compuestos bioactivos de Aloe vera y su funcionalidad.</p>	<p>María de Los Ángeles Sáenz Esqueda</p>	
<p>Aplicación de la tecnología de ultrasonido de potencia al procesamiento y desarrollo de productos alimenticios y farmacéuticos.</p>	<p>Juan José Martínez García</p>	
<p>Revalorización de subproductos agroindustriales para la recuperación de compuestos con interés para la industria farmacéutica y de alimentos.</p>	<p>José Rafael Minjares Fuentes</p>	
<p>Efecto de la temperatura y la velocidad de alimentación del secado por aspersion en las propiedades funcionales, la concentración de aloemodina y aloína, la actividad antioxidante y el perfil de carbohidratos del jugo de gel de <i>Aloe barbadensis</i> Miller.</p>		

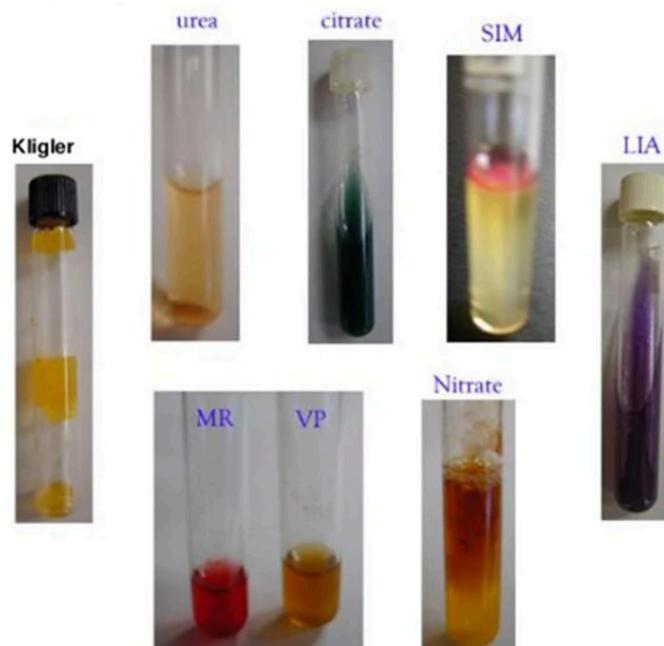
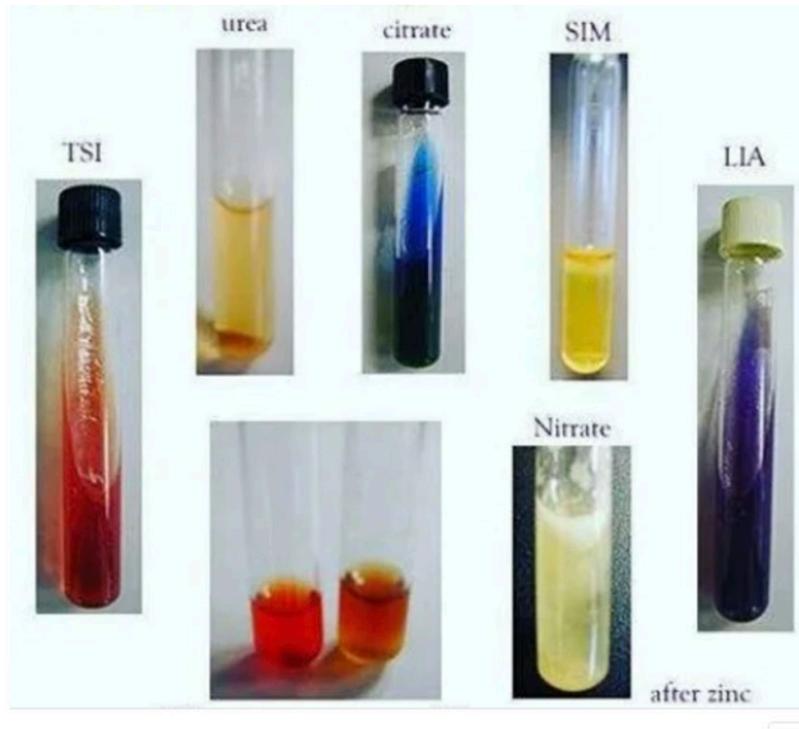
Problema de Microbiología

¹Sierra Campos Erick y ¹Valdez Solana Mónica Andrea

¹Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), Artículo 123 s/n, Fraccionamiento Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. CP 35010. Tel (871) 71588 10 y 7 15 29 64.

Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com

En base a las imágenes que se presentan de pruebas bioquímicas identifica los siguientes microorganismos.

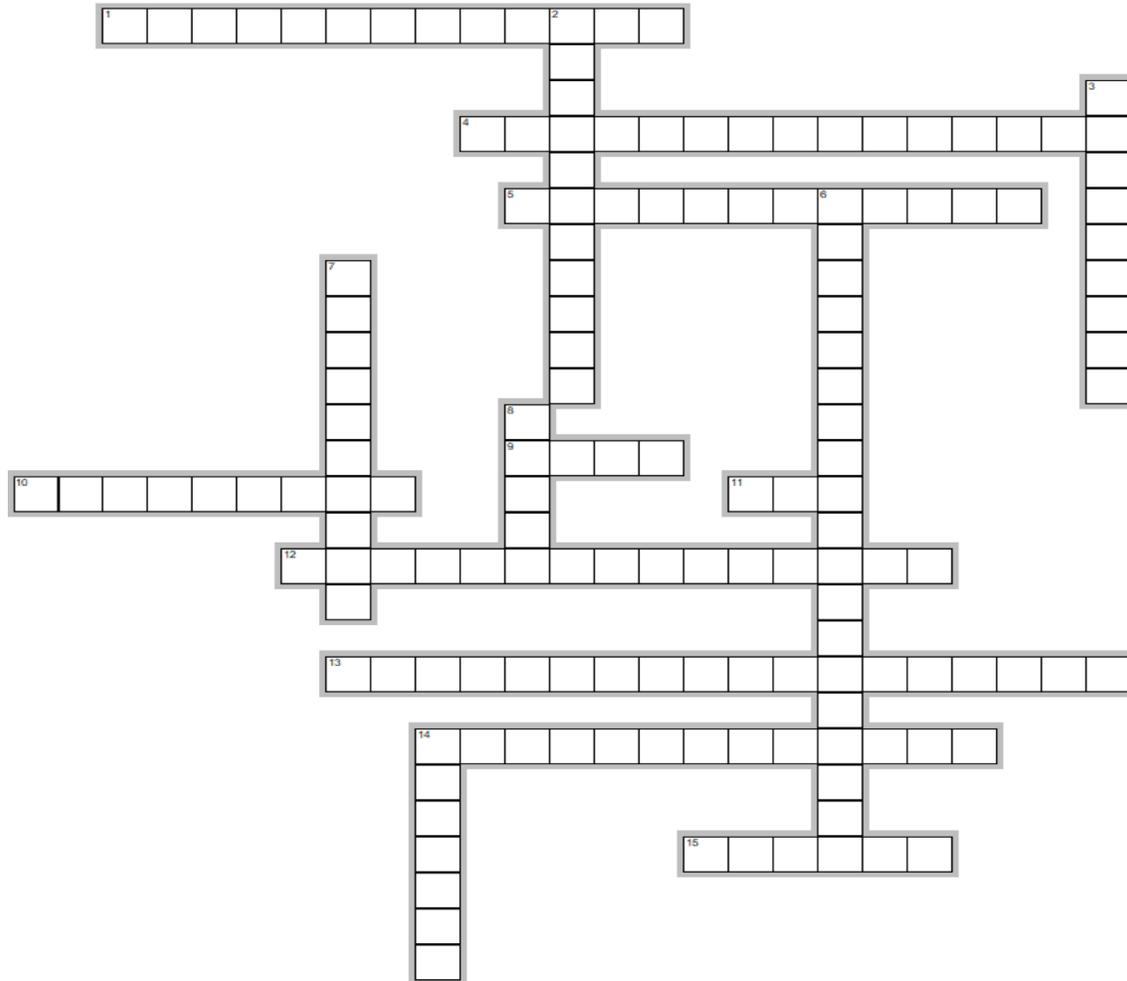


Crucigrama de Aditivos en Alimentos

¹Sierra Campos Erick y ¹Valdez Solana Mónica Andrea

¹Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), Artículo 123 s/n, Fraccionamiento Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. CP 35010. Tel (871) 71588 10 y 7 15 29 64.

Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com



ElEspañol.com

Vertical

1. Mejoran sabor u olor
4. potenciador de sabor, se usa en papas fritas,salsa, soja, embutidos, sazónadores, etc en grandes dosis es un potente excitotóxico y neurotóxico.
5. ralentizan el deterioro de los alimentos causado por el aire, mohos, bacterias y levaduras.
9. Se utiliza en mayonesas, salsas, etc. Tiene la función de secuestrar metales, pero en altas dosis genera vómitos, diarrea y problemas de coagulación.
10. Se usa en mantequillas, quesos yogures, fideos, salsas; de color amarillo a naranja intenso y se puede extraer de una raíz parecida al jengibre
11. Siglas de Food and Drug Administration
12. Se usa en refrescos, mayonesas, salsas, licores, conservas de mariscos, enlatados. puede causar alergias al combinarlo con ácido ascórbico puede formar benceno, un cancerígeno.
13. Documento que registra las dosis máximas permitidas de aditivos en los alimentos que garantizan la seguridad de los consumidores
14. Se usa como sustituto del azúcar para disminuir la cantidad de calorías del producto final

15. Comité mixto responsable de la evaluación de los riesgos de los aditivos alimentarios sobre la salud humana. Incluye símbolo.

Horizontal

2. Se encarga de establecer la dosis que una persona puede ingerir de una sustancia durante toda la vida sin que afecte la salud
3. Espesante natural y gelificante, se usa en zumos, ensaladas, gelatinas y embutidos
6. Sustancias que se añaden a los alimentos para mantener o mejorar su inocuidad, frescura, sabor, textura o aspecto.
7. Se añaden para restituir el color que se pierde en el proceso o mejorar el aspecto
8. Organismo que evalúa cada aditivo alimentario en base a estudios científicos en bioquímica y toxicología.
14. Son proteínas naturales que catalizan reacciones bioquímicas y se usan en la fabricación de vinos y cervezas

Resolución del problema de Nomenclatura de Reactivos Químicos

¹ Sierra Campos Erick y ¹Valdez Solana Mónica Andrea

¹Facultad de Ciencias Químicas. Unidad Gómez Palacio. Universidad Juárez del Estado de Durango (UJED), Artículo 123 s/n, Fraccionamiento Filadelfia, Gómez Palacio, Dgo. CP 35010. Tel (871) 71588 10 y 7 15 29 64.

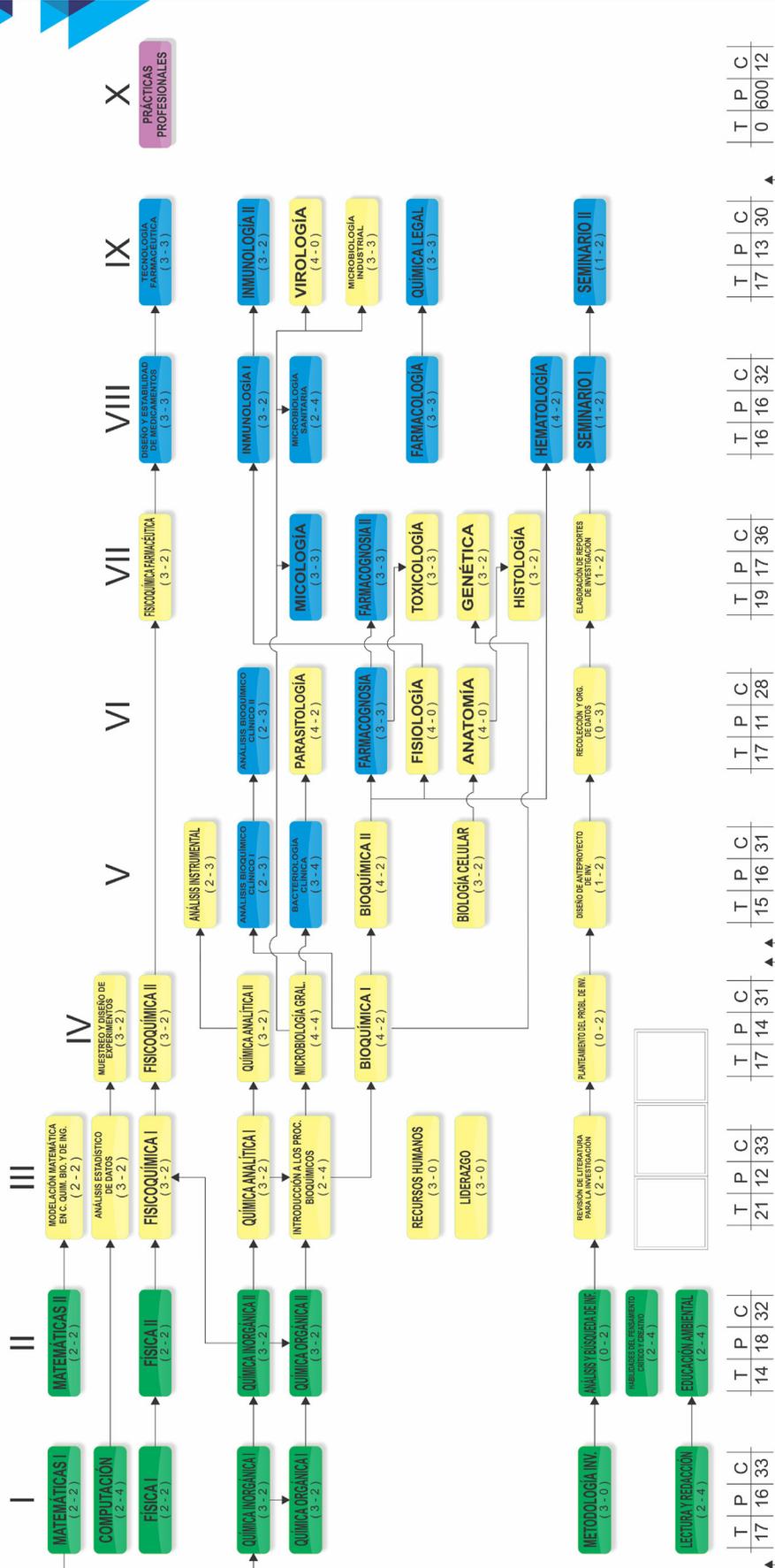
Email: ericksier@gmail.com; valdezandyval@gmail.com

COMPUESTO	CLASIFICACIÓN	NOMENCLATURA IUPAC	NOMENCLATURA STOCK
Fe ₂ O ₃	Óxido metálico	Óxido férrico	Óxido de Hierro (III)
Al(OH) ₃	Hidróxido	Hidróxido de aluminio	Hidróxido de aluminio (III)
Sn ₂ O	Óxido metálico	Óxido estañico	Óxido de estaño (IV)
Br ₂ O ₅	Anhídrido	Anhídrido bromico	Óxido de bromo (V)
NiCl ₃	Sal neutra haloidea	Cloruro níquelico	Cloruro de Níquel (III)
ClO	Óxido no metálico	Anhídrido hipocloroso	Óxido de cloro (I)
HBrO ₃	Oxiácido	Ácido bromico	Ácido de bromo (V)
NaClO ₃	Oxial	Clorato de sodio	Clorato de sodio (I)
Pb(SO ₄) ₂	Oxial	Sulfato plumbico	Sulfato de plomo (IV)
Fe SO ₄	Oxial	Sulfato ferroso	Sulfato de hierro (II)
BrO ₃	Óxido no metálico	Anhídrido perbromico	Óxido de bromo (III)
Cr(IO ₃) ₃	Oxial	Hipoyodito crómico	Hipoyodito de cromo (III)
KIO ₄	Oxial	Peryodato de potasio	Peryodato de Potasio (I)
CaSe	Sal haloidea	Selenuro de calcio	Selenuro de calcio (II)
AlPO ₃	Oxial	Fosfito de aluminio	Fosfito de aluminio (III)
K ₂ O	Óxido metálico	Óxido de potasio	Óxido de potasio (I)
Au ₂ O ₃	Óxido metálico	Óxido aurico	Óxido de oro (III)
Co ₂ O ₃	Óxido metálico	Óxido cobaltico	Óxido de cobalto (III)
H ₂ Se	Ácidos	Ácido selenhídrico	Hidruro de selenio (II)
IO	Óxido no metálico	Anhídrido hipoyodoso	Óxido de yodo (I)
H ₂ SO ₃	Ácidos	Ácido sulfuroso	Sulfito de hidrógeno
AuCl	Sal neutra haloidea	Cloruro auroso	Cloruro de oro (I)
HgCrO ₄	Oxial	Cromato mercurico	Cromato de mercurio (II)



QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

MAPA CURRICULAR



FORMACIÓN INTEGRAL

FORMACIÓN CULTURAL Y DEPORTE	FORMACIÓN INTELLECTUAL	FORMACIÓN SOCIAL	FORMACIÓN PROFESIONAL	FORMACIÓN TRANSVERSAL
ÁREA BÁSICA	ÁREA DISCIPLINAR	EJERCICIO PROFESIONAL	OPTATIVAS	EJE TRANSVERSAL
8 CREDITOS	8 CREDITOS	10 CREDITOS	12 CREDITOS	4 CREDITOS



REMDIS (fcqgp.ujed.mx/remdis)

ISSN: 2594-1445

Publicación Semestral de Investigación Científica en
Ciencias Alimentarias y de Salud.

Facultad de Ciencias Químicas Gómez Palacio
Universidad Juárez del Estado de Durango

www.ujed.mx

Artículo 123 S/N Col. Filadelfia, Gómez Palacio,
Durango, México CP 35010

Teléfono (871) 715 8810 ext. 224

e-mail: editorremdis@gmail.com