



CONSC

REVISTA DEL SILADIN
CIENCIA

www.cch-naucalpan.unam.mx

Revista semestral
Número 4
Mayo 2016

Caracterización de la diversidad del género

CAPSICUM

de la familia Solanaceae y de algunas
especies de la familia Compositae,

**como resultado del
proceso de especiación**

Obtención de fibras de poliéster
a partir de botellas recicladas de PET

Evaluación de las actividades antimicrobianas de
extractos etanólicos de *Equinacea purpurea* en
Staphylococcus aureus.

GUADALUPE MENDIOLA RUIZ / LIMHI EDUARDO LOZANO VALENCIA / DIANA MONROY PULIDO /
MIGUEL VALENCIA CIPRÉS / HUGO RÍOS PÉREZ / JOSÉ LIZARDE SANDOVAL / TAURINO MARROQUÍN CRISTÓBAL

Presentación

*Laboratorios Avanzados de Ciencia Experimental y de Creatividad.
(SILADIN: Sistema de Laboratorios Avanzados y de Innovación)
Comité Editorial*

4

Química

Obtención de fibras de poliéster a partir de botellas recicladas de PET
*Taurino Marroquín Cristóbal
Limhi Eduardo Lozano valencia*

8

Biología

Evaluación de las actividades antimicrobianas de extractos etanólicos de *Equinacea purpurea* en *Staphylococcus aureus*
*Diana Monroy Pulido
Miguel Valencia Ciprés*

16

Las hojas de eucalipto para la obtención de productos biotecnológicos
José Lizarde Sandoval

24

Caracterización del género *Capsicum* de la familia Solanaceae y de algunas especies de la familia Compositae, como resultado del proceso de especiación
Guadalupe Mendiola Ruíz

33

Demogross: Agentes tóxicos a nivel genético
Hugo Ríos Pérez

44

Implementación para la elaboración de un biorreactor para la extracción de la enzima Glucosa oxidasa del hongo *Aspergillus niger*
José Lizarde Sandoval

52





Dr. Enrique Luis Graue Wiechers

Rector

Dr. Leonardo Lomelí Vanegas

Secretario General

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez

Secretario Administrativo

Dr. Alberto Ken Oyama Nakagawa

Secretario de Desarrollo Institucional

Dr. César Iván Astudillo Reyes

Secretario de Atención a la Comunidad Universitaria

Dra. Mónica González Contró

Abogada General

Lic. Néstor Martínez Cristo

Director General de Comunicación Social

.....



Dr. Jesús Salinas Herrera

Director General



Dr. Benjamín Barajas Sánchez

Director

Mtro. Ciro Plata Monroy

Secretario General

Mtro. Keshava Quintanar Cano

Secretario Administrativo

Biól. Rosa María García Estrada

Secretaria Académica

Mtra. Olivia Barrera Gutiérrez

Secretaria Docente

Mtro. Víctor Fabián Farías

Secretario Técnico del Siladin

Lic. Fernando Velázquez Gallo

Secretario de Cómputo y Apoyo al Aprendizaje

Biól. Guadalupe Mendiola Ruiz

Secretaria de Servicios Estudiantiles

C.P. Ma. Guadalupe Sánchez Chávez

Administración Escolar



Biól. Guadalupe Mendiola Ruiz

Directora

Dr. Benjamín Barajas Sánchez

Q.B.P. Taurino Marroquín Cristóbal

Ing. Ezequiel Camargo Torres

Biól. José Lizarde Sandoval

M. en C. Limhi Eduardo Lozano Valencia

Consejo Editorial

Dr. Antonio Lazcano Araujo

Biól. Angélica Galnares Campos

Editores

Mtro. Keshava Quintanar Cano

Coordinador Editorial y Corrección de estilo

D.G. Reyna I. Valencia López

Diseño Editorial

Lic. Ma. Eugenia Ortiz Luna

Jefa del Dpto. de Impresiones

Revista del Sistema de Laboratorios de Desarrollo e Innovación (SILADIN)

Guadalupe Mendiola Ruiz
Directora de la revista

Revista semestral
Número 4
Mayo 2016

Los propósitos fundamentales de los *“Laboratorios Avanzados de Ciencia Experimental y de Creatividad”* (SILADIN), son:

- Iniciar a los estudiantes en la enseñanza de la metodología de investigación experimental científica, a través del desarrollo de proyectos o estudios a nivel de bachillerato. Los reportes de estos proyectos de investigación pueden presentarse posteriormente en eventos de Difusión de la Ciencia como Concursos, Congresos o Encuentros.
- Contribuir a la formación de los profesores de reciente ingreso en el Área de Ciencias Experimentales y el uso adecuado de las instalaciones, equipos y materiales con que se cuenta.
- Desarrollar actividades experimentales con la producción de materiales didácticos que complementen a los programas de estudio, con la producción de materiales didácticos.

En la década de los años ochenta, con el apoyo del Banco Interamericano de Desarrollo, se construyeron en el bachillerato de la UNAM los laboratorios SILADIN.

En su interior se dividieron en **“Laboratorios Avanzados de Ciencias Experimentales” (LACE)** y **“Laboratorios de Creatividad” (CREA)**, que fueron diseñados para fomentar la creatividad de

profesores y alumnos, promoviendo un cambio sustancial para innovar la docencia en el área experimental. Asimismo, se pensó establecer un sistema de revisión permanente de la Enseñanza de las Ciencias Experimentales, ante la necesidad de impulsar la actividad científica, así como el conocimiento y preparación para las carreras de ciencias experimentales.





Este propósito fundamental de los “Laboratorios Avanzados de Ciencias Experimentales (*LACE*) y Laboratorios de Creatividad” (*CREA*) SILADIN, está orientado a elevar la calidad de la enseñanza de las Ciencias Experimentales, a través de la innovación en las formas de enseñar y colaborar en el desarrollo de actividades experimentales, como un recurso que complementa de forma sistemática el proceso de enseñanza-aprendizaje de las Ciencias Naturales.

Para contribuir al proceso de enseñanza-aprendizaje, bajo el Modelo Educativo del Colegio, el SILADIN se basa en estos principios: **Aprender a Aprender, Aprender a Hacer y Aprender a Ser**; los alumnos participan ya sea de manera curricular o extra clase (es su propio interés el que los motiva a aprender y desarrollar), en proyectos de investigación experimental de las diferentes líneas de conocimiento que ofrecen los asesores, aprenden la metodología experimental con ambas modalidades, individualmente o en equipo, asumiendo con responsabilidad, su aprendizaje y los frutos del trabajo colaborativo.

La formación científica en el bachillerato está centrada en el conjunto de habilidades que deben desarrollarse en el trabajo

experimental, encaminadas a favorecer una mejor comprensión de los conocimientos, la complejidad y riqueza de la metodología experimental y la promoción del desarrollo de actitudes para su realización.

Con el objetivo de apoyar el desarrollo de los trabajos de investigación, en el SILADIN se encuentran los laboratorios de Biología, Física y Química **LACE** y **CREA**, además de un Laboratorio de Psicología, dos Auditorios y dos aulas de cómputo. Estos proyectos se realizan a lo largo del ciclo escolar y son presentados en los diferentes Foros de Difusión de las Ciencias Experimentales, en donde se demuestran las habilidades desarrolladas de comunicación y expresión oral y escrita. Así mismo se busca que estos trabajos trasciendan a través de su publicación en la revista **CONSCiencia del SILADIN**.

Actualmente, se **desarrolla** una gran actividad en los laboratorios con **la realización** de proyectos experimentales, en Biología **se trabaja** en Proyectos de Genética, de Bioquímica, de Biología Celular, Cultivos celulares *in vitro*, Microbiología, Fisiología Vegetal, Biotecnología y Psicología Fisiológica.

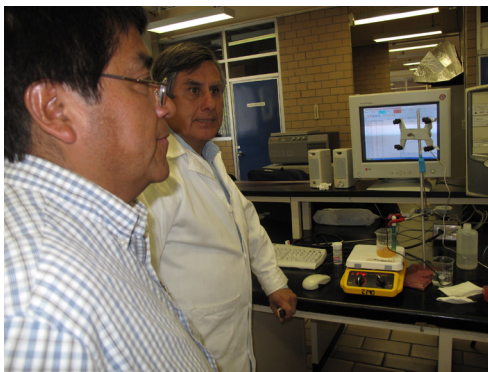
En Química se realizan proyectos de investigación experimental en las ramas de Química inorgánica y Química orgánica,

Química ambiental, Farmacéutica, Ingeniería de reactores, Química de alimentos. También se realizan proyectos interdisciplinarios con las áreas de Física y Biología. Dentro de los laboratorios de Química CREA y LACE, además de dichos proyectos se planean y realizan estrategias didácticas con un enfoque ecológico, basadas en los programas de estudio de Química del Colegio.

En Física se trabaja con temas de Mecánica Clásica, Termodinámica, Óptica, Combustibles Alternativos y Superconductividad. En Física Moderna se utilizan tecnologías con el uso de sensores en la medición de variables. Se cuenta con el Taller de Óptica, Astronomía y Astrofísica, en donde se realizan investigaciones documentales y de campo.

En Psicología se realizan trabajos en los que los alumnos desarrollan sus intereses por conocer la metodología experimental, aplicada en trabajos sobre las emociones, la conducta, las fobias, la memoria, el aprendizaje, implicando las investigaciones de psicología—fisiológica.

En el campo de las Ciencias de la Salud, se han realizado estudios sobre el efecto de las drogas en la salud, la dentición en roedores, y principalmente, hacia aspectos de la enseñanza de la anatomía y fisiología de los sistemas y órganos del cuerpo humano.



Como parte de los proyectos de Área Complementaria, algunos profesores de carrera y asignatura, en grupos de trabajo, comprometen durante el año escolar la realización de actividades de apoyo a la docencia, iniciación a la investigación científica y difusión de

las ciencias experimentales, por lo que llevan a cabo actividades interactivas (experimentales, investigación, lúdicas, e informativas), con alumnos en el SILADIN.

Se han albergado, además, proyectos como el del Club de Robótica, el proyecto multidisciplinario de una Casa Ecológica, talleres como el de Electrónica Básica y otros.

Uno de los puntos importantes es dar a conocer el trabajo realizado en el SILADIN, así como en el Colegio, por lo que son importantes los eventos de Difusión de la Ciencia Experimental, como ***“La Jornada Estudiantil de Ciencias”***.

El principal propósito es dar a conocer a la Comunidad Estudiantil del Colegio los resultados y avances de los trabajos de investigación experimental o documental, que realizaron los alumnos y es presentada por ellos como un aspecto de formación integral en el desarrollo de



habilidades de comunicación y expresión oral y escrita.

Otro de los eventos importantes organizado por el SILADIN es la **“Muestra SILADIN Hacia la Comunidad”**, que se presenta en las explanadas del plantel, cuyo propósito principal es que los profesores y alumnos presenten los proyectos realizados o anteproyectos de lo que van a realizar en el año lectivo, de los diferentes departamentos del SILADIN. A esta muestra se han sumado en los últimos años importantes programas institucionales que aun no siendo propiamente proyectos de los Laboratorios Avanzados de Ciencias Experimentales y Creatividad (SILADIN), han tenido en esta muestra una oportunidad para promover también su importante trabajo, tales como al Sistema de laboratorios Curriculares, El Programa de Estaciones Meteorológicas (PEMBU), Programa Institucional “*Jóvenes hacia la Investigación en Ciencias Naturales y Matemáticas*” y “*Jóvenes hacia la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades*”, Departamento de Opciones Técnicas, el proyecto de Hidroponía, el Taller de Óptica y Astronomía, el Club de Robótica y el Proyecto de Trabajo con Invernadero.

También se proporciona capacitación por parte de los Técnicos Académicos (Biología, Química, Física) para el manejo de equipos, técnicas físico-químico-biológicas, para la aplicación en las investigaciones que desarrollan los profesores y alumnos en los Proyectos de SILADIN.

Se organizan e imparten cursos de formación y actualización en el Área de Ciencias Experimentales para profesores del Colegio; Cursos Especiales para alumnos, que coadyuvan

al aprendizaje de conocimientos avanzados y actualizados, como parte de su formación propedéutica y capacitación para las carreras de Ciencias Experimentales; y Cursos de apoyo y actualización a laboratoristas del Colegio.

En actividades generales se proporciona apoyo a Diplomados en el Área de Ciencias Experimentales, que se llevan a cabo en las instalaciones del SILADIN, con equipos, técnicas y materiales.



Se realizan *Charlas de divulgación, Conferencias* dirigidas a estudiantes y profesores del Área de Ciencias Experimentales (en algunos casos para otras áreas); se organizan y efectúan Concursos como el de “*Lanzamiento de cohetes propulsados por agua*”; se presentan *Muestras y Actividades Interactivas*, dirigidas a alumnos como son “*La*

muestra de materiales de laboratorio”, “*Muestra de minerales*”, “*Muestra de concentración y extracción de metales*”.

El SILADIN es un espacio de creatividad, de trabajo experimental, de fomento a la vocación científica y de interés para profesores y alumnos que deseen profundizar en el aprendizaje y la adquisición de conocimientos de las disciplinas del Área de Ciencias Experimentales.

A 20 años de la creación de los *Laboratorios Avanzados de Ciencia Experimental y de Creatividad* (SILADIN), deseamos ser los Laboratorios de Primer nivel en la enseñanza-aprendizaje de la Ciencia Experimental, para fomentar las vocaciones científicas en el Área de experimentales. ∞

Dr. Benjamín Barajas Sánchez
Director del Plantel CCH Naucalpan

QUÍMICA



OBTENCIÓN DE FIBRAS DE POLIÉSTER A PARTIR DE BOTELLAS RECICLADAS DE PET

Asesores:

Marroquín Cristóbal Taurino

taurino.mc@gmail.com

Lozano Valencia Limhi Eduardo¹

limhilozano@yahoo.com.mx

Alumnas:

González Fonseca Verónica

Zaraul Granja Diana Laura

**1er.
lugar**

**XXIII Concurso Universitario Feria de las Ciencias,
la Tecnología y la Innovación.**
Categoría ciencias ambientales experimental local.

Resumen

Las botellas de PolietilenoTereftalato (PET) pueden ser recuperadas y recicladas, con la finalidad de obtener nuevos productos y contribuir al proceso de reciclado mediante las hojuelas (flakes) de PET recuperadas en la trituración, se transforman en fibra corta de poliéster, las cuales se pueden utilizar en la elaboración de ropa, escobas, relleno de almohadas, etc. El trabajo de esta investigación consistió en la recolección, triturado mecánico del PET que se desecha en el plattel, lavado, fundido y extruido para la fabricación de las fibras de poliéster cortas de colores claros y verdes; las cuales al principio no mostraron propiedades de resistencia, pero después de lavarlas con una emulsión de aceite y agua, sus propiedades mecánicas aumentaron considerablemente y de manera significativa. Se observó que este método es muy viable para la fabricación de fibras cortas de poliéster y es buena manera de contribuir al mejoramiento del medio ambiente y además con un futuro prometedor para el aumento de generación de ingresos económicos.

Palabras clave: Polietilentereftalato, PET, reciclado, triturado y fibras de poliéster cortas.

Introducción

El Polietileno tereftalato (PET) fue producido por primera vez en 1941 por los científicos británicos Whinfield y Dickson, quienes lo patentaron como polímero para la fabricación de fibras, y pese a que al comienzo se empleaba para la producción de una fibra para la industria

textil que se combinaba muy bien con otras fibras, su uso se extendió a la fabricación de cintas de empaque en la década de 1960 y, posteriormente, en los años setenta, a la manufactura de envases.

En la actualidad, el consumo global del PET se calcula en 12 millones de toneladas con un crecimiento anual de 6%. “El problema ambiental del PET radica en que tan sólo 20%

del PET que se consume en el mundo se recicla, el resto se dispone en rellenos sanitarios y tiraderos a cielo abierto”.

La recolección y la recuperación del material usado es el principal inconveniente que encuentran las empresas interesadas en reciclar PET. Estas labores son la piedra angular para garantizar un abasto permanente y confiable, que a su vez permita el desarrollo de una industria recicladora. A pesar de que se exalta la reciclabilidad del PET como uno de sus más preciados beneficios, para la mayoría de los mercados la cantidad de material que va a parar a un relleno sanitario o vertedero aún supera a la cantidad que se recicla.

No obstante, el panorama es muy positivo: “Cada año se ve más el incremento del uso del PET reciclado para varios productos en América Latina. Muchas compañías en varios países están invirtiendo en maquinaria y tecnología para dar uso al PET reciclado. Hay varias oportunidades. Brasil es el líder en todo el continente latinoamericano en uso final, seguido por México y Argentina. Lo cierto es que con el factor ambiental sobre la mesa, los desafíos del reciclaje de PET tienden a convertirse en oportunidades. Por ejemplo, bajo esta mirada el precio no sería el único



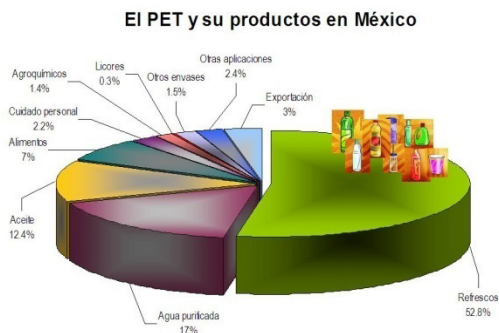
El problema ambiental del PET radica en que tan sólo 20% del PET que se consume en el mundo se recicla, el resto se dispone en rellenos sanitarios y tiraderos a cielo abierto”.

diferenciador entre un producto terminado, fabricado con resina virgen o con resina recuperada.

Por su parte, la Asociación Nacional de Recursos para Envases de PET de Estados Unidos (Napcor) publicó en 2010 los resultados de un estudio de inventario de ciclo de vida (LCI) para PET y HDPE reciclados. El reporte indica que incorporar PET reciclado en la fabricación de un empaque reduce significativamente la huella de carbono del empaque en términos de energía requerida y emisiones de gases con efecto invernadero (GEI). Para una libra de hojuelas de PET reciclado, la energía requerida es reducida en 84%, y las emisiones de GEI en 7%.

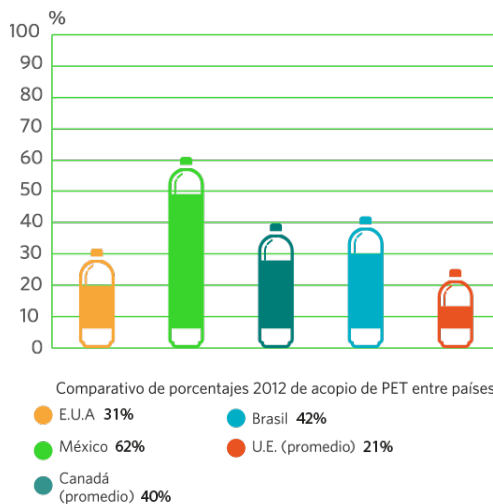
Las botellas de PET llegaron a México a mediados de la década de los ochenta con gran aceptación entre los consumidores. Hoy en día, nuestro país es el principal consumidor de bebidas embotelladas y se estima que en México se consumen alrededor de 800 mil toneladas de PET al año, con un crecimiento anual de 13% (véase figura 1).

Para abastecer la demanda de botellas de PET en México, existen 5 plantas productivas y alrededor de 190 plantas embotelladoras, que atienden a casi un millón de puntos de venta.



▼ **Figura 1.** Productos de PET en México.

Fuente: http://www.elecologista.com.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=108&Itemid=65



▼ **Figura 2.** Porcentajes de acopio de PET en diferentes países. Fuente: <http://equilibrio.mx/2015/responsabilidad-social/147-mexico-es-el-pais-que-mas-recicla-pet>

Una vez que son consumidos, la mayoría de los envases de PET son dispuestos en rellenos sanitarios, cauces, calles o tiraderos clandestinos. Los residuos de PET representan entre el 2-5% del peso y 7-10% del volumen en los rellenos sanitarios, y entre 25 y 30% de los residuos sólidos municipales generados en el país. En México, se recicla alrededor de 15% del PET que se consume. Este fenómeno se asocia con el precio al que se compra un kilogramo de PET que es de tan solo dos pesos, mientras que el kilogramo de aluminio se compra en \$9 pesos. El reciclaje del aluminio oscila en 50%.

El sistema de reciclaje de residuos en México se desarrolló desde la década de 1960, gracias al sector informal, es decir, los llamados "pepenadores".

En el año 2000, se creó ECOCE, una unión de 75 refresqueros, embotelladores y envasadores mexicanos; esta empresa recicladora se comprometió a recuperar un 36.5% de las

botellas de PET. Sin embargo, el reciclaje de PET se calcula en 50 mil toneladas por año.

El mercado natural para el reciclaje de PET tiene un gran potencial, ya que de lo que se recolecta, sólo entre 20 y 30% se queda, el resto se exporta a China y otros países a un precio de tres pesos el kilo. China es el principal mercado de reciclado, este país importa 250 mil toneladas de Estados Unidos, 150 mil de la Unión Europea y 25 mil de México. Se calcula que el valor potencial del mercado de reciclaje de PET asciende a 700 millones de dólares anuales; sin embargo, hasta el momento, sólo se aprovecha alrededor de 15% de lo que se produce en el país. El valor actual de la incipiente industria de reciclaje de PET en México se calcula en \$44 millones de pesos.

El principal problema ambiental del PET es su disposición, ya que una vez que se convierte en residuo, es notoria su presencia en los cauces de corrientes superficiales y en el drenaje, provocando taponamiento y dificultades en los procesos de desazolve, facilitando inundaciones, así como en las calles, bosques y selvas y el océano generando “basura”.

Se sabe que cada año se producen alrededor de 9 mil millones de botellas de PET, que representan casi una tercera parte de la basura doméstica generada en México. Anualmente 90 millones de botellas de refrescos y agua purificada son lanzadas a las vías públicas, bosques y playas. Una botella de PET tarda hasta 500 años en degradarse.

Se sabe que el 54% del PET en México se encuentra en almacenes para su distribución y en cauces, calles o tiraderos clandestinos; el resto está en centros de acopio para su reciclaje o en rellenos sanitarios. Esto representa un problema de disposición de residuos, considerando el potencial de reutilización que tiene el PET. Además, del total de residuos que se reciclan en México, el plástico representa tan solo el 0.5%.

Impulsar el reciclaje nacional del PET es una medida urgente, primero por lo que respecta a la limpieza pública y el manejo eficaz de la gestión integral de los residuos para evitar su acumulación en los rellenos sanitarios, segundo porque es preciso transitar hacia una economía sustentable que ahorre materia prima y recursos energéticos.

En la actualidad el PET se utiliza principalmente en tres líneas de producción:

- a) PET textil:** utilizado para fabricar fibras sintéticas, principalmente poliéster. Se emplea para fabricar fibras de confección y para relleno de edredones o almohadas, además de usarse en tejidos industriales al elaborar otros productos como cauchos y lonas.
- b) PET botella:** utilizado para fabricar botellas por su gran resistencia a agentes químicos, gran transparencia, ligereza y menores costos de fabricación.
- c) PET film:** utilizado en gran cantidad para la fabricación de películas fotográficas, de rayos X y de audio.

Por las razones anteriormente expuestas, el propósito de este estudio fue buscar alternativas de reutilización de las botellas de



PET, ya que reciclar PET es reintegrar este polímero en un nuevo ciclo productivo como materia, dado que una de las líneas de producción del PET es la textil, se trabajó para la elaboración de fibras de polietileno, usando la máquina recicladora de PET y la de fundición que se encuentran en el Colegio de Ciencias y Humanidades, plantel Naucalpan.

Desarrollo

En este proyecto se reutilizaron envases de PET de aguas o refrescos para fabricar fibra corta de poliéster, destinado a la fabricación de nuevos utensilios de trabajo, además de promover una cultura de reciclaje en el plantel colocando en los contenedores de botellas.

El proyecto proporcionó una opción de rehúso del tereftalato de polietileno obtenido principalmente de botellas contenedoras de líquidos de consumo cotidiano para la fabricación de fibra de poliéster pasando por los siguientes procesos:

- **Recolección y limpieza**

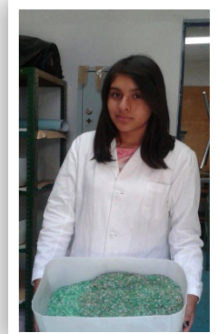
Las botellas son recolectadas y clasificadas por color, después son limpiadas retirando de ellas otro tipo de polímeros como el policloruro de vinilo (PVC) presentes en taparrosas y también las etiquetas.

Este proceso es de suma importancia, ya que de no ser retirado el PVC puede tener repercusiones en los procesos siguientes, quitándole al PET ciertas propiedades físicas, además de provocar una disminución en el costo del producto obtenido, y en un caso extremo de contaminación podría hacerlo inservible.



- **Triturado**

Una vez que contamos con las botellas clasificadas por color, las introducimos a la máquina trituradora de PET que se localiza en el plantel, la cual se encarga de llevar a cabo el proceso de triturado, con el que se obtienen “hojuelas” o “scrap”. El PET es triturado por colores (aquí solo llevamos a cabo la trituración de botellas color verde y transparente).



- **Lavado**

Las hojuelas son lavadas sobre una maya y dentro de un recipiente con agua y jabón industrial para separar todo tipo de residuos por densidades.

El material es enjuagado con agua pura y luego depositado en recipientes que tienen como base una malla metálica antioxidante de no más de 1/8 de pulgada de diámetro, que permite que fluya el agua con los residuos aún presentes. Con ayuda de los recipientes, el *scrap* es luego transportado a un horno de secado.



- **Secado**

Los fragmentos de PET, ya inspeccionados y limpios, antes de entrar al proceso de fundido para el hilado, deben ser secados bajo un constante control de temperatura. El secado puede ser al vacío (*vaccumdryer*) o, en su defecto, se emplea un sistema sencillo de flujo de aire caliente, gracias a resistencias eléctricas, suministrado por un ventilador. Posteriormente, el *scrap* ya libre de cualquier vestigio de humedad, puede continuar con el proceso siguiente.

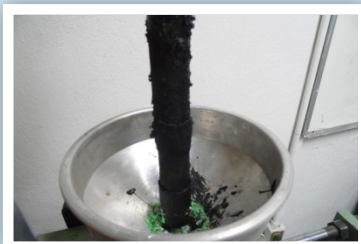


▼ Las condiciones del secado fueron de 80°C. por 72 horas.

- **Fundición de PET. Todo proceso de hiladura de fibra artificial consta de las siguientes etapas:**

Preparación del jarabe

Ya limpio el tereftalato de polietileno es sometido a 300°C para su rápida fundición en la que se obtiene una solución viscosa tipo jarabe, y después la temperatura se baja hasta 240°C para así obtener una especie de pasta.



Extrusión

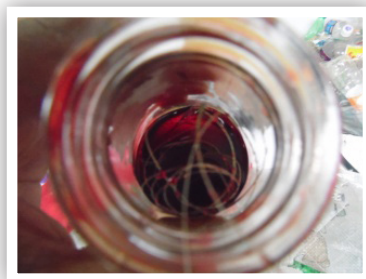
La pasta resultante es tomada recién salida de la máquina y jalada para obtener una hebra, se sigue jalando para coleccionar la mayor cantidad posible de hilo antes de que el PET se endurezca. La fibra se solidifica por coagulación, evaporación y enfriamiento.

La extrusión es una parte muy importante del proceso de hilatura. Consiste en forzar o bombear la solución de hilatura, a través de los pequeños orificios de una hilera o tobera. Una hilera es una boquilla pequeña, semejante a un dedal. Las fibras obtenidas por la extrusión se enfrían y endurecen al hacer contacto con el aire.



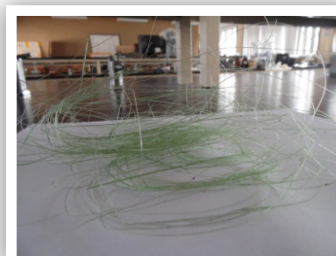
• Estiramiento

Previo baño en una emulsión de agua y aceite, las fibras fueron estiradas. El proceso se representa en el siguiente diagrama.



Resultados

Se obtuvieron las fibras de color blanco y verde.



Análisis de resultados:

La temperatura óptima de fundición del PET para el proceso fue de 240°C. para ambos colores de botellas.

Las fibras de ambos colores presentan las mismas características en el momento de la extrusión y la principal característica es que es muy fácil de romperse.

El baño con la emulsión de aceite permitió el aumento en la resistencia de las fibras de poliéster y esto se observó físicamente al hacerle pruebas cualitativas en el momento de la extracción.

Conclusiones

Con respecto a los resultados obtenidos en esta investigación, definitivamente el proceso de obtención de fibras de poliéster es viable, ya que las fibras presentan a simple vista propiedades características de los hilos comerciales.

El proceso de bañado de las fibras en la emulsión de aceite permitió el aumento en la resistencia de las fibras elaboradas con las botellas de PET de ambos colores.

El proceso de estirado o alargamiento aumentó la cristalinidad y distribución interna ordenada, reduce el

diámetro y agrupa las moléculas juntándolas más. Esto se observó en el aumento de sus propiedades físicas como la abrasión y la elongación (estas pruebas se realizaron cualitativamente).

Se espera que las fibras obtenidas en este proyecto puedan servir para hacer pruebas físicas cuantitativas y químicas; para observar sus propiedades con mayor precisión en proyectos posteriores.

También se espera que las fibras obtenidas en este proyecto se puedan combinar con otras fibras en proporciones pertinentes y puedan usarse para la fabricación de ropa, rellenos de cojines, cortinas, etcétera.

Este proyecto nos permitió hacer conciencia de que los desechos generados por las botellas de PET, pueden ser reutilizados nuevamente en materiales de beneficio para el ser humano y de esta manera contribuir de manera significativa con el medio ambiente. ♻️

1. Técnico Académico en Química, laboratorio de Química CREA - SILADIN, CCH Naucalpan

Fuentes de consulta

1. The Plastic Division of the American Chemistry Council INC. Franklin Associates, (2010). *Final Report. Life cycle inventory of 100% postconsumer HDPE and PET recycled resins from postconsumer containers and packaging.* (pp. 73).
2. Gobierno del Distrito Federal, (2006). *El PET y su situación actual en el Distrito Federal.* pp. 23.
3. Aguilar, J.A. Revista del Consumidor. Evases de PET. (pp. 5) PROFECO.
4. Aizenshtein. E.M., (2006) World production and consumption of polyester fibers and threats. *Fibre Chemistry. Vol. 38* (3) (pp. 264-271).
5. SEMARNAT, (2009). *¿Y el medio ambiente? Problemas en México y en el mundo.*

BIOLOGÍA



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *EQUINACEA PURPUREA* EN *STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS*

Asesores:

Diana Monroy Pulido

modiani23@yahoo.com.mx

José Miguel Valencia Ciprés

josemicipres@gmail.com

Alumnos:

Karla Viridiana Careaga Cervantes;

Citlali Berenice Ibarra Bustamante;

Daniel Ruíz Santiago; Dafne Ichell

Trejo Hernández



XXIII Concurso Universitario Feria de las Ciencias,
la Tecnología y la Innovación.
Categoría Biología experimental local

Resumen

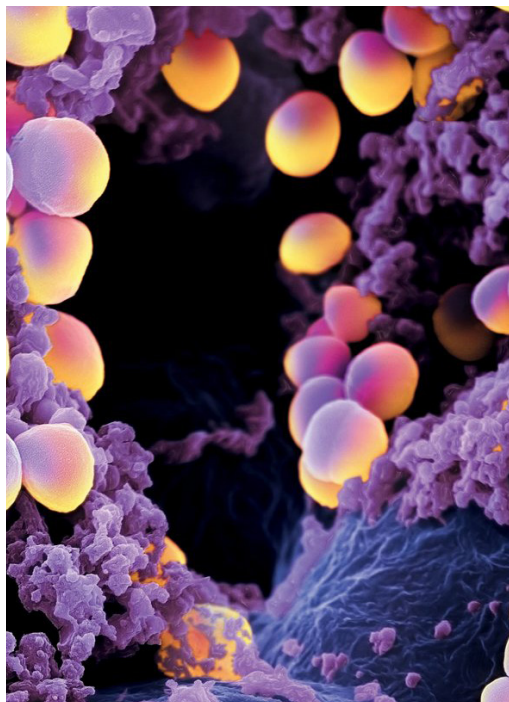
En la actualidad, se observa una disminución en la eficacia de los antibióticos debido a la creciente aparición de microorganismos resistentes a los mismos. Los estudios actuales en plantas medicinales demuestran que la *Equinacea purpurea* es una alternativa natural en el tratamiento de enfermedades infecciosas. En este estudio se determinó la actividad antimicrobiana de la raíz y flor de la *Equinacea purpurea* en *Staphylococcus aureus*, por el método de difusión en discos. Los resultados indican que solo el extracto de raíz tiene actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición en promedio de 14.1 mm. a una concentración de 20 mcg. Resulta necesario determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y bactericida, para determinar la concentración del extracto de raíz capaz de impedir el crecimiento bacteriano. También se debe evaluar la actividad antimicrobiana del gel con *Equinacea purpurea* y comparar con un gel de marca comercial.

Palabras claves: resistencia antibiótico, *Equinacea purpurea*, *Staphylococcus aureus*, extractos etanólicos.

Introducción

En la actualidad, cada vez se observa una disminución en la eficiencia de los antibióticos, de tal manera que las enfermedades no se erradican por completo o son recurrentes, esto se debe a la creciente aparición de microorganismos resistentes a los medicamentos. Por ello, se ha incrementado el interés en la búsqueda de nuevos compuestos de origen vegetal que presenten actividad antimicrobiana (Roma, *et al*, 2014).

La resistencia antimicrobiana puede ser genéticamente codificada por el



microorganismo en el cromosoma o en los llamados plásmidos de resistencia (factores R). La mayoría de las bacterias resistentes a los antibióticos, aisladas de pacientes, tienen los genes de resistencia en plásmidos R de genes que codifican nuevas enzimas que inactivan el fármaco, que impiden la incorporación del antibiótico o lo bombean fuera de la célula (Madigan, 2010).

El uso desconsiderado de los antibióticos ha provocado que las bacterias generen resistencia, por ello, es de gran importancia buscar otras alternativas de origen natural como las plantas medicinales.

Las plantas producen una gran cantidad y diversidad de compuestos orgánicos que no parecen tener una función directa en el crecimiento y desarrollo. Estas sustancias se conocen con el nombre de metabolitos secundarios. Estos se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos,

Figura 1. Clasificación taxonómica de *Equinacea purpurea*

Dominio: Eucarya
 Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Asterales
 Familia: Asteraceae
 Género: Echinacea
 Especie: Echinacea purpurea

presentan propiedades biológicas, (muchos desempeñan funciones ecológicas) y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas y perfumes (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

La *Echinacea purpurea* es una de las plantas medicinales de mayor importancia; tiene propiedades con acción antimicrobiana contra bacterias, hongos y virus. (Redondo, 2000) (Figura 1). Dentro de los compuestos presentes en la raíz de *Equinacia purpurea* están identificados las alcamidas y productos derivados del ácido cafeico como el ácido clorogénico y el ácido chicórico, su concentración puede variar de acuerdo a la altitud y el hábitat en el que se encuentra la planta, pero también al manejo de la muestra en el laboratorio y el tipo de solvente utilizado (Loaiza, *et al*, 2004).

Dentro de la bacterias de mayor importancia clínica en humanos se encuentra *Staphylococcus aureus*, especie que ha presentado resistencia a los antibióticos que normalmente se usan para las infecciones por estafilococos. Es

una bacteria Gram positiva que es común encontrarla como flora bacteriana en la garganta. La cepa aislada crece formando colonias lisas, elevadas, brillantes, presentan una consistencia cremosa, con una coloración amarillenta o dorada, producido por un pigmento carotenoide. La característica principal que diferencia a *Staphylococcus aureus* de las demás especies de staphylococcus es la producción de la enzima coagulasa, que permite a la bacteria coagular el plasma. Son muy resistentes al calor y a la desecación, pueden crecer en medios con elevada salinidad (7.5% de NaCl) (Figura 2) (Pahissa, 2009).

• Planteamiento del problema

¿Qué parte de la planta, raíz o flor de *Equinacea purpurea* presenta mayor actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*?

• Hipótesis

Los extractos de raíz y flor de *Equinacia purpurea* tienen igual actividad contra *Staphylococcus aureus*.

• Objetivo General

Determinar la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *Equinacea purpurea* raíz y flor por el método de difusión en disco en cepas de *Staphylococcus aureus*.

Metodología

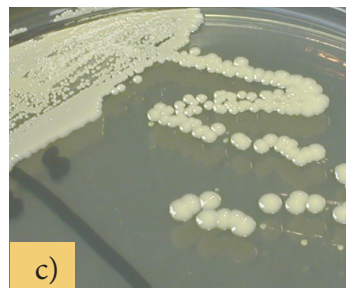
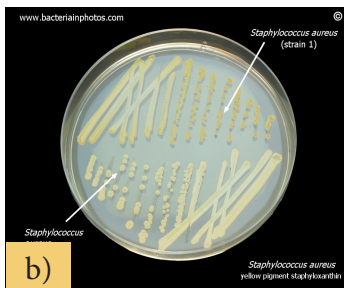
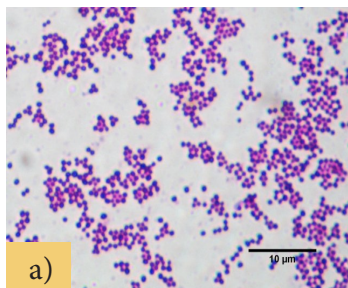
El material vegetal de *Equinacea purpurea* se secó en una estufa bacteriológica por tres días a 45°C. Posteriormente se trituró y tamizó en una coladera hasta obtener partículas finas





Figura 2. Tinción de gram¹ de *Staphylococcus aureus* (a); Colonias de *Staphylococcus aureus* en agar Mueller Hinton (b y c).

1. Tinción de Gram: Técnica de tinción que permite, de acuerdo con la estructura y grosor de la pared bacteriana, agrupar las bacterias en Gram positivas y en Gram negativas. Las Gram positivas se tiñen de azul o violeta; poseen una capa gruesa de peptidoglicano y carecen de membrana externa, mientras que las Gram negativas se tiñen de rosa; tienen una capa más delgada de peptidoglicano y poseen membrana externa (Madiga, 2012).



para someter a maceración. La maceración se realizó durante dos semanas, se colocaron por separado 25 gramos de flor y raíz en 300 ml. de alcohol etílico al 96%, finalmente se filtró y se eliminó el etanol con un rotavapor a presión reducida a 45 °C., cada extracto se dejó a temperatura ambiente para su completa sequedad¹ (Figura 3).

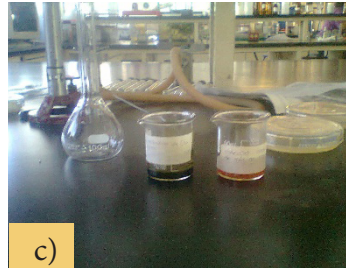
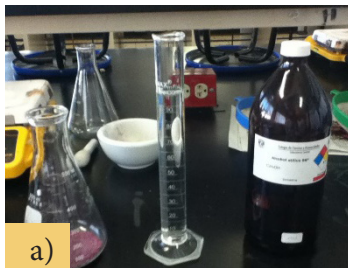
1 . Método modificado de Miranda, Espinosa, Centurión, Velázquez & Alor, 2012.

• Evaluación de la actividad antimicrobiana

Para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos se utilizó la técnica de difusión en disco de Kirby Bauer² en agar nutritivo con discos de papel filtro de 6 mm de diámetro previamente esterilizados, estos discos se

2. Difusión en disco basado en Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos.

Figura 3. Maceración de la planta (a), concentración del extracto en rotavapor (b) y obtención de extractos (c).



impregnaron con una alícuota de 10 μ L del extracto etanólico (flor o raíz) previamente preparado con 20 mcg de cada extracto disuelto en 1 mL del disolvente (etanol) (Miranda, *et al.*, 2012).

En este estudio se utilizó una cepa referenciada de *Staphylococcus aureus* proporcionada por la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

A partir de un cultivo bacteriano de *Staphylococcus aureus* de 24 horas se tomó de cuatro a cinco colonias y se transfirieron en un tubo que contenía 5 mL de solución fisiológica de NaCl al 0.9% ajustando la turbidez de crecimiento al estándar de MacFarlan³ equivalente a 10⁸ Unidades Formadoras de Colonias por mL.

En la suspensión de células bacterianas se sumergió un hisopo esterilizado, se exprimió el exceso de líquido en las paredes del tubo y se sembró por estría cerrada sobre toda la superficie del agar nutritivo. Posteriormente, en cada caja se colocaron 2 discos de papel filtro cada uno impregnado con 10 mL del extracto de raíz o flor, un disco control impregnado

con etanol, y un disco impregnado con 6 μ L de cloranfenicol (30 mcg) (Figura 5). Las cajas se incubaron a 37 °C por 24 horas. La prueba se realizó con seis repeticiones. Concluido el tiempo de incubación, se midió con un vernier el diámetro del halo de inhibición de cada caja.

Resultados

El rendimiento total de cada extracto etanólico de flor y raíz fue de 5 y 11 gr respectivamente. Cabe mencionar que el rendimiento depende de la solubilidad de los compuestos presentes en cada parte de la planta.

• Actividad antimicrobiana de extractos de flor y raíz en cepas de *Staphylococcus aureus*

El extracto etanólico de flor no presentó actividad sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, sin embargo, el extracto de raíz presentó un halo de inhibición máximo de 21 mm, el menor de 10 mm y un promedio de 14.1 mm para una concentración de 20 mcg. El grupo control no presentó halos de inhibición y el antibiótico de amplio espectro cloranfenicol presentó en promedio un halo de inhibición de 33.1 mm para una concentración de 30 mcg, lo que indica que la cepa es sensible a este antibiótico (Tabla 2 y Figura 13).

3. El uso del estándar o patrón 0.5 de MacFarlan permite la preparación de inóculos normalizados para uso en los procedimientos de prueba de sensibilidad antimicrobiana. (Pasterán & Galas, 2008).

Figura 5. Preparación del inóculo (a), técnica de difusión en discos (b).

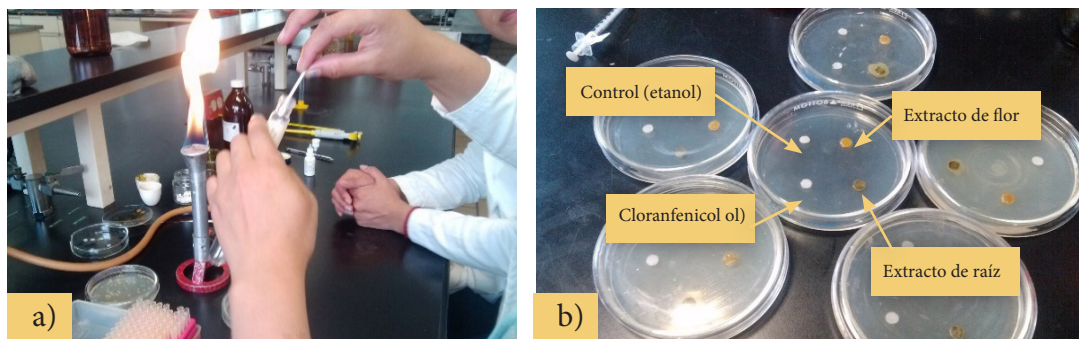
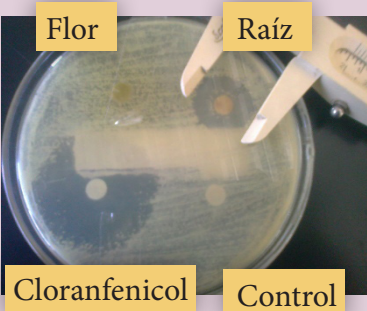


Tabla 2. Diámetro de la zona de inhibición en mm del extracto etanólico de raíz y flor de <i>Equinacea purpurea</i> .					Figura 9. Halos de inhibición para el extracto etanólico de raíz y flor en <i>Staphylococcus aureus</i> .	
Repeticiones	Flor	Raíz	Control (Etanol)	Cloranfenicol		
1	0	14	0	33		
2	0	16	0	33		
3	0	21	0	34		
4	0	12	0	36		
5	0	12	0	31		
6	0	10	0	32		
Promedio	0	14.1	0	33.1		

Cabe mencionar que el método de difusión en disco no permite una lectura directa del valor de la Concentración Mínima Inhibitoria⁴ (CMI) ni la Concentración Mínima Bactericida⁵ (CMB) para los extractos probados, sin embargo, los resultados indican que existe sensibilidad al extracto de raíz con una concentración de 20 mcg.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se elaboró un gel antibacterial con la receta general de la Profeco (2009), mismo que se formuló con 5 ml del extracto de raíz. El gel obtenido se trasvasó a una botella de plástico y se tapó firmemente para su posterior uso (Figura 6).

4. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), se define como la mínima concentración de antimicrobiano (en µg/ mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C.

5. La Concentración Mínima Bactericida (CMB), se define como la mínima concentración de antimicrobiano que elimina a más del 99,9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación (generalmente 24 horas).



Análisis de resultados

En este estudio se comprobó que el extracto etanólico de raíz de *Equinacea purpurea* tiene actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Estos resultados confirman lo reportado por (Redondo, 2000; Loaoiza, *et al*, 2004; Cruz, *et al*, 2011; Bosch y Bonafont, 2009) que reportan actividad antimicrobiana, antiviral y antifúngica. Al comparar los halos de inhibición, la cepa estudiada presentó la categoría de sensible (S) al antibiótico cloranfenicol. También se observó que existe sensibilidad al extracto etanólico de raíz. Sin embargo, el extracto de flor no presentó actividad antimicrobiana. Esto se relaciona con



lo reportado por Redondo, 2000, en donde se indica que cada parte de la planta tallo, raíz o flor presentan diferentes compuestos y por lo tanto diferente actividad antimicrobiana. El no presentar actividad antimicrobiana, también puede deberse a la presencia de mecanismos de resistencia adquirida probablemente de forma natural, mutaciones, o por la transmisión intra o inter especie por bacteriófagos o plásmidos que se han reportado para esta especie (Madigan, 2010).

De acuerdo a lo reportado por Domínguez y Juárez, 2011 y Molina, 2001, dentro de los compuestos que explican los resultados y que se han reportado con actividad bactericida y fungicida están las alcamidas, estos constituyen un elemento de defensa en especies vegetales. La mayor parte de las especies en las que se han encontrado alcamidas han sido frecuentemente utilizadas por el hombre como plantas medicinales entre ellas la familia Asteraceae a la cual pertenece *Equinacea purpurea*.

Respecto al rendimiento de cada extracto, la mayor cantidad de extracto etanólico obtenido fue de raíz en comparación con el extracto de flor, esto coincide con lo reportado por Redondo

2000, en donde indica que para la extracción de compuestos en plantas el más utilizado para raíz es el etanol, pues los compuestos presentes en raíz como las alcamidas son más solubles en etanol.

Conclusión

Los resultados confirman que el extracto etanólico de raíz de *Equinacea purpurea* presentó actividad antimicrobiana contra la cepa referenciada de *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no mostró sensibilidad al extracto etanólico de flor.

El extracto de raíz tuvo una mayor afinidad al disolvente utilizado, por lo que se obtuvo un mayor rendimiento. Lo cual indica que los metabolitos presentes en la raíz de la planta son más solubles al etanol.

Resulta necesario determinar la Concentración Mínima Inhibitoria y bactericida, para determinar la concentración mínima de dicho extracto capaz de impedir el crecimiento bacteriano. También se debe evaluar la actividad antimicrobiana del gel con *Equinacea purpurea* y comparar con un gel de marca comercial. ~



Para la realización de las prácticas en microbiología, se realizaron las siguientes medidas de seguridad biológica:

- Contar con el equipo de protección personal: bata, guantes y cubrebocas.
- Prohibir comer, tomar, fumar, maquillarse o poner lentes de contacto en el área de trabajo donde exista riesgo potencial de exposición.
- Evitar colocar alimentos o bebidas refrigerantes donde se almacenen cultivos u otros materiales.
- Lavarse las manos después del manejo de materiales infecciosos y antes de salir del laboratorio.
- Limpiar el área de trabajo con hipoclorito de sodio al 1% (marca comercial) después de trabajar con los cultivos bacteriológicos.
- Manejo de los desechos biológicos: esterilización con vapor a presión en autoclave de los cultivos bacteriológicos. Después de la esterilización, el tipo de residuo sólido se colocó en bolsas de plástico debidamente etiquetados. Asimismo, el material utilizado en las prácticas microbiológicas se lavó con hipoclorito de sodio al 1%.

Fuentes de consulta

1. Ávalos, G. A., Pérez-Urria, C. E. (2009). *Metabolismo secundario de plantas*. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3), pp. 119-145.
2. Bosch, M., y Bonafont, X. (2009). Uso de plantas medicinales en el perioperatorio. *Butlletí d'informació terapèutica del Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya*. 21 (4), (pp. 19-24).
3. Domínguez, B. L.E., Juárez, H. E. (2011). *Síntesis enzimática de alcaloides análogos de capsaicina*. Trabajo práctico científico. Facultad de ciencias químicas. Universidad Veracruzana.
4. Loaiza, J., Valverde, R., Rodríguez, G., Molina, J. (2004). *Análisis cuantitativos de los principales constituyentes químicos de raíces de 'Echinacea purpurea' y 'E. angustifolia' producidas en Costa Rica*. Agronomía Costarricense 28(2), (pp. 53-59).
5. Madigan, T. M., Martinko, M.J., Parker, J. (2010). *Biología de los microorganismos Brock*. 10ed. Pearson Prentice Hall. México.
6. Miranda, C. E., Espinosa, M. J., Centurión, H. D., Velázquez, M. J.R., Alor, S. M. de J. (2012). Actividad antimicrobiana de extractos de *Pesidium friedrichsthalianum* L. *Pterocarpus hayesii* L. *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. Universidad de Santiago de Chile. 11(4), (pp. 354-361).
7. Molina, T. J y García, C. A. (2001). Alcaloides en plantas: distribución e importancia. *Avance y Perspectiva vol. 20*. Unidad Irapuato.
8. Pahissa B. A. (2009). *Infecciones producidas por 'Staphylococcus aureus'*. España. ICG Marge. (pp. 250).
9. Pasterán, F., Galas, M. (2008). *Manual de Procedimientos Sensibilidad a los antimicrobianos en 'Salmonella', 'Shigella' y 'E. coli'*. Instituto Nacional de enfermedades Infecciosas. Centro Regional de Referencia WHO-Global Salm Surv para América del Sur.
10. Profeco (2009). TV #14.6 *Tecnología doméstica Profeco: Gel antibacterial*, en línea. Como elaborar un gel antibacterial. Recuperado de: <http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2009/06/gel-antibacterial1.pdf>.
11. Redondo, M.L. (2000). La *Equinacea purpurea*. Una alternativa real para estimular el sistema inmunológico específico. *Revista de fitoterapia*. 1: (pp. 15-24).



BIOLOGÍA



LAS HOJAS DEL EUCALIPTO PARA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS

Asesor

José Lizarde Sandoval
lizard_san@hotmail.com

Alumno

Llanas Fuentes Arturo

Resumen

En el presente trabajo se utilizaron hojas del árbol de eucalipto como materia orgánica para comprobar la efectividad de la levadura *Sacharomices cerevisae* en la producción de etanol por fermentación alcohólica, la obtención de extractos alcohólicos, la obtención de celulosa, y como fuente de carbono probar su degradación por fermentación y degradación por medio del hongo *Aspergillus niger*.

Las hojas de eucalipto frescas se molieron y licuaron, la materia orgánica obtenida se colocó en un fermentador por medio de métodos de destilación simple: por reflujo y por arrastre de vapor, los residuos vegetales después de la fermentación se usaron como materia prima; la obtención de celulosa se realizó mediante un aparato de destilación a reflujo, se utilizaron hojas frescas y hojas secas que se colocaron en agua oxigenada y ácido acético, a reflujo durante cuatro horas; posteriormente se filtró para obtener la celulosa. La celulosa y el hongo en medios de cultivo se pusieron en una base deshidratada de soluciones nutritivas. Se utilizó alcohol etílico como solvente para la extracción de aceites esenciales por destilación, para después extraer los aceites esenciales por medio de un Rotovapor.

Los resultados obtenidos muestran que no se obtiene etanol por la fermentación alcohólica, por medio de la levadura *Shacharomices cerevisae*. La celulosa obtenida de las hojas de eucalipto, fue degradada por el hongo *Aspergillus*

Utilizar la materia orgánica, de este árbol y de las plantas son importantes como recursos naturales para la obtención de productos. La importancia de la biotecnología es por la utilización de los recursos para obtener un beneficio, sin que dañe el ambiente, es un área multidisciplinaria que emplea la biología, química y procesos, con gran uso en agricultura, farmacia, ciencia de los alimentos, ciencias forestales y medicina.

Existen alrededor de 700 especies de árboles de eucalipto originarias de Australia, actualmente está presente en más de 90 países y se extiende sobre más de 22 millones de hectáreas en todo el mundo, aunque sólo 13 millones de hectáreas tienen productividad de interés industrial (1), debido a su rápido crecimiento frecuentemente se emplean en plantaciones forestales para la industria papelera, maderera o para la obtención de productos químicos, además de su valor ornamental, de las especies, el *Eucalyptus globulus*, (Fig. 1), es la más adecuada para la fabricación de celulosa, proporciona aproximadamente 6 m³/Ha/año a 15 m³/Ha/año. (2)

Actualmente, la importancia de la obtención de biocombustibles, que sean más amigables con el medio ambiente, en lugar de petróleo, el carbón o el gas natural, como el butanol o bioetanol; es considerado como una muy buena alternativa para reemplazar a la gasolina, debido a que es renovable y limpio, se considera que sus emisiones netas de CO₂ son prácticamente

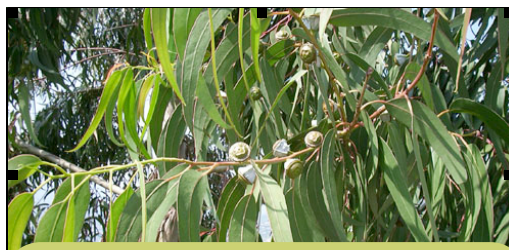


Fig. 1. *Eucalyptus globulus*.
Fuente: perfumesnaturales.info

Introducción

El eucalipto, originario de Australia, tiene un crecimiento rápido, por lo que produce una gran cantidad de materia orgánica, que tarda en degradarse debido a las sustancias que presenta, e incluso impide el crecimiento de organismos en el área en la que se desarrolla.



cero, ayuda a reducir en más de un 80% las emisiones de carbono y elimina por completo las emisiones de dióxido de sulfuro (SO_2), compuesto que causa la lluvia ácida.

La celulosa es el principal componente de las paredes celulares de los árboles y otras plantas, es una fibra vegetal que al ser observada en el microscopio es similar a un cabello humano, cuya longitud y espesor varía según el tipo de árbol o planta. Las fibras de algodón, por ejemplo, tienen una longitud de 20-25 mm, las de pino 2-3 mm y las de eucalipto 0,6-0,8 mm. Los árboles constituyen la principal fuente de fibras naturales para más del 90% de la producción de celulosa a nivel mundial; el restante 10% es aportado por otras plantas, tales como pastos, bambúes, bagazo de caña de azúcar, algodones, linos, cáñamos y otros (3).

De tal forma que el eucalipto, al generar la materia orgánica que cae al suelo, y no se degradada rápidamente se puede utilizar para la obtención de celulosa, como en el caso de desechos agrícolas de plátano (4). La composición química del eucalipto contiene del 1,5 al 3,5% de aceite esencial, del cual al menos un 70% corresponde al componente eucaliptol (7).

Existen organismos degradadores de celulosa como son los Basidiomycetes degradadores de madera de *Eucalyptus* (5).

Al estudiar las enzimas celulasas que utilizan naturalmente los hongos y bacterias para degradar la celulosa, se encontró que la hidrólisis de este polímero es muy compleja por eso, es necesario investigar las estructuras y funciones de estas enzimas para conocer con mayor detalle los mecanismos enzimáticos involucrados en la degradación de la celulosa (6).

Aspergillus niger es un hongo microscópico común que se encuentra principalmente en los vegetales en descomposición, como cereales, abono orgánico, hojas y productos alimenticios, se conoce comúnmente como el moho negro que se desarrolla en frutas y vegetales viejos (7).

La búsqueda y obtención de energéticos se han enfocado por medio de la biotecnología a utilizar la materia, que normalmente se produce en la naturaleza, como son las hojas del eucalipto, útiles como una fuente de materia para la fermentación para la producción de alcohol, mediante fermentación alcohólica utilizando levadura *Shacharomices cerevisae*, celulosa obtenida de la hojas del eucalipto para la degradación y fermentación mediante microorganismos como el hongo *Aspergillus niger* y la producción de aceite esencial de eucalipto, aromatizante de uso terapéutico en el jabón.

Metodología

Se utilizó la materia vegetal del árbol Eucalipto de los jardines del CCH Naucalpan, UNAM. Para la extracción de aceites de las hojas de eucalipto, se pesaron 20 gramos de hojas frescas y secas se les adicionó 200 mililitros de alcohol etílico, se dejaron a extracción a temperatura ambiente durante 48 horas. Se utilizaron los métodos de destilación simple, destilación por reflujo y por arrastre de vapor, para determinar cuál era el más efectivo para la obtención de los extractos de aceites esenciales de eucalipto.



Se utilizó el equipo de destilación Rotovapor (*Cafrano OB200*) para la concentración de los aceites esenciales, los cuales se adicionaron a un jabón con esencia de eucalipto.

Para la elaboración de jabón se utilizó una solución de 20 ml. de Hidróxido de sodio en 100 ml, se mezcló con 80 gr. de manteca vegetal en baño maría para saponificar la grasa, mientras se le agregaron 25 ml de extracto de eucalipto concentrado, la mezcla fue depositada en un molde, se dejó enfriar y secar.



En biodigestores separados, la materia orgánica recolectada de los métodos de destilación, se lavó y se puso a fermentar 20 g. de hojas secas y 20 g. de hojas frescas se colocaron en dispositivos separados, con 125 ml de solución de KH_2PO_4 (NH_4)₂POH más un volumen de agua de la llave a un volumen de 500 ml, se dejaron fermentar por una semana. Se determinó la producción de CO_2 de cada biodigestor, como un factor para determinar que existe fermentación. En el equipo de destilación se utilizó un sensor de temperatura (*Vernier**), para registrar el punto de ebullición del etanol.



La extracción y obtención de celulosa se realizó mediante un aparato de destilación a reflujo, (foto 1). Se utilizaron con hojas frescas y en hojas secas por separado, se pesaron 20 gramos de hojas, se cortaron en pequeños trozos y se suspendieron en una mezcla de 100 mililitros de agua oxigenada (H_2O_2) y 100 mililitros

de ácido acético en una concentración de 50:50 %, esta suspensión se llevó a reflujo durante 4 horas, para obtener las fibras intactas (10). Una vez terminado el proceso de reflujo, se filtró con un embudo y papel filtro para obtener los compuestos sólidos, el papel filtro se colocó en un cristallizador y se dejó secar al medio ambiente. Se pesó la celulosa obtenida y se observó al microscopio para determinar la estructura de la celulosa.

La cepa del hongo se obtuvo en el laboratorio de Biología CREA, SILADIN, CCH Naucalpan. El medio de cultivo para el hongo *Aspergillus niger*, (Fig. 2), se preparó con un medio de papa deshidratada (Marca*), adicionada con nutrientes, para un litro de solución a un pH de 7: azúcar 15%, nitrato de amonio 0.2 %, sulfato de magnesio 0.1 %, fosfato de amonio 0.7 %, fosfato de potasio 1.2 %, y cloranfenicol (20 microgramos/mililitro). Al medio de cultivo se les adicionaron las esporas, se mantuvieron los cultivos a una temperatura de 30 °C. (9)



Obtenidos los cultivos de *Aspergillus niger*, se adicionaron a frascos esterilizados muestras de hojas vegetales frescas, secas, celulosa obtenida del eucalipto y papel filtro, y solución nutritiva (azúcar 15%, nitrato de amonio 0.2 %, sulfato de magnesio 0.1 %, fosfato de amonio 0.7 %, fosfato de potasio 1.2 %, y cloranfenicol —20 microgramos/mililitro— pH de 7), de acuerdo a la **Tabla I**.

 Fig. 2. *Aspergillus niger*.
Fuente: www.inspq.qc.ca

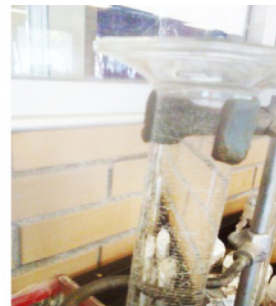
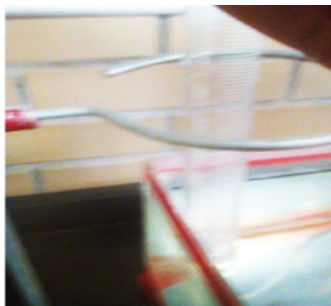
Tabla I. Cultivo del hongo con la diferente celulosa para determinar la degradación.

Medio de cultivo: variables Cultivo de hongo <i>Aspergillus niger</i> .
Agua de la llave esterilizada con papel filtro, en frascos de Gerber* para cultivo con el hongo <i>Aspergillus niger</i> .
Agua de la llave esterilizada y sacarosa como nutriente, en frascos de Gerber* para cultivo con el hongo <i>Aspergillus niger</i> .
Solución nutritiva y papel filtro en frascos de Gerber* para cultivo con el hongo <i>Aspergillus niger</i> .
Solución sin nutrientes celulosa obtenida del Eucalipto.
Solución nutritiva sin sacarosa, se le agregó materia orgánica obtenida de lavar las hojas obtenidas de la extracción de los pigmentos, en Gerber* para cultivo del hongo.



Resultados

Los resultados obtenidos mostraron que la levadura *Shacharomices cerevisae* no es un organismo eficaz para efectuar la fermentación alcohólica, la cantidad de alcohol producida es mínima al utilizar como materia orgánica hojas de eucalipto; en el caso de la utilización de hojas frescas para la obtención de alcohol, si se utiliza hojas secas no hay fermentación. La cantidad de alcohol obtenida se determinó por el proceso de destilación, y la comprobación por medio del sensor Vernier, con la determinación del punto de ebullición y la producción de CO_2 en los biodigestores. Los aceites extraídos de las hojas del eucalipto por medio del alcohol etílico se adicionaron al jabón.



Se obtuvieron dos gramos de celulosa de las hojas de eucalipto, de 20 gramos de de hojas frescas y, la misma cantidad de las hojas secas.

El hongo *Aspergillus niger* degradó la materia orgánica de las hojas de eucalipto (la celulosa) puesto que presentó un crecimiento. Los cambios se pueden observar en la siguiente **Tabla II**.



Tabla II. Determinación de la degradación de la celulosa por medio del hongo *Aspergillus niger*

Imágenes	Medio de cultivo. Cultivos de celulosa. <i>Aspergillus niger</i> .
	Agua de la llave esterilizada con papel filtro, en frascos de Gerber* para cultivo con el hongo <i>Aspergillus niger</i> . No hubo crecimiento del hongo.
	Agua de la llave esterilizada y sacarosa como nutriente, en frascos de Gerber* para cultivo con el hongo <i>Aspergillus niger</i> . Se presentó crecimiento del hongo.
	Solución nutritiva y papel filtro en frascos de Gerber* para cultivo con el hongo <i>Aspergillus niger</i> . El hongo no degradó el papel filtro.
	Solución sin nutrientes celulosa obtenida del Eucalipto. El <i>Aspergillus niger</i> presentó crecimiento notable degradando la celulosa del eucalipto.
	Solución nutritiva sin sacarosa, se le agregó materia orgánica obtenida de lavar las hojas obtenidas de la extracción de los pigmentos, en Gerber* para cultivo del hongo. La materia orgánica pudo degradarse, el <i>Aspergillus niger</i> se desarrolló en el medio.

Análisis de resultados

Los propósitos de este trabajo son para la utilización del eucalipto en la obtención de productos biotecnológicos, bioetanol (alcohol etílico), celulosa, ácido acético, y aceites esenciales, y la degradación de la celulosa por la utilización del hongo *Aspergillus niger*. Los trabajos realizados para la obtención de productos (13) han tenido más efectividad que los resultados que se obtuvo en el presente

trabajo. No encontramos referencia al contenido de alcohol y de celulosa obtenida por cantidad de hojas de eucalipto.

La fermentación de materia orgánica con levadura *Sacharomices cerevisae* no produjo la cantidad de etanol que se esperaba, en una producción del 30%. Se observó que las hojas frescas no se fermentaron, determinado por la producción de bióxido de carbono, de la misma forma como las hojas secas, probablemente por los aceites, como el eucaliptol.



El eucalipto sirve como una muy buena fuente de obtención de celulosa, gracias al proceso de extracción por reflujo, además, mediante este proceso es posible reutilizar el ácido acético.

El hongo *Aspergillus niger* no es un microorganismo degradador de celulosa del eucalipto, pues tanto en los frascos de materia orgánica, como en los de celulosa presentó un crecimiento notable.

Conclusiones

El aprovechar la materia orgánica de los árboles y de las plantas es un aspecto necesario como recurso natural, que al utilizar biotecnología sea de manera limpia, así como la utilización de los recursos son desechados como basura, la obtención de celulosa, extractos vegetales y biogás, por el proceso de fermentación, deben de impulsarse para su aprovechamiento. El

eucalipto es una materia prima altamente renovable y aprovechable, dado su crecimiento rápido se puede utilizar la materia orgánica para obtener celulosa, como se reporta en trabajos de investigación (1, 2).

Se han utilizado los aceites esenciales de eucalipto, para el tratamiento de afecciones respiratorias. El trabajo propone que sean utilizados como adición al jabón con esencia de eucalipto como coadyuvantes de afecciones respiratorias. Existen organismos fermentadores para la producción de bioetanol. En el presente trabajo no se obtuvo observaciones que determinen que la levadura *Sacharomices cerevisae* sea un organismo que se pueda utilizar como productor de etanol. De las observaciones obtenidas del hongo *Aspergillus niger* se infiere que puede ser utilizado como organismo degradador de materia orgánica y celulosa de las hojas del árbol de Eucalipto. ∞

Fuentes de consulta

1. Centro de investigación del eucalipto. Universidad de Huelva. Recuperado de <http://www.uhu.es/cideu/aspectos.htm> (revisado en línea enero 2016).
2. La gestión forestal Sostenible y el Eucalipto. Grupo empresarial Ence. Recuperado de http://www.ence.es/pdf/El_Eucalipto.pdf
3. CELULOSA <http://www.eis.uva.es/~macromol/curso08-09/pls/celulosa.htm>
4. Recuperado de http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642005000100012&script=sci_arttext (revisado en línea enero 2016).
5. J.M. De los Santos-Hernández, S. Andrade-Canto, R. Gómez-Cruz. Información Tecnológica-Vol. 16 N°1, (2005). *Obtención de Celulosa a Partir de los Desechos Agrícolas del Banano Production of Cellulose from Banana Plant Agricultural Waste*, (pp. 83-88).
6. G. Canché-Escamilla^{1*}, Sebastián Martínez, Sandra Lupo, Lina Bettucci. *Basidiomycetes degradadores de madera de Eucalyptus en Uruguay. Laboratorio de Micología.* Facultad de Ciencias-Ingeniería, Udelar, Uruguay. Recuperado de http://www.eucalyptus.com.br/icep04/05_Martinez.Lupo.Bettucci.pdf (revisado en línea enero 2016).
7. Celulosas y Celulasas. Por Qué Biotecnología, Programa Educativo Argentino. Cuaderno N° 102 Recuperado de <http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=102> (revisado en línea enero 2016).
8. Erik Devaney. *Ventajas y desventajas del 'Aspergillus niger'* Recuperado de http://www.ehowenespanol.com/ventajas-desventajas-del-aspergillus-niger-lista_103103/ (revisado en línea enero 2016).
9. Yáñez Rueda, Xiomara; Cuadro Mogollón, Omar Fernando, (2012). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia) Bistua: *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, vol. 10, núm. 1, (pp. 52-61). Universidad de Pamplona Pamplona, Colombia. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/903/90326398003.pdf> (Revisado en línea enero 2016).
10. Luis Ojeda, Nirza Noguera, Juana Ledia Triana y Francisco Triana-Alonso (†). Obtención de un Extracto Enzimático de Glucosa Oxidasa y Catalasa con Potencial Antioxidante en Alimentos, en un Medio de Cultivo no Convencional. *BioTecnología*, Año 2011, Vol. 15 No. 2. Recuperado de http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2011_2/OJEDA-LUIS_GLUCOSA-OXIDASA.pdf . (revisado en línea enero 2016).
11. Estela Krause y Juan Carlos Lucas, (2000). *Producción de materiales compuestos basados en polipropileno y fibras naturales.* Jornadas de Desarrollo e Innovación. Recuperado de <http://www4.inti.gov.ar/GD/jornadas2000/citip-035.htm> (revisado en línea enero 2016).
12. Victoria Andrea Cortines Villalobos, (2010). *Comparación de pretratamientos en residuos forestales para la producción de bioetanol de segunda generación: hidrólisis ácida y líquidos iónicos.* Tesis para optar al grado de magister en ciencias de la ingeniería mención química y memoria para optar al título de ingeniero civil químico. Universidad de Chile facultad de ciencias físicas y matemáticas departamento de ingeniería química y biotecnología. Recuperado de http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2010/cf-cortinez_vv/pdfAmont/cf-cortinez_vv.pdf (revisado en línea enero 2016).
13. Amaya Larios Irma Yvonne, Cárdenas González Juan Fernando, Martínez Pérez Rigoberto y Acosta Rodríguez Ismael *Actividad enzimática y degradación de aserrín por Aspergillus niger.* Laboratorio de Micología Experimental. Centro de Investigación y de Estudios de Posgrado. Facultad de Ciencias Químicas. UASLP *Revista de salud y nutrición. Edición especial 1-2010* . Facultad de Ciencias Químicas. UANL. Recuperado de <file:///C:/Users/JOSE/Downloads/TL02.pdf> (revisado en línea enero 2016).

CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD DEL GÉNERO

CAPSICUM

DE LA FAMILIA SOLANACEAE Y DE ALGUNAS
ESPECIES DE LA FAMILIA COMPOSITAE,
**COMO RESULTADOS DEL
PROCESO DE ESPECIACIÓN**

Biol. Guadalupe Mendiola Ruíz
gmendiolar@yahoo.com.mx

Uno de los principales problemas de la biología evolutiva, es explicar cómo ocurre el proceso de especiación, por el cual surgen especies nuevas a partir de especies ancestrales. La formación de una nueva especie requiere de la sucesión de una serie de hechos que generalmente se hallan distribuidos en un periodo de tiempo por lo que resulta difícil o imposible presenciar el proceso, no así los resultados, que son la especiación.

Se elaboró para el curso de Biología IV, una estrategia didáctica que permitió a los alumnos distinguir y comprender el proceso de especiación, se trabajó con plantas, y se revisaron en laboratorios curriculares, especies del género *Capsicum* de la familia *Solanaceae*, a través de evidencias morfológicas como: color, forma, tamaño y picor, no sólo como resultado de la especiación y la diversidad genética, y también en especies de la familia *Compositae*, donde se distinguen taxonómicamente las características de la familia, la forma y tamaño del capítulo o cabezuela (inflorescencia) con flores tubulares y flores liguladas, además de la forma de la hoja y los tricomas sobre las hojas y tallos.

De esta manera, los alumnos observaron la estructura morfológica de las especies, diferenciaron y distinguieron que la diversidad de especies observadas de la familia solanácea y compuesta son evidencias del resultado del proceso de especiación y la biodiversidad de los grupos taxonómicos.

Palabras clave: Especiación, hibridación y poliploidia.

La diversidad de los chiles mexicanos y de la familia *compositae* es resultado de tres procesos: *Evolutivos*, como la especiación, proceso por el cual surgen especies nuevas a partir de especies ancestrales y debido a que el origen de una nueva especie requiere de la sucesión de una serie de hechos que generalmente se hallan distribuidos en un largo periodo de tiempo

por lo que resulta difícil o imposible presenciar el proceso. *Genéticos*, donde la participación de combinación de genes dan como resultado una expresión alélica de la forma, tamaño color y picor, en el caso de *Capsicum*, y tricomas, forma y tamaño de las cabezuelas o capítulos para la familia *compositae*.

Ecológicos, requerimientos específicos del clima (relación de la temperatura y precipitación), tipo de suelo, latitud y altitud y *Biogeográficos*, centro de origen y distribución de las especies de *Capsicum*, en regiones específicas por tal motivo el resultado del carácter cualitativo del picor y sabor.

La especiación por hibridación, también conocido como especiación por recombinación de Grand (Dobzhansky, 1980). Fig. 1, corresponde a un proceso rápido de especiación, el cual deviene de un proceso frecuente en plantas, con aislamiento ecológico, cuando el híbrido natural es parcialmente fértil al menos con un 25 %, en hábitats híbridos, además con la posibilidad de contar con un polinizador, de esta manera se ha formado una nueva especie.



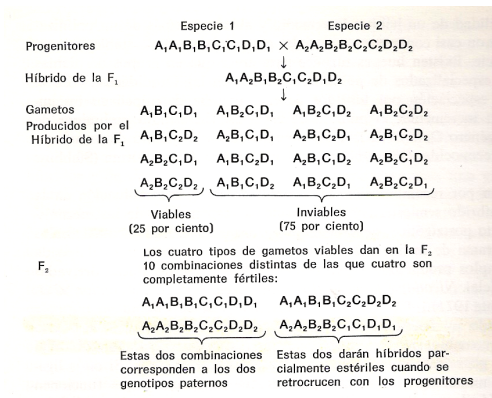


Fig. 1. Especiación por recombinación de Grant. Fuente: Dobzhansky (1980).

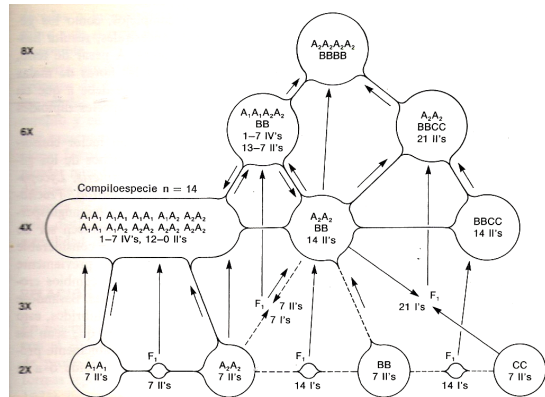


Fig. 2. Modelos de especiación por Poliploidía: Complejo Poliploide (Stebbins). Fuente: Dobzhansky (1980).

Los mecanismos de aislamiento reproductivo están controlados por selección natural y las especies de plantas con un polinizador especializado.

La poliploidía, es un proceso mediante complejos polipliodes propuestos por Stebbins (Dobzhansky, 1980), (Fig. 2), es un mecanismo que frecuentemente se lleva a cabo en las plantas y poco frecuente o nulo en los animales.

Los complejos poliploides inician con la duplicación del $2n$ por autopoliploidía formando un $4n$ o por una anfipoliploidía que se refiere a la duplicación de un híbrido formando un $4n$ y éste a su vez, se duplica por autopoliploidía dando origen a un $6n$.

La formación de nuevas especies por hibridación y poliploidía es un proceso rápido, dando como resultado un gran número de especies comestibles, como los cereales, hortalizas, algodón, árboles frutales.

Las características morfológicas de las especies revisadas de *Capsicum* (chiles

mexicanos) y las especies de la familia *compositae* son resultado de diferencias genéticas y ecológicas que se dan durante el proceso de multiplicación de especies.

La planta de *Capsicum annuum* es de tallo leñoso y generalmente tiene flores blancas o en ocasiones verdosas. La forma del fruto, su tamaño y su color son muy variables; el tamaño del fruto va desde menos de un centímetro hasta 30 cm. de largo y las formas van de lo redondo a lo alargado, los colores que oscilan de distintos tonos de amarillo y verde en estado inmaduro a rojo hasta café al madurar.

La presencia de la semilla de *Capsicum* (chile) es frecuente desde el Preclásico hasta la Conquista en diferentes zonas de Mesoamérica. Exploración arqueológica, localización de semillas de chiles en diferentes regiones, en la cueva de Coxcatlan, Puebla en un depósito de

la fase, El Riego (6900 5000 a.C.), se localizaron semillas de chile (*Capsicum*), Mapa 1, el sitio

El impacto de la obra de Darwin fue tan poderoso que su influencia muy pronto alcanzó muchas áreas de la cultura, impulsando el desarrollo de ideas e hipótesis



Mapa 1. Centros de origen y distribución del chile mexicano y semillas arqueológicas del chile.
Fuente: Arqueología. *Los chiles de México*. Editorial, Raíces S.A. de C.V. 2009.

de Guilá Nequitz, cerca de Mitla, Oaxaca, son lugares donde se ha encontrado evidencia del proceso de domesticación de plantas, entre ellas el chile

Los objetivos de esta experiencia didáctica con los alumnos de Biología VI, realizada en laboratorios curriculares, son los siguientes:

Que los alumnos:

- Observen y diferencien la diversidad biológica del género *Capsicum* y las especies de la familia *compositae* como resultado de especiaciones múltiples.
- Distingan las relaciones de parentesco entre los individuos del mismo género o familia, considerando sus caracteres morfológicos.
- Conozcan algunas especies de hortalizas como resultado de procesos rápidos de especiación (hibridación, poliploidia), como especies del género *Capsicum* y de la familia *compositae*.

La actividad se dividió en dos partes, la primera donde observaron y diferenciaron las especies del Género *Capsicum* y la segunda parte a las de la familia *Compositae*.

Primera parte

La aplicación de esta estrategia didáctica para lograr los aprendizajes del tema, consistió en utilizar ejemplos de plantas que son de uso cotidiano y que ejemplifican el tipo de especiación rápida con cuatro especies de chiles del género *Capsicum*: *Capsicum annuum* (chile serrano (1), de árbol (2), jalapeño (3), poblano (4), chilaca (5), güero (6) y pimiento morrón (7), *Capsicum annuum* var. *Aviculare*, el chile piquín (8), *Capsicum chinense*, el chile habanero (9) y *Capsicum pubescens*, el chile manzano, con semillas de color negro (10), como los que se presentan en la Fig. 3 Arqueología (2009), estas especies se observaron en el laboratorio curricular de Biología.



Fig. 3. Género *Capsicum*.

Fuente: Arqueología (2009). *Los Chiles de México*. Editorial, Raíces S.A. de C.V.

- En equipo, los alumnos revisaron morfológicamente, el tamaño, forma, color, el picor dado por la capsaicina, que está localizada en la placenta o venas del chile, (Fig. 4), como las imágenes tomadas de Arqueología, 2009 como ejemplo, para que los alumnos realizaran los cortes transversales y longitudinales de cada ejemplar de las especies.

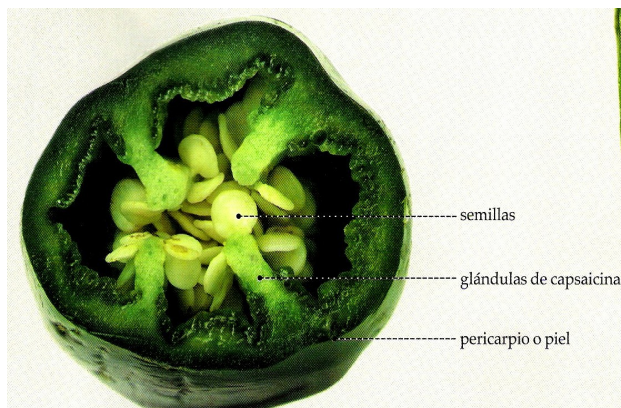


Fig. 4. Corte transversal y longitudinal de un Ejemplar de chile *C. annuum*.
Fuente: Arqueología. 2009. *Los Chiles de México*. Editorial, Raíces S.A. de C.V.

- Se hicieron cortes, transversal y longitudinal, (Fig. 5), de cada uno de las especies, tomaron nota y fotografías, observaron y diferenciaron las especies de *Capsicum*, en la forma fresca y seca que se conocen con otro nombre en el área culinaria, como los observados en las fotografías: El chile “poblano” es el chile “ancho” (1), la “Chilaca” el chile “pasilla” (2), el Chile güero chile “guajillo” (3)

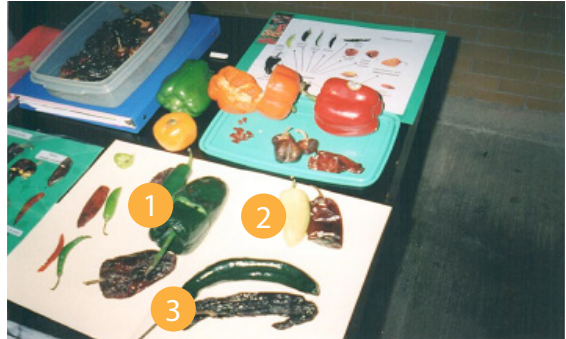
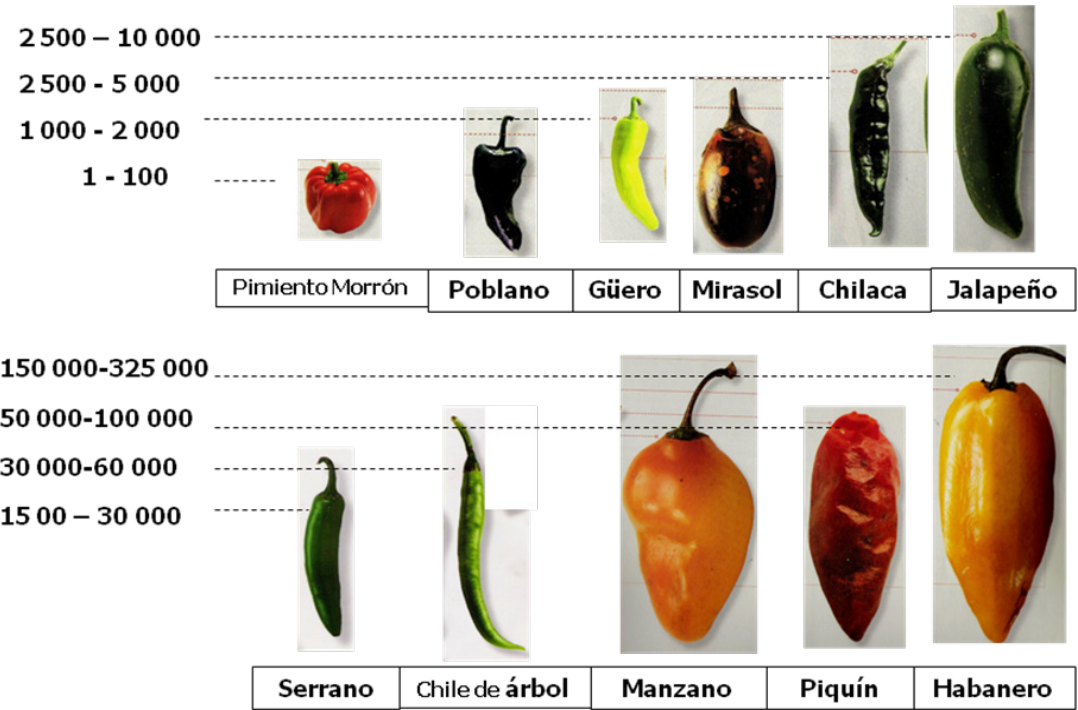


Fig. 5. Alumnos revisando en el laboratorio la diversidad de las variedades de chiles mexicanos, *Capsicum*.
Fuente: Propia.

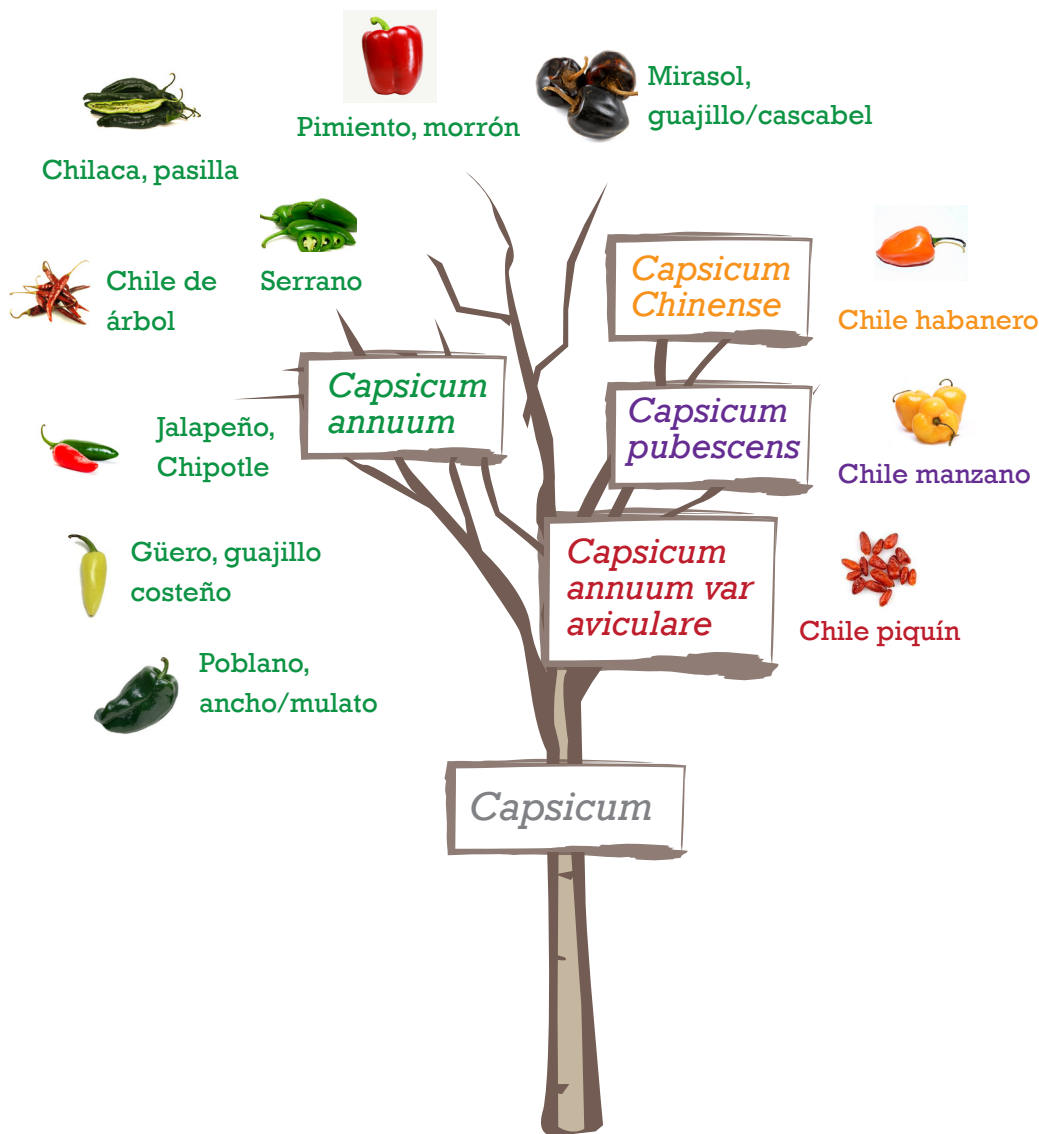
- Por referencias personales o de otras personas, los alumnos degustaron el picor de las diferentes especies de Capsicum, una característica distintiva del género y registrada en la revista *Antropología* (2009), por las unidades de Scoville, sobre el picor del chile mexicano.

Los alumnos confirmaron la intensidad mayor o menor del picor de los chiles con la escala de Unidades de Scoville, (Fig. 6), confirmando en la degustación, el grado de picor de las especies del género *Capsicum* (chiles mexicanos).



▼ Fig. 6. El picor del chile mexicano, con base en la escala de Scoville. Fuente: Arqueología. *Los chiles de México*. Editorial, Raíces S.A. de C.V. 2009.

- Los estudiantes elaboraron un árbol de especiación, (Fig. 7), con las diferentes especies del género *Capsicum*, incluyendo el nombre con el que se conoce, la forma fresca y seca la cual lleva otro nombre y presenta otra coloración, por tal motivo estas son utilizadas culturalmente en México en la gastronomía de diferente forma.



Segunda parte

La familia *compositae* está constituida por hierbas, arbustos o árboles, con hojas alternas u opuestas, simples o divididas, flores hermafroditas, unisexuales o estériles. Con un fruto llamado aquenio, flores agrupadas en cabezuelas o capítulos¹, rodeados por brácteas,

1. Cabezuela: Inflorescencia condensada consistente de flores sésiles a casi sésiles, muy próximas entre sí y a menudo dispuestas sobre una base común, llamada receptáculo. *uniquim.iquimica.unam.mx*

en 2 o más series. El capítulo o receptáculo puede ser plano como la margarita, cóncavo como el girasol o globoso como la manzanilla, incluye 950 géneros y cerca de 20,000 especies, de amplia distribución,

El otro ejemplo que permitió ver los resultados del proceso de especiación fue, con algunas especies más comunes para los alumnos, de la familia *Compositae*: Girasol, Manzanilla, margaritas y diente de león, (Fig. 8).

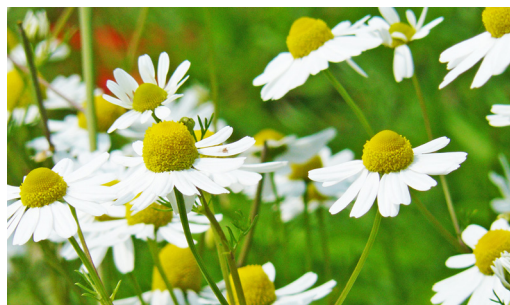
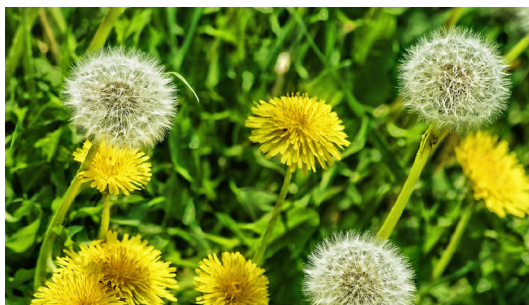


Fig. 8. Familia *Compositae*, diente de león, *Taraxacum officinale*. Fuente: www.freepik.es, Matricaria chamomila "manzanilla"

Actividades

- En el laboratorio, los alumnos trabajaron en equipo, observaron la estructura morfológica a través del microscopio de disección de cuatro especies seleccionadas de la familia *Compositae*, para realizar la observación del tamaño y forma de la cabezuela, las flores liguladas y tubulares de las especies la familia compuesta: (Fig. 9), a y b, girasol y margarita.



Fig.9. a, "girasol" *Helianthus annuus*. Fuente: propia.

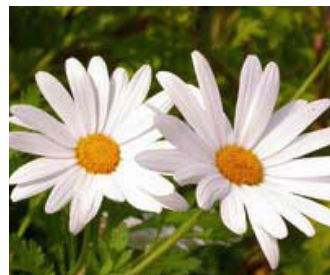


Fig. 10. b, "margarita" *Calisthephus chinensis*.

- Los alumnos también observaron y diferenciaron el tamaño y forma de la cabezuela o capítulo, contrastantes de girasol y manzanilla, tallo con o sin tricomas o pelos epidermicos, forma de la hoja, el tamaño y forma de la inflorescencia (flores en el capítulo o cabezuela), vistas en el microscopio de disección, y observaron detalladamente las pequeñas flores liguladas y tubulares, (Fig. 11, a y b), que se encuentran en la inflorescencia y elaboraron el esquema de las estructuras observadas.

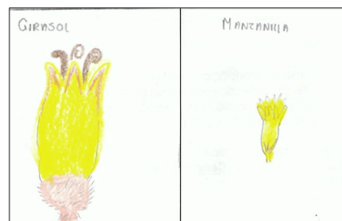
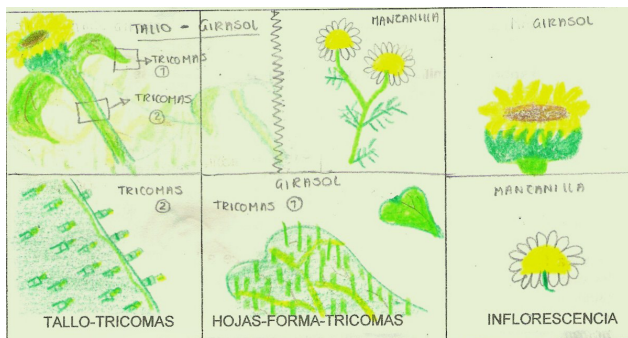
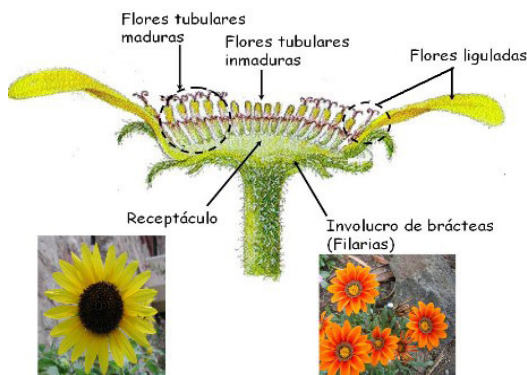
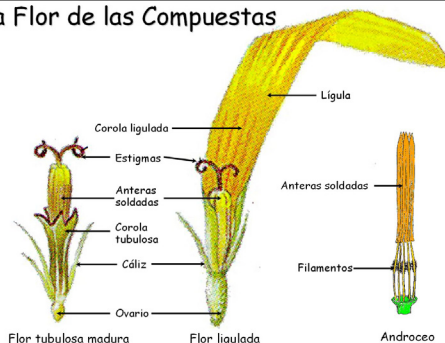


Fig. 11 a. Dibujos de capítulos, flores y tricomas de girasol y manzanilla. Fuente: esquemas de alumnos.



La Flor de las Compuestas



- El diente de león, *Taraxacum officinale*, (Fig. 12), planta compuesta, muy frecuente en los jardines y orilla de caminos y una importante planta medicinal, es considerada generalmente como una “mala hierba”, el fruto es un aquenio con largo pico y vilano.

Fig. 13. Diente de león, flor y receptáculo con semillas con vilano. Fuente: pequefarmacia. educabarrie.org



Resultados

Los alumnos observaron y diferenciaron las características morfológicas que tenían en común las especies de *Capsicum annum*: chile poblano, chilaca, chile güero, chile serrano, chile de árbol, chile jalapeño, *Capsicum chinense*, chile habanero, *Capsicum pubescens*, chile manzano con sus características semillas negras, *Capsicum annum* var. *Aviculare*, chile piquín y distinguieron el picor, el color y tamaño de las semillas y la forma del pericarpio.

Así como la caracterización de las cuatro especies de la familia compositae, donde el estudiante observó que cada una de las especies tienen características diferentes, como el tamaño y forma del capítulo o cabezuela, el color y la semilla (aquenio), presencia notoria de tricomas y las flores tubulares y linguladas, pero que a su vez manifiestan características distintivas en común de parentesco, como el capítulo las flores tubulares, liguladas y semilla llamada aquenio.

Conclusiones

Con los ejemplos que se observaron en el laboratorio, los alumnos pudieron distinguir y diferenciar que la especiación o multiplicación de especies es un proceso que incrementa la diversidad de individuos en un grupo taxonómico como es en el caso del género *Capsicum*, y de las especies de la familia Compuesta, tanto en su tamaño y la diversidad de colores, y en el género *Capsicum*, la textura del pericarpio, la glándula en las venas que contiene la capsaicina y que da como resultado el picor de los chiles en diferentes concentraciones de picor, además de la expresión de los genes que da como resultado la diversidad de colores en los chiles mexicanos y en las flores de las especies de la familia compositae.

Sin embargo en la comisión nacional sobre el estudio de la biodiversidad, (<http://www.biodiversidad.gob.mx>) se establece que la familia de las margaritas, crisantemos y girasoles es la más evolucionada de las dicotiledóneas. En vez de flores sencillas, tienen cabezuelas que agrupan muchas flores diminutas. Un solo insecto poliniza muchas flores simultáneamente. Quizá por ello también es la familia más numerosa y diversa. Su origen y evolución es incierto y muy discutido. 

Fuentes de consulta

1. *Arqueología* (2009). Los Chiles de México. Editorial, Raíces S.A. de C.V.
2. Ayala, F. J. (1980). Mecanismos de la Evolución. *Revista Scientific American*. Número Especial "Evolución".
3. Biggs, A. et al. (2012). *Biología*. Editorial Mc Graw Hill.
4. Dobzhansky, T.F., Ayala, G. Stebbins, J. Valentine, (1980). Evolución. Editorial Omega.
5. Purves, et al. *Vida*. (2002). La Ciencias de la Biología. Ed. Panamericana.
6. Sanchez, S, O. (1978). *La Flora del Valle de México*. Editorial, Herrero, S.A.
7. Recuperado de <http://variedadflores.galeon.com/Untitled-4.html> (agosto 2015)
8. Recuperado de http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gran_familia/plantas/magnoliayMarg/Margaritas/margaritas.html (17 diciembre 2015).

BIOLOGÍA



DEMOGRASS: AGENTE TÓXICO A NIVEL GENÉTICO

Asesor:

Hugo Alberto Ríos Pérez
zurdo_x22@hotmail.com

Alumnos

Ascencio Anastacio Jesús Francisco, García Rivas Itzel Anahí,
González Colín Cristian Jesús, Montalvo Casimiro Michel, Torres
Morales Emmanuel, Vega Zamudio María Ana.



XXIII Concurso Universitario Feria de las Ciencias,
la Tecnología y la Innovación.
Categoría Biología experimental local

Resumen

El producto *Demograss®* es un suplemento alimenticio para reducir de peso, sin embargo se han reportado que su consumo tiene afecciones a la salud. En este trabajo se evaluó el efecto genotóxico de este producto mediante un ensayo de Micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica humana. Para el ensayo se probaron tres concentraciones distintas de *Demograss®* (100, 50 y 25%) más un testigo. Se utilizó el protocolo estándar para la siembra de linfocitos y antes de su cosecha se administraron las soluciones de *Demograss®*. Los resultados muestran citotoxicidad en las concentraciones de 25 y 50 % y un aumento de frecuencia de MN de los lotes experimentales con respecto al testigo, con lo que se concluye que el compuesto *Demograss* presenta un potencial citotóxico y genotóxico.

Palabras clave: micronúcleos, genotoxicidad, citotoxicidad.

Introducción

La toxicología genética es una rama de la biología que estudia los efectos nocivos de los diversos agentes tóxicos en los sistemas biológicos, así pues, se encarga de definir

la magnitud del daño creado por dichos agentes, la capacidad de afectar el material genético y cómo éstos se expresan en la célula. (Duffus, 1983). Se conocen muchas sustancias capaces de interactuar con el material genético de los sistemas vivos, como los agentes de carácter químico y biológico (Ramos, 1994), presentes en todo tipo de productos y medicamentos, más los agentes físicos (luz ultravioleta, radiaciones ionizantes, radiaciones electromagnéticas, etc.) (Muller, 1928), por lo cual durante la evaluación de la toxicidad de una sustancia se pueden encontrar algunos bioindicadores¹ que nos dan evidencia del daño causado en el material hereditario.

La prueba de micronúcleos (MN) fue desarrollada por Hendle (1973) y Schmid (1975), como un ensayo para determinar daño cromosómico en células en división (Arencibia y Rosario, 2003).

Los MN son expresados en células, en división, que contienen rupturas de cromosomas por pérdida de los centrómeros y/o pérdida de cromosomas completos, en ambos casos son incapaces de viajar con el resto de los cromosomas a través del huso mitótico a los polos, durante la

1. Estructura que es utilizada como indicador de un estado biológico.



▼ Figura 1. Formación de micronúcleos (Matheus & Bolaños, 2014)

anafase (Arencibia y Rosario, 2003) En la telofase, estas estructuras cromosómicas –completas y/o rotas– son envueltas por la membrana nuclear y gradualmente asumen la morfología de un núcleo en interfase con la excepción que son más pequeños que el núcleo principal de la célula (Fenech, *et. al.*,1999).

La aparición de MN se da como respuesta al efecto genotóxico de agentes físicos o químicos (Wolstenholme y Burn. 2001.) como la radiación o la presencia de sustancias genotóxicas², produciéndose pérdida cromosómica y haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo en las células hijas (Fenech, 1999).

El producto *Demograss®* (Figura 2) es un suplemento alimenticio de origen naturista que no requiere de receta médica, es utilizado cotidianamente como auxiliar en el control del peso; es de fácil adquisición en cadenas comerciales y farmacias (www.demograssca.com). Está hecho a base de diez plantas distintas y a pesar de su origen natural presenta síntomas negativos como son: diarrea, dolor de cabeza, dolor abdominal, dolor muscular y formación de cúmulos de grasa en los músculos de las extremidades. Además su uso está contraindicado en mujeres embarazadas y niños (www.demograssca.com).

La frecuencia del uso de los productos comerciales para bajar de peso en forma de suplementos alimenticios presenta un muy alto índice en México. Actualmente no hay ninguna ley ni estudio serio que restrinja el uso de estos productos que podrían contener compuestos potencial citotóxico o genotóxico como algunos



▼ Figura 2. Producto Demograss®. Tomado de www.demograssca.com

metales, extractos de plantas, que de forma individual o en conjunto, pueden representar un riesgo para la salud humana.

Por esta razón, es prioritario realizar estudios enfocados a la relación dosis-efecto para determinar su potencial toxicológico. Éstos estudios podrían servir de base para establecer parámetros regulatorios a la comercialización de estos productos, ya que representan un riesgo a largo plazo, debido a que los cambios moleculares que pueden generar estos compuestos en la estructura del ADN, se pueden ver reflejados en la regulación de la expresión génica y por ende propiciar el desarrollo de cáncer o de malformaciones en la etapa embrionaria. El objetivo de este trabajo fue determinar el posible efecto citotóxico y genotóxico de este suplemento alimenticio mediante el ensayo de MN en linfocitos obtenidos a partir de cultivos de sangre periférica de humano. De tal forma que la proliferación celular y el incremento en la frecuencia de MN sería un bioindicador del potencial tóxico a nivel celular y genético.

2. Agentes químicos, físicos o biológicos que causan daño en el material genético.

Método

• Ensayo de micronúcleos (MN) en linfocitos humanos.

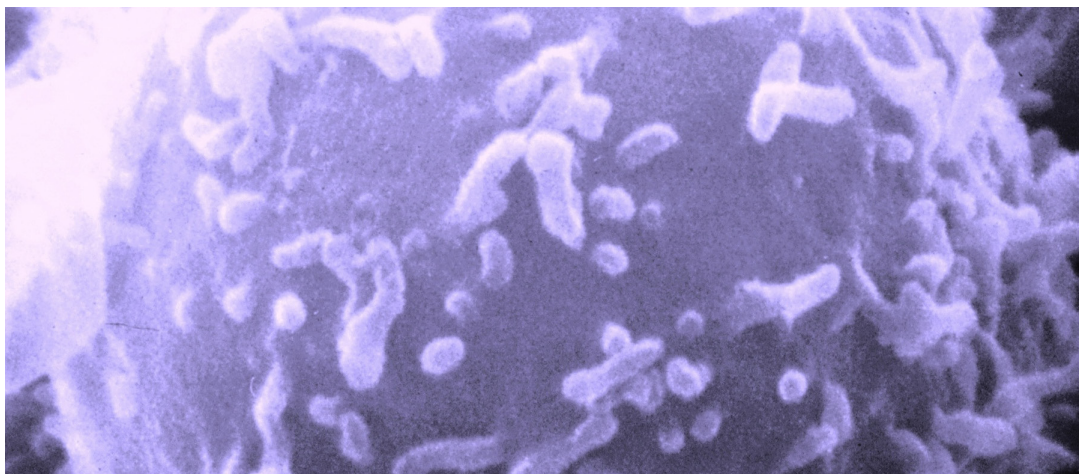
En condiciones asépticas se extrajeron 3ml de sangre periférica, de 6 individuos sanos de entre 17 y 19 años de edad, con jeringas (3 ml.) que contenían 0.3ml de heparina, esto se hizo por duplicado para cada donador. La sangre fue sembrada en tubos de centrífuga (15 ml), que contenían 5ml de medio de cultivo PB-MAX: kariotyping médium (GIBCO), se adicionó 0.8 ml de cada muestra de sangre a cada tubo, se rotularon con el nombre del donante y se incubaron por 72 hrs a 37°C en una estufa bacteriológica para que proliferaran los linfocitos (cultivos celulares).

Transcurridas 48 horas, a partir de la incubación, se administró el tratamiento a los linfocitos con diferentes soluciones de *Demograss®*, las cuales se obtuvieron a partir de una solución madre (100%) –que se generó diluyendo el contenido de una cápsula, 500 mg. en 300 ml de agua– y a partir de ésta, se hicieron diluciones sucesivas al 50 y 25%. A cada tubo se le administró 0.5 ml. de las soluciones preparadas, dos tubos

por concentración más dos tubos testigo a los que se les adicionó agua destilada. Los cultivos celulares se volvieron a incubar para cumplir las 72 hrs.

Transcurridas las 72 hrs, los cultivos celulares se sometieron a la acción de la colchicina (1mg/ml), a cada tubo se le adicionó 2 gotas y se incubaron durante 20 min. (37°C), para detener la mitosis. Posteriormente, se procedió a centrifugar las muestras a 2000 rpm durante 10 min. Se removió el sobrenadante y se llevó a cabo el cosechado celular, que consiste en someter a las células a un choque hipotónico³ con una solución de KCl (0.075M), las muestras se incubaron por 20 min. Pasado esto, se fijaron las células con 1ml de solución carnoy (metanol y ácido acético, 3:1) y se centrifugaron por 10 min a 2000 rpm para eliminar los eritrocitos. Se retiró el sobrenadante y se agregó 8 ml de solución carnoy y se volvió a centrifugar. Este procedimiento se realizó las veces necesarias hasta que el botón celular quedara blanco. El volumen final se ajustó a 1 ml.

3. Esto favorece que se hinchen las células por un proceso osmótico donde la concentración de iones del medio es menor que la del interior de la célula.



Una vez obtenido esto, se elaboraron las preparaciones tomando una pequeña cantidad de material del tubo y se dejaron caer tres o cuatro gotas del material celular sobre la superficie de un portaobjetos limpio con una capa de agua fría. Se sopló débilmente por uno de los extremos del portaobjetos e inmediatamente se pasó por la flama de un mechero. Las preparaciones se dejaron secar a temperatura ambiente en posición inclinada. Las laminillas se tiñeron dentro de un vaso Coplin que contenía 8 ml. de colorante Giemsa y 46 ml. de *buffer* Gurr, se sumergieron durante 20 min. y posteriormente se lavaron con agua destilada; se secaron a temperatura ambiente. Las laminillas fueron examinadas en un microscopio óptico (Axiostar) a 40x de aumento, en un campo de luz claro.

Registro de datos

Se registró número total de células con MN

y otras alteraciones. Se calculó un promedio y error estándar de células contabilizadas por campo de visualización y se obtuvo un Índice de genotoxicidad, dividiendo el número de células con micronúcleos entre el total de células contabilizadas por concentración, y un índice de citotoxicidad que se obtuvo dividiendo el número de células contabilizadas en los lotes experimentales entre el total de células del lote Testigo.

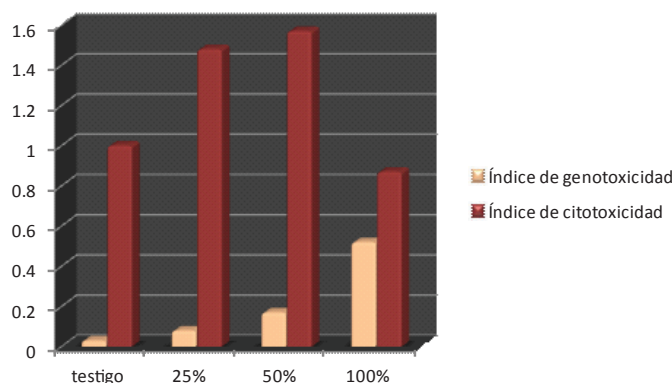
Resultados

En este trabajo se analizó, primero, la proliferación celular en cada concentración. Por lo cual tenemos que en la concentración al 100% se obtuvieron menos campos con proliferación celular abundante (citotoxicidad) (Gráfica 1), además las células observadas eran de menor tamaño con respecto al testigo, mientras que en las concentraciones de 50% y 25%, hubo un aumento en la proliferación celular.

▼ Tabla 1. Concentración en porcentaje, Número de células contadas con concentración, número de células con MN, I. G. e I. C.

[%]	Total células	Promedio de células por campo	E. E.	No. de células con MN	Promedio de MN por campo	E. E.	Índice de genotoxicidad.	Índice de citotóxicidad.
Testigo	1139	18.37	2.00	37	0.60	0.12	0.03	1
25%	1688	27.67	2.85	139	2.27	0.36	0.08	1.48
50%	1789	28.86	1.49	316	4.84	0.24	0.17	1.57
100%	1010	16.10	1.44	534	5.34	0.70	0.52	0.87

E. E.: Error estándar.



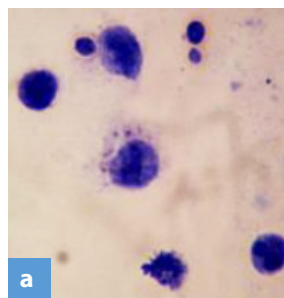
▼ Gráfica 1. Comparación del Índice de genotoxicidad y de citotoxicidad de los lotes experimentales con respecto al testigo

Segundo, la frecuencia de MN sirvió para determinar el potencial genotóxico del *Demograss®*, donde se observó un aumento en la frecuencia de MN a medida que aumentaba la concentración (Gráfica 1) de tal forma se puede determinar un patrón para determinar el nivel del daño a la exposición del compuesto.

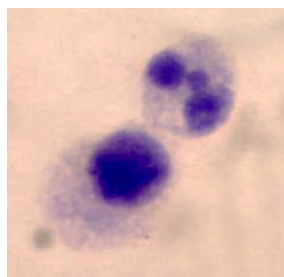
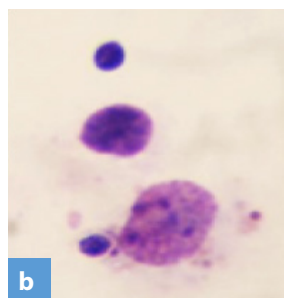
En la Figura 3 se muestran células con MN encontradas en las distintas concentraciones de *Demograss*. La figura 4 nos muestra una célula binucleada con un MN.

Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos, observamos dos cosas: (1) el índice de citotoxicidad indica que el producto *Demograss®* aumenta la proliferación celular, es decir, aumenta la cantidad de células en los lotes expuestos a las concentraciones de 25% y 50%, esto es debido a que son concentraciones que no inducen letalidad y por este efecto pueden activar mecanismos de reparación para garantizar la sobrevivencia celular (Lewin, 2000) y esto es un indicador de estrés positivo



▼ Figura 3. a) micronúcleos encontrados en la concentración de 100%; b) micronúcleo en la concentración de 50%



▼ Figura 4. Célula binucleada con un MN.

y citotoxicidad. En *D. melanogaster* se ha documentado una relación entre el estrés y el aumento en la esperanza de vida de las moscas, expuestas a radiación iónica (Moskalev, *et. al.*, 2011) mediante la activación de sistemas de protección antioxidante (Arking, *et. al.*, 2000), reparación de ADN (Moskalev, *et. al.*, 2013) entre otros mecanismos, por lo que algo muy similar esté pasando con los linfocitos que tienen como resultado el aumento en la proliferación de éstos. (2) Además de incrementar el número de células en los lotes experimentales (salvo 100%, es una dosis muy tóxica) se observa un incremento en el potencial genotóxico al aumentar la frecuencia de micronúcleos, lo cual nos indica que el compuesto es capaz de interactuar con el material genético de las células generando rompimientos y pérdidas parciales o totales de cromosomas (Zalacain, *et. al.*, 2005).

Por la composición química del *Demograss®* se puede sospechar que la semilla de fraile (*Thevetia peruviana*), que se ha comprobado que causa efectos secundarios como diarrea o deshidratación, al ser ingerida, por la presencia de cianuro (Aguilar y Maycotte, 2013). Esta sustancia puede ser la responsable de inducir citotoxicidad y genotoxicidad en los linfocitos tratados.

Conclusiones

El Suplemento alimenticio *Demograss®* indujo una mayor proliferación celular y la presencia de MN en cultivos de linfocitos humanos, lo cual es un indicador del potencial citotóxico y genotóxico que tiene esta sustancia por lo que su uso debería estar regulado.

Anexo

Entre la célula normal que no contiene micronúcleos y la célula afectada por un agente genotóxico que será en este caso es la célula micronucleada existen diferencias que se mencionaran a continuación:

Células Normales: el núcleo está uniformemente teñido, es redondo u oval, se distinguen de las células basales porque son



Tomada de <http://explorerbiogen.blogspot.mx/2011/04/estructura-del-adn-y-arn-58-aniversario.html>

de mayor tamaño y el núcleo es más pequeño en relación al citoplasma. No contienen ningún otro cuerpo o estructura aparte del núcleo que contenga ADN, estas células son consideradas como

células totalmente diferenciadas y no se observan divisiones celulares (Fenech, 2000).

Célula Micro nucleada: se caracteriza por la presencia de un núcleo principal y uno o más pequeñas estructuras nucleares denominadas MN. Un MN tiene la forma



Tomada de <http://explorerbiogen.blogspot.mx/2011/04/estructura-del-adn-y-arn-58-aniversario.html>

redonda o almendrada y mide entre 1/3 y 1/16 del núcleo principal, presenta la misma intensidad, textura y plano focal que el núcleo y es un fragmento o un cromosoma

completo que al momento de la mitosis no se integra a uno de los núcleos de las células hijas (Fenech, 2000). ∞

Fuentes de consulta

1. Aguilar, G. C. R. y Maycotte, L. Z. (2013). Intoxicación por Thevetia peruviana (hueso o codo de fraile). Presentación de un caso. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int.* 27(4) (pp. 245-248).
2. Arencibiam, A. D. F. & Rosario, F. L. A. (2003) *Actualización sobre el ensayo cometa y de micronúcleos 'in vitro'*. Toxicología experimental. Centro de Química Farmacéutica. La Habana, Cuba. (pp. 24-41).
3. Arking, R., Burde, V., Graves, K., et al. (2000). Forward and reverse selection for longevity in *Drosophila* is characterized by alteration of antioxidant gene expression and oxidative damage patterns, *Exp. Gerontol.* Vol. 35, no. 2, pp. 167–185.
4. Duffus, J. H. (1983). *Toxicología Ambiental*. Ediciones Omega S. A. España. (pp. 173).
5. Fenech, M., Holland, N., Chang, W. P., Zeiger, E., Bonassi, S. (1999) *The Human MicroNucleus Project—An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans*. 428: (pp. 271-283).
6. Fenech, M. (2000) *The in vitro micronucleus technique*. Mutation Research. 455: (pp. 81-95).
7. Galán, G.E. (2002) *Aplicaciones de laboratorio de citogenética a la clínica*. Pediatría Integral; pp. 6(9) (pp.820-830).
8. Lewin, B. (2000) *Genes VII*. Oxford University Press. United Satates. (pp 990).
9. Matheus, L. T. & Bolaños, A. (2014) Micronúcleos: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. *Salus*. Vol. 18. No 2. Valencia.
10. Moskalev, A.A., Plyusnina, E.N., and Shaposhnikov, M.V. (2011). Radiation hormesis and radioadaptive response in *Drosophila melanogaster* flies with different genetic backgrounds: the role of cellular stress_resistance mechanisms, *Biogerontology*. Vol. 12, no. 3, (pp. 253–263).
11. Moskalev, A.A., Shaposhnikov, M.V., Plyusnina, E.N., et al.(2013). The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch_like criteria, *Ageing Res. Rev.* Vol. 12, no. 2, (pp. 661–684).
12. Muller, H. J., (1928). *The effects of X-radiation on genes and chromosomes*. Science (pp. 67: 82).
13. Ramos, M. P. (1994) *Efectos genotóxicos de algunas sales de arsénico en 'D. melanogaster'*. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México. (142 pp).
14. Wolstenholme, J. & Burn, J. (2001). *The application of cytogenetic investigations to clinical practice*. In: Rooney D.E. (ed) *Human Cytogenetics: Constitutional Analysis – A Practical Approach* 3ra ed. (pp. 129-174).
15. Zalacain, M., Sierrasesúмага, L., Patiño A. (2005). *El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos*. Anales Sis San Navarra v.28 n.2, (pp. 227-236).
16. Fotografía Demograss®. www.demograss.com
17. Anexo. Recuperado de <http://explorerbiogen.blogspot.mx/2011/04/estructura-del-adn-y-arn-58-aniversario.html>

IMPLEMENTACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE UN
BIOREACTOR
PARA LA EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA
GLUCOSA OXIDASA DEL HONGO
ASPERGILLUS NIGER

Asesor:

José Lizarde Sandoval
lizard_san@hotmail.com

Alumna

Martínez Sotelo Gabriela.

Resumen

En el presente trabajo se establece la metodología para el aislamiento y mantenimiento de la cepa del hongo microscópico *Aspergillus niger* y de la realización técnica de un bioreactor, para la obtención de materia prima para la extracción y cuantificación de la enzima glucosa oxidasa. Se utilizó papa deshidratada y 20 ml. de solución con nutrientes para aislar y conservar la cepa del hongo. En el bioreactor se adicionan los nutrientes azúcar 15%, Nitrato de amonio 0.2 %, sulfato de magnesio 0.1 %, fosfato de amonio 0.7 %, fosfato de potasio 1.2 %, y cloranfenicol (20 microgramos/mililitro), en litro de solución ajustada a un pH 7.

Los resultados muestran que la papa deshidratada es un excelente medio para el cultivo de *Aspergillus niger* y la conservación de la cepa para experimentos de realización en el Laboratorio del SILADIN, es económica y de fácil preparación. El bioreactor es un medio adecuado para el crecimiento del hongo para estudios y análisis posteriores. Se cuantificó la cantidad de glucosa oxidasa se obtuvo 6.5 miligramos por cada 2 gramos micelio obtenido del bioreactor

Palabras clave: *Aspergillus niger*, bioreactor, Glucosa oxidasa.

Introducción

El metabolismo celular se efectúa por medio de enzimas, catalizador biológico que aceleraran las reacciones bioquímicas. La enzima *Glucosa oxidasa* (GOx) (Nomenclatura EC 1.1.3.4) es una oxidorreductasa que funciona por la oxidación de la glucosa para formar peróxido de hidrógeno y D-glucono- δ -lactona. Es una proteína dimérica, la estructura tridimensional de la GOx ha sido totalmente dilucidada, como muchas otras proteínas que actúan fuera de las

células, se encuentra cubierta por cadenas de carbohidratos (1).

La glucosa oxidasa es utilizada para la determinación y cuantificación de glucosa libre en los fluidos biológicos, como sangre y orina, en materia prima vegetal y en la industria de los alimentos, tiene además muchas aplicaciones en biotecnología, y se utiliza para la fabricación de biosensores sensibles a glucosa, usualmente se extrae de *Aspergillus niger*.

Aspergillus niger es un hongo que produce un moho negro en vegetales muy común en la lechuga, el tomate o la acelga y el limón.

El *Aspergillus* es un género de alrededor de 200 hongos, pueden existir en dos formas básicas levaduras e hifas, es filamentosos (2). El hongo se utiliza en investigaciones experimentales, como el análisis del metabolismo (I. Reyes-Ocampo, et al), o como productoras de ácido cítrico (Carlos Andrés López Ríos, 4), sin embargo, es importante porque permite la extracción de la enzima glucosa oxidasa, para la determinación de glucemia y algunos otros parámetros clínicos (5).

El estudio de enzimas, su aislamiento y purificación son muy importantes en el estudio del metabolismo, de las células y de la biotecnología. También es importante contar con una metodología que permita el cultivo del hongo *Aspergillus niger*, su estudio, la metodología para la extracción y la caracterización de las enzimas que pueda utilizarse en experimentos y proyectos de investigación experimental posteriores. La extracción y cultivo del hongo debe de ser económica y de fácil accesibilidad, para la obtención de la enzima en gran cantidad.

Es por tal motivo que se desarrolló la metodología para el cultivo del hongo *Aspergillus niger*, el aislamiento y la extracción de la enzima Glucosa oxidasa.

Metodología

El biodigestor se adecuó en un matraz Erlenmeyer de 1 litro, se le adicionó 500 ml de solución nutritiva, que contiene los siguientes componentes: azúcar 15%, nitrato de amonio 0.2 %, sulfato de magnesio 0.1 %, fosfato de amonio 0.7 %, fosfato de potasio 1.2 %, y cloranfenicol (20 miligramos /litro), a un pH de 7. (7). El matraz con el medio nutritivo se colocó en una parrilla a una temperatura de 30°C en agitación constante a una velocidad de la parrilla de 4.

Se le mantuvo con flujo constante de aire, con una bomba para pecera, todo en condiciones estériles. Se le adicionaron las esporas de los hongos, para su crecimiento y esporulación. Después de 72 horas se filtró la solución nutritiva con el micelio del hongo, el micelio fue obtenido por filtración, lavado con solución salina al 0.1%, y determinada la cantidad por su peso. Se homogenizó a una velocidad de 1500 rpm durante 10 minutos con amortiguador

de TRIS-HCl + EDTA a pH de 8, se centrifugo a 8000 rpm durante 20 minutos. Se filtró el homogenizado y se resuspendió en TRIS-HCl + EDTA y se tomó una muestra de 0.5 mililitros para la determinación de la concentración de proteína, mediante el método de Biuret. Para la curva de calibración de proteínas, se utilizó enzima proteica purificada Lisozima (*LYSOZYME, EC 3.2.1.17, SIGMA**), se realizó solución estándar de 100 miligramos de lisozima en 10 mililitros de TRIS-HCl + EDTA a pH de 8, de esta se tomaron las alícuotas como se observa en la Tabla I de la curva de calibración de determinación de proteínas. La determinación de proteínas con el reactivo de Biuret, se realizó con un espectrofotómetro (*La Motte**), a una longitud de onda de 540 nanómetros.

La tabla I muestra la determinación de proteínas y la curva estándar o patrón (8).

El hongo *Aspergillus niger* fue obtenido de las muestras de medios contaminados

Tabla I. Para obtener la curva de calibración y la determinación de la concentración de la enzima Glucosa oxidasa.

Tubo	ml de solución estándar de Lisozima	ml Buffer TRIS-HCl+EDTA	ml NaOH (20%)	Gotas de Reactivo Biuret
Blanco	0	1	2	5
1	1.0	0	2	5
2	0.9	0.1	2	5
3	0.8	0.2	2	5
4	0.7	0.3	2	5
5	0.6	0.4	2	5
6	0.5	0.5	2	5
Muestra	0.5	0.5	2	5

en los cultivos de las moscas *Drosophila*, del Laboratorio de Biología CREA, SILADIN. Se observó al microscopio estereoscópico y óptico, se identificó y posteriormente se aisló en medio de cultivo agar Saborau, dado que se conoce su crecimiento en este agar que contiene papa. Posteriormente se realizó la adecuación en medios de cultivo con papa deshidratada, de acuerdo con Dueñas, E, et al (6). Con papa deshidratada para puré (*Valle verde** puede ser utilizada cualquier otra marca de puré de papa deshidratada) la adecuación del medio es, sin la utilización de la solución

preservador, se le adiciona solución nutritiva la cual se especifica para el bioreactor (7.Luis Ojeda). El medio se preparó con cinco gramos de papa deshidratada, al cual se le adicionó 20 ml de solución nutritiva. Una vez preparados los medios de cultivo se les adicionaron las esporas del hongo en condiciones de esterilidad y asepsia para evitar la contaminación por algún otro hongo, se mantuvieron los cultivos a una temperatura de 30 °C (7). Los medios se adecuaron en frascos de Gerber* de 200 ml. (Figura 1).

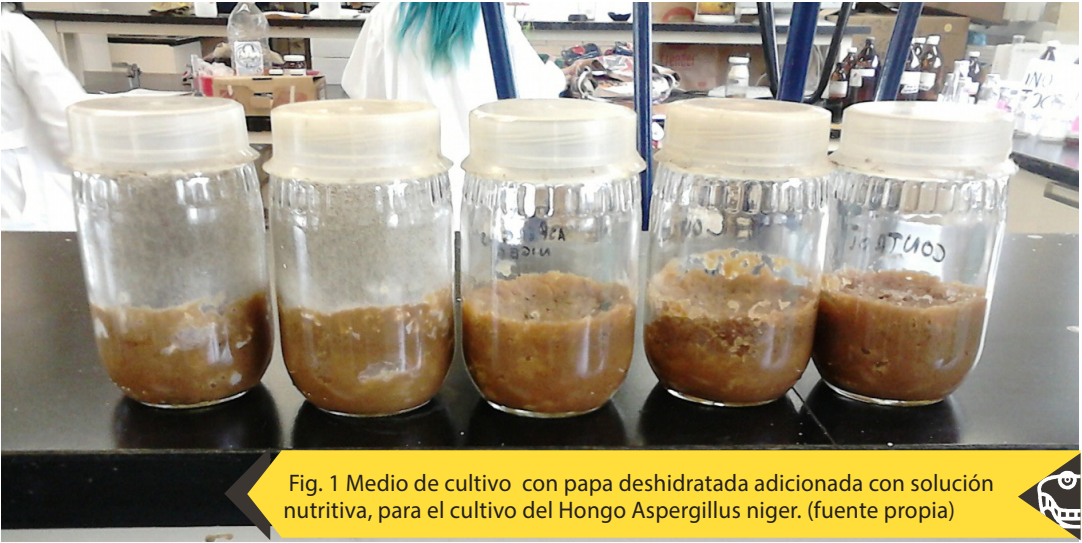
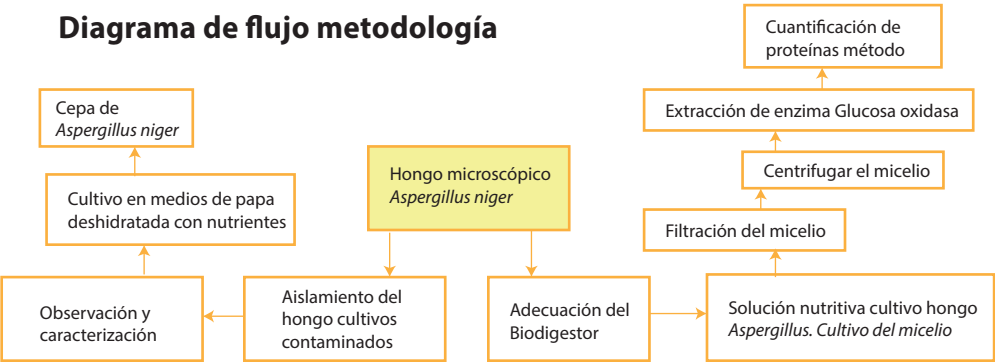


Fig. 1 Medio de cultivo con papa deshidratada adicionada con solución nutritiva, para el cultivo del Hongo *Aspergillus niger*. (fuente propia)



Resultados

Se caracterizó y se aisló el hongo *Aspergillus niger*, lo cual se observa en referencia a la bibliografía, en la cual muestra las estructuras similares del hongo observado y aislado en el laboratorio (9).

El medio de cultivo a base de papa deshidratada resulta ser un medio adecuado y económico para el cultivo del hongo, es fácil y rápido de preparar. (Fig. 2).

Se realizó la observación al microscopio para determinar la morfología del esporangióforo, para su identificación. Las observaciones se muestran en las siguientes fotografías. (Fig. 3).

El cultivo del micelio del hongo es una forma muy accesible por

medio del biodigestor; de tal forma que el cultivo de las esporas en este medio nutritivo, permite el crecimiento, controlando la temperatura, la agitación y aireación continua, para la obtención

del micelio y utilizarse para la extracción de la enzima. El biodigestor se observa en la imagen. (Fig. 4).

La masa del micelio del hongo obtenido fue de dos gramos, (al tiempo en que se utilizó, si se deja más tiempo el micelio, va esporular; y la intención es solamente utilizar el micelio).

Al micelio se le adicionó buffer TRIS-HCl EDTA a un pH 8, la cuantificación de proteínas nos resultó en una concentración de 6.5 miligramos, por cada dos gramos de micelio.

La concentración de la enzima proteica se realizó por medio

del método de Biuret, en la Tabla I se muestra las concentraciones de proteína de la curva de calibración, el blanco y la muestra problema la enzima glucosa oxidasa. Con estos datos se grafica la concentración de proteína conocida la lizosima y se extrapola a la muestra problema, la proteína Glucosa oxidasa. La gráfica 1 muestra los resultados obtenidos de la curva de calibración y la extrapolación a la enzima, obteniendo un resultado de 6.5 mg. de proteína.



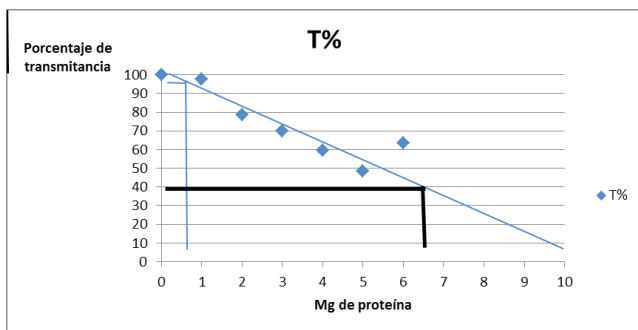
Fig. 2. Medio de cultivo a base de papa deshidratada. Fuente Propia.



Fig. 3. Fotografías de la observación del, esporangióforo y las esporas del hongo *Aspergillus niger*. Fuente propia.



Fig. 4. Biodigestor. Fuente propia del Laboratorio de Química CREA.



Gráfica 1. Resultados de la curva de calibración. Fuente propia.

Análisis y conclusiones

Aunque el hongo puede causar enfermedades, por una reacción alérgica, se trabajó en condiciones de asepsia adecuadas. Consideramos que es una buena alternativa el cultivo del hongo en medio nutritivo con papa deshidratada, para utilizarlo en experimentos o estudios de investigación. El bioreactor es económico y es una alternativa para obtener las enzimas glucosa oxidasa en estudios posteriores, ya que es una manera sencilla para obtener el micelio del hongo.

Existen trabajos en donde se utilizan técnicas similares para la extracción de la enzima, algunos de los cuales se probaron en el laboratorio, como en el caso de Luis Ojeda (9) donde utiliza el medio de cultivo donde creció micelio del hongo, al aplicar esta técnica no se obtuvo proteínas, tal vez por error experimental, o los reactivos utilizados; se obtuvo mejor resultado al utilizar la técnica descrita por Shazia Khurshid et al. (8)

No se tuvieron los reactivos para caracterizarla, sin embargo, en trabajos posteriores del laboratorio, nuestro propósito será repetir los resultados y mejorar las técnicas de extracción y como un nuevo objetivo su purificación. ∞

Fuentes de consulta

1. Recuperado de http://es.wikipedia.org/wiki/Glucosa_oxidasa. (Revisada en línea enero de 2016).
2. Recuperado de http://es.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_niger. (Revisada en línea, enero 2016).
3. I. Reyes-Ocampo M. Gonzalez-Brambila y F. Lopez-Isunza, (2013). Un análisis del metabolismo de *aspergillus niger* creciendo sobre un sustrato solido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química. Vol. 12, No. 1.* (Pag. 41-56) Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/620/62028007005.pdf> Revisada en línea enero 2016).
4. Carlos Andrés López Ríos, Alejandro Zuluaga Meneses, Sara Natalia Herrera Penagos, Angela Adriana Ruiz Colorado, Victoria Isabel Medina de Pérez. Producción de ácido cítrico con *Aspergillus niger*. NRRL 2270 a partir de suero de leche. *Dyna, Año 73, Nro. 150*, (pp. 39-57). Medellín, Noviembre de 2006. ISSN 0012-7353. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/13341/1/832-4846-1-PB.pdf> (Revisado en línea enero 2016).
5. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562008000100007.
6. Dueñas, E, M.E. Heres, P.L. Castañeda, y U. Graf. *El mantenimiento fácil de 'Drosophila melanogaster' en un medio que consiste en escamas de patata trituradas y una solución preservativa*. Dros. Inf. Servicio. (pp. 84- 166).
7. Luis Ojeda*, Nirza Noguera, Juana Ledia Triana y Francisco Triana-Alonso (†), (2011). Obtención de un Extracto Enzimático de Glucosa Oxidasa y Catalasa con Potencial Antioxidante en Alimentos, en un Medio de Cultivo no Convencional. *BioTecnología, Vol. 15 No. 2*. Recuperado de http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2011_2/OJEDA-LUIS_GLUCOSA-OXIDASA.pdf (Revisado en línea enero 2016)
8. Shazia Khurshid¹, Muhammad Akram Kashmiri¹, Zahid Quershi and Waqar Ahmad, (2011). *Optimization of glucose oxidase production by 'Aspergillus niger'*. African Journal of Biotechnology Vol. 10(9), (pp. 1674-1678), Recuperado de <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/92978/82390> (Revisado en línea enero 2016).
9. Ministerio de Salud Instituto Nacional de Salud. Serie de Normas Técnicas, (2007). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. N.º 44*. Recuperado de <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual%20Hongos.pdf> (Revisado en línea enero 2016).

Políticas del Consejo Editorial de la Revista *CONSCIENCIA del SILADIN*,

Sistema de Laboratorios de Desarrollo e Innovación, del Colegio de Ciencias y Humanidades, Plantel Naucalpan

1.- La ***Revista CONSCIENCIA del SILADIN*** es una publicación plural e interdisciplinaria, que pertenece al Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Naucalpan. El objetivo es divulgar los avances y resultados de las investigaciones de laboratorio o de campo, así como experiencias didácticas en las ciencias experimentales. El público al que se dirige esta revista comprende principalmente a los profesores y alumnos del bachillerato universitario, además de aquellos interesados en conocer los estudios de iniciación a las ciencias experimentales, a nivel bachillerato.

2.- Las colaboraciones pueden ser:

- Investigaciones experimentales y/o de campo: Artículos académicos que muestren los avances o resultados de investigaciones inéditas.
- Experiencias didácticas. Artículos académicos que muestren los resultados significativos de experiencias didácticas aplicadas a los aprendizajes de las Ciencias Experimentales.

3.- Las colaboraciones deberán tener una redacción clara, rigor metodológico y calidad académica.

4.- Los artículos deberán incluir la siguiente información:

- Nombre del autor o autores (sin abreviaturas)
- Correo electrónico del autor principal
- Institución en la que colabora cada uno
- Semblanza curricular breve de cada uno o del autor principal (no más de 5 líneas)

5.- Las colaboraciones deberán ser inéditas, no estar sometida a dictamen de manera simultánea en otros medios; por lo que, en caso de aprobarse el texto para su publicación, el autor cederá automáticamente los derechos patrimoniales sobre su trabajo y autorizará de esta manera su difusión impresa y electrónica.

6.- La publicación del artículo dependerá de los dictámenes confidenciales realizados por especialistas anónimos (pares académicos) y se dará a conocer el resultado a los autores en un plazo no mayor a 6 meses.

7.- Para mayor información sobre los lineamientos acerca de la redacción del artículo, entrega o envío, dirigirse a la Secretaría Técnica del SILADIN, 2º piso, en el Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Naucalpan o bien al correo electrónico .

El artículo deberá tener rigor metodológico, calidad académica, con una redacción clara. Una extensión de entre 6 y 8 cuartillas, incluidas imágenes, cuadros o gráficas, escritas en fuente Arial 12, a espacio sencillo.

Título

Corto e informativo, expresado en un máximo de 15 palabras, que describan el contenido del artículo en forma clara y concisa.

Autores

Anotar a los autores según el orden de importancia de su contribución material y significativa a la investigación, Institución en la que colabora cada uno y correo electrónico del autor principal.

Resumen

Estructurado, que identifique de forma rápida y exacta el contenido básico del artículo, indicar los objetivos de la investigación, los procedimientos básicos, los resultados y las conclusiones. Enlistar 5 palabras clave como máximo.

Introducción

Contendrá los antecedentes principales. Deberá explicar los objetivos y el problema de la investigación.

Metodología

Deberá presentarse de manera sencilla, clara y precisa, describirá los procedimientos para que puedan ser reproducidos por otros investigadores. Dará referencia y explicará brevemente los métodos nuevos o modificados manifestando las razones por las cuales se usaron.

Resultados

Deberán limitarse a los datos obtenidos y presentarse en una secuencia lógica, de forma clara los datos o resultados del estudio realizado.

Análisis de resultados o discusión

Es la interpretación de los resultados, relaciona las observaciones con otros estudios, sus limitaciones y las implicaciones.

Conclusiones

Exponer en forma clara, concisa y lógica el aporte que el autor hace, respondiendo a los objetivos de la investigación planteada en la introducción.

Agradecimientos

Opcional. Sólo los estrictamente necesarios.

Bibliografía

Presentar, en orden alfabético, las fuentes utilizadas para la redacción del artículo, independientemente de su soporte (bibliografía, hemerografía o ciberografía). Utilizar el formato APA.

Figuras

Podrá incluir, a lo largo del texto y de manera organizada, las fotografías, esquemas, gráficos, diagramas o tablas.

CONSC



CIENCIA

REVISTA DEL SILADIN



45 años