

ISSN 2523-6857

Volumen I, Número I — Julio — Septiembre - 2017

Revista de Ingeniería
**Biomédica y
Biotecnología**

ECORFAN[®]



ECORFAN-Taiwán

Indización

- Research Gate
- Google Scholar
- Hispana
- Mendeley

ECORFAN-Taiwán

Directorio Principal

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD.

Director Regional

VARGAS-DELGADO, Oscar. PhD.

Director de la Revista

PERALTA-CASTRO, Enrique. MsC.

Edición Tipográfica

FLORES-PIGUAVE, Eileen. BsC.

ROSALES-BORBOR, Eleana. BsC.

Edición de Logística

CORTES-MUÑOZ, Sleither. BsC.

Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología, Volumen 1, Número 1, de Julio a Septiembre 2017, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Taiwán. Taiwan, Taipei. YongHe district, ZhongXin, Street 69. Postcode: 23445. WEB: www.ecorfan.org/taiwan, revista@ecorfan.org. Editora en Jefe: RAMOS-ESCAMILLA, María. ISSN 2523-6857. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. ESCAMILLA-BOUCHÁN Imelda, LUNA-SOTO, Vladimir, actualizado al 30 de Septiembre 2017.

Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente las opiniones del editor de la publicación.

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional de defensa de la competencia y protección de la propiedad intelectual.

Consejo Editorial

BELTRÁN-MIRANDA, Claudia. PhD.
Universidad Industrial de Santander, Colombia

BELTRÁN-MORALES, Luis Felipe. PhD.
Universidad de Concepción, Chile

RUIZ-AGUILAR, Graciela. PhD.
University of Iowa, U.S.

SOLIS-SOTO, María. PhD.
Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca, Bolivia

GOMEZ-MONGE, Rodrigo. PhD.
Universidad de Santiago de Compostela, España

ORDÓÑEZ-GUTIÉRREZ, Sergio. PhD.
Université Paris Diderot-Paris, Francia

ARAUJO-BURGOS, Tania. PhD.
Universita Degli Studi Di Napoli Federico II, Italia

SORIA-FREIRE, Vladimir. PhD.
Universidad de Guayaquil, Ecuador

Consejo Arbitral

VGPA. MsC.

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

EAO. MsC.

Universidad Nacional de Colombia, Colombia

MMD. PhD.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México

BRIIIG. PhD.

Bannerstone Capital Management, U.S.

EAO. MsC.

Bannerstone Capital Management, U.S.

OAF. PhD.

Universidad Panamericana, México

CAF. PhD.

Universidad Panamericana, México

RBJC. MsC.

Universidad Panamericana, México

Presentación

ECORFAN, es una revista de investigación que publica artículos en el área de: Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología.

En Pro de la Investigación, Enseñando, y Entrenando los recursos humanos comprometidos con la Ciencia. El contenido de los artículos y opiniones que aparecen en cada número son de los autores y no necesariamente la opinión de la Editora en Jefe.

*Como primer artículo está Cuantificación de la radiación ultravioleta solar observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los años 2011 a 2016 por AHUMADA-MEDINA, Albino, SÁNCHEZ-BARRERA, Eréndira, VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra, y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura, como siguiente artículo esta Detección y prevención de fotoenvejecimiento en universitarios por exposición nociva a rayos ultravioleta por VAZQUEZ-CHACÓN, Verónica, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, SÁNCHEZ-BARRERA-Eréndira, AHUMADA-MEDINA, Albino, CORTES-MÁRQUEZ, Sandra y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura, como siguiente artículo está Efecto del ácido acrílico en las propiedades térmicas de polihidroxicanoatos obtenidos con hidrolizados de cera de abeja por QUINTANAR-GÓMEZ, Samuel, GRACIDA-RODRÍGUEZ, Jorge, ABREU-CORON, Arturo y TÉLLEZ-JURADO, Alejandro, como siguiente artículo esta Influencia del método de obtención del extracto de perfolia de maíz en la biosíntesis de nanoestructuras de AgCl/Ag y fitotoxicidad en plántulas de *Latuca sativa* L. var. *longifolia* por YAÑEZ-CRUZ, María Guadalupe, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, ÁLVAREZ-GARCÍA, Rocío, FLORES-GONZÁLEZ, Marco Antonio, TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, CADENA-RAMÍREZ, Arturo y HERNÁNDEZ-PÉREZ, María de los Ángeles, además el artículo Obtención de extractos celulolíticos a partir de *Pleurotus ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático por TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, TELLEZ-JURADO, Alejandro, LÓPEZ-MEDINA, Emma Nallely, FAVELA-TORRES, Ernesto y HERNÁNDEZ-ALDANA, Ithzmalzin.*

Contenido

Artículo	Página
Cuantificación de la radiación ultravioleta solar observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los años 2011 a 2016 AHUMADA-MEDINA, Albino, SÁNCHEZ-BARRERA, Eréndira, VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra, y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura	1-5
Detección y prevención de fotoenvejecimiento en universitarios por exposición nociva a rayos ultravioleta VAZQUEZ-CHACÓN, Verónica, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, SÁNCHEZ-BARRERA-Eréndira, AHUMADA-MEDINA, Albino, CORTES-MÁRQUEZ, Sandra y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura	6-11
Efecto del ácido acrílico en las propiedades térmicas de polihidroxicanoatos obtenidos con hidrolizados de cera de abeja QUINTANAR-GÓMEZ, Samuel, GRACIDA-RODRÍGUEZ, Jorge, ABREU-CORON, Arturo y TÉLLEZ-JURADO, Alejandro	12-19
Influencia del método de obtención del extracto de perfolia de maíz en la biosíntesis de nanoestructuras de AgCl/Ag y fitotoxicidad en plántulas de <i>Latuca sativa</i> L. var. <i>longifolia</i> YANEZ-CRUZ, Maria Guadalupe, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, ÁLVAREZ-GARCÍA, Rocío, FLORES-GONZÁLEZ, Marco Antonio, TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, CADENA-RAMÍREZ, Arturo y HERNÁNDEZ-PÉREZ, María de los Ángeles	20-25
Obtención de extractos celulolíticos a partir de <i>Pleurotus ostreatus</i> empleando como sustrato lirio acuático TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, TELLEZ-JURADO, Alejandro, LÓPEZ-MEDINA, Emma Nallely, FAVELA-TORRES, Ernesto y HERNÁNDEZ-ALDANA, Ithzmalzin	26-34

Instrucciones para Autores

Formato de Originalidad

Formato de Autorización

Cuantificación de la radiación ultravioleta solar observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los años 2011 a 2016

AHUMADA-MEDINA, Albino*, SÁNCHEZ-BARRERA, Eréndira, VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica †, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra, y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura

Recibido 18 de Julio, 2017; Aceptado 14 de Septiembre, 2017

Resumen

Objetivos: Cuantificar la Radiación Ultravioleta Solar en la Universidad Politécnica de Pachuca de los años 2011 al 2016.

Metodología: Descriptiva, longitudinal según la recopilación de los datos, y comparativa de acuerdo a los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud entre otros.

Contribución: Los resultados muestran las intensidades de radiación ultravioleta que se observan en la Universidad Politécnica de Pachuca sobrepasen valores de 9 del IUV con una frecuencia de 94.2 días.

Radiación ultravioleta

Abstract

Objectives: To quantify Solar Ultraviolet Radiation at the Polytechnic University of Pachuca from 2011 to 2016.

Methodology: Descriptive, longitudinal according to the data collection, and comparative according to the criteria established by the World Health Organization among others.

Contribution: The results show the ultraviolet radiation intensities observed at the Polytechnic University of Pachuca exceed values of 9 of the IUV with a frequency of 94.2 days.

Ultraviolet radiation

Citación: AHUMADA-MEDINA, Albino*, SÁNCHEZ-BARRERA, Eréndira, VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica †, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra, & SUBERVIER-ORTÍZ, Laura. Cuantificación de la radiación ultravioleta solar observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los años 2011 a 2016. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología 2017, 1-1: 1-5

* Correspondencia al autor (email: ahumadam@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La radiación ultravioleta (UV) forma parte del espectro electromagnético que llega a la tierra procedente del sol; algunos animales la detectan como luz visible, no así los humanos. Dentro del espectro visible se localiza por debajo de las longitudes de los colores azul y violeta. En relación a otras radiaciones del espectro visible las longitudes de onda UV, aun cuando tienen menor penetrancia que la luz visible, son capaces por el encuadre de su longitud de onda de causar daños a nivel de dermis y epidermis. [1]. En cuanto a sus longitudes de onda se encuentran entre los 400 nanómetros (nm) (4×10^{-7}) y los 15 nm ($1,5 \times 10^{-8}$ m); no obstante son los rangos que van de los 100 nm a los 400 los directamente relacionados con el presente estudio. A estos que se les clasifica en tres diferentes bandas: UVA (315–400 nm), UVB (280–315 nm) y UVC (100–280 nm). Estas tres bandas llegan a la atmósfera terrestre, pero gracias a la acción protectora del ozono localizado en la delicada capa de la ozonfera, se absorben las longitudes que pudieran ser biológicamente más peligrosas como la UVB y la UVC, alcanzando la superficie terrestre principalmente la UVA y una porción menor de UVB. Ver “tabla 1”.

Particularmente es importante considerar que la radiación UV es capaz de ser absorbida intensamente [2] por los dobles enlaces conjugados de piridinas y piridinas, ocasionando que las biomoléculas se vuelvan reactivas o ionizándolas, al grado que a la piel humana puede ocasionarle quemaduras o provocarle cáncer.

La radiación solar UV ocurre con mayor intensidad en nuestras latitudes durante la primavera, verano y otoño entre las 11:00 y las 15:00 horas, siendo particularmente alta en verano, si bien disminuye su intensidad en días nublados, mientras que por otra parte la inclinación con que llega la luz del sol durante los meses invernales logra que disminuyan sus efectos: efecto escaso o sin efecto; +: efecto leve; ++ efecto moderado; +++: efecto severo

Tipo luz	Longitud de onda (nm)	% que llega a superficie terrestre	Nivel de penetrancia en piel	Nivel de penetrancia en vidrio	Eritrogenicidad*	Carcinogenicidad
UVC	200-290	0	Epidermis	-	+++	+++
UVB	290-320	1.7	Epidermis-papilar	-	++	++
UVA	320-400	6.3	Dermis papilar-reticular	+	+	+
Visible	400-800	92	Dermis reticular subcutanea	+	-	-

Tabla 1. Características de la radiación ultravioleta y luz visible

Considerando que a mayor altura sobre la línea costera, la atmósfera es más delgada, la OMS reporta que por cada 1000 m debe considerarse un incremento de la intensidad de la UV entre un diez y doce por ciento, por lo que en una altura que oscila sobre 2,300 metros como es la observada Valles Altos de Hidalgo, la intensidad alcanzara entre el 23 y 27 % más alta respecto al nivel del mar.

La Universidad Politécnica de Pachuca se localiza en los Valles Altos de Hidalgo a una altura de 2330 msnm, su clima es templado seco, lo que origina escasa vegetación, motivo por el cual la radiación solar de por sí intensa por su latitud tropical y altura, se magnifica por la reflexión de suelos desnudos y los materiales paredes y banquetas [3]. Actualmente se está conformando un grupo de investigación que tiene como objetivo el detectar y cuantificar los posibles daños dermatológicos que se presenten en alumnos y personal de la Institución. Como una primera etapa de estas investigaciones se reporta en este trabajo la cuantificación mensual de radiación ultravioleta desde el año 2011 a la fecha.

Dentro de la República Mexicana, existen antecedentes de estudios semejantes, como los realizados por el Departamento de Dermatología en el estado de San Luis Potosí en 2003 [4], en donde se reportaron las dosis de radiación ultravioleta en escolares mexicanos.

Metodología

Se realizó una recopilación de los datos aportados por el sensor de luz ultravioleta inalámbrica instalado en la estación meteorológica Davis Vantage 2 que se encuentra instalada en el Área de Tecnologías Intermedias de la Universidad Politécnica de Pachuca desde el año 2011.

Los datos obtenidos se agruparon de acuerdo a los criterios establecidos por la Organización Mundial de la la Salud en colaboración con el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, La Organización Meteorológica Mundial, La Comisión Internacional sobre Protección contra la Radiación no Ionizante, y la Oficina Federal Alemana para la Protección Contra la

Radiación [3]. Esta publicación responde a los criterios reportados por Eva Rehfuss y se basan en el el consenso alcanzado en la reunión Internacional de Munich y está destinada a ser usada por las autoridades nacionales y locales y las organizaciones no gubernamentales que realizan actividades de prevención del cáncer de piel, así como por los centros de meteorología y los medios de comunicación que informan sobre el IUV. Los valores del IUV recomendados a observar son los siguientes

Categoría de Exposición	Intervalo de Valores del IUV
Baja	<2
Moderada	3 a 5
Alta	6 a 7
Muy Alta	8 a 10
Extremadamente alta	11 o mas

Tabla 2. Indices de Radiación Ultravioleta

Índice de Radiación Ultravioleta	Protección requerida
1-2	No necesita protección
3-4,5,6 y 7	Se necesita protección. Mantenerse a la sombra durante las horas centrales del día. Usar camisa, crema de protección solar y sombrero
8,9,10,11 o más	Se debe evitar salir durante las horas centrales del día, mantenerse a la sombra. Es imprescindible usar camisa, crema de protección solar y sombrero.

Tabla 3. Recomendaciones por exposición

AHUMADA-MEDINA, Albino, SÁNCHEZ-BARRERA, Eréndira, VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra, y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura. Cuantificación de la radiación ultravioleta solar observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los años 2011 a 2016. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología 2017

Resultados

Mes	8-10	10-12	12-14	14-16	Total Mensual
Marzo	10	9	0		29
Abril (30)	5	12	13		30
Mayo (31)	2	17	12		31
Junio (30)	3	10	14		27
Julio (31)	3	7	13	6	29
Agosto (31)	2	8	19	1	30
Septiembre (30)	1	15	12		28
Octubre (31)	12	11	1		24

Tabla 4. Promedio Marzo-Octubre 2011-2016.

De acuerdo al monitoreo que se realizó durante los años 2011 al 2017 se observó que los meses en donde se manifiestan los índices de radiación superiores a 8 que se considera alta, hasta 11 considerada extremadamente alta, ocurren entre los meses de marzo a octubre, mientras que durante los meses que corren de noviembre febrero, la radiación no muestra condiciones que se consideren potencialmente perjudiciales para la piel de las personas. En la “tabla 4”, se pueden observar los resultados medios mensuales, cabe mencionarse que en algunos casos por fallas en los equipos detectores, fue necesario obtener datos promedio. Los valores se redondearon a 9 (8-10), 11 (10-12) y 13 (12-14).

Mes	8-10	10-12	12-14	Total Mensual
Marzo (31)	15.1	6.1	1.6	22.8
Abril (30)	11	14.6	2.5	28.1
Mayo (31)	3.3	16.6	10.3	30.2
Junio (30)	2.8	10.5	13.8	27.1
Julio (31)	6.3	11	10.5	27.8
Agosto (31)	4.6	13.6	6.0	24.2
Septiembre (30)	8.1	10.5	4.5	23.1
Octubre (31)	12.3	11.3	0.8	24.4
Total anual	63.5	94.2	50.0	207.7

Tabla 5. Promedio Marzo-Octubre 2011

Es importante señalar que en algunos años, como ocurrió en 2011, durante los meses de julio y agosto, alcanzaron valores por encima de 14, lo que indica situaciones extremas. “Tabla 5”.

Discusión

Los resultados muestran las intensidades de radiación ultravioleta que se observan en los Valles Altos de Hidalgo, particularmente en la Universidad Politécnica de Pachuca que se localiza dentro del municipio de Zempoala, Hidalgo. Resalta principalmente el hecho de que durante los meses de marzo a octubre se sobrepasen valores de 9 del IUV durante 207.7 días, siendo el valor de 9 el que se alcanza con más frecuencia con 94.2 días.

Debe observarse que los meses de mayo, son los que presentan una mayor cantidad de días con radiaciones por arriba de 9, seguramente por no presentarse nublados importantes en este mes y el tránsito prácticamente cenital del sol a la línea del trópico de cáncer (23° 27'). Mientras que el mes de junio aun cuando tiene tres días menos por debajo de la línea de IUV, su intensidad suele ser la más alta del año y coincide con el acercamiento y llegada solar a su cenit en la línea tropical.

AHUMADA-MEDINA, Albino, SÁNCHEZ-BARRERA, Eréndira, VÁZQUEZ-CHACÓN, Verónica, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, CORTÉS-MÁRQUEZ, Sandra, y SUBERVIER-ORTÍZ, Laura. Cuantificación de la radiación ultravioleta solar observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los años 2011 a 2016. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología 2017

Frecuentemente, se suelen confundir las consecuencias de los efectos de la radiación UV como derivados de la afectación atmosférica de la capa de ozono como ocurre en las regiones del extremo sur del planeta, no obstante lo observado en el presente trabajo, son fenómenos locales derivados de la latitud y altura. Cabe mencionarse que no obstante la cercanía de la Ciudad de México con sus graves problemas de contaminación, no manifiesta la intensidad aquí reportada debido a la protección que le generan los nublados frecuentes durante los veranos [5]. Por otra parte, debe señalarse que la población de los Valles Altos de Hidalgo deberá sujetarse a las debidas precauciones para evitar tanto las quemaduras como posibles casos de cáncer. Por ello consideramos importante que el monitoreo, así como la divulgación de las lecturas diarias sean divulgadas como un proceso preventivo. Finalmente los estudios que se han iniciado por parte de académicos de la Licenciatura en Terapia Física, habrán de señalarnos en qué medida la población se encuentra afectada.

Reconocimiento

Dr. Marco Antonio Flores González. Rector de la Universidad Politécnica de Pachuca.

Referencias

- [1]. X.Fajre et al. Exposición Solar y fotointerpretación. Revista Chilena de Medicina Familiar. 3(3): 113-118. 2002.
- [2]. Mathews C. K. Bioquímica. Pearson. Madrid. 2013.
- [3]. Organización Mundial de la Salud. Índice UV solar mundial: guía práctica. 2003.
- [4]. Castanedo-Cázares et al. Dosis de radiación ultravioleta en escolares mexicanos. Salud pública. Méx vol.45 no.6 Cuernavaca nov. 2003
- [5]. CIMAT-CDMX. Informes anuales de la calidad del aire. 2000-2015

Detección y prevención de fotoenvejecimiento en universitarios por exposición nociva a rayos ultravioleta

VAZQUEZ-CHACÓN, Verónica*†, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, SÁNCHEZ-BARRERA-Eréndira, AHUMADA-MEDINA, Albino, CORTES-MÁRQUEZ, Sandra y SUBERVIER-ORTÍZ-Laura

Recibido 14 de Julio, 2017; Aceptado 4 de Septiembre, 2017

Resumen

Objetivos: Detectar, por medio de cuestionario virtual el fotoenvejecimiento en universitarios por exposición nociva a rayos ultravioleta, prevención por medio de fotoprevención. Metodología: Se realizó una investigación de tipo prospectiva, descriptiva y longitudinal, se aplica un cuestionario de tipo electrónico en alumnos del Programa Educativo de la Licenciatura en Terapia Física, incluyendo el fototipo (clasificación de Fitzpatrick), fotoenvejecimiento, rango de frecuencia de uso de medidas de protección solar y conductas de prevención de medio ambiente. Se pretende realizar prevención mediante la impartición de una ponencia de efectos nocivos de la Radiación Ultravioleta. Contribución: Se realizó una plataforma para prevención y detección de los efectos del Fotoenvejecimiento en Universitarios. Integrando los siguientes aspectos: fototipo, Fotoenvejecimiento, cuidados del medio ambiente, día internacional del medio ambiente y día internacional de prevención de cáncer de piel, así como: rango de frecuencia del uso de medidas de protección solar en la última semana. Se realizó una ponencia del Tema: Efectos nocivos de la Radiación Ultravioleta, en el Auditorio de la Universidad Politécnica de Pachuca, dirigido a alumnos del Programa Educativo de la Licenciatura en Terapia Física, con afluencia de 150 asistentes.

Rayos uv, Fotoeducación, Medioambiente, Prevención cáncer de piel

Abstract

Objectives: To detect, through a virtual questionnaire, photo-aging in university students due to exposure to ultraviolet rays, prevention by means of photoprevention. Methodology: A prospective, descriptive and longitudinal research was carried out, an electronic questionnaire was applied to students of the Educational Program of the Licentiate in Physical Therapy, including the phototype (Fitzpatrick classification), photoaging, frequency range of use Measures of solar protection and conducts of prevention of environment. It is intended to carry out prevention by imparting a presentation of harmful effects of Ultraviolet Radiation. Contribution: A platform was developed for prevention and detection of the effects of Photoenvejecimiento in University students. Integrating the following aspects: phototype, Photoaging, environmental care, international day of the environment and international day of prevention of skin cancer, as well as: frequency range of the use of sun protection measures in the last week. A lecture on the theme: Harmful Effects of Ultraviolet Radiation was conducted at the Auditorium of the Polytechnic University of Pachuca, aimed at students of the Educational Program of the Degree in Physical Therapy, with an attendance of 150 attendees.

Uv rays, Photo-education, Environment, Prevention of skin cancer

Citación: VAZQUEZ-CHACÓN, Verónica*†, CHÍO-AUSTRIA, Rosa María, SÁNCHEZ-BARRERA-Eréndira, AHUMADA-MEDINA, Albino, CORTES-MÁRQUEZ, Sandra y SUBERVIER-ORTÍZ-Laura. Detección y prevención de fotoenvejecimiento en universitarios por exposición nociva a rayos ultravioleta. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología 2017, 1-1: 6-11

* Correspondencia al autor (email: veronicavazquez@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor

Introducción

La forma más conocida de energía electromagnética es la luz del sol. La frecuencia de la luz solar (luz visible) es la línea divisoria entre la radiación ionizante (rayos x, rayos cósmicos), más potente y de frecuencias más altas, y la radiación no ionizante, más benigna y de frecuencias más bajas.1]

La luz solar se subdivide en: luz visible, su campo de acción varía de los 400 nm (violeta) a los 700 nm (roja); infrarroja mayor de 700 nm, también llamada calor; y radiación ultravioleta (rUV) < 400 nm. La rUV se subdivide a su vez en UVA (320-400 nm), también llamada luz negra (invisible); UVB (290-320 nm) que es más penetrante en la piel y UVC (< 290 nm).2]

Hay un espectro de radiación no ionizante. La radiación no ionizante (RNI) engloba toda la radiación y los campos del espectro electromagnético que no tienen suficiente energía para ionizar la materia. Es decir, la RNI es incapaz de impartir suficiente energía a una molécula o un átomo para alterar su estructura quitándole uno o más electrones. La división entre la RNI y la radiación ionizante suele establecerse en una longitud de onda de 100 nanómetros aproximadamente. Al igual que cualquier forma de energía, la energía RNI tiene el potencial necesario para interactuar con los sistemas biológicos, y las consecuencias pueden ser irrelevantes, perjudiciales en diferentes grados o beneficiosas.

El término radiación significa simplemente energía transmitida por ondas. Las ondas electromagnéticas son ondas de fuerzas eléctricas y magnéticas, cuyo movimiento ondulatorio se define como propagación de perturbaciones en un sistema físico.

Cuando las ondas electromagnéticas encuentran un objeto, una parte de la energía incidente se refleja, otra parte es absorbida y el resto se transmite.

La luz UV cuando incide en la piel humana puede seguir uno de estos tres cursos: puede sufrir una absorción, reflexión o dispersión.

La luz ultravioleta (UV) es una de las radiaciones no ionizantes del espectro electromagnético y se sitúa en el rango de 100 nm longitud de onda (el cual corresponde a un fotón de energía de aproximadamente 12 eV) a 400 nm, está limitada a la región de longitud de onda corta y casi siempre situada como límite entre el espectro de radiación ionizante (menos de 100 nm longitud de onda) y el no ionizante. Puede estar clasificada en tipo A (315-400 nm), tipo B (280-315 nm) y C (100-280 nm); existen además otras bandas de longitudes de onda utilizadas.

La energía de la radiación solar está muy atenuada por la capa de ozono de la Tierra, que limita la RUV terrestre a longitudes de onda superiores a 290-295 nm. La energía de los rayos de corta longitud de onda (UVB), más peligrosos, de la luz solar depende considerablemente de su trayectoria oblicua en la atmósfera, y varía con la estación y la hora del día (Sliney 1986 y 1987; OMS 1994).

Eritema El eritema, o “quemadura solar”, es un enrojecimiento de la piel que normalmente aparece de cuatro a ocho horas después de la exposición a la RUV y desaparece gradualmente al cabo de unos días. Las quemaduras solares intensas provocan formación de ampollas y desprendimiento de la piel.

La UVB y la UVC son unas 1.000 veces más eficaces que la UVA como agentes causantes de eritema (Parrish, Jaenicke y Anderson 1982), pero el eritema producido por la UVB, de mayor longitud de onda (295 a 315 nm) es más intenso y persiste durante más tiempo (Hausser 1928). Esta mayor intensidad y duración se deben a que la penetración de esta radiación de mayor longitud de onda en la epidermis es más profunda. La piel parece presentar la máxima sensibilidad a 295 nm.

La dosis eritémica mínima (DEM) para 295 nm notificada en estudios más recientes para piel sin broncear, ligeramente pigmentada, varía entre 6 y 30 mJ/cm².

La exposición crónica a la luz solar —en especial, al componente UVB— acelera el envejecimiento de la piel e incrementa el riesgo de cáncer de piel.

La irradiación ambiental de dicho agente, de allí que esté aumentado el factor de riesgo para el daño fotooxidativo, con efectos negativos a largo plazo para el envejecimiento, consecuente disminución en la calidad de vida de los pacientes y aparición precoz de cáncer cutáneo por el daño irreparable en el DNA inducido por la luz ultravioleta.

La reflexión no solamente ocurre en la superficie del estrato córneo, por ello en todas las interfases puede ocurrir un índice de refracción. La dispersión ocurre debido a todos los elementos estructurales que se encuentran en la piel, como son los folículos pilosos, las glándulas sebáceas y los componentes celulares, así como las mitocondrias y los ribosomas. El remanente de luz UV puede, por tanto, penetrar dentro de las capas más profundas de la piel. La penetración de la luz UV dentro de la dermis expone a una variedad de células y estructuras, la que depende en parte del grosor del estrato córneo de la epidermis.

La profundidad de la penetración depende del tamaño de la longitud de onda.

Una misma exposición incidente de radiación de UVA ó UVB resultante de una alta exposición puede penetrar con profundidad.

La distribución y el tamaño de las partículas de melanina pueden jugar un papel importante en la protección de las células epidérmicas. Las partículas de melanina se distribuyen en el estrato córneo en dependencia del tipo de piel, se consideran por ello seis fototipos de piel según la clasificación de Fitzpatrick: Tipo I: Quemadura solar frecuente y muy fácil. Pigmentación nula o casi nula. Tipo II: Quemadura solar frecuente y fácil. Pigmentación discreta a veces. Tipo III: Quemadura solar presente. Pigmentación ligera. Tipo IV: Quemadura solar rarísima o ausente. Pigmentación constante o intensa. Tipo V: Piel moderadamente pigmentada. Tipo VI: Piel negra.

La capacidad de la piel humana de regenerarse disminuye con el paso del tiempo y con la exposición a la luz UV, por ello se produce un aumento en la fragilidad de la misma, con una reducción de las células cutáneas y del tejido conectivo colágeno.

El daño inducido al DNA por la radiación UVB es el principal factor que permite la inducción de mutaciones y el inicio del proceso carcinogénico.

El envejecimiento cutáneo extrínseco comienza alrededor de los 35 años de edad, el sol es el responsable del 90 % de las lesiones estéticas, atribuidas sin ningún motivo al envejecimiento fisiológico.

El envejecimiento cutáneo es un fenómeno biológico complejo que afecta a los diferentes componentes de la piel. Existen efectos intrínsecos y extrínsecos en el proceso de envejecimiento.

En la piel existen cambios a nivel de la epidermis como declinación de los melanocitos en aproximadamente un 15% por década, duplicando su densidad en áreas fotoexpuestas, hay además una disminución de las células de Langerhans, disminuyendo la sensibilidad e inmunidad. En la dermis hay disminución del colágeno (1% anual) y disminución de fibroblastos con una disminución progresiva del tejido elástico en la dermis papilar. La exposición a la radiación ultravioleta produce inicialmente una infiltración de neutrófilos en la dermis, esta infiltración es la llave que activa la liberación de enzimas como la elastasa y la matrix metaloproteinasas. También hay una reducción en la capacidad de regeneración del ADN. Además, existe una reducción en la microvasculatura cutánea; la radiación ultravioleta, los rayos infrarrojos y el calor inducen la angiogénesis.

Los efectos clínicos sobre la piel producida por las radiaciones ultravioleta en forma crónica se llaman fotoenvejecimiento, es decir el daño producido por el sol acelerando el envejecimiento de la piel. Tabla 1. Este fenómeno es independiente del envejecimiento real de la piel, por ello puede ser evitable, y, por lo tanto, en esta investigación se considera el conocimiento acerca de la prevención utilizando el rango de frecuencia de uso de medidas de protección solar en la última semana, como sigue: (1 =nunca, 2= rara vez, 3 = menos de la mitad de las veces, 4 = más de la mitad de las veces, 5 = casi todo el tiempo y 6 =siempre).

Daño	Descripción	Características
Tipo I (Medio)	Sin arrugas	Fotoenvejecimiento temprano. Cambios pigmentarios medios. Sin queratosis. Mínimas arrugas. Edad del paciente entre 20 y 30 años. Sin maquillaje o al mínimo. Mínimo acné cicatrizando.
Tipo II (Moderado)	Arrugas con movimiento	Fotoenvejecimiento temprano a moderado. Léntigos seniles visibles tempranamente. Queratosis palpable pero no visible. Comienzan a aparecer líneas paralelas a la sonrisa. Edad del paciente entre 30 y 40 años. Uso de algo de base. Cicatrices de acné medias.
Tipo III (Avanzado)	Arrugas en reposo	Fotoenvejecimiento avanzado. Obvia discromía, telangiectasias. Queratosis visible. Arrugas visibles aun sin movimiento. Edad del paciente 50 años o más. Uso de base compacta. Presencia de cicatrices de acné que el maquillaje no cubre.
Tipo IV (Severo)	Sólo arrugas	Severo fotoenvejecimiento. Lesiones malignas tempranas de la piel. Arrugas a través de toda la cara. No hay zonas de piel normal. Edad del paciente entre 60 y 70 años. El maquillaje no puede usarse. Se pone seco y cae en piezas. Severas cicatrices de acné.

Tabla 1. Clasificación de Fotoenvejecimiento. Correlación entre las prácticas de exposición solar y el grado de fotodaño. Panamá, Mayo, 2009. by Jose Manuel Rios Yuil is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported License. Permissions beyond the scope of this license may be available at www.revistamedicocientifica.org.

Hay que tener presente que algunas veces el fotoenvejecimiento va acompañado de otro efecto de las RUV que es la fotocarcinogénesis o la aparición de lesiones premalignas: queratosis actínica, cuerno cutáneo, queilitis actínica, enfermedad de Bowen; o lesiones malignas: carcinoma basocelular, carcinoma epidermoide, melanoma maligno sobre la piel.



Figura 1. Plataforma de encuesta de Fotoenvejecimiento. <https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfvY0t8h3V2jjrsx9kyyK32FwpomIQZFqBtSYJe4oUUZwit2w/viewform>

Metodología

Se realiza una investigación de tipo prospectiva, descriptiva y longitudinal, se aplica un cuestionario de tipo electrónico en alumnos del Programa Educativo de la Licenciatura en Terapia Física, para determinar el fototipo de piel según la clasificación de Fitzpatrick, fotoenvejecimiento, rango de frecuencia de uso de medidas de protección solar en la última semana y conductas de prevención de medio ambiente (siembra y cuidado de un árbol), así como: conocimiento del día internacional contra el cáncer de Piel y día internacional del medio ambiente. De tal manera que al obtener estos datos identifiquemos la relación entre tipos de piel y efectos nocivos de los Rayos ultravioletas en Universitarios. Se pretende hacer prevención mediante la impartición de una ponencia de efectos nocivos de la Radiación Ultravioleta.

Resultados

Se realizó una plataforma para contestar la encuesta de Fotoenvejecimiento en Universitarios, que estuvo en acceso a partir del día: 23 de junio del presente año. Integrando los siguientes aspectos: Clasificación de fototipo o de Fitzpatrick, Clasificación de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta, mediante la Clasificación de Fotoenvejecimiento, así como preguntas acerca de: cuidados del medio ambiente, día internacional del medio ambiente y día internacional de prevención de cáncer de piel, así como: rango de frecuencia del uso de medidas de protección solar en la última semana.

Se realizó una ponencia abordando el Tema: Efectos nocivos de la Radiación Ultravioleta, impartida el día 05 de junio en el Auditorio de la Universidad Politécnica de Pachuca, dirigido a alumnos del Programa Educativo de la Licenciatura en Terapia Física, con una afluencia de 150 asistentes.

Agradecimientos

A la Directora del Programa Educativo de la Licenciatura en Terapia Física de la Universidad Politécnica de Pachuca: Dra. Rosa María Chío Austria por el apoyo para la realización de la presente investigación, al Dr. Albino Ahumada Medina por compartir conocimientos e ideas.

Conclusiones

Los efectos nocivos de las radiaciones ultravioleta se pueden minimizar y limitar por medio del cuidado al medio ambiente y fotoeducación, que involucren medidas de protección solar, y concientización de cuidados del medio ambiente, se tienen que tomar en cuenta todas las edades, incluyendo personas con nivel académico superior.

Referencias

- [1] VALLEJO EO, VARGA N, MARTÍNEZ LM. Perspectiva genética de los rayos UV y las nuevas alternativas de protección solar. *SciELO*,2013. 94, 2-3.
- [2] PÚMARIEGA G.M., TAMAYO V.M., LAMAR S.A. La radiación ultravioleta. Su efecto dañino y consecuencias para la salud humana. *Theoria*.2009.Vol 18(2),pp.69-80.
Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=29917006006>
- [3] PALOMAR LLATAS, F., FORNES PUJALTE, B., TORNERO PLA, A. AND MUÑOZ, A. Escala valoración FEDPALLA de la piel perilesional. 1st ed. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia 2010., pp.36-38.
- [4] GONZÁLEZ,M.,VERNHES, M.,& SÁNCHEZ,A. La radiación ultravioleta. Su efecto dañino y consecuencia para la salud humana (pdf). 2009 Vol.18.

- [5] FLORES ALONSO O. El sol y la piel. *Rev Cent Dermatol Pascua*.2000 9 (2): 126-136.
- [6] MORALES-MOLINA JA ET AL. . Quemaduras solares: fotoprotección y tratamiento. *Ars Pharm*. 200647 (2): 119-135.
- [7] C. M. CABRERA MORALES; M. A. LÓPEZ-NEVOT. Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. *SciELO*, 2006Vol. 29, No 12.
- [8] A. BLANCO QUIRÓ Z, E. ARRANZ SANZ, J.A. GARROTE ADRADOS, LUZ SOLAR, VITAMINA D Y TUBERCULOSIS.*PEDIATRIC REV* 2009; 49:NP 220-226.
- [9] PINEDO-VEGA, J. L., CASTAÑEDA-LÓPEZ, R., DÁVILA-RANGEL, J. I., MIRELES-GARCÍA, F., RÍOS-MARTÍNEZ, C., & LÓPEZ-SAUCEDO, A.. Incidencia de cáncer de piel en Zacatecas. (Spanish). *Revista Médica Del IMSS*, 2014 52(4), 282-289.
- [10] FERRAND, P. S. Efectividad de un programa cognitivo social para prevenir el cáncer de piel en mujeres adolescentes. (Spanish). *Universitas Psychologica*, 2006. 5(3), 585-597.
- [11] OROZCO-TOPETE R, SCHOLTÈS C, GARCÍA-HIDALGO L, ARCHER-DUBÓN C Y COL. Dermatología comunitaria en Oaxaca: el modelo CECIPROC. *Dermatol Rev Mex* 2013;57:421-427.
- [12] RAMIREZ S. Prevención y cuidados de la piel en pacientes sometidos a radioterapia: revisión narrativa. *cuidandote*. vol xvi, pp9-17.DISPONIBLE.<http://revistacuidandote.e u/fileadmin/VOLUMENES/2016/Volumen 16/Articulos/articulo2.pdf>
- [13] LLAGOSTERA P. *cuidados de la piel. atención domiciliaria de mallorca. hospital general. ibsalut. palma de mallorca. España. 2006VOL.38. PP. 65-71.disponible . http://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-cuidados-piel-13094777*
- [14] ACUÑA, P. *El cuidado de la piel de niños y adolescentes sanos. Centro de Referencia Nacional de Puericultura, 1, 1-11. 2017, Mayo 25, De Dialnet Base de datos*

Efecto del ácido acrílico en las propiedades térmicas de polihidroxicanoatos obtenidos con hidrolizados de cera de abeja

QUINTANAR-GÓMEZ, Samuel*†, GRACIDA-RODRÍGUEZ, Jorge, ABREU-CORON, Arturo y TÉLLEZ-JURADO, Alejandro

Recibido 14 de Julio, 2017; Aceptado 4 de Septiembre, 2017

Resumen

Se realizó la caracterización térmica de polihidroxicanoatos de cadena corta y media (scl-mcl-PHA) sintetizados con *Cupriavidus necator* a partir de hidrolizados de cera de abeja (Hw) y ácido acrílico; para evaluar la influencia de un inhibidor de la β -oxidación en las propiedades térmicas del biopolímero resultante. Se observó, que el ácido acrílico favoreció la incorporación de monómeros de cadena media (mcm), además de promover un aumento del % mol de 3-hidroxiocanoato (3HO), 3-hidroxicanoato (3HD) y 3-hidroxicanoato (3HDD). Estos resultados fueron confirmados mediante cromatografía de gases (GC) de scl-mcl-PHA metanolizados. Las propiedades térmicas de dichos materiales se vieron afectadas como consecuencia de la incorporación de los mcm, lo cual redujo su cristalinidad, dando como resultado un elastómero con apariencia similar a un hule, además de disminuir los valores de la temperatura de fusión (T_m) en más de 100 °C con respecto al PHB y modificando su temperatura de transición vítrea (T_g).

Cupriavidus necator, Cera de abeja, β -oxidación, DSC, PHA

Abstract

The thermal characterization of short and medium chain polyhydroxyalkanoates (scl-mcl-PHA) synthesized with *Cupriavidus necator* using beeswax hydrolysates (Hw) and acrylic acid; was performed to evaluate the influence of an β -oxidation inhibitor in the thermal properties of the biopolymer. It was observed that acrylic acid favours the incorporation of medium chain monomers (mcm), in addition to promoting an increase mol % of 3-hydroxyoctanoate (3HO), 3-hydroxydecanoate (3HD) and 3-hydroxydodecanoate (3HDD). These results were confirmed by gas chromatography (GC) of methanolized scl-mcl-PHA. The thermal properties of these materials were affected as a consequence of the incorporation of mcm, which reduced their crystallinity, resulting in an elastomer with a similar appearance to a rubber, in addition to lowering the values of the melting temperature (T_m) by more than 100 °C with respect to PHB and modifying its glass transition temperature (T_g).

Cupriavidus necator, Beeswax, β -oxidation, DSC, PHA

Citación: QUINTANAR-GÓMEZ, Samuel*†, GRACIDA-RODRÍGUEZ, Jorge, ABREU-CORON, Arturo & TÉLLEZ-JURADO, Alejandro. Efecto del ácido acrílico en las propiedades térmicas de polihidroxicanoatos obtenidos con hidrolizados de cera de abeja. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología. 2017, 1-1: 12-19.

* Correspondencia al autor (email: sam_quigo@yahoo.com.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor

1. Introducción

Diversos trabajos reportan que *Cupriavidus necator* (antes *Wautersia eutropha* > *Ralstonia eutropha* > *Alcaligenes eutrophus*) tiene la capacidad de producir mcl-PHA a partir del desarrollo de estrategias de alimentación con glucosa o fructosa, en combinación con ácidos grasos (Budde *et al*, 2011, López-Cuellar *et al*, 2011, Insomphun *et al*, 2013, Rathinasabapathy *et al*, 2013). López-Cuellar *et al*, (2011) sintetizaron un mcl-PHA con monómeros de 3-hidroxi octanoato (3HO) y 3-hidroxidodecanoato (3HDD) a partir de *C. necator*, cultivada con aceite de canola en una fermentación por lote alimentado de 3 etapas. Rathinasabapathy *et al*, (2013) reportaron la síntesis de un scl-mcl-PHA con monómeros de 3-hidroxi valerato (3HV), 3-hidroxi hexanoato (3HHx) y 3-hidroxi octanoato (3HO), enlazados a 3-hidroxi butirato (3HB), a partir del mismo método de síntesis. Debido a la naturaleza hidrofóbica de estos sustratos, algunos estudios han implementado estrategias de cultivo usando agentes emulsificantes para incrementar la superficie de contacto y su biodisponibilidad. Budde *et al*, (2011) describieron un método para el desarrollo de *R. eutropha* cultivada en aceite de palma a concentración del 1% en presencia de Tritón X-100 (concentración de 0.05 %) como agente emulsificante. Otra estrategia potencial consiste en inhibir las reacciones de β -oxidación de ácidos grasos para obtener una producción más efectiva de mcl-PHA (Jiang, 2010).

Insomphun *et al*, (2013) estudiaron los efectos de la interrupción de las enzimas (S)-2-enoil-CoA hidratasa / (S)-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa en *R. eutropha* para obtener información con respecto al mecanismo de β -oxidación y regular la composición de P(3HB-co-3HHx) sintetizado a partir de aceite de soja como fuente de carbono, observando una disminución en la fracción molar de 3HB (55.8 mmol/L a 32.1 mmol/L) acompañada de un incremento de la fracción monomérica de 3HHx (1.1 a 4.3 mmol/L). Jiang, (2010) sintetizó un mcl-PHA con monómeros de 3-hidroxi nonanoato (3HN) y 3-hidroxi heptanoato (3HHp) a partir de una cepa de *Pseudomonas putida* KT2440 alimentada con ácido nocánico como única fuente de carbono. Este estudio reportó que al adicionar ácido acrílico (0.02 g/L) como inhibidor de la β -oxidación al medio de cultivo, el copolímero obtenido presentó un incremento significativo de la fracción de 3HN (de 68 mol % a 88 mol %) en conjunto a la concentración de mcl-PHA intracelular.

La β -oxidación de ácidos grasos es la ruta principal para la conversión de los ácidos grasos, y compuestos estructuralmente relacionados a precursores de mcl-PHA (Jiang, 2010). Muchos ésteres de ácidos grasos, además de compuestos cerosos homólogos de diferente longitud de cadena carbonada se encuentran en la cera de abeja (Maia y Nunes, 2013). Estos sustratos pueden ser liberados mediante hidrólisis alcalina y utilizados como fuente de carbono para la síntesis de scl-mcl-PHA. En este estudio, se analizó el efecto del ácido acrílico (Sigma-Aldrich) como inhibidor de la β -oxidación de ácidos grasos, durante la incorporación de monómeros de cadena media (mcm) y su influencia al caracterizar química y térmicamente los scl-mcl-PHA sintetizados con una cepa de *C. necator* alimentada con fracciones de hidrolizados de cera de abeja (Hw).

2. Metodología a desarrollar

Microorganismo y medio de cultivo. *C. necator* ATCC 17699 fue propagado en caldo Luria Bertani (LB) e incubado a 30 °C. El inóculo para todos los ensayos fue preparado por transferencia de 100 mL del matraz semilla con medio LB, incubado por 36 h a 150 rpm y 30 °C en un agitador rotatorio (Excella E24, New Brunswick Scientific). El medio de fermentación de la etapa 1 (cultivo en lote), primer lote alimentado en etapa 2 (producción de biomasa) y segundo lote alimentado en etapa 3 (síntesis de fracciones de mcl-PHA); son descritas en la Tabla 1. La solución de elementos traza fue definida por Shang *et al.*, (2004).

Fermentación. Los cultivos fueron realizados por triplicado, en una unidad de fermentación de 5 L (FA-5000, VICHÍ). El contenido del matraz semilla (10% v/v) fue transferido al medio de fermentación bajo las mismas condiciones descritas en la sección previa, el pH 7.0 fue controlado con NaOH 2M y HCl 0.47M. Las muestras fueron tomadas cada 3 h para cuantificar glucosa, sulfato de amonio, biomasa y PHA. La fermentación fue realizada acorde al método propuesto por López-Cuellar *et al.*, (2011). La solución de glucosa de 30 g/L fue alimentada a 50 mL/h (Chakraborty *et al.*, 2012) (MasterFlex L/S Model 77200-62) para alcanzar alta densidad celular. Durante la etapa 3 (síntesis de fracciones de mcl-PHA bajo limitación de nitrógeno), se utilizaron las fracciones de Hw (AG SA: ácido graso en ausencia de ácido acrílico, AG CA: ácido graso en presencia de ácido acrílico, OH SA: alcohol céreo en ausencia de ácido acrílico y OH CA: alcohol céreo en presencia de ácido acrílico) por separado como co-sustratos (en conjunto a la glucosa remanente de las etapas previas) a una concentración de 5 g/L, en presencia de 0.43 g/L Tritón X-100 (Sigma-Aldrich); 3 veces su CMC (Budde *et al.*, 2011) adicionado a 0.33 L/h.

Las fracciones de Hw en ausencia de ácido acrílico fueron consideradas como controles negativos. En relación a los experimentos en presencia de ácido acrílico (Sigma-Aldrich) se consideró adicionar una concentración de 3 mM (Jiang, 2010).

Técnicas analíticas. La determinación de peso seco (X) se realizó por gravimetría; la biomasa residual (rX) fue definida como la concentración de X sin PHA (Budde *et al.*, 2011). La concentración de glucosa fue determinada por el método de DNS (Barbosa *et al.*, 2005). La cuantificación de sulfato de amonio fue llevada a cabo por el método de Weatherburn (López-Cuellar *et al.*, 2011). La cantidad de hidrolizado de cera de abeja residual (rHw) fue definido como la concentración de Hw recuperado por centrifugado de la muestra; determinada por la ecuación 1 modificada, descrita por Budde *et al.*, (2011):

$$rHw = \text{masa recuperada} \left(\frac{V_{\text{org}}}{V_{\text{transferido}}} \right) \left(\frac{1}{V_{\text{muestra}}} \right) \quad (1)$$

Donde, V org es el volumen de la fase orgánica antes de la extracción. Debido a que la mezcla de disolventes incluye metanol, no todo el disolvente permanece en la fase orgánica después del contacto con el medio acuoso. Se midió el V org a 15 mL cuando se utilizó cloroformo/metanol 10:5. El V transferido fue de 5 mL y el V muestra de 10 mL (volumen tomado del medio de cultivo).

Purificación de scl-mcl-PHA. Los scl-mcl-PHA fueron purificados a partir de reflujo con cloroformo durante 10 minutos y precipitados con hexano frío (Nurbas y Kutsal, 2004). El procedimiento fue llevado a cabo tres veces para obtener un polímero purificado y evitar la presencia de residuos celulares además de posibles metabolitos residuales presentes en la cera de abeja. El solvente excedente fue removido por evaporación (R-210, BUCHI).

Caracterización química de scl-mcl-PHA. Se utilizó un sistema de CG Thermo scientific modelo Trace 1310, equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar Thermo scientific (30 m × 0.32 mm, un espesor de película de 1.0 μm). El gas acarreador fue He (flujo de 1 mL / min). Las rampas de temperatura fueron realizadas conforme al método de Rathinasabapathy *et al*, (2013). Las muestras de mcl-PHA fueron metanolizadas previamente para metilar los monómeros de ácidos grasos (Impallomeni *et al*, 2013). Los ésteres metílicos resultantes fueron identificados por comparación de sus tiempos de retención con estándares de 3-hidroxicanoatos.

Caracterización térmica de scl-mcl-PHA. Los experimentos de DSC fueron desarrollados usando un calorímetro de barrido diferencial (Mettler-Toledo DSC822e). Las muestras (8 mg) fueron encapsuladas en charolas de aluminio y calentadas en un rango de temperatura de -80 a 220 °C usando una rampa de calentamiento de 10 °C/min y tomando la segunda corrida como válida para determinar la temperatura de transición vítrea (Tg) y de fusión (Tm) (Nurbas y Kutsal, 2004).

3. Resultados

Caracterización química de scl-mcl-PHA sintetizados con fracciones de Hw.

En la Tabla 2 se muestran los tiempos de retención establecidos por CG, para los estándares de ácidos grasos y los monómeros hidrolizados de scl-mcl-PHA. La determinación de las fracciones monoméricas del scl-mcl-PHA sintetizado con la fracción de alcoholes céreos de Hw sin ácido acrílico (OH SA), obtuvo una incorporación de mcm de 1.7 % mol en relación a la fracción de 3HB (% mol de 98.3).

Al cuantificar los monómeros del scl-mcl-PHA, sintetizados con la fracción de alcoholes céreos de Hw y ácido acrílico (OH CA), se observó una incorporación del 2.55 % mol correspondiente a 3HV, 0.70 % mol de 3HO y 0.34 % mol de 3HD en relación al 3HB (96.34 % mol). Estos resultados sugieren que la β-oxidación de las fracciones céreos de Hw se lleva a cabo de manera selectiva, favoreciendo la asimilación mayoritaria de componentes céreos de menor tamaño.

El bajo % mol de mcm fue atribuido a la acumulación previa de PHB, la cual desacelera la asimilación de la fracción de alcoholes céreos de Hw suministrada en el medio de cultivo, acumulando lentamente en forma de scl-mcl-PHA (Lee *et al*, 2008). Este efecto fue reportado por Khanna y Sirvastava, (2007), quienes observaron que al añadir ácido valérico a un medio de cultivo fresco, durante la síntesis de P(HB-co-HV) con glucosa, una gran cantidad intracelular de PHB acumulado, produjo un efecto de desaceleración metabólica, determinado por la mala asimilación del ácido valérico y bajo % mol de 3HV en el copolímero.

Al comparar el % mol de mcm, a partir de las fracciones de alcoholes céreos de Hw asimiladas por *C. necator*, se puede deducir que el ácido acrílico interrumpe la actividad de las enzimas enoil-CoA hidratasa y 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, impidiendo a su vez el catabolismo de precursores hasta acetyl-CoA. Riedel *et al*, (2014), mencionaron que la inhibición química de la β-oxidación en una cepa de *R. eutropha* H16 por adición de ácido acrílico produjo co-polímeros de poli(hidroxi-butirato-co-hidroxi-hexanoato) [P(HB-co-HHx)] al usar octanoato de sodio como única fuente de carbono. Dicho fenómeno fue observado en el experimento en el scl-mcl-PHA obtenido a partir de la fracción de alcoholes céreos de Hw en presencia de ácido acrílico (Tabla 2).

Los scl-mcl-PHA sintetizados a partir de la fracción de ácidos grasos de Hw sin ácido acrílico (AG SA), presentaron una composición porcentual de 97 % mol de 3HB en conjunto con un 3 % mol de 3HD.

La determinación de los monómeros del scl-mcl-PHA sintetizado con ácidos grasos de Hw y ácido acrílico (AG CA) mostró la presencia de 3HB (95.9 % mol), 3HO (3.0 % mol) y 3HD (1.1 % mol). La concentración de mcm fue similar a la reportada por Rathinasabapathy *et al*, (2013); quienes sintetizaron un scl-mcl-PHA a partir de *C. necator* alimentada con fructosa y aceite de canola en una fermentación por lote alimentado de 3 etapas, obteniendo una composición monomérica del 99.81 % mol correspondiente a 3HB, 0.06 % mol de 3HV, 0.09 % mol de 3HHx, 0.04 % mol de 3HO. El scl-mcl-PHA sintetizado a partir de la fracción de AG SA presentó un 3.0 % correspondiente a 3HDD (superior al obtenido en el polímero sintetizado a partir de la misma fuente de carbono en presencia de ácido acrílico).

Este resultado confirmó que la ausencia de ácido acrílico favorece la asimilación intracelular de precursores de mcm; sin embargo, su presencia en el medio de cultivo, inhibe la β -oxidación ácidos grasos de Hw, generando una baja incorporación del % mol de fracciones de mcm en el scl-mcl-PHA resultante.

Dicho comportamiento fue descrito por Guzik *et al*, (2014), quienes al comparar la composición monomérica de mcl-PHA obtenidos a partir de una cepa de *P. putida* KT2440 (nativa), y cuatro cepas de *P. putida* KT2440 con inserción inactiva de las enzimas acil-CoA deshidrogenasas (insPP_1893, nsPP_2039, nsPP_2039 y insPP_2437), observaron que la composición monomérica de los polímeros producidos por las cuatro cepas mutantes, difirió en menos del 5 % con respecto al mcl-PHA sintetizado por la cepa nativa de *P. putida* KT2440, además de presentar un patrón de reducción de crecimiento y consecuente acumulación de PHA cuando se alimentaban ácidos grasos con longitud de cadena carbonada de 10 a 14 C.

Impallomeni *et al*, (2013), reportaron al sintetizar un mcl-PHA (con 32 % mol de 3HD) a partir de *Pseudomonas aeruginosa* alimentada con aceite de *Brassica carinata* como fuente de carbono, (la cual contenía como componente mayoritario ácido cis-13-docosenoico, $C_{22}H_{42}O_2$), que el % mol de mcm incorporados en un mcl-PHA puede ser atribuido a la complejidad de la fuente de carbono utilizada. Al comparar los cuatro tratamientos de síntesis de scl-mcl-PHA a partir de las fracciones de Hw, se pudo apreciar que el ácido acrílico favorece la incorporación de mcm en conjunto a 3HB (Tabla 2), promoviendo un aumento del % mol de 3HO, 3HD y 3HDD, reportados en diferentes trabajos de síntesis de mcl-PHA a partir de aceites (López-Cuellar *et al*, 2011; Impallomeni *et al*, 2013; Rathinasabapathy *et al*, 2013).

Este comportamiento sugiere además que las fracciones ceras de Hw en presencia de ácido acrílico conforman un mayor % mol de monómeros de mcl-PHA intracelular antes de ser degradados a acetyl-CoA por efecto de la β -oxidación (Jiang *et al*, 2010).

El ácido acrílico es un inhibidor de la enzima β -cetotilasa, lo cual genera desviación de intermediarios en la β -oxidación a PHA (Riedel *et al*, 2014). Esto conforma que *C. necator*, al ser incapaz de catabolizar las fracciones de Hw por inhibición de la β -oxidación, acumuló los ácidos grasos de menor tamaño de las fracciones de Hw como mcm en el scl-mcl-PHA.

Caracterización térmica de scl-mcl-PHA sintetizados con fracciones de Hw.

En el Gráfico 1 se muestra el DSC de los scl-mcl-PHA sintetizados a partir fracciones de Hw en presencia y ausencia de ácido acrílico, usando como referencia PHB (T_m de 173.38 °C). El termograma correspondiente a OH SA presentó dos valores de T_m (70.19 y 77.35 °C). El resultado de T_g obtenido en este experimento (Tabla 3), es reportado para mcl-PHA con propiedades elastoméricas (Impallomeni *et al*, 2013). Los valores de T_m y ΔH_m (Tabla 3), fueron similares a los obtenidos por López-Cuellar *et al*, (2011) para un mcl-PHA con monómeros de 3HV, 3HO y 3HDD. La T_m sugirió la reducción de recristalización de monómeros de PHB dispersos debido a la incorporación del 4.6 % mol de 3HDD (López-Cuellar *et al*, 2011).

El termograma del scl-mcl-PHA sintetizado a partir de OH CA, nuevamente presentó una señal doble de T_m (Gráfico 1), atribuida a la recristalización de fracciones microcristalinas de PHB (López-Cuellar *et al*, 2011). La T_g y ΔH_m , fueron similares a las reportadas por Impallomeni *et al*, (2011) (Tabla 3); para un mcl-PHA como monómeros de 3HHx, 3HO, 3HD, 3HDD y 3-hidroxitetradecanoato (3HTD) sintetizado a partir de *P. putida* alimentada con ácido erúico (ácido cis-13-docosenoico, $C_{22}H_{42}O_2$) y nervónico (ácido cis-15-tetradecosenoico, $C_{24}H_{46}O_2$).

La incorporación de monómeros de 3HB, 3HHx, 3HO y 3HD (en una composición de 47.12 % mol, 3.62 % mol, 21.11 % mol, y 28.14 %, respectivamente), disminuyó la T_m del scl-mcl-PHA sintetizado con OH CA con respecto al PHB (Khanna y Srivastava, 2007).

Los valores de ΔH_c en ambos scl-mcl-PHA sintetizados con OH SA y OH CA fueron diferentes, relacionándose al aumento del % mol de mcm incorporados en la estructura del scl-mcl-PHA (asistido con ácido acrílico) y la interacción de sus enlaces intermoleculares (Impallomeni *et al*, 2011). Los resultados de T_m y ΔH_m obtenidos durante el barrido térmico del scl-mcl-PHA sintetizado con AG SA, se muestran en la Tabla 3. La disminución de dichos valores con respecto a otros estudios sugiere la presencia de un mayor porcentaje de mcm. Al realizar el enfriamiento del scl-mcl-PHA, ocurrió una secuencia de transición exotérmica a 126.17 °C con una ΔH_c de 6.14 J g^{-1} . Este comportamiento fue descrito por Impallomeni *et al*, (2011) quienes lo relacionan con la capacidad de algunos polímeros para recristalizar en función al % mol de mcm y los grupos funcionales presentes en las cadenas laterales, de mcl-PHA. Los valores de T_m (74.92 y 80.92 °C) y ΔH_m (12.36 J g^{-1}) obtenidos durante la caracterización térmica del scl-mcl-PHA sintetizado con AG CA (Tabla 3), confirmaron la presencia de mcm, debido a que los mcm influyen directamente en la disminución de la T_m de mcl-PHA (Impallomeni *et al*, 2011). Un ejemplo de este fenómeno fue descrito por Liu *et al*, (2011); quienes alimentaron un cultivo con ácido decanoico, dodecanoico y tetradecanoico para la obtención de un mcl-PHA con monómeros de PHD a partir de *P. KTQQ20* con inhibición de la β -oxidación.

El polímero resultante presentó una composición de P(16 % mol 3HD-co-84 % mol 3HDD) con una T_m de 78 °C y un ΔH_m de 41 J g^{-1} , atribuidos a la presencia de monómeros de 3HD y 3HDD.

4. Agradecimientos

Este proyecto se realizó gracias al financiamiento con clave 373182 CONACYT.

5. Conclusiones

La caracterización térmica de las muestras de scl-mcl-PHA sintetizados a partir de las fracciones de Hw, mostró evidencia de incorporación de mcm en la estructura química de los scl-mcl-PHA, dando como resultado una disminución en los valores de T_m y T_g obtenidos durante el barrido térmico de las muestras con respecto al PHB. Al comparar las T_c obtenidas por los scl-mcl-PHA sintetizados en presencia de ácido acrílico, se confirmó la incorporación de una mayor cantidad de mcm durante el proceso de síntesis de scl-mcl-PHA. Estos resultados sugirieron que el ácido acrílico, favoreció la asimilación de los componentes cerosos de Hw, con lo cual *C. necator* aumentó el % mol de mcm como consecuencia del efecto inhibitorio de la \square -oxidación.

6. Referencias

Barbosa B., Hernández A.E., Romero D.M., Sarmiento N.M. (2004). Producción de Poli- \square -hidroxibutirato (PHB) por *Ralstonia eutropha* ATCC 17697. *UnivSci.* 10, 45-54.

Budde C.F., Riedel S.L., Hübner F., Risch S., Popović M.K., Rha C.K., Sinskey A.J. (2011). Growth and polyhydroxybutyrate production by *Ralstonia eutropha* in emulsified plant oil medium. *Appl Microbiol Biotechnol.* doi:10.1007/s00253-011-3102-0.

Chakraborty P., Muthukumarappanand K., Gibbons W.R. (2012). Research Article PHA Productivity and Yield of *Ralstonia eutropha* When Intermittently or Continuously Fed a Mixture of Short Chain Fatty Acids. *J Biomed Biotechnol.* Article ID 506153.

Impallomeni G., Ballistreri A., Carnemolla G.M., Guglielmino S.P., Nicolò M.S., Cambria M.G. (2011). Synthesis and characterization of poly(3-hydroxyalkanoates) from *Brassica carinata* oil with high content of erucic acid and from very long chain fatty acids. *Int J Biol Macromol.* 48, 137-145.

Insomphun C., Mifune J., Orita I., Numata K., Nakamura S., Fukui T. (2013). Modification of \square -oxidation pathway in *Ralstonia eutropha* for production of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) from soybean oil. *J. Biosci. Bioeng.* XX: 1-7.

Jiang X. (2010). Process development for the production and separation of medium-chain-length Poly(3-hydroxyalkanoates) by *Pseudomonas putida* KT2440. PhD Thesis Queen's University, Kingston, Ontario, Canada.

Khanna S., Srivastava A.K. (2007). SHORT COMMUNICATION. Production of poly(3-hydroxybutyric-co-3-hydroxyvaleric acid) having a high hydroxyvalerate content with valeric acid feeding. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 34: 457 - 461.

Liu Q., Luo G., Zhou X.R., Chen G.Q. (2011). Biosynthesis of Poly(3-hydroxydecanoate) and 3-hydroxydodecanoate dominating polyhydroxyalkanoates by \square -oxidation pathway inhibited *Pseudomonas putida*. *Metab Eng.* 13, 11-17.

López-Cuellar M.R., Alba-Flores J., Gracida Rodríguez J.N., Pérez-Guevara F. (2011). Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) with canola oil as carbon source. *Int J Biol Macromol.* 48: 74-80.

Maia M, Nunes FM. (2013). Authentication of beeswax (*Apis mellifera*) by high-temperature gas chromatography and chemometric analysis. *Food Chem.* 136:961-968.

Guzik M.W., Narancic T., Ilic-Tomic T., Vojnovic S., Kenny S.T., Casey W.T. Duane G.F., Casey E., Woods T., Babu R.P., Nikodinovic-Runic J., O'Connor K.E. (2010). Identification and characterization of an acyl-CoA dehydrogenase from *Pseudomonas putida* KT2440 that shows preference towards medium to long chain length fatty acids. *Microbiology.* 160: 1760–1771.

Nurbas M. and Kutsal T. (2004). Production of PHB and P(HB-co-HV) Biopolymers by using *Alcaligenes Eutrophus*. *Iran Polym J.* 13, 45-51.

Rathinasabapathy A., Ramsay B.A., Ramsay J.A., Pérez-Guevara F. (2013). A feeding strategy for incorporation of canola derived medium-chain-length monomers into the PHA produced by wild-type *Cupriavidus necator*. *World J Microbiol Biotechnol.* DOI:10.1007/s11274-013-1563-2.

Riedel, S.L., Jingnan L., Ulf S., Christopher J.B. (2014). Lipid and fatty acid metabolism in *Ralstonia eutropha*: relevance for the biotechnological production of value-added products. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 98 (4):1469–1483.

Shang L., Yim S.C., Park H.G., Chang H.N. (2004). Sequential Feeding of Glucose and Valerate in a Fed-Batch Culture of *Ralstonia eutropha* for Production of Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) with High 3-hydroxyvalerate Fraction. *Biotechnol Prog.* 20:140-144.

Influencia del método de obtención del extracto de perfolia de maíz en la biosíntesis de nanoestructuras de AgCl/Ag y fitotoxicidad en plántulas de *Latuca sativa* L. var. *longifolia*

YÁÑEZ-CRUZ, Maria Guadalupe†, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela*, ÁLVAREZ-GARCÍA, Rocío, FLORES-GONZÁLEZ, Marco Antonio, TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, CADENA-RAMÍREZ, Arturo y HERNÁNDEZ-PÉREZ, María de los Ángeles

Recibido 30 de Julio, 2017; Aceptado 29 de Agosto, 2017

Resumen

En la obtención de nanopartículas (NPs) por métodos verdes, los extractos de plantas han demostrado tener la capacidad de fungir como agentes reductores de varios iones debido a los metabolitos presentes en ellas. Las NPs a base de plata tienen mayores aplicaciones en la industria dadas sus propiedades antimicrobianas, lo que ha propiciado una rápida proliferación de éstas en el ambiente siendo necesario evaluar su impacto ya que las características fisicoquímicas de las NPs, dictadas en parte por su método de obtención, tienen estrecha relación con su actividad biológica y comportamiento en el medio. En este trabajo se estudió la influencia del método de obtención del extracto y el volumen del mismo, en la obtención de NPs de AgCl/Ag estables y dispersas, así como la evaluación de su toxicidad en *L. sativa*. Los resultados dieron a conocer que la manera en la que se extraen los metabolitos influye directamente en la capacidad de estabilización de las NPs. La adición de las mismas inhibió la germinación de semillas y completa formación de estructuras esenciales que les permitirá crecer y desarrollarse, tal efecto se atribuyó a la absorción y distribución de partículas en diferentes tejidos de la plántula.

Biosíntesis, Nanopartículas, Lactuca sativa, Ensayos in vitro

Abstract

In obtaining nanoparticles (NPs) by green methods, plant extracts have been shown to have the ability to function as reducing agents of various ions due to the metabolites present in them. The silver based NPs have greater applications in the industry due to their antimicrobial properties, which has led to a rapid proliferation of these in the environment, being necessary to evaluate their impact since the physicochemical characteristics of NPs, dictated in part by their method of obtaining, are closely related to their biological activity and behavior in the environment. In this work the influence of the extraction method and the volume of the extract was studied, in the production of stable and dispersed AgCl/Ag NPs, as well as the evaluation of its toxicity in *L. sativa*. The results showed that the way in which the metabolites are extracted directly influences the stabilization capacity of NPs. The addition of the same inhibited the germination of seeds and complete formation of essential structures that will allow them to grow and develop, such effect was attributed to the absorption and distribution of particles in different tissues of the seedling.

Biosynthesis, Extract, nanoparticles, Lactuca sativa, In vitro assays

Citación: YÁÑEZ-CRUZ, Maria Guadalupe†, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela*, ÁLVAREZ-GARCÍA, Rocío, FLORES-GONZÁLEZ, Marco Antonio, TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, CADENA-RAMÍREZ, Arturo y HERNÁNDEZ-PÉREZ, María de los Ángeles. Influencia del método de obtención del extracto de perfolia de maíz en la biosíntesis de nanoestructuras de AgCl/Ag y fitotoxicidad en plántulas de *Latuca sativa* L. var. *longifolia*. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología. 2017, 1-1: 20-25

* Correspondencia al autor (email: villanueva@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor

Introducción

Las nanopartículas (NPs) a base de plata (Ag) son ampliamente requeridas debido a sus propiedades antimicrobianas (Silambarasan & Abraham, 2013), y sus métodos de obtención van desde los físicos hasta los químicos. En la agricultura se está investigando su uso en la conservación de frutos y para el control de plagas de insectos o como fungicida (Sekhon, 2014), dando lugar al contacto con cultivos de importancia, por lo que es vital estudiar su efecto sobre éstos. Un método alternativo de obtención de este tipo de partículas es la biosíntesis, donde el uso de extractos de plantas puede ser ventajoso sobre otros procesos biológicos que involucran el mantenimiento de cultivos celulares; no obstante, debido a la naturaleza compleja y vasta de los metabolitos presentes, es difícil identificar un único compuesto responsable de la formación de NPs. La interacción de biomoléculas tales como terpenos, ácidos orgánicos, quinonas, flavonoides, polisacáridos, proteínas y alcaloides da lugar al proceso de reducción de iones metálicos y estabilización de las NPs, donde se ha reportado que la disponibilidad de éstas es uno de los factores que interviene en la forma y tamaño de NPs obtenidas (Gan & Li, 2012). En este contexto, en el presente trabajo se estudió la formación de NPs mediante extractos de perfolia de maíz obtenidos por tres diferentes vías: infusión, decocción y molienda. Se eligió aquel que diera lugar a estructuras de tamaños nanométricos con las que se realizaron ensayos sobre su efecto en *L. sativa*, cultivo de importancia para la alimentación humana.

Metodología a desarrollar

Preparación de los extractos empleados en la biosíntesis de NPs

Para la obtención de los extractos se usaron hojas frescas (perfolia) de *Zea mays* que fueron adquiridas en un mercado local. Además del extracto crudo preparado como se indica en (Villanueva *et al.*, 2015), se prepararon extractos por infusión y decocción de las hojas donde el tiempo de reposo y cocción para ambos fue de 10 minutos. Todos los extractos obtenidos fueron filtrados con membrana de 0.45 μm y se almacenaron hasta su uso a 4°C.

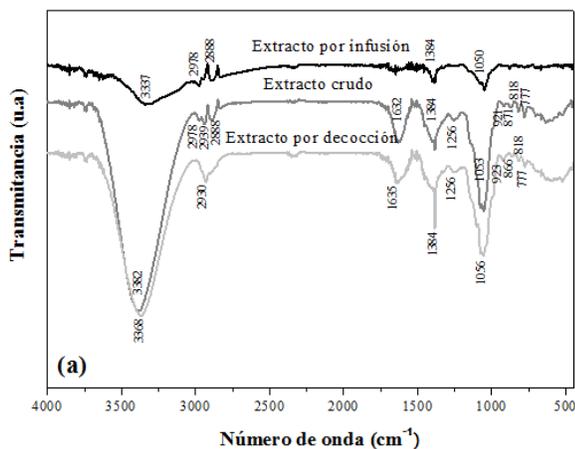
Biosíntesis de AgCl/Ag NPs

Se partió del protocolo establecido por Villanueva *et al.* (2015), donde la sal precursora utilizada fue nitrato de plata (AgNO_3) adquirida de *Sigma-Aldrich* y como disolvente se utilizó agua desionizada. La síntesis se efectuó al poner en contacto un volumen determinado de una solución de AgNO_3 con 5 mL de cada uno de los extractos preparados en 3 diferentes viales; el volumen final se ajustó con agua desionizada hasta obtener una concentración final de 2 mM de AgNO_3 en el medio. Los viales se mantuvieron bajo agitación constante a 25 °C, tomando muestras en intervalos de media hora durante 4h para dar seguimiento a la formación de NPs. Luego de realizar la caracterización de las NPs obtenidas se eligió el extracto que dio lugar a estructuras de menor tamaño, seguido del estudio del efecto de la variación de su volumen en la obtención de las NPs, empleando 1, 3, 5, 8 y 12 mL. Concluidas 4h de síntesis se recuperaron las partículas centrifugando a 8000 rpm durante 15 min y con lavados por triplicado al precipitado. Los precipitados se redispersaron en agua desionizada al volumen inicial para los posteriores experimentos.

Caracterización de los extractos y las AgCl/Ag NPs biosintetizadas.

Los extractos se caracterizaron cualitativamente mediante marcha fotoquímica para conocer el tipo de metabolitos presentes. La banda de absorción UV-Vis característica de las NPs de interés se identificó mediante la adquisición de los espectros correspondientes durante el transcurso de la síntesis en un espectrofotómetro Cole Parmer 2800. Se analizaron los tres diferentes extractos mediante espectroscopia FT-IR antes y después de realizada la síntesis con un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo System 2000, para la identificación de grupos funcionales presentes. El tamaño de partícula en suspensión se determinó empleando un analizador Nanotrak Wave. La morfología y la composición elemental de las partículas se observó mediante un microscopio marca JEOL JSM6701F equipado con un Espectrómetro de Energías Dispersivas de rayos X. La naturaleza cristalina del material se corroboró mediante un difractorómetro Bruker-D8 ($\text{CuK}\alpha=1.5406 \text{ \AA}$). Finalmente, la determinación de la concentración de Ag se realizó en un equipo de absorción atómica modelo Agilent 240FS AA.

Evaluación in vitro del efecto de las NPs biosintetizadas sobre la germinación de *L. sativa*.



Se emplearon semillas de *L. sativa* adquiridas con *Hydro Enviroment*, con un porcentaje de germinación conocido. Los ensayos se llevaron a cabo mediante los protocolos establecidos en las normas ISTA (2010), empleando soluciones *stock* de las NPs preparadas mediante el extracto crudo y por infusión, con las que se realizaron diluciones logarítmicas para establecer los efectos sobre la germinación de las semillas. Los resultados fueron analizados mediante la prueba de Tukey, empleando el programa NCSS (Windows Vista, Versión 0.7.1.17, Kaysvillve, Utah), reportando diferencias estadísticamente significativas respecto al control cuando $p < 0.001$.

Resultados

En la Figura 1 (a), se muestran los espectros FT-IR de los extractos analizados. Los picos de absorción alrededor de 3382, 3368, 3337, 1384 y 1256 cm^{-1} corresponden a vibraciones de estiramiento de alcoholes, las bandas a 2978, 2939, 2930 y 2888 cm^{-1} pertenecen a vibraciones de estiramiento de alcanos, las bandas a 1635 y 1632 cm^{-1} son características de vibraciones de estiramiento de alquenos, las vibraciones de estiramiento de alcoholes primarios se presentaron a 1056, 1053 y 1050 cm^{-1} , mientras que los picos a 923, 921, 871, 866, 818 y 777 cm^{-1} pertenecen a las vibraciones de flexión de alcanos. Estas bandas características presentes en los tres extractos hacen suponer principalmente la presencia de carbohidratos.

Las pruebas fitoquímicas dieron resultados positivos solamente para carbohidratos y azúcares reductores, lo que coincide con lo observado por espectroscopia FT-IR y lo reportado en la literatura acerca de la composición química del extracto, que consiste en celulosa, hemicelulosa y lignina (Gan & Li, 2012), los cuales pueden actuar en la reducción de los iones Ag y estabilización de las NPs.

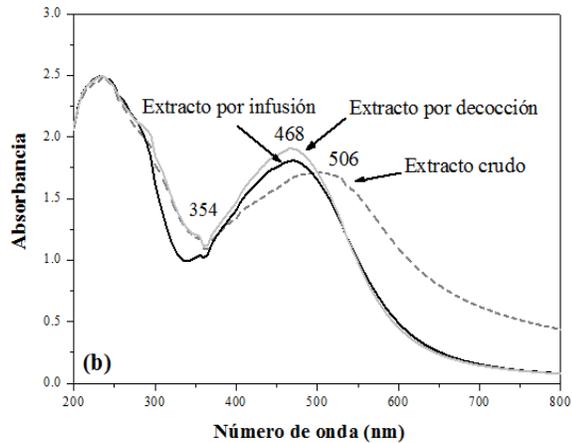


Fig. 1. (a) Espectros FT-IR de los extractos acuosos de la perfolia de *Zea mays* obtenidos por infusión, decocción y molienda. **(b)** Espectros UV-Vis de la síntesis de AgCl/Ag NPs a partir de cada uno de los extractos.

Los resultados de la síntesis de NPs con los diferentes extractos se presentan en la figura 1 (b). Las bandas de absorción características de las NPs se observan a 354 nm para Ag, 468 y 506 nm que corresponden a AgCl, tal como se reporta en la literatura (Seungwook *et al.*, 2010; Karuppiyah & Rajmohan, 2013). El máximo de absorción para el extracto crudo mostró un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores, lo cual se puede deber a una aglomeración de las partículas (Karuppiyah & Rajmohan, 2013), este efecto se corroboró con los análisis por granulometría, donde se obtuvo una sola distribución y menor tamaño de partícula (204 nm) en el extracto por infusión, en comparación con el extracto crudo (687 nm) y el obtenido por decocción (bimodal) 72 y 486 nm; a partir de estos resultados se eligió el extracto obtenido por infusión para las posteriores pruebas en *L. sativa*.

Los espectros UV-Vis presentados en la figura 2 (a) corresponden a la variación del volumen de extracto añadido en la síntesis. El máximo de absorción, característico a la resonancia del plasmón superficial de las Ag y AgCl NPs a 354 y 443 nm respectivamente, se desplaza hacia longitudes de onda mayores (480 nm) conforme aumenta el volumen de extracto. La literatura reporta que este efecto se atribuye al aumento y coexistencia de ambas partículas (Sahayaraj *et al.*, 2012) así como a un probable incremento en la viscosidad del sistema o baja concentración de metabolitos encargados de la estabilización, ya que por debajo o sobre los 3 mL de extracto, la moda obtenida es de 486 nm.

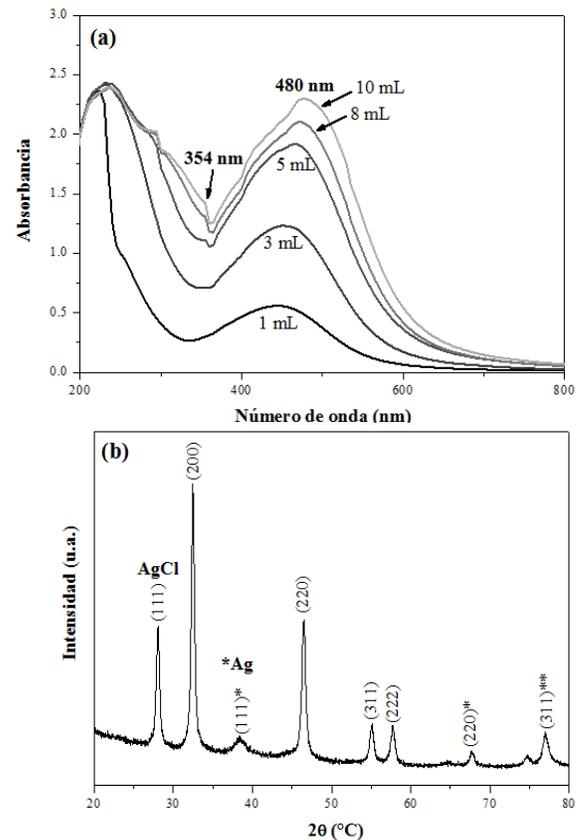


Fig. 2. (a) Espectros UV-Vis de la síntesis de NPs de AgCl/Ag a partir de 1-10 mL del extracto obtenido por infusión. **(b)** Difracción de rayos X, que corrobora la composición y estructura cristalina de las NPs sintetizadas.

Mediante el análisis de difracción de rayos X se corroboró la coexistencia y cristalinidad de ambas partículas (figura 2b).

Las micrografías (figuras 3a y 3b), muestran aglomerados de NPs de morfología semi-esférica, con tamaños de 144 nm, conformados por partículas más pequeñas de alrededor de 30-50 nm. El análisis estadístico realizado para observar efecto en plántulas de *L. sativa* (figura 3b) a 7 días de germinación, mostró que a partir de 1.3 mg/L de NPs adicionadas se tiene un efecto adverso sobre sus características fisiológicas, en comparación con el control, impidiendo su posterior desarrollo y crecimiento.

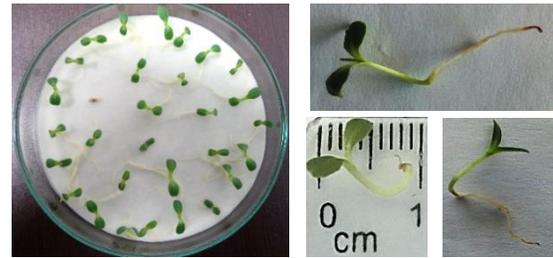
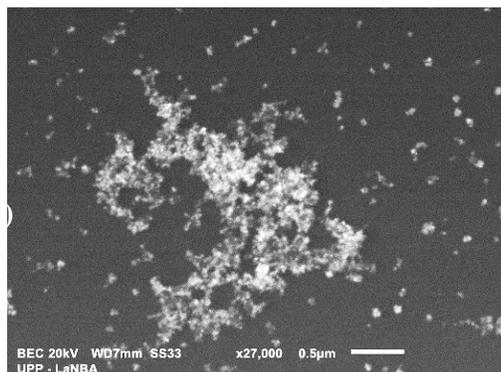
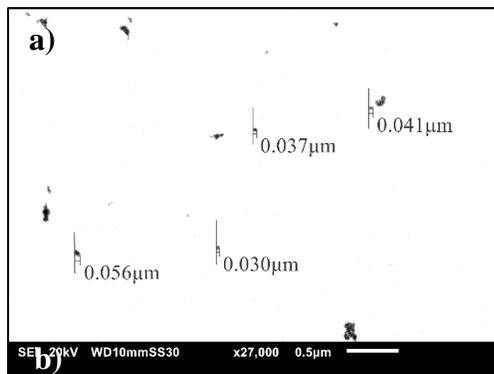


Figura 3. a) y b) Micrografías de NPs a partir de 3 mL del extracto por infusión, c) Plántulas de *L. sativa* a los 7 días de germinación (Las plántulas de la izquierda en la caja Petri: 0 mg/L, a la derecha las plántulas por separado: 130 mg/L).

Conclusiones

El método por infusión para la extracción de metabolitos de la perfolia de *Zea mays*, permitió obtener partículas estables y dispersas, donde los carbohidratos y azúcares reductores son los principales responsables de dicho proceso. A partir de 3 mL del extracto, fue posible sintetizar AgCl/Ag NPs con tamaños de partícula de 30-50 nm, siendo 1.3 mg/L la concentración que ocasiona un decremento significativo en la elongación de radícula, hipocótilo y contenido de biomasa respecto al control.

Agradecimiento

Los autores agradecen a CONACYT por la beca de MGYC (No. 332012) para realizar estudios de posgrado, al M.M. Roel González Montes de Oca (LaNBA-UPP) por las observaciones realizadas en MEB.

Referencias

- Silambarasan, S., & Abraham, J. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticles. *African Journal of Biotechnology*, 12(21), 3088-3098.
- Sekhon, B. S. (2014). Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnology, Science and Applications*, 7, 31-53.

Gan, P.P. & Li, S.F.Y. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Environmental Science Biotechnology*, 11(2), 169-206.

Prado Martínez, M., Anzaldo Hernández, J., Becerra Aguilar, B., Palacios Juárez, H., Vargas Radillo, J., & Rentería Urquiza, M. (2012). Caracterización de hojas de mazorca de maíz y de bagazo de caña para la elaboración de una pulpa celulósica mixta. *Madera Bosques*, 18(3), 37-51.

Villanueva Ibáñez, M., Yañez Cruz, M.G., Álvarez García, R., Hernández Pérez, M., & Flores González, M. (2015). Aqueous corn husk extract – mediated green synthesis of AgCl and Ag nanoparticles. *Materials Letters*, 152, 166-169 International Rules for Seed Testing (ISTA). (2010). Published by the International Seed Testing Association. Zürichstr. 50-83.

Seungwook, K., Haegeun, C., Jong, H., Ho, G., & Woong, K. (2010). Facile Synthesis of Silver Chloride Nanocubes and Their Derivatives. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 31(10), 2918-2922.

Karuppiah, M., & Rajmohan, R. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using *Ixora coccinea* leaves extract. *Materials Letters*, 97, 141-143.

Sahayaraj, K., Rajesh, S., & Rathi, J. (2012). Silver nanoparticles biosynthesis using marine alga *padina pavonica* (Linn.) and its microbicidal activity. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(4), 1557-1567

Obtención de extractos celulolíticos a partir de *Pleurotus ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático

TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl*†, TELLEZ-JURADO, Alejandro, LÓPEZ-MEDINA, Emma Nallely, FAVELA-TORRES, Ernesto y HERNÁNDEZ-ALDANA, Ithzmalzin

Recibido 3 de Julio, 2017; Aceptado 19 de Agosto, 2017

Resumen

El lirio acuático se considera una plaga ya que reduce la cantidad de oxígeno disuelto e impide el paso de luz evitando el crecimiento de la flora y fauna acuática, sirve como nicho para la reproducción de mosquitos los cuales son vectores de enfermedades. Las alternativas de solución a dichos problemas van desde la erradicación hasta el control y manejo, sin embargo, los altos costos ocasionan que no se aplique de forma permanente. Una opción es el aprovechamiento de la biomasa del lirio cuya composición química incluye lignina (3%), celulosa (18%) y hemicelulosa (40-55%), la cual pueden ser utilizada para obtener productos de valor agregado como las enzimas, en este sentido, las enzimas celulolíticas de los hongos como *Pleurotus ostreatus* son las más importantes desde el punto de vista industrial, debido a que su actividad es mayor que la de las obtenidas de levaduras y bacterias. Por lo antes mencionado, el objetivo del trabajo fue obtener un extracto celulolítico a partir de *P. ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático (hoja y bulbo) por medio de fermentación en medio sólido. Se encontró que la mayor actividad celulolítica para hoja y bulbo se presenta al cabo de 12 h de incubación.

Lirio acuático, *Pleurotus ostreatus*, actividad celulolítica

Abstract

The water hyacinth is considered a pest species because it reduces the amount of dissolved oxygen and prevents the passage of light avoiding the growth of aquatic flora and fauna, serves as a niche for the reproduction of mosquitoes, which are vectors of diseases. Alternative solutions to such problems range from eradication to control and management; however, high costs do not apply permanently. One option, is the use of water hyacinth biomass whose chemical composition includes lignin (3%), cellulose (18%) and hemicellulose (40-55%), which can be used to obtain value added products such as enzymes. In this sense, the cellulolytic enzymes of fungi like *Pleurotus ostreatus* are the most important from the industrial point of view, because their activity is greater than that obtained from yeasts and bacteria. The aim of the work was to obtain a cellulolytic extract from *P. ostreatus* using as substrate water hyacinth (leaf and bulb) by solid-state fermentation. It was found that the highest cellulolytic activity with leaf and bulb like substrate occurs after incubation for 12 h.

Water hyacinth, *Pleurotus ostreatus*, cellulolytic activity

Citación: TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl*†, TELLEZ-JURADO, Alejandro, LÓPEZ-MEDINA, Emma Nallely, FAVELA-TORRES, Ernesto & HERNÁNDEZ-ALDANA, Ithzmalzin. Obtención de extractos celulolíticos a partir de *Pleurotus ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático. Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología. 2017, 1-1: 26-34

* Correspondencia al autor (email: xtovar@upp.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor

Introducción

El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) es una planta libre flotadora perteneciente a la familia de las Pontederiaceae, proveniente de Brasil, a finales de 1800 fue introducida a América del Norte como una planta ornamental, en África a principios de 1900 y en Europa en 1930, ahora está naturalizada en más de 50 países de América Central, Asia, Australia y Nueva Zelanda. La presencia de lirio acuático se debe principalmente a las combinaciones de características biológicas únicas de la planta, al calentamiento global por el efecto invernadero y a los procesos acelerados de eutrofización (Yan, Song & Guo, 2017).

El lirio puede medir hasta 1 m de altura, está formada por hojas dispuestas en una roseta basal, pecíolos cortos/globosos cuando se trata de plantas jóvenes o largos/cilíndricos en el caso de plantas maduras; tiene raíces fibrosas y un tallo horizontal llamado rizoma o estolón que conecta varios individuos entre sí (Figura 1). Su productividad anual promedio es de 50 kg/m² (peso seco); un grupo de plantas de tamaño mediano puede contener hasta dos millones de individuos por ha, con un peso aproximado de 270 a 400 t. Por su abundancia en cuerpos de agua, además de su incontrolable y rápido crecimiento, el lirio ocasiona daños hacia actividades recreativas e industriales, así mismo genera problemas de salud humana y a los ecosistemas. Entre los efectos negativos más importantes pueden citarse la pérdida de agua de cuerpos de agua por transevaporación, la disminución de oxígeno disuelto, la alteración irreversible de ecosistemas, además de ser nichos para la reproducción de mosquitos vectores de enfermedades (Rezania, Ponraj, Din, Songip, Sairan & Chelliapan, 2015).

Se estima que en México existe alrededor de 40,000 ha con presencia de lirio, cubriendo desde 10 hasta 100 % del espejo de agua. El manejo de la planta representa problemas debido, a su alto contenido de humedad (~95 %), lo que encarece su transporte y disposición (Martínez & Gómez, 2007).

Existen tres estrategias para el manejo de la planta: 1) *extracción mecánica* la cual permite mantener limpios los cuerpos de agua, sin embargo, la extracción, transporte y disposición final encarecen el proceso por lo que esta estrategia no se aplica de forma permanente. En este sentido, dependiendo del interés socio-económico de cada cuerpo de agua, hay programas permanentes de extracción mecánica, un ejemplo de ello son los canales y presas destinadas a actividades recreativas, como Xochimilco o la Presa San Antonio de Huasca de Ocampo, Hgo., en donde la presencia de lirio representa un riesgo para los motores; 2) El *control biológico* con hongos filamentosos (*Cercospora piaropi* y *Acremonium zonatum*) y artrópodos (*Neochetina bruchi* y *N. eichhorniae*) ha dado buenos resultados en México y otros países; sin embargo, tanto por los costos del tratamiento como por el impacto de las condiciones climáticas (temperatura, lluvia, corrientes de agua y luminosidad) sobre la efectividad del tratamiento, este método no se aplica de forma permanente como método de control. 3) El uso de *herbicidas* como diquat, glifosato y ácido 2,4-dicloro fenoxiacético para el control de malezas; no obstante, su aplicación implica diversos grados de toxicidad para especies endémicas de peces y plantas, así como, para hortalizas y cultivos agrícolas. Aunque los herbicidas se utilizan en el mundo para el control de malezas, su uso es cada vez más restringido (Rezania et al., 2015; Martínez & Gómez, 2007).

A pesar de las numerosas propuestas para la erradicación y manejo del lirio, la excesiva presencia de la planta sigue afectando numerosos cuerpos de agua, canales y sistemas de drenaje, provocando problemas ecológicos, económicos y de salud. Por su naturaleza fibrosa y su alto contenido de agua, energía y proteína, el lirio puede usarse en una variedad de aplicaciones (Jongmeesuk, Sanguanchaipaiwong & Ochaikul, 2014).

Se ha determinado que la biomasa del lirio acuático es capaz de generar bio-productos, es decir, abono orgánico, bioles y biogás, mediante la implementación de biodigestores. También en algunos estudios se propone al lirio acuático como fitorremediador, captando metales pesados presentes en el agua, sin embargo, depende del grado de contaminación, la disponibilidad del metal para su absorción y la interacción de la planta con su hábitat (Rai, 2009).

En algunos lugares lo utilizan como alimento para animales y fertilizante orgánico (Tham, 2012). Por otra parte, la biomasa del lirio acuático puede ser empleada para obtener productos de valor agregado como por ejemplo enzimas a partir de microorganismos que utilizan como sustrato la celulosa, hemicelulosa y lignina, aprovechando la composición química de la pared celular del lirio (Jongmeesuk, Sanguanchaipaiwong & Ochaikul, 2014).

Particularmente, las celulasas como su nombre lo indica, son capaces de hidrolizar la celulosa, homopolímero compuesto por unidades de glucosa unidas mediante un enlace glicosídico β -1,4. Estas enzimas están clasificadas de acuerdo con su sitio de acción en el sustrato celulósico y se dividen en tres grandes grupos:

Endoglucanasas (EnG), exoglucanasas o también conocidas como celobiohidrolasas (ExG) y las β -glucosidasas (BG) que hidrolizan celobiosa y oligosacáridos solubles, siendo la glucosa el resultado final de la acción degradativa del complejo celulolítico sobre el polímero de celulosa (Gurgel, Marabezi, Ramos & Curvelo, 2012).

Por otra parte, los hongos son los principales microorganismos degradadores de los residuos lignocelulósicos, siendo los más rápidos y eficientes para esto, los basidiomicetos ya que tienen sistemas ligninolíticos, los cuales se dividen en tres grupos, con base en la pudrición que generan en la madera: hongos de podredumbre blanda, parda y blanca (Hatakka & Hammel, 2011; Elisashvili, Kachlishvili, Tsiklauri, Metreveli, Khadziani & Agatos, 2011).

En este sentido, *Pleurotus ostreatus* es un hongo saprofito o parásito débil que pertenece al grupo de podredumbre blanca, ya que degrada preferentemente a la lignina de las plantas, usando enzimas oxidativas extracelulares para romper este biopolímero altamente recalcitrante. *P. ostreatus* es capaz de producir un complejo enzimático hidrolítico en distintos residuos lignocelulósicos y bajo diferentes estrategias de cultivo. El micelio de *este basidiomiceto* puede crecer en una temperatura entre 0 y 35 °C, con un óptimo de 30 °C, y en un intervalo de pH entre 5.5 y 6.5. Se ha observado que después de cosechar los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, en los materiales usados como sustratos las cantidades finales de hemicelulosa, celulosa y lignina se han reducido en un 80 % sugiriendo que todos los materiales que contienen estos compuestos, pobres en nitrógeno pueden ser usados como como fuente de alimento para el hongo (Vaca, Izurieta & Espín, 2014; Sánchez, 2009).

Metodología a desarrollar

Aislamiento y crecimiento de *P. ostreatus*

P. ostreatus se aisló a partir del cuerpo fructífero de una seta, en placas petri con agar papa dextrosa (PDA y gentamicina (20 mg/2 mL) 50 µL de antibiótico /20 mL de medio de cultivo) para evitar el crecimiento de bacterias, se incubó por 7 días a $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Al cabo de este tiempo se observó microscópicamente.

Cinética de producción de actividad celulolítica de *P. ostreatus*

Se realizó una cinética de producción de actividad celulolítica de *P. ostreatus* a $26 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en medio líquido el cual estaba conformado de: glucosa (10.5 g/L), extracto de levadura (5.0 g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2.0 g/L), Na_2HPO_4 (0.5 g/L), MgSO_4 (0.5 g/L), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (0.3 g/L), FeSO_4 (0.02 g/L), ZnSO_4 (0.02 g/L), MnSO_4 (0.02 g/L), CuSO_4 (0.25 g/L) y gentamicina (125 µL). El cultivo se agitó a 150 r.p.m. y cada 12 h se tomó muestra para determinar la actividad celulolítica, esto con la finalidad de determinar el tiempo de incubación en el cual se presenta mayor actividad celulolítica.

Obtención del extracto crudo enzimático

El extracto crudo enzimático (ECE) se obtuvo a partir de un cultivo de *P. ostreatus* de 12 h, tomando en cuenta las condiciones establecidas en la cinética de producción de actividad celulolítica de dicho hongo, el cultivo líquido se centrifugó a 4000 rpm por 10 min y el sobrenadante se consideró como ECE-12h.

Fermentación en medio sólido de *P. ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático

Para llevar a cabo la fermentación en medio sólido (FMS), se pesaron 0.2 g de lirio acuático (hoja o bulbo) en tubos de ensaye y se ajustó el contenido de humedad al 70 %, para posteriormente esterilizar a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min y adicionar 0.5 mL de una solución de sales minerales [NaNO_3 (80 mg/L), MgSO_4 (0.02 g/L), K_2HPO_4 (0.5 g/L,) y KCl (10 mg/L)]. Con la finalidad de determinar que tipo de sustrato e inoculación permitía obtener mayor actividad celulolítica se inocularon con 1.2 mL del ECE-12 h 45 tubos de ensaye que contenían hoja y 45 tubos de ensaye que tenían bulbo. De igual forma, a 45 tubos de ensaye con hoja y 45 tubos de ensaye con bulbo, se les adicionó un fragmento de 1 cm^2 de micelio-agar de *P. ostreatus* de 7 días de crecimiento. Todos los tubos se incubaron a una temperatura de $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 días, cada 24 h se tomó una muestra para determinar la actividad celulolítica y proteína extracelular. Cabe mencionar que todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Determinación de la actividad celulolítica por el método del ácido 3-5, dinitrosalicílico

Se colocó en un tubo de ensayo 450 µL de carboximetilcelulosa (CMC) al 0.2 % como sustrato, previamente disuelto en buffer de acetatos (100 mM, pH 5.3), se adicionó 50 µL del ECE-12h e incubó a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 min. Transcurrido el tiempo, se añadió 750 µL de DNS y llevó a ebullición durante 10 min en baño María, seguido de un enfriamiento en baño de hielo, hasta leer su absorbancia a una longitud de onda de 640 nm. Se calculó la actividad enzimática restando el valor de la absorbancia obtenida de los azúcares reductores generados. Como blanco de la reacción se utilizó agua destilada que sustituye la CMC 0.2 % y se trató bajo las mismas condiciones.

A partir de una curva estandar utilizando glucosa como patrón, se determinó la cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol de celulosa por minuto bajo las condiciones de reacción y se expresaron los resultados en unidades de actividad (UA), (Dhillon, Kaur, Brar & Verma, 2012).

Determinación del contenido de proteína extracelular

A 300 μL de la muestra (ECE-12 o extracto micelio-agar) se adicionó 1 mL del reactivo C preparado al instante (A (NaOH 0.4 %; $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.16 %; Na_2CO_3 2 %; SDS 1 %) y B ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 4 %); [100:1 v/v]), se incubó 15 min a 25 °C para después adicionar 100 μL de Fenol Folin-Ciocalteu con agua (1:1 v/v), se incubó 30 min a 37 °C, y leyó la absorbancia a 660 nm, la concentración de proteína se calculó a partir de una curva patrón preparada con albúmina bovina sérica (BSA) en concentraciones de 0 a 120 $\mu\text{g/mL}$ (Lowry, Rosengrough, Farr & Randall, 1951; Peterson, 1977)

Resultados

Aislamiento y crecimiento de *P. ostreatus*

En la Figura 2 se muestran las imágenes de *Pleurotus ostreatus* luego de 7 días de cultivo a 25°C. Macroscópicamente el cultivo presentó esporas y desarrollo de micelio blanco algodónoso con abundante micelio aéreo y con formación de anillos desde el centro de la caja hacia su periferia. Así mismo, microscópicamente se observaron basidiosporas.

Cinética de producción de actividad celulolítica de *P. ostreatus*

En la Gráfico 1 se muestran los resultados de la cinética de producción de enzimas celulolíticas de *P. ostreatus*, donde se observa que a las 12 h el extracto enzimático presenta mayor actividad enzimática, por lo cual para la FMS se empleó un cultivo de 12 h de *P. ostreatus*.

Fermentación en medio sólido de *P. ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático

En la Gráfico 2 se muestran los resultados de la actividad celulolítica y de proteína extracelular del extracto enzimático obtenido a partir del cultivo de 12 h de *P. ostreatus*, donde se observa que la mayor producción de celulasas se obtiene a las 24 h (12.83 UA/gms para hoja (Gráfico 2a) y 9.92 UA/gms para bulbo (Gráfico 2b), así mismo, el máximo contenido de proteína extracelular se presenta en este tiempo.

En la Gráfico 3 se muestran los resultados de la actividad celulolítica y de proteína extracelular del extracto enzimático obtenido con micelio-agar de *P. ostreatus*. Donde se observa el mismo comportamiento que cuando se empleó un ECE-12 h de *P. ostreatus*, la mayor producción de enzimas fue a las 24 h, en hoja se obtuvo 9.15 UA/gms (Gráfico 3a) y 6.56 UA/gms en bulbo (Gráfico 3b). En cuanto al contenido de proteína extracelular, se obtiene la mayor cantidad al tiempo de 24 h de incubación.

En general, las enzimas xilanolíticas y celulolíticas se expresan simultáneamente durante la fermentación en fase sólida en sustratos agrícolas (Membrillo, Sánchez, Meneses, Favela & Loera, 2011), esto se debe a que el hongo causa modificaciones en la estructura de la lignocelulosa, lo cual estimula la liberación secuencial de enzimas extracelulares.

La degradación de la celulosa por hongos requiere de un complejo celulolítico de al menos tres enzimas que actúan en forma sinérgica: β -1,4 endoglucanasa, β -1,4 exoglucanasa y β -glucosidasa (Hatakka & Hammel, 2010; Elisashvili *et al.*, 2011; Sánchez, 2009). *P. ostreatus* es un hongo que degrada eficientemente la lignina y celulosa, ya que produce durante su crecimiento enzimas lignocelulolíticas. Por lo que, *P. ostreatus* es capaz de ocasionar cambios en la composición química del lirio acuático, reduciendo las fracciones fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, celulosa y hemicelulosa (Sun, Zhang & Zhang, 2004; Castro, De Aguiar-Paiva, Souza-Días & Dos-Santos, 2004; Fazaeli, Azizi, Jelan & Mirhadi, 2003; Villa-Cruz, Huerta-Palacios & Sánchez-Vázquez, 1999). Así mismo, la producción de enzimas celulolíticas puede variar dependiendo del microorganismo, el sustrato de crecimiento y de las condiciones de cultivo, así como del tiempo de incubación (Park, Kang, Lee, Hong & Kim, 2002; Nsereko, Morgavi, Rode, Beauchemin & McAllister, 2000). De igual forma, Benitez Moreno, Rincón & Codón (2006) mencionan que la expresión de los genes de enzimas hidrolíticas está controlada por la fuente de carbono, de modo que la transcripción se reprime en presencia de fuentes fácilmente asimilables. Además, Deshpande Nair & Khedkar (2000), indican que las condiciones del pretratamiento, pH, concentración y tipo de sustrato, tipo de inoculación y temperatura de incubación afectan la producción de enzimas celulolíticas, todo lo anterior coincide con los resultados obtenidos en este estudio, ya que se observó que la mayor actividad celulolítica producida por *P. ostreatus* se presenta al hidrolizar la hoja de lirio acuático con los dos tipos de inoculación evaluados, sin embargo, al emplear el cultivo de 12 h, permitió obtener mayor actividad enzimática en comparación a la inoculación con micelio-agar.

Deshpande, Bhotmange, Chakrabarti & Shastri (2008) concluyen que el lirio acuático debido a su biomasa lignocelulosa es un sustrato potencial para la producción de enzimas sacarificantes (celulolíticas y xilanolíticas) e indican que la máxima actividad celulolítica producida por *Trichoderma reesei* (QM 9414 mutant), al emplear como sustrato lirio acuático es de 1.2 UI/gms al cabo de 10 días de incubación. Por otra parte, el alto contenido de proteína extracelular indica la posibilidad de que el microorganismo no presentó problemas para asimilar los sustratos empleados, además refleja principalmente la concentración de enzima extracelular producida en el periodo, ya que es la proteína soluble presente después de la extracción, y no la proteína de la célula fúngica (Dhillon *et al.*, 2012).

Agradecimiento

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para desarrollar el proyecto denominado “Manejo sustentable de lirio acuático para el saneamiento y protección de cuerpos de agua” a través de la Convocatoria de Proyectos de Desarrollo Científico para atender Problemas Nacionales 2014.

Conclusiones

La cinética de crecimiento de *P. ostreatus*, mostró que el extracto enzimático producido a las 12 h presenta mayor actividad celulolítica. Y al emplear el cultivo de 12 h de *P. ostreatus* es posible obtener mayor actividad enzimática en comparación a la inoculación con micelio-agar. Así mismo, se obtiene mayor actividad enzimática al emplear como sustrato hoja de lirio acuático.

Referencias

- Benítez, T., Moreno, MMA., Rincón, AM., Codón, AC. (2006). Características de Levaduras y Hongos Filamentosos de Interés en Agroalimentación ¿Adaptación al Ambiente?. Boletín Informativo de la Sociedad Española de Microbiología, 41, 17-27.
- Castro, AL., De Aguiar-Paiva, PC., Souza-Días, E., Dos-Santos, J. (2004). Avaliação das alterações bromatológicas e degradabilidade do residuo de lixiviadora do algodón após tratamento biológico com *Pleurotus sajor-caju*. Ciência e Agrotecnologia, 28, 608-661.
- Deshpande, P., Sajitha, N., Shubhangi, K. (2000). Water hyacinth as carbon source for the production of cellulase by *Trichoderma reesei*. Applied Biochemistry Biotechnology, 158, 552-560.
- Deshpande, SK., Bhotmange, MG., Chakrabarti, T., Shastri, PN. (2008). Production of cellulase and xylanase by *Trichoderma reesei* (QM 9414 mutant), *Aspergillus niger* and mixed culture by solid state fermentation (SSF) of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). Indian Journal of Chemical Technology, 15, 449-456.
- Dhillon, GS., Kaur, S., Brar, SK., Verma, M. (2012). Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation. Industrial Crops and Products, 38, 6-13.
- Elisashvili, V., Kachlishvili, E., Tsiklauri, N., Metreveli, E., Khadziani, T., Agatos, N. (2011). Lignocellulose-degrading enzyme production by white-rot Basidiomycetes from the forests of Georgia. Microbiology Biotechnology, 25, 331-339.
- Fazaeli, H., Azizi, A., Jelan, ZA., Mirhadi, SA. (2003). Effect of fungal treatment on the chemical composition, in vitro digestibility and in sacco degradability of wheat straw. Proceedings of the British Society of Animal Science, 3, 166.
- Gurgel, AV., Marabezi, K., Ramos, LA., Curvelo, AA. (2012). Characterization of depolymerized residues from extremely low acid hydrolysis (ELA) of sugarcane bagasse cellulose: Effects of degree of polymerization, crystallinity and crystallite size on thermal decomposition. Industrial Crops and Products, 36, 560-571.
- Hatakka A., Hammel K.E. (2011). Fungal Biodegradation of Lignocelluloses. In: Hofrichter M. (eds) Industrial Applications. The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research), vol 10. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 319-335.
- Jongmeesuk, A., Sanguanchaipaiwong, V., Ochaikul, D. (2014). Pretreatment and enzymatic hydrolysis from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). KMITL Science Technology Journal, 14, 79-86.
- Lowry, OH., Rosengrough, NJ., Farr, AL., Randall, UL. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal Biology Chemistry, 193, 265-275.
- Martínez, M., Gómez, MM. (2007). Integrated control of *Eichhornia crassipes* by using insects and plant pathogens in México. Crop Protection, 26, 1234-1238.

Membrillo, M., Sánchez, C., Meneses, M., Favela, E., Loera, O. (2011). Particle geometry affects differentially substrate composition and enzyme profiles by *Pleurotus ostreatus* growing on sugar cane bagasse. *Bioresource Technology*, 102, 1581-1586.

Nsereko, VL., Morgavi, DP., Rode, LM., Beauchemin, KA., McAllister, TA. (2000). Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 88, 153-170.

Park, YS., Kang, SW., Lee, JS., Hong, SI., Kim, SW. (2002). Xylanase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* mutant using statistical experimental designs. *Applied Microbiology Biotechnology*, 58, 762-766.

Peterson, GL. (1977). A Simplification of the protein assay method of Lowry *et al.* Which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, 83, 346-356.

Rai, PK. (2009). Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39, 697-753.

Rezania, S., Ponraj, M., Din, MFM., Songip, AR., Sairan, FM., Chelliapan, S. (2015). The diverse applications of water hyacinth with main focus on sustainable energy and production for new era: an overview. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 41, 943-954.

Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27, 185-194.

Sun, X., Zhang, R., Zhang, Y. (2004). Production of lignocellulolytic enzymes by *Trametes gallica* and detection of polysaccharide hydrolase and laccase activities in polyacrylamida gels. *Journal Microbiology*, 44, 220-231.

Tham, HT. (2012). Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) – Biomass production, ensilability and feeding value to growing cattle. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. Mekong Delta, Vietnam. 24-28.

Vaca, M., Izurieta, B., Espín, N. (2014). Obtención de extractos enzimáticos con actividad celulolítica y ligninolítica a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* 404 y 2171 en rastrojo de maíz. *Revista Politécnica*, 33, 1-7.

Villa-Cruz, V., Huerta-Palacios, G., Sánchez-Vázquez, JE. (1999). Fermentation of a mixture of corn-cobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Micol. Neotrop. Appl*, 12, 67-74.

Yan, SH., Song, W., Guo JY. (2017) Advances in management and utilization of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in aquatic ecosystems—a review. *Critical reviews in biotechnology*, 37, 218-228.

Tham, HT. (2012). Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) – Biomass production, ensilability and feeding value to growing cattle. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. Mekong Delta, Vietnam. 24-28.

Vaca, M., Izurieta, B., Espín, N. (2014). Obtención de extractos enzimáticos con actividad celulolítica y ligninolítica a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* 404 y 2171 en rastrojo de maíz. *Revista Politécnica*, 33, 1-7.

Villa-Cruz, V., Huerta-Palacios, G., Sánchez-Vázquez, JE. (1999). Fermentation of a mixture of corn-cobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Micol. Neotrop. Appl*, 12, 67-74.

Yan, SH., Song, W., Guo JY. (2017) Advances in management and utilization of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in aquatic ecosystems—a review. *Critical reviews in biotechnology*, 37, 218-228.

Instrucciones para autores

[Título en Times New Roman y Negritas No.14]

Apellidos en Mayúsculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayúsculas -2do Nombre de Autor
Correo institucional en Times New Roman No.10 y Cursiva

(Indicar Fecha de Envío: Mes, Día, Año); Aceptado (Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

Resumen

Título

Objetivos, metodología

Contribución

(150-200 palabras)

Abstract

Title

Objectives, methodology

Contribution

(150-200 words)

Keywords

**Indicar (3-5) palabras clave en Times New Roman
y Negritas No.11**

Cita: Apellidos en Mayúsculas -1er Nombre de Autor †, Apellidos en Mayúsculas -2do Nombre de Autor. Título del Artículo.
Título de la Revista. 2017, 1-1: 1-11 – [Todo en Times New Roman No.10]

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Instrucciones para autores

Introducción

Texto redactado en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Explicación del tema en general y explicar porque es importante.

¿Cuál es su valor agregado respecto de las demás técnicas?

Enfocar claramente cada una de sus características

Explicar con claridad el problema a solucionar y la hipótesis central.

Explicación de las secciones del artículo

Desarrollo de Secciones y Apartados del Artículo con numeración subsecuente

[Título en Times New Roman No.12, espacio sencillo y Negrita]

Desarrollo de Artículos en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Inclusión de Gráficos, Figuras y Tablas-Editables

En el *contenido del artículo* todo gráfico, tabla y figura debe ser editable en formatos que permitan modificar tamaño, tipo y número de letra, a efectos de edición, estas deberán estar en alta calidad, no pixeladas y deben ser notables aun reduciendo la imagen a escala.

[Indicando el título en la parte inferior con Times New Roman No.10 y Negrita]

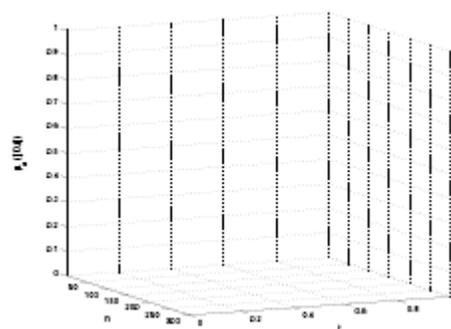


Grafico 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

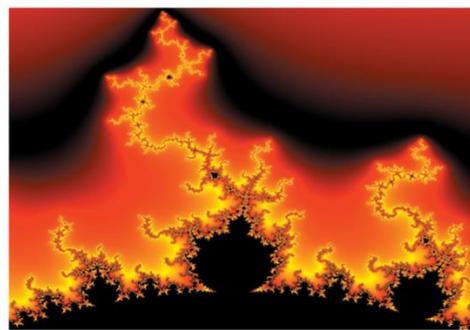


Figura 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberán ser imágenes- todo debe ser editable.

Tabla 1 Titulo y Fuente (en cursiva).

No deberan ser imágenes- todo debe ser editable.

Cada artículo deberá presentar de manera separada en **3 Carpetas**: a) Figuras, b) Gráficos y c) Tablas en formato .JPG, indicando el número en Negrita y el Título secuencial.

Instrucciones para autores

Para el uso de Ecuaciones, señalar de la siguiente forma:

$$Y_{ij} = \alpha + \sum_{h=1}^r \beta_h X_{hij} + u_j + e_{ij} \quad (1)$$

Deberán ser editables y con numeración alineada en el extremo derecho.

Metodología a desarrollar

Dar el significado de las variables en redacción lineal y es importante la comparación de los criterios usados

Resultados

Los resultados deberán ser por sección del artículo.

Anexos

Tablas y fuentes adecuadas.

Agradecimiento

Indicar si fueron financiados por alguna Institución, Universidad o Empresa.

Conclusiones

Explicar con claridad los resultados obtenidos y las posibilidades de mejora.

Referencias

Utilizar sistema APA. **No** deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del artículo.

Ficha Técnica

Cada artículo deberá presentar un documento Word (.docx):

Nombre de la Revista

Título del Artículo

Abstract

Keywords

Secciones del Artículo, por ejemplo:

1. *Introducción*
2. *Descripción del método*
3. *Análisis a partir de la regresión por curva de demanda*
4. *Resultados*
5. *Agradecimiento*
6. *Conclusiones*
7. *Referencias*

Nombre de Autor (es)

Correo Electrónico de Correspondencia al Autor

Referencias

Formato de Originalidad



Taipei-Taiwan a ____ de ____ del 20____

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables por lo que deberán firmar los autores antes de iniciar el proceso de revisión por pares con la reivindicación de ORIGINALIDAD de la siguiente Obra.

Artículo (Article):

Firma (Signature):

Nombre (Name)

Formato de Autorización



Taipei-Taiwan a ____ de ____ del 20 ____

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables. En caso de ser aceptado para su publicación, autorizo a ECORFAN- Taiwan a difundir mi trabajo en las redes electrónicas, reimpresiones, colecciones de artículos, antologías y cualquier otro medio utilizado por él para alcanzar un mayor auditorio.

I understand and accept that the results of evaluation are inappealable. If my article is accepted for publication, I authorize ECORFAN- Taiwan to reproduce it in electronic data bases, reprints, anthologies or any other media in order to reach a wider audience.

Artículo (Article):

Firma (Signature)

Nombre (Name)

Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnológica

“Obtención de extractos celulolíticos a partir de *Pleurotus ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático”

TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, TELLEZ-JURADO, Alejandro, LÓPEZ-MEDINA, Emma Nallely, FAVELA-TORRES, Ernesto y HERNÁNDEZ-ALDANA, Ithzmalzin

“Influencia del método de obtención del extracto de perfolia de maíz en la biosíntesis de nanoestructuras de AgCl/Ag y fitotoxicidad en plántulas de *Latuca sativa* L. var. Longifolia”

YAÑEZ-CRUZ, María Guadalupe, VILLANUEVA-IBÁÑEZ, Maricela, ÁLVAREZ-GARCÍA, Rocío, FLORES-GONZÁLEZ, Marco Antonio, TOVAR-JIMÉNEZ, Xochitl, CADENA-RAMÍREZ, Arturo y HERNÁNDEZ-PÉREZ, María de los Ángeles

“Efecto del ácido acrílico en las propiedades térmicas de polihidroxicanoatos obtenidos con hidrolizados de cera de abeja”

QUINTANAR-GÓMEZ Samuel, GRACIDA-RODRÍGUEZ Jorge, ABREU-CORONA Arturo y TÉLLEZ-JURADO Alejandro

“Detección y prevención de fotoenvejecimiento en universitarios por exposición nociva a rayos Ultravioleta”

VAZQUEZ CHACÓN -Verónica, CHÍO AUSTRIA- Rosa María, SÁNCHEZ BARRERA-Eréndira, GONZÁLEZ MOSQUEDA-Mayra, AHUMADA MEDINA-Albino

“Cuantificación de la Radiación Ultravioleta Solar Observada en la Universidad Politécnica de Pachuca durante los Años 2011 a 2016”

VÁZQUEZ CHACÓN-Verónica, AHUMADA-MEDINA-Albino, SÁNCHEZ BARRERA-Eréndira, CHÍO AUSTRIA-Rosa María, CORTÉS MÁRQUEZ-Sandra, SUBERVIER ORTIZ-Laura

ISSN 2523-6857



www.ecorfan.org