



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y POSGRADO



VERANO DE LA CIENCIA MEMORIA 2022

SOMOS UAQ
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR



Créditos

Editores

Dra. Ma. Guadalupe Loarca Piña
Directora de investigación, innovación y posgrado

Dra. Azucena de la Concepción Ochoa Cervantes
Coordinadora Académica de Investigación



Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Rectora

Dr. Javier Ávila Morales

Secretario Académico

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Directora de Investigación y Posgrado

Dra. Azucena de la Concepción Ochoa Cervantes

Coordinadora Académica de Investigación

M. en GIC. Karina Villarauz Camargo

Coordinadora de Difusión y Enlace

Dirección de Investigación y Posgrado

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Dra. Azucena Ochoa Cervantes

Comité organizador

L.A.V. Alma Ivonne Méndez Rojas

L.A.V. Brenda Paola Sosa Vergara

Diseño

M. en GIC. Karina Villarauz Camargo

Coordinadora de Difusión y Enlace

Lic. Marisol Corona Manjarrez

Auxiliar en Coordinación

Apoyo logístico

Publicación especial

Del 16° Verano de Introducción a la Investigación

Del 21° Verano de la Ciencia UAQ

Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n

Código Postal 76010, Querétaro, Qro., México



INTRODUCCIÓN

Una de las funciones sustantivas de la universidad es la investigación, tarea a través de la cual la **Universidad Autónoma de Querétaro**, asume el compromiso de social de dar respuesta a necesidades sociales en diversos ámbitos. Aunado a lo anterior, la investigación, al estar vinculada con la docencia y en la mayoría de los casos con la vinculación permite proporcionar a las y los estudiantes una formación integral, por esto, nuestra institución promueve distintas acciones para enriquecerla.

Desde la Dirección de Investigación, Innovación y Posgrado, se propone la realización de actividades que contribuyan a la formación en investigación de nuestro estudiantado, es por lo anterior, que año con año se organizan los **Veranos de la Ciencia**, que consiste en una estancia de cinco semanas en donde las y los estudiantes colaboran dentro de un proyecto de investigación tutelado por una de las investigadoras o investigadores de nuestra universidad, con el objetivo de acercarlos a la ciencia, formarlos en investigación y despertar el interés por cursar un posgrado.

Los veranos de la ciencia se realizan en dos modalidades: el **Verano de la Ciencia UAQ**, dirigido a estudiantes que cursan el quinto semestre en adelante y el **Verano de Introducción a la Investigación**, dirigido a estudiantes que cursan del primero al cuarto semestre. Estos programas, en comparación con otros similares, es que en los realizados por nuestra institución pueden participar estudiantes de cualquier semestre y profesores de cualquier facultad, lo cual amplía la oportunidad de formación tanto para estudiantes como para investigadores e investigadoras.

Es así que, este año celebramos la edición número 21° del Verano de la Ciencia UAQ y el número 16° del Verano de Introducción a la Investigación, en los que han participado 30 y 17 estudiantes respectivamente.

En la presente compilación presentamos el producto final de cada uno de los participantes, el cual consiste en un informe de actividades de la estancia con formato de artículo científico. Los trabajos presentados, además de que ejercitan a las y los estudiantes en la escritura con fines de comunicación académica, muestra el trabajo realizado y los aprendizajes adquiridos.



Agradecemos a las y los estudiantes, a los investigadores e investigadoras por su participación e interés.

Deseamos que lo aprendido trascienda en la formación personal y científica de las y los participantes.

Atentamente
"Educo en la Verdad y en el Honor"

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Dra. Azucena de la Concepción Ochoa Cervantes
Coordinadora Académica de Investigación



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y POSGRADO



VERANO DE INTRODUCCIÓN UAQ

SOMOS UAQ
SERVIR. CONSTRUIR. TRANSFORMAR.

INDICE

Contaminación en la laguna de Santa Ana Maya Michoacán; causas y consecuencias socioambientales.	Ashely Montserrat Valdez Garcia Dr. José Alberto Posadas Juárez
Determinación de estabilidad de barritas adicionadas con grillo (<i>Acheta domesticus</i>)	Axel Raúl Chaires Ortega y Estudiante de doctorado Alexandro Escobar Ortiz
Diversidad de esporas fúngicas atmosféricas del Campus Juriquilla y sus alrededores	Brandon Rivera-Corona , Fátima Ojeda-Flores , LuisHernández-Sandova
Utilidad de modelos para pruebas preclínicas antitumorales in vitro	Rodríguez Soto Dana, Dra. Carmen Mejía Vázquez.
Biocombustibles: producción, cadena de suministro y perspectivas en México	Diana Patricia Pacheco Sóstenes, Claudia GutiérrezAntonio.
Evaluación de una vacuna contra el virus hemorrágico del conejo	Gerardo Omar Pérez Vázquez, Juan Joel Mosqueda Gualito.
Aplicaciones biomédicas y farmacológicas de nanomateriales hechos a base de hidroxiapatita dopada	Heidi Segundo Malagón, Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo
Síntesis de nanopartículas de óxidos y sulfuros metálicos	Dra. Diana Issell Sandoval Cárdenas, Torres Pérez Dante Eliazar y Estrada Serrano Iñaki.
Evaluación de dos adyuvantes para una vacuna contra la Enfermedad Hemorrágica Viral del Conejo tipo 2.	Irvin Aradt Rufino Martinez, Juan Joel Mosqueda Gualito.
La niña blanca: un estudio criminográfico del culto a la Santa Muerte en el Estado de Querétaro	Jessica Paloma Hernández Landaverde.
Bromatología de Plantas Comestibles de Huimilpan	Laura Daniela Lona Sandoval, Luis Hernández Sandoval, José Guadalupe Gómez Soto, Aurora Jauregui Mejía.

Violencia hacia las Mujeres en Espacios Públicos en Uriangato

Melissa García Guzmán

Regulación epigenética del gen de adiponectina en tejido adiposo.

Solís Reséndiz Paula Noemí, José Bernardo Rodríguez Hernández, Mtra. Paulina Estrella Ibarra y Dr. Pablo García Solís.

Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales de grillo con diferentes tratamientos postcosecha.

Alexandro Escobar Ortiz , Ximena Salazar Carranza.

Biocombustibles: implementación de higuera como materia prima en la producción de biodiesel

Hernando Osuna Avalos, Claudia Gutiérrez –Antonio.

Contaminación en la laguna de Santa Ana Maya Michoacán; causas y consecuencias socioambientales.

Autor: Ashely Montserrat Valdez Garcia.

Filiación institucional: Facultad de Derecho, licenciatura en Criminología

Expediente: 299164

Correo: avaldez23@alumnos.uaq.mx

Asesor: Dr. José Alberto Posadas Juárez.

Adscripción: Facultad de Derecho.

Correo institucional:
jose.alberto.posadas@uaq.mx

Clave docente: 13021

Resumen:

La laguna de Santa Ana Maya Michoacán, ha tenido un incremento notorio en cuanto a contaminación por parte de sus pobladores. Esto a su vez ha repercutido en la economía y forma de vida de las personas residentes. Los objetivos de esta investigación son exponer los factores de dicha contaminación que se relacionan con los ámbitos sociales y culturales del poblado de Santa Ana Maya Michoacán, así como analizar las consecuencias y alcance de la contaminación en la laguna desde un enfoque socioambiental. Utilizamos una metodología criminográfica de carácter cuantitativo y cualitativo; tras el trabajo de campo, encuestas, entrevistas y análisis de datos, encontramos que la contaminación se ha venido acrecentando por la anomia generalizada dentro del poblado.

Palabras clave: socioambiental, criminografía, contaminación, anomia.

Abstract:

The lagoon of Santa Ana Maya Michoacán has had a noticeable increase in terms of pollution by its inhabitants, this in turn has affected the economy and way of life of the people who inhabit the town, the objectives of this research are to expose the factors of this contamination that are related to the social and cultural spheres of the town of Santa Ana Maya Michoacán, as well as to analyze the consequences and scope of the contamination in the lagoon from a socio-environmental approach. We use a quantitative and qualitative criminographic methodology; After field work, surveys, interviews and data analysis, we found that contamination has been increasing due to the generalized anomie within the town.

Key words: socio-environmental, criminography, contamination, anomie.

Introducción:

El lago de Cuitzeo es el segundo más grande del país y está secándose, con el morirán cientos de especies de flora y fauna, lo que provocará cambios climáticos y afectará directamente la economía de los pueblos que le rodean y que dependen de actividades como la pesca y la agricultura. Santa Ana Maya es uno de estos pueblos, por ello en la siguiente investigación analizaremos algunos de los factores sociales y culturales que influyen en la contaminación de lo que ellos llaman “la laguna”, que no es más que una parte del lago de Cuitzeo. Así pues, entenderemos como es que la anomia generalizada del poblado impulsa a que se mantengan prácticas contaminantes dentro de la laguna, también se hablará de las consecuencias y alcance de esta contaminación desde un enfoque socioambiental.

Objetivos:

- Exponer los factores de esta contaminación que se relacionan con los ámbitos sociales y culturales del poblado de Santa Ana Maya Michoacán.
- Analizar las consecuencias y alcance de la contaminación en la laguna desde un enfoque socioambiental.
- Georeferenciar los focos rojos de los principales agentes contaminantes.

Metodología:

Para la elaboración de esta investigación se hizo uso del método criminográfico, el cual es una propuesta de una nueva herramienta de trabajo de campo que toma sus orígenes en la etnografía, no obstante, está enfocada en la comprensión de los fenómenos antisociales.

Esta investigación se realizó desde dos tipos de fuentes, cualitativas y cuantitativas.

En el apartado cualitativo se realizaron marchas exploratorias por las orillas de la laguna, se entrevistó a 4 pescadores y 3 ambientalistas, también se realizó una encuesta a 47 personas que residen en el municipio de Santa Ana Maya, mediante *Google Forms*, dicha encuesta fue difundida en grupos de *Facebook* del municipio, incluía preguntas como:

“¿Cuáles son los contaminantes que usted identifica en la laguna?”, “¿Qué actividades se realizan en la laguna?”, de igual manera se preguntaban sobre los fenómenos antisociales y contaminantes que los pobladores pudieron haber observado. En una lista de acciones, también se les preguntó si se les había afectado en algún ámbito, social, de salud o económico.

Por otra parte, en el apartado cuantitativo se revisaron fuentes de rigor científico para entender un poco más del contexto general, analizando así investigaciones con respecto a la contaminación,

flora y fauna del lago e imágenes satelitales de Google Maps, Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) Y Foto Coordinadas para analizar el espacio y evolución de la sequía del lago, así como sus principales contaminantes.

Resultados:

Contexto general:

Santa Ana Maya es un pueblo (cabecera municipal) que se encuentra al norte del Estado de Michoacán, con una población registrada de 12,812 habitantes en el año 2020 por el INEGI. Entre las principales actividades económicas de dicho poblado se encontraban la pesca, la ganadería y la agricultura, esto debido a la laguna que está en las orillas de Santa Ana Maya, la laguna que se encuentra en los alrededores del pueblo es una parte del lago de Cuitzeo, mismo que se extiende hasta otros poblados como Capacho, Iramuco, Araro, Huandacareo, Chucandiro, Cuaracurio, Rancho Seco, entre otros más.

El lago según la Comisión Nacional de Aguas (CONAGUA) tiene una extensión de 306 kilómetros cuadrados, siendo así el segundo más extenso del país, al ser uno de los lagos más grandes, su flora y fauna son igualmente abundantes y variadas. Una investigación expone que: “El Lago de Cuitzeo tiene una riqueza florística sorprendentemente alta, representada por 40 familias, 70 géneros y 92 especies, de estas últimas 25 fueron acuáticas estrictas, 30 subacuáticas y el resto consiste de plantas tolerantes”. (Rojas y Novelo, 1995, pp1.)

Mientras que en una investigación del Laboratorio De Biología Acuática (dependencia federal) se comenta que algunas de las especies que habitan el lago de Cuitzeo son “chehua (diferentes especies), barrigón, tiro, mojarra (pilapila), charal (diferentes especies), gupy, carpa (*Ciprinus carpio* y *Carassius aureatus*), rana zancona, mosco, y el acocil o camarón (*Cambarellus montezumae*)”. (Alvarado,

2021, s/p). Sin embargo, debido a las malas prácticas y a algunos factores socioambientales, el segundo lago más grande de México está por desaparecer y con él las especies que viven dentro, a continuación, anexaré una imagen satelital recuperada del INEGI, donde se muestra la evolución del lago tras 20 años de malas prácticas:

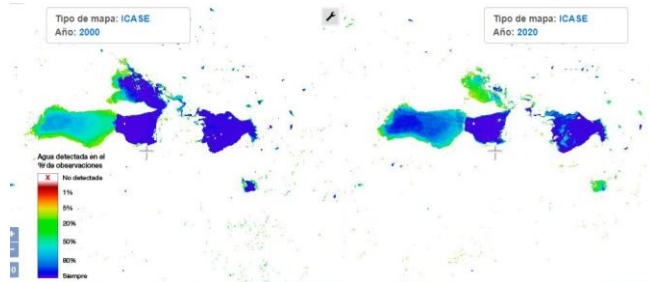


Fig.1, INEGI, (2020). “tipo de mapa: índice de Clasificaciones de Agua Superficial desde el Espacio (ICASE) Landsat.”. [consultado en 2022].

En algún momento Santa Ana Maya, se consideró un pueblo pesquero, sin embargo, la pesca ya no es una actividad regular en dicho lugar, esto debido a la sequía y contaminación del lago; tras realizar diversas entrevistas a pescadores, comentan que por las sequías, contaminación del lago y principalmente aumento del tule, es imposible entrar con las canoas y pescar. Llegaron a contarse 109 pescadores, pero ahora solo unos 6 son los que aun realizan esa actividad, actualmente 46 pescadores aun pagan sus placas (a los pescadores les cobran \$180 MXN aproximadamente al mes, por las placas de sus lanchas) y esperan volver a pescar en algún momento (19 de julio del 2022).

Contexto particular:

Tras una encuesta realizada se detectó que los pobladores de Santa Ana Maya, han podido detectar diversos agentes contaminantes dentro de la laguna, que en general se extienden por el lago de Cuitzeo, como son: Drenajes descargados sin previo tratamiento, excretas de animales, principalmente porcinas y de ganado, basura en

general, tintes textiles drenados de las fábricas de ropa del poblado de Uriangato, fertilizantes, quemados de tule y lirio, escombros que suelen tirar en las orillas de la laguna, etc. De igual manera 93.6% de los entrevistados expresa haber visto quemados de tule (El tule es una planta semiacuática que crece en las orillas de la laguna y funciona como un filtro natural, sin embargo, actualmente ha crecido demasiado al punto de ser una plaga y algunas personas lo queman para despejar la laguna y poder entrar a pescar) y 38.3% de estos afirman haber visto que tiran abonos o alguna sustancia no identificada dentro de la laguna.

Debido al mal tratamiento del agua, la falta de filtros en los desfuegos de drenaje entre diversos factores que ya comentamos, se ha contaminado y ha propiciado la sequía de la laguna, con ello se ha llevado a diversas problemáticas ambientales y sociales, pues la laguna, que se encuentra a la orilla de diversas colonias pobladas por cientos de personas, es ahora un foco de infección del cual no se genera el suficiente recurso ni para sostener a una familia, pues al menos la pesca ya no es una actividad que se pueda practicar ahí para subsistir, pese a que antes Santa Ana Maya se pudiese considerar un pueblo pesquero. De igual manera las quemados de tule solo provocan que este filtro natural, solo se expanda más en las orillas de la laguna, “chupando” la poca agua que aún queda en ella y al crecer cubre algunos de los caminos creados por pescadores y ganaderos, dificultando así que estos ingresen a realizar sus actividades y haciendo de ellos lugares para la criminalidad, donde jóvenes y adultos de esta comunidad van a consumir alcohol y otras drogas, siendo este fenómeno identificado por 73.9% de los entrevistados; de igual manera 8.7% de los entrevistados confirmó haber identificado violaciones sexuales en las orillas de la laguna y 17.8% identificó tiroteos.

A continuación, se anexa un mapa que presenta los principales puntos de contaminación en la laguna, en este se ven los 3 desfogues de drenaje, las pilas de excremento y un corral de ganado dentro de la laguna:



Fig.2, Georreferencia de focos rojos (principales contaminantes). (T.E) tiradero de excretas animales, (D) desfogues de drenaje, (C) corral de ganado. Fuente: elaboración propia con mapa de *Google Maps Y Foto Coordenadas* (2022).

Contexto diacrónico-sincrónico:

En este apartado se realiza un análisis cualitativo de los procesos sociales históricos de la problemática para un mejor entendimiento del contexto actual, y es que en diversas entrevistas realizadas a personas que han visto el cambio gradual de Santa Ana Maya desde hace años hasta el día de hoy, se comentó lo siguiente:

“Cuando llegamos no había ni luz, ni nada de esto, tampoco había drenaje ni nada, había bien poquilla gente” (Luis, oficio ex-pescador, 2022).

“tu mirabas el agua de la laguna antes y hacíamos caldo y lo cosíamos con agua de ahí, tomábamos agua [...]” (Jorge, oficio ex-pescador, 2022).

Esas fueron las palabras de algunos pobladores que han vivido toda su vida en Santa Ana Maya, de igual manera una de las ambientalistas del poblado comentó lo siguiente:

Cuando se contamina con materia orgánica hay manera de que se biodegrade, que los mismos microorganismos, las plantas, hagan ese proceso, dependiendo de la cantidad de material, pero ahora está contaminada con plásticos, con cosas que difícilmente se van a biodegradar en la laguna (Silvina, químico fármaco-bióloga y ambientalista, 2022).

De igual manera uno de los primeros pescadores comentó lo siguiente, con respecto a la contaminación:

Allá por la unidad van y tiran escombros, hay que exponer a las autoridades, nosotros hacíamos una tarea, éramos poquitos éramos 12 pescadores, tú te vas pa’ la orilla, tú te llevas tu canoa [...], nos llevábamos la basura en la canoa, tu tomabas agua antes de ahí y ahora [...] a mí me gustaría ver que el lago se recuperara [...] (Luis, oficio ex-pescador, 2022)

Esa es una de las prácticas e intentos que tuvieron algunas de las pocas personas que se interesaron por rescatar la laguna, la cual era una de sus principales fuentes de ingreso, con ella se sostenían decenas de familias, ahora han tenido que buscar nuevas fuentes de ingreso, con ello hacemos referencia a la búsqueda de nuevos empleos y/o migración, esto expresa el entrevistado:

la gente que va a perder su vida allá al otro lado y si aquí ubierta trabajo no habría necesidad de eso [...] antes sacábamos mojarrotas, carpotas bonitas y ahora quienes se dedican a la pesca no les alcanza ni pa’ comer” (Luis, oficio ex-pescador, 2022)

Pero, ¿cómo fue que la laguna en un transcurso de 10 a 20 años pasó de ser una gran fuente de ingreso a ser un foco de infección?, uno de los pescadores comentó que “La misma contaminación cerró las brechas que teníamos para entrar y pus (sic)

también se acabó el pescado” (Pablo, oficio ex-pescador, 2022). Así mismo el tule al ser quemado se reproducía en mayor medida esto combinado a otros factores contaminantes y a las malas prácticas del poblado ya mencionadas, llevó a una sequía parcial de una gran parte de la laguna, así como a convertirla en un foco de infecciones.

Contexto cultural implícito:

Pese a que se han intentado algunos proyectos para intervenir en la contaminación de la laguna y recuperar espacios de pesca, así como trabajar el lirio y limpiar la basura que los pobladores tiran dentro de las orillas de la laguna, no se ha podido llevar a cabo ninguno de estos proyectos de forma eficiente, esto debido a la actitud que muchos de los pobladores toman, ya que si limpian un espacio, estos “se encargaran de contaminarlo el doble”, si contratan una máquina para fumigar un espacio de la laguna y librarlo del tule, para que los pescadores puedan ingresar a pescar nuevamente, la mayoría de los pobladores “interesados”, no ayudarían y por el contrario criticaría y juzgarían las intenciones del proyecto y a quienes participan en él; esto debido a la anomia dentro del poblado. Para entender mejor el concepto de anomia se aborda su definición: “La conducta anómica no solo merece ser definida como ausencia de normas, sino también como desprecio por ellas [...] La anomia cuestiona los sistemas de relaciones y reglas que vinculan a los individuos entre sí y a estos con la sociedad” (Moreno y Durán, 2018, p. 156). Si bien en Santa Ana Maya no hay reglas conocidas que regulen la contaminación y el mal uso de los recursos, la Constitución Política De Los Estados Unidos Mexicanos plasma en el artículo 27 que “las aguas son propiedad de la Nación y sienta las bases para que el Estado regule su aprovechamiento sostenible, con la participación de la ciudadanía y de los tres niveles de gobierno.” (, A.C., S/A). Pero en este poblado parece consolidarse una anomia generalizada donde no se muestra respeto por la autoridad, ni esta para con

los gobernados, de igual manera entre vecinos tiende a notarse faltas de normas éticas y sociales, así mismo la falta de conciencia ambiental es una más de estas carencias.

Tras la investigación realizada se plantean algunas propuestas de solución, que empezaría por las campañas de concientización ambiental en las escuelas y en el poblado en general, donde se haría conciencia del daño y el alcance que esta contaminación puede tener, así como, la repercusión en

su economía y salud, de igual manera, hacer campañas de limpieza en las orillas de la laguna; se sugiere implementar filtros naturales en los desfuegos de drenaje que desembocan en la laguna o buscar una alternativa más sustentable para los drenajes; tomando en consideración las palabras de varios pescadores, el fumigar unos 70 metros cuadrados de tule en tiempos de sequía, es una buena alternativa para ayudar a esta población, de esta manera podrán acceder a un lugar de pesca más abierto y ayudaría a que menos agua fuera consumida por el tule, así llegaría más agua “limpia” al pueblo, pero esta deberá ser cuidada y protegida por normas y reglamentos que deberán difundirse en el pueblo; por ello lo último es la implementación y difusión de multas y sanciones para quienes contaminen de forma directa la laguna.

Discusión y conclusiones:

En esta investigación se analizaron los principales contaminantes de la laguna de Santa Ana Maya, su alcance y repercusión desde una perspectiva socioambiental, de igual manera se dio cuenta de porqué muchas de las intervenciones han fracasado, debido, entre otros aspectos, a la anomia generalizada en dicho poblado, por último, se propusieron algunas acciones que ayudarían a cambiar un poco la situación de esta problemática y las consecuencias en este poblado.

Agradecimientos:

Quiero agradecer a las personas que me ayudaron en este proyecto, a mis entrevistados y encuestados, así mismo un especial agradecimiento a mi prima y mi madre que fueron mis porteros y me ayudaron a dar con algunos entrevistados, también me acompañaron durante el proceso de trabajo de campo; quiero agradecer al profesor Alberto posadas por su asesoría, acompañamiento y motivación durante esta investigación y a la Universidad Autónoma de Querétaro por brindarnos este espacio e incentivarlos a realizar investigación.

Referencias:

Alvarado, J. (2021), Investigación Sobre Fauna Pesquera En Lagos De Cuitzeo Y Pátzcuaro, Se Resume En Carteles Ilustrativos, consultado el 21 de julio del 2022 en: Investigación sobre fauna pesquera en lagos de Cuitzeo y Pátzcuaro, se resume en carteles ilustrativos - México Ambiental (mexicoambiental.com)

INEGI (2020), índice de Clasificaciones de Agua Superficial desde el Espacio (ICASE) Landsat. consultado el 25 de julio del 2022 en: Índice de Clasificaciones de Agua Superficial desde el Espacio (ICASE) Landsat (inegi.org.mx)

INEGI (2020, censo general de población y vivienda 2020, consultado el 25 de julio del 2022 en: CPyV2000_Mich_Poblacion.xlsx (live.com)

Moreno, N. Y Durán, N. (2018), INDICADORES PSICOLÓGICOS EN LA CONDUCTA TRANSGRESORA DE NORMAS DE TRÁNSITO. Investigación & Desarrollo vol 26, n° 1 (2018) págs. 140-161, consultado el 12 de agosto en: *2011-7574-indes-26-01-140.pdf (scielo.org.co)

Rojas, M. & Novelo, A. (1995), Flora Y Vegetacion Acuáticas Del Lago De Cuitzeo, Michoacán, México. consultado el 19 de julio del 2022 en: Vista de Flora y vegetación acuáticas del Lago de Cuitzeo, Michoacán, México | Acta Botánica Mexicana (inecol.mx)

Fondo Para La Comunicación Y La Educación Ambiental, A.C., (S/A), Legislación del agua, consultado el 17 de julio del 2022 en: Legislación del agua – Agua.org.mx

Galería fotográfica:



Fig.3, pila de abono dentro de las orillas de la laguna.



Fig.4, caminos hechos a la mala por los pobladores, dentro del territorio de la laguna (seca).



Fig.5, pila de abono 2 dentro de las orillas de la laguna.



Fig.6, desechos de corrales de ganado dentro de territorio de la laguna.



Fig.7, corral de ganado dentro de territorio de la laguna



Fig.8, rana calcinada, tras una quema de tule.

Determinación de estabilidad de barras adicionadas con grillo (*Acheta domesticus*)

Autoría

Axel Raúl Chaires Ortega y Estudiante de doctorado Alexandro Escobar Ortiz.

Resumen

En el mundo hay una gran demanda de alimentos de buena calidad y los alimentos que se suelen comercializar por lo general, son altos tanto en carbohidratos como en grasas, por lo que se realizaron estudios de estabilidad a las barras adicionadas con (*Archeta domesticus*) que tienen como objetivo ser un sustituto alto en proteína de bajo impacto al medio ambiente, estas están almacenadas de 0 a 30 días, las cuales tienen cuatro formulaciones (F1, F2, F3, F4) y están a tres diferentes temperaturas (25°C, 35°C y 45°C); para determinar la estabilidad de todas estas barras, de las cuales la formulación 2 y 4 están adicionadas con grillo (*Archeta domesticus*) además la fórmula 4 también contiene edulcorante no calórico (); en este caso específico los objetivos a cumplir son la estabilidad en almacenamiento en barras adicionadas con grillo (*Archeta domesticus*), por lo que las técnicas fisicoquímicas que llevamos a cabo fueron pH, humedad, actividad de agua y colorimetría para comparar con las barras normales; con estas técnicas nos podemos dar cuenta de cómo se comportan sus macronutrientes con el paso del tiempo y a diferente temperatura bajo los parámetros ya mencionados; Los resultados que obtuvimos fueron muy positivos, por lo que se lograron los objetivos y determinamos que las barras son estables al estar almacenadas por 30 días.

Palabras clave: Técnicas, barras, almacenamiento, formulaciones, temperatura, estabilidad, grillo, edulcorante, fisicoquímicas, colorimetría, actividad de agua, humedad, pH, macronutrientes.

Abstract

In this project we made different techniques for the analysis of bars in storage, in this case from 0 to 30 days, which have four formulations and are at three different temperatures (25°C, 35°C and 45°C); to determine the stability of all these bars, some added with cricket (*Acheta domesticus*) and a non-caloric sweetener; The physicochemical techniques that we carried out were pH, humidity, water activity and colorimetry; With these techniques we can see how its macronutrients behave over time and at different temperatures under the aforementioned parameters; The results we obtained were very positive, so the objectives were achieved and we determined that the bars are stable when stored for 30 days.

Keywords: Techniques, bars, storage, formulations, temperature, stability, cricket, sweetener, physicochemical, colorimetry, water activity, humidity, pH, macronutrients.

Introducción

Las tendencias alimenticias de hoy en día no son muy favorables para tener una vida saludable. Las dietas que se consumen tienen un exceso de carbohidratos y grasas, y poca proteína. Esto ha traído como consecuencia un incremento de enfermedades metabólicas. Por lo tanto, es importante identificar alternativas de alimentos más saludables. Los insectos comparados con el ganado convencional generan menos emisiones de gases de efecto invernadero y por lo tanto, producen mayor contaminación ambiental (Bartón y col., 2020). El grillo (*Acheta domesticus*) son una fuente importante de proteínas, fibra y otros compuestos con beneficios a la salud (Gertrudis Moreno, 2020). Sin embargo, una de las principales limitaciones de su

consumo es la poca aceptabilidad del consumidor. Con base a lo anterior, se ha propuesto incorporar a los insectos como harina en alimentos tipo snack, como son las barras (Bartkowicz, y Babicz-Zielińska,2020).

Estas barras pueden ser elaboradas con alto contenido de proteínas y bajo contenido de azúcares, siendo uno de los principales puntos a considerar, la estabilidad de las barras.

En este proyecto se propone desarrollar barritas altas en proteína y bajas en carbohidratos, adicionando harina de grillo (*Achetadomesticus*). y evaluar sus propiedades fisicoquímicas durante almacenamiento

“Exo, dice que los grillos aportan un 65% de proteína y comparándolo con la carne de res que aporta un 33%, y que aportan 2.2 veces más hierro que la espinaca. Por el lado medioambiental Exo dice que los grillos aportan 100 veces menos gases de infecto invernadero que las vacas y que requiere de tan solo un galón de agua para una libra de proteína de grillos, las vacas 2000 galones por libra” (Portillo, 2017). Por eso es que se decidió trabajar con este tipo de alimento que promete ayudar mucho tanto al ambiente como a su consumidor, a pesar del prejuicio que tienen la mayoría de personas sobre los insectos estos son considerados un superalimento.

Objetivos

Objetivo general: Determinar la estabilidad en almacenamiento a 3 temperaturas (25°C, 35°C y 45°C) de barritas adicionadas con grillo (*Acheta domesticus*).

Objetivo específico: Determinar el efecto de almacenamiento de barritas adicionadas con grillo

(*Acheta domesticus*) y edulcorante no calórico sobre parámetros fisicoquímicos como color, actividad de agua, humedad y pH.

Colorimetría: Las medidas de color se registraron usando los parámetros CIELAB, con las coordenadas L* (luminosidad), a*(rojo/verde) y b* (amarillo/azul) usando un colorímetro Minolta (CROMA METER CR-210, MEX). Los datos generados se compararon con el rango colorimétrico del programa colorizer.

Actividad de agua: La actividad de agua se determinó en el equipo AquaLab (Serie 4TE, MEX) en una proporción representativa de la muestra (aproximadamente 1.5-2 g).

Humedad: Este parámetro se analizó mediante el método gravimétrico el cual consiste en determinar la pérdida de peso de una muestra entre 0,5 y 1,5 gr de masa aproximadamente. Cuando es sometida a una temperatura de 105° C.

Determinación del pH: La muestra de harina (1 g) se mezcló con 10 mL de agua destilada hervida en un vaso de precipitados de 25 mL. Se ajustó la temperatura a 20 °C y se midió su pH con un potenciómetro.

Resultados

Uno de los principales parámetros de degradación, cuando se mide la estabilidad de un alimento es el pH. El pH de las 4 formulaciones durante 30 días de almacenamiento a 25, 35 y 45 °C se muestran en la tabla 1. Dónde se aprecia una ligera disminución a los 30 días, sin embargo, el efecto de disminución más pronunciado se aprecia en los tratamientos almacenados a 45 °C, 30 días en las F3 y F4, que fueron las que usaron sucralosa como edulcorante.

°T	Días	F1	F2	F3	F4
25°C	0	6.12± 0.03A	6.02± 0.05A	6.19± 0.01A	6.22± 0.01A
	15	6.03± 0.15A	5.98± 0.03A	6.08± 0.15A	5.97± 0.06A
	30	6.01± 0.04A	5.94± 0.01A	6± 0.05A	5.92± 0.01A
35°C	0	6.12± 0.09A	6± 0.05A	6.19± 0.03A	6.13± 0.15A
	15	5.95± 0.15A	5.73± 0.03A	5.88± 0.03A	5.68± 0.08A
	30	5.8± 0.05A	5.71± 0.01A	5.7± 0.03A	5.44± 0.02A
45°C	0	6.08± 0.01A	6.06± 0.07A	6.18± 0.06A	6.17± 0.03A
	15	5.75± 0.9A	5.52± 0.28A	5.02± 0.05A	4.89± 0.07A
	30	5.36± 0.09A	4.96± 0.16A	4.58± 0.01A	4.57± 0.05A

Tabla 1. pH promedio de las barritas a las diferentes temperaturas y tiempos \pm una desviación estándar y prueba estadística de tukey

En el caso de la humedad tenemos valores muy bajos lo cual es bueno, ya que en otros estudios similares se encontró, “La humedad de las barritas se encuentra en torno al 12-14 % para todas las formulaciones obtenidas, este valor es cercano al exigido por la Reglamentación Técnico-Sanitaria Real Decreto de 26 de junio (RD 1094/1987) en relación a los productos con cereales para el desayuno, la cual indica que ésta debe ser menor al 12% (Álvarez Miguel, A. 2019)”. Lo cual nos indica que este proceso y los ingredientes que se utilizaron son muy favorables y estables, aunque es la fórmula 4 presenta mayor humedad como nos indica la tabla 2, aun así, sigue siendo muy estable y está por debajo de lo máximo recomendado.

°T	Días	F1	F2	F3	F4
25°C	0	2.73± 0.35A	2.90± 0.29A	5.24± 0.64A	7.06± 1.92A
	15	3.13± 0.12A	5.18± 0.16A	6.21± 1.33A	6.88± 1.08A
	30	2.48± 0.68A	3.95± 0.31A	6.86± 0.07A	8.24± 0.70A
35°C	0	2.95± 0.35A	4.44± 0.68A	5.92± 0.35A	7.67± 0.87A
	15	3.86± 0.35A	7.84± 0.26A	7.52± 1.27A	7.86± 0.92A
	30	3.4± 0.35A	4.90± 0.16A	6.81± 0.15A	7.73±
45°C	0	2.55± 0.12A	2.72± 0.67A	4.34± 1.26A	6.61± 1.15A
	15	3.98± 0.35A	3.68± 0.26A	6.69± 0.91A	8.14± 1.08A
	30	3.46± 0.35A	5.81± 0.29A	6.42± 1.29A	5.38± 1.17A

Tabla 2. Humedad promedio de las barritas a las diferentes temperaturas y tiempos \pm una desviación estándar y prueba estadística de tukey

Para esta prueba fue un algo indiferente si las barritas estaban a temperaturas diferentes o tenían mucho tiempo en “vitrina”, pero hay que tener cuidado con que este se mantenga como un producto seco, en este caso obtuvimos resultados muy positivos, ya que están por debajo de los rangos en que crecen las bacterias” La mayoría de los microorganismos, incluyendo las bacterias patógenas, crecen más rápidamente a niveles de aw de 0,995 -0,980 (Andino et al., 2010). “, los resultados son muy similares y respecto a otros estudios, “ La humedad fluctuó de 5.31 a 10.84%, mientras que la actividad de agua se reportó de 0.35 a 0.45 (de acuerdo con Medina, M. D. 2006) “pero como vemos en nuestra tabla 3 obtenemos algo similar y es que no afecta de manera significativa a nuestras barritas y se mantiene muy bien como producto seco.

°T	Días	F1	F2	F3	F4
25°C	0	0.57± 0.15 _A	0.24± 0.27 _A	0.58± 0.02 _A	0.61± 0.12 _A
	15	0.53± 0.01 _A	0.51± 0.16 _A	0.6± 0.01 _A	0.55± 0.03 _A
	30	0.33± 0.11 _A	0.5± 0.01 _A	0.37± 0.01 _A	0.56± 0.02 _A
35°C	0	0.52± 0.04 _A	0.48± 0.02 _A	0.53± 0.01 _A	0.6± 0.02 _A
	15	0.5± 0.05 _A	0.51± 0.16 _A	0.6± 0.17 _A	0.59± 0.01 _A
	30	0.33± 0.03 _A	0.32± 0.01 _A	0.55± 0.03 _A	0.53± 0.02 _A
45°C	0	0.53± 0.12 _A	0.44± 0.09 _A	0.63± 0.05 _A	0.59± 0.03 _A
	15	0.51± 0.01 _A	0.5± 0.02 _A	0.6± 0.01 _A	0.27± 0.08 _A
	30	0.48± 0.15 _A	0.51± 0.11 _A	0.57± 0.12 _A	0.43± 0.01 _A

Tabla 3. Actividad de agua promedio de las barritas a las diferentes temperaturas y tiempos ± una desviación estándar y prueba estadística de tukey

Con la colorimetría tuvimos resultados variados, ya que usamos la formula $\Delta E^* = [\Delta L^*2 + \Delta a^*2 + \Delta b^*2]^{1/2}$, si el resultado es mayor a 3 es una diferencia detectable para el humano y como vemos en la tabla 4 en cuanto a color se puede ver que el color en muchas de las barritas si fue diferente con el paso del tiempo y la temperatura, pero no soy muy significativas y comparando tenemos que ‘En cuanto a la pureza de color y el tono no se encontraron diferencias significativas por efecto de la incorporación de harina de grillo’ Pero si encontramos que al tener harina de grillo se hacían de un color más marrón al igual que en otros estudios similares que dicen

Concentración de harina de insecto’’
(Álvarez,2019)

°T	Días	F1	F2	F3	F4
25	0-15	3.07 A	6.03 A	5.84 A	8.78 A
	0-30	1.02 A	5.29 A	2.01 A	3.87 A
35	0-15	1.33 A	2.43 A	9.93 A	7.37 A
	0-30	1.13 A	1.99 A	3.88 A	3.39 A
45	0-15	4.13 A	3.50 A	12.23 A	7.90 A
	0-30	2.40 A	3.34 A	0.42 A	2.29 A

Tabla 4 Colorimetría promedio de las barritas a las diferentes temperaturas y tiempos y prueba estadística de tukey

El análisis del color realizado a través de la medida de las coordenadas de color CIE L*a*b* no se han encontrado diferencias significativas en dichas coordenadas, sibien se ha observado una disminución en la luminosidad y un cambio de color hacia marrón delas barritas al aumentar la

Discusión y conclusiones

Para finalizar tenemos que este estudio cumplió con sus objetivos, ya que las barritas son estables como se demuestran las pruebas anteriores, obtuvimos valores muy aproximado en los estudios y al realizar pruebas estadísticas utilizando el software JMP con un valor menor a .05 con el que sacamos una prueba de tukey, tenemos que con el paso del tiempo de 0 a 30 días y a diferentes temperaturas (25°C, 35°C y 45°C) son estables en todas sus formulaciones (F1, F2, F3y F4) ya que no muestran unas variaciones fuera de lo normal y se encuentran en el rango aceptable para el consumo sin perder sus propiedades

Referencias bibliográficas.

Álvarez Miguel, A. (2019). Desarrollo y evaluación de barritas con alto contenido proteico con incorporación de harina de grillo.

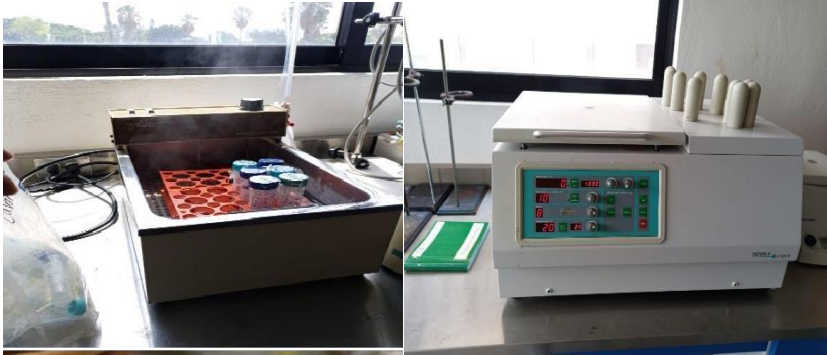
Andino. & Castillo. (2010). Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Marzo 21, 2016, de Universidad Nacional de Ingeniería

Gertrudis Moreno, E. A. (2020). Desarrollo de nuevos alimentos para consumo humano a base de proteína de insectos

Medina, M. D. (2006). Desarrollo de una barra nutricional a base de granola y frijol rojo (*Phaseolus vulgaris*).

Portillo, E. O. (2017). Estimación piloto de los costos en la producción y proceso de harina de grillo (*Acheta domesticus*), como fuente de proteína para dieta humana, en la finca Santa Marta, Morazán, El Salvador.

ANEXOS



Diversidad de esporas fúngicas atmosféricas del Campus Juriquilla y sus alrededores

Brandon Rivera-Corona^{1*}, Fátima Ojeda-Flores², Luis-Hernández-Sandoval²

¹Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

²Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

*Correspondencia: brivera29@alumnos.uaq.mx

Resumen: La Aerobiología es el estudio de las partículas que se encuentran suspendidas en el aire, estas partículas incluyen esporas de hongos. Existen ya trabajos sobre granos de polen en la zona norte del municipio de Querétaro, pero este conocimiento sobre el polen, se contrapone con las esporas fúngicas, debido a esto se busca documentar el contenido de esporas en el Campus Juriquilla para determinar la diversidad fúngica ambiental durante el mes de junio del año 2022. En el presente análisis se observaron un total de 3,407 esporas/m³. En cuanto a la distribución mensual el día que expone la mayor cantidad de esporas es el día 10 de junio, con 514 esporas/m³, mientras que el 7 de junio presentó la menor cantidad con 33 esporas/m³. La cantidad y diversidad de esporales que se encontró en este análisis probablemente estuvo influenciada por los fenómenos climáticos y las relaciones ecológicas.

Palabras clave: Esporas de hongos, atmósfera.

Abstract: Aerobiology is the study of particles suspended in the air, these particles include fungal spores. There are already works on pollen grains in the northern area of the municipality of Querétaro, but this knowledge about pollen is opposed to fungal spores, due to this it is sought to document the content of spores in the Juriquilla Campus to determine the fungal diversity during the month of June of the year

2022. In the present analysis, a total of 3,407 spores/m³ were observed. Regarding the monthly distribution, the day that exhibits the greatest number of spores is June 10, with 514 spores/m³, while June 7 presented the least amount with 33 spores/m³. The quantity and diversity of spores found in this analysis was probably influenced by climatic phenomena and ecological relationships.

Key words: Fungal spores, atmosphere.

1. Introducción

La Aerobiología se ocupa del estudio de un gran número y diversidad de partículas se encuentran suspendidas en el aire, constituyendo los aerosoles atmosféricos, estas partículas incluyen esporas de hongos, siendo la aeromicología la disciplina que se encarga de las esporas en el aire. Las esporas de los hongos son los componentes más abundantes de los bioaerosoles, contándose hasta cientos de millas en las muestras de aire analizadas. El tamaño de las esporas de hongos puede variar de 3 a 100 µm, aunque lo más frecuente es que sean menores de 20 µm. Los hongos se multiplican mediante muchas clases de células germinales o esporas; las formadas de modo exógeno, y que generalmente sirven para la multiplicación vegetativa, reciben el nombre de conidios. Las esporas pueden formarse después de procesos sexuales y de meiosis (meiosporas) o de mitosis (mitosporas). Algunos hongos se multiplican por falla del micelio en células aisladas (oidios). En los ciclos vitales de los hongos se producen fases o estados asexuales y sexuales. La fase asexual y las esporas que producen se denominan anamorfos, mientras que la fase sexual, sus estructuras reproductoras y las esporas producidas se denominan teleomorfos. Las esporas de la fase anamorfa y teleomorfa de un ciclo pueden ser morfológicamente muy diferentes. Las esporas de origen sexual (meiosporas), se clasifican en función del esporangio que las producen (por ej., asca o basidio) y de la estructura en la que éstos se originan (esporocarpio, cuerpo fructífero) (Gutiérrez y Sáenz, 2003).

Existen ya trabajos sobre la dinámica de los granos de polen en la atmósfera en la zona Norte del municipio de Querétaro (Ojeda & Hernández, 2019), gracias a esto el contenido polínico de la zona de la ciudad está bastante caracterizado, pero este conocimiento sobre granos de polen, se contrapone con la falta de investigación sobre esporas fúngicas. Esta falta de información planteó la necesidad de estudiar y cuantificar las esporas de hongos presentes en la atmósfera del Campus Juriquilla.

2. Objetivo

Documentar y evaluar el contenido de esporas de hongos en la atmósfera del Campus Juriquilla para determinar la diversidad fúngica ambiental durante el período del mes de junio del año 2022.

3. Materiales y métodos

3.1. Obtención y procesamiento de muestras

3.1.1. Captación de las partículas aerobiológicas

Para el muestreo aerobiológico se utilizó un captador volumétrico tipo HIRST situado en la azotea del edificio D del Campus Juriquilla, que consta de un soporte circular en el cual se dispuso una cinta Melinex. Para darle la capacidad de adherir partículas, se deposita sobre la cinta una fina película de silicona (Gelvitol) y una mezcla adhesiva (vaselina y parafina en tolueno). Una vez preparado el tambor se transporta hasta el captador (Juárez, 1977).

3.1.2. Colocación de la unidad de impacto

El tambor está conectado a un mecanismo de relojería que genera una rotación de 2 mm/hora, cumpliendo una semana al dar una vuelta completa, entonces, el tambor se sustituye y el mecanismo se activa manualmente cada siete días a las 12:00 horas en los días martes del mes de junio. Tras la realización del cambio del tambor que contiene la cinta, este debe guardarse transportarse hasta el laboratorio para preparar el montaje (Baxter *et al.* 2005).

2. Preparación y montaje de muestras

3.2.1 Preparación de muestras

Se retira la cinta y se coloca sobre una regla de metacrilato transparente y se procede a cortar la cinta en fragmentos de 48 y 24 mm, en el caso de los extremos, correspondientes a 24 y 12 horas para tener muestras diarias y horarias, quedando ocho fragmentos para ser montados sobre un portaobjetos. Como norma, la muestra se dispone sobre el portaobjetos donde el inicio quede a la izquierda y el fin a la derecha (Manual de Calidad y Gestión de la REA, 2007).

3.2.2. Montaje de las muestras

Una vez se colocan los fragmentos, se aplica glicerogelatina con fucsina, la glicerogelatina es sólida a temperatura ambiente, entonces es necesario someterla unos minutos al baño María a una temperatura de 45 ° C para que se vuelva líquida y se dispone un cubreobjetos. Se deja pasar un tiempo para que la glicerogelatina se solidifique junto con la fucsina para el teñido de las esporas y analizar a microscopía (Juárez, 1977).

3.3. Análisis de muestras

3.3.1. Lectura de las preparaciones

Para la observación de esporas se realizaron de cuatro barridos horizontales continuos a lo largo del portaobjetos a 40x10 aumentos, los barridos deben ser equidistantes entre sí y del borde de la preparación en el caso del primer y último barrido. De esta manera el área analizada corresponde a un 12-13% del total (Domínguez y Vilches *et al.*, 1991).

3.3.2 Identificación de esporas

Para la identificación de los tipos esporales se utilizaron libros con claves taxonómicas (Ellis, 1971; Barnett y Hunter, 1972).

3.4. Tratamiento y procesamiento de los datos

Debido a que la concentración esporal debe expresarse por metro cúbico de aire (esporas/m³) es necesario calcular un factor de corrección y multiplicarlo por el número de esporas, este factor de corrección toma en cuenta el volumen de succión de aire (10 litros/minuto), y el diámetro de la superficie

del campo de visión del microscopio (40x10 aumentos=0.45 mm). Este factor de corrección, entonces, tiene un valor de 0.54.

4. Resultados

4.1 Concentración de esporas fúngicas por metro cúbico de aire

Durante el periodo del análisis en la atmósfera del Campus Juriquilla en el mes de junio del 2022 se observaron un total de 3,407 esporas/m³, las esporas de hongos pertenecen al Phylum *Ascomycota* y se encuentran distribuidos en 4 clases, 13 ordenes, 23 familias y 40 géneros que presentaron un solo

morfotipo cada uno, es decir, se observaron de igual manera 40 morfotipos diferentes, los cuales se encuentran ilustrados en la lámina I en orden alfabético. El género más representativo fue *Cladosporium* con un total de 1,800 esporas/m³ (52.86%), le siguen géneros considerados secundarios desde un punto de vista cuantitativo ya que presentaron más de 100 esporas, los cuales son *Alternaria* 237 esporas/m³ (6.96%); *Delitschia*, 132 esporas/m³ (3.87%); *Pithomyces*, 113 esporas/m³ (3.32%). Finalmente, los géneros restantes fueron minoritarios ya que presentaron cantidades totales inferiores a 100 esporas/m³.



Gráfica I. Concentraciones diarias de esporas fúngicas por metro cúbico de aire (esporas/m³) durante el mes de junio del 2022 en la atmósfera del Campus Juriquilla.

En cuanto a la distribución mensual, la gráfica I contiene el número total de concentraciones diarias de esporas por metro cúbico llevadas a cabo en el mes de junio del año 2022 en la atmósfera del Campus Juriquilla. En la gráfica también se muestran los picos más altos de los días que exponen las mayores concentraciones de esporas por metro cúbico los cuales son los días 10 de junio, en el cual se registró

la mayor cantidad de esporas con un total de 514 esporas/m³, le siguen los días 11 de junio, con 489 esporas/m³; 25 de junio, con 468 esporas/m³ y 24 de junio, con 449 esporas/m³; mientras que los días con las menores concentraciones de esporas por metro cúbico fueron los días 22, con un total de 33 esporas/m³, y 7 de junio, con 34 esporas/m³.

4.2 Diversidad de esporas de hongos atmosféricas

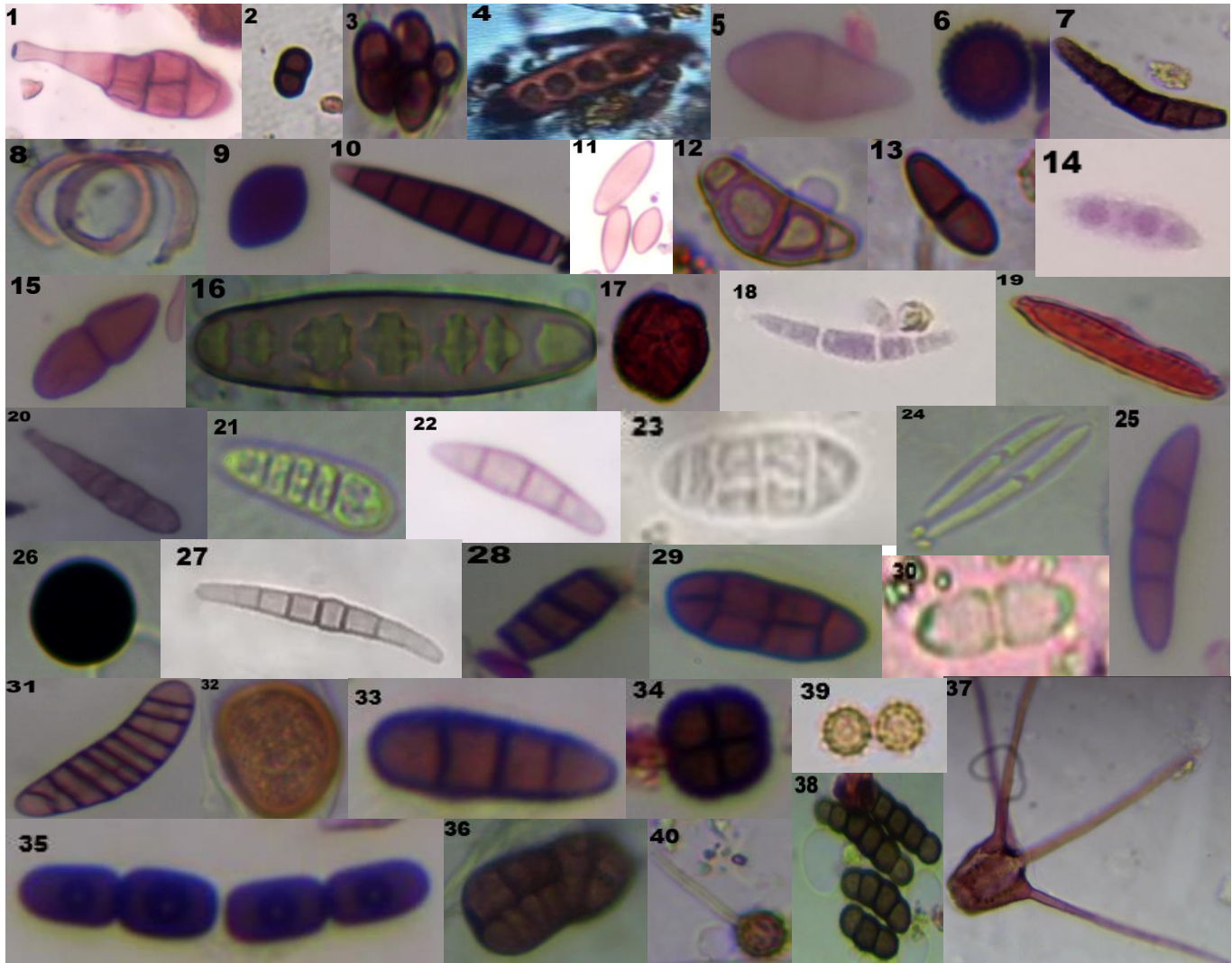


Lámina I. 1-40. Morfotipos de esporas fúngicas observadas durante el mes de junio del 2022 en la atmósfera del Campus Juriquilla.

- 1.- *Alternaria*, 2.- *Asperisporum*, 3.- *Badhamia*, 4.- *Bipolaris*, 5.- *Bispora*, 6.- *Ceratiomyxa*, 7.- *Ceratosporium*, 8.- *Circinotrichum*, 9.- *Chaetomium*, 10.- *Chaetosphaerella*, 11.- *Cladosporium*, 12.- *Curvularia*, 13.- *Delitschia*, 14.- *Didymella*, 15.- *Diplodia*, 16.- *Drechslera*, 17.- *Epicoccum*, 18.- *Fusarium*, 19.- *Gliomastix*, 20.- *Helminthosporium*, 21.- *Keissleriella*, 22.- *Leptosphaeria*, 23.- *Leptosphaerulina*, 24.- *Massarina*, 25.- *Massariosphaeria*, 26.- *Nigrospora*, 27.- *Paraphaeosphaeria*, 28.- *Pestalotiopsis*, 29.- *Pithomyces*, 30.- *Plagiostoma*, 31.- *Pleospora*, 32.- *Puccinia*, 33.- *Septonema*, 34.- *Spegazzinia*, 35.- *Sporormiella*, 36.- *Stemphylium*, 37.- *Tetraploa*, 38.- *Torula*, 39.- *Trichia*, 40.- *Ustilago*.

5. Discusión

Durante el análisis que abarcó el mes de junio del año 2022, de los 40 tipos de tipos de esporas observadas, las que presentaron una mayor concentración en el aire del Campus Juriquilla fueron los géneros *Cladosporium*, con un total de 1,800 esporas/m³, y *Alternaria*, con 237 esporas/m³. Estos tipos fúngicos corresponden con hongos muy frecuentes y de amplia distribución en la atmósfera como lo han encontrado diversos autores en estudios aeromicológicos que documentaron la concentración y diversidad de esporas de hongos en el aire (Gorjón *et al.*, 2003; Ruiz & Sánchez, 2004; Vijay *et al.*, 2005). En estos estudios que se hicieron en un lapso de un año lograron recaudar más de 100,000 esporas/m³ y de los cuales el género más abundante en todos los estudios realizados fue *Cladosporium* con más del 51% del total de las esporas analizadas en los estudios mencionados, esto indica la abundancia de este género en la atmósfera es permanente en cualquier lugar. El siguiente género en abundancia fue *Alternaria* el cuál representaba entre el 13-28% del total de las esporas analizadas, estos datos solo fueron presentes en algunos estudios (Ščevková & Tropeková, 2020; Gorjón *et al.*, 2003), mientras que otros estudios encontraron *Aspergillus* y *Coprinus* como los hongos secundarios más abundantes, esto indica que la abundancia del género *Alternaria* puede modificarse tal vez dependiendo de los factores climáticos. Una muestra de lo dicho anteriormente es el estudio que hicieron Gorjón y colaboradores en 2003 durante un año en el municipio de Salamanca, donde encontraron como género más abundante *Cladosporium* seguido de *Alternaria*; Salamanca y el estado de Guanajuato presentan climas y vegetación parecidos al del estado de Querétaro debido a que ambos estados pertenecen a la zona del Altiplano mexicano.

Se sabe que una característica de las esporas de hongos es su alta frecuencia en la atmósfera siendo las partículas más abundantes en el aire, sin embargo, esto no es inalterable ya que la concentración de esporas de organismos fúngicos en el aire varía dependiendo de las condiciones meteorológicas como

lo han reportado ciertos autores (Lin & Li, 2000; Quintero *et al.*, 2010; Almaguer *et al.*, 2013; Guarín *et al.*, 2015); la cantidad y tipos esporales que se encontró en este análisis probablemente estuvo influenciada por los fenómenos climáticos atípicos que se presentaron durante el periodo de muestreo en mes de junio, lo que pudo haber influido en su dispersión en el aire. Los climas predominantes en esta región se caracterizan por ser semiseco-templado y semiseco-semicálido, presenta una temperatura promedio anual de 19°C, cuenta con una precipitación promedio anual de 549 mm donde lluvias inician en junio (Martínez *et al.*, 2017).

La diversidad de esporas de hongos también corresponde con las relaciones ecológicas que se presentan en cierto lugar como la diversa vegetación ya que la amplia distribución de esporas en la atmósfera es debido a su carácter parásito y fitopatógeno. La diversidad de esporas observadas en el análisis podría coincidir con la vegetación del lugar ya que algunos hongos seguramente pueden ser patógenos de diferentes especies de plantas que existen en la zona. Según Rzedowski (1978), el municipio y zona conurbada pertenecen a la Provincia Florística de la Altiplanicie con una vegetación predominante de matorral xerofito, pastizal y bosque espinoso. También se han encontrado en el municipio los tipos de vegetación bosque tropical caducifolio, matorral subtropical, matorral crasicuale, pastizal y vegetación acuática (Martínez *et al.*, 2017). En cuanto al Campus Juriquilla hay áreas silvestres que siguen preservando la vegetación silvestre de las áreas naturales que se encuentran en la zona conurbana del municipio de Querétaro ya que el campus presenta vegetación de matorral xerofito y crasicuale.

6. Conclusión

Este tipo de investigaciones permiten conocer la gran diversidad de esporas fúngicas que se encuentran suspendidas en la atmósfera, dando a conocer que existen géneros de hongos como *Cladosporium* y *Alternaria* que pueden permanecer en el aire en concentraciones muy altas. Estos análisis

aeromicológicos son de gran interés ya que se pueden aplicar a varios campos medioambientales ya que las grandes cantidades de esporas en el aire pueden afectar la calidad y ser los principales causantes de la contaminación del aire del aire al influir en la química y física atmosférica, de la biosfera y del clima al actuar como núcleos de condensación y cristalización de gotas de agua y hielo en nubes y niebla (Fröhlich-Nowoisky *et al.*, 2009).

Las esporas en el aire no solo afectan al medio ambiente, sino, que también es relevante para la ecología ya que varios tipos de esporas de hongos son de importancia fitopatogena infectando a plantas nativas o a grandes cultivos afectando a la agricultura y la industria agroalimentaria.

Este tipo de trabajos aeromicológicos también son un instrumento útil en la Salud Pública ya que existen esporas que tienen un lugar importante en las alergias respiratorias cuando se inhalan, como sinusitis alérgica y asma (Kurup y Banerjee, 2000; Vijay *et al.*, 2005; Cramer *et al.*, 2006). Además, las esporas no sólo se mantienen libres en el aire, sino que pueden colonizar ambientes cerrados como las instalaciones del lugar de trabajo ya que pueden ingresar desde el exterior por el aire de los sistemas de ventilación, pues los filtros no evitan el paso de partículas del tamaño de las esporas donde pueden establecerse y crecer en las paredes o en los muebles y así causar alergias.

Entonces, una vez analizado el contenido aeromicológico del Campus Juriquilla, se pueden realizar investigaciones más detalladas sobre aquellas esporas que tienen un lugar importante en las alergias respiratorias y de esta manera el conocimiento acumulado debe formar parte de las actuaciones sanitarias que se llevan a cabo desde salud pública para tomar las medidas preventivas oportunas y así poder prevenir diversas enfermedades humanas de tipo alérgico y respiratorio.

7. Agradecimientos

Agradezco al Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval por aceptarme en su proyecto, por darme la confianza y por prestar las instalaciones e instrumentación. Agradezco también a la Lic. Fátima Ojeda Flores por

enseñarme, apoyarme, orientarme, así como por darme la paciencia y la confianza.

8. Bibliografía

1. Almaguer Michel Aira, María-Jesús Rajo, F. Javier, Fernández-González María & Rojas-Flores Teresa. (2013). Thirty-four identifiable airborne fungal spores in Havana, Cuba. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 22. 215-220.
2. Martínez, M. L. Hernández, Y. Pantoja, M. Gómez, R. Bárcenas y A. Cabrera. (2017). Guía ilustrada de la flora del valle de Querétaro. CONABIO/ Universidad Autónoma de Querétaro. 527 pp. ISBN 978-607-8328-89-5
3. Barnett Horace & Hunter Barry. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Mycologia. 64.
4. Baxter Daniel, Perkins Jimmy, McGhee Charles & Seltzer, James. (2005). A Regional Comparison of Mold Spore Concentrations Outdoors and Inside Clean and Mold Contaminated Southern California Buildings. *Journal of occupational and environmental hygiene*. 2. 8-18.
5. Cramer R, Weichel M, Flueckiger S, Glaser AG, Rhyner C (2006) Alergias fúngicas: un problema aún sin resolver. *Chem Immunol Alergia* 91:121–133
6. Domínguez-Vilches Eugenio, Galán Carmen, Villamandos, F. & Infante, Félix. (1991). Manejo y evaluación de los datos obtenidos en los muestreos aerobiológicos.1. 1-18.
7. Ellis, M.B. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Mycologia. 64. 932.
8. Fröhlich-Nowoisky J., Pickersgill D., Després V. R. & Pöschl U. 2009. High diversity of fungi in air particulate matter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (31), 12814–12819
9. Gorjón Sergio, Rodríguez de la Cruz David, R, Suárez & Sánchez, Jhonatan. (2003). Variación anual de esporas en la atmósfera de Salamanca durante los años 1995 y 2000. *Polen*. 13. 289-297.
10. Guarín F. A., Alberto M., Abril Q., Alvarez A. & Fonnegra R. 2015. Atmospheric pollen and spore content in the urban area of the city of Medellín, Colombia. *Hoehnea*, 42(1), 9–19.
11. Gutiérrez-Bustillo, Laín, C. & Adela M. (2003). Esporas atmosféricas en la Comunidad de Madrid. *Docs Téc. Salud Pública*. 83. 1-86.
12. Juárez López C., Gaviño de La Torre G. & Figueroa Tapia, H. (1972). *Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo* (No. QH 317. G28).
13. Kurup VP, Banerjee B (2000) Alérgenos fúngicos y epítomos peptídicos. *Péptidos* 21:589–599
14. Lin W. & Li C. 2000. Associations of fungal aerosols, air pollutants, and meteorological factors. *Aerosol Sci Tech*. 32:359–68.
15. Martínez Mahinda. Hernandez-Sandoval Luis & Gómez-Sánchez Maricela, Barcenas Rolando, Guevara-Escobar Aurelio, Suzán-Azpiri Humberto & Malda-Barrera Guadalupe. (2017). Flora y vegetación del Municipio de Querétaro y la

- zona conurbada. CONABIO-Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro.
16. Ojeda Flores Fátima & Hernandez-Sandoval Luis. (2019). Cuantificación y caracterización de polen atmosférico en el norte de la ciudad de Santiago de Querétaro, Qro.
 17. Quintero E., Rivera-Mariani F. & Bolaños-Rosero B. 2010. Analysis of environmental factors and their effects on fungal spores in the atmosphere of a tropical urban area (San Juan, Puerto Rico). *Aerobiología*, 26 (2), 113–124.
 18. Rzedowski Jerzy. (1981). *Vegetacion de Mexico*.
 19. Ruiz S. S., de la Guardia Guerrero C. D. & Sánchez, F. A. (2004). Estudio aerobiológico de los conidios de *Alternaria* y *Cladosporium* en la atmósfera de la ciudad de Almería (SE de España). *Rev Iberoam Micol*, 21, 121-127.
 20. Ščevková, Jana & Tropeková, Mária. (2020). SPORES OF FUNGAL ORGANISMS IN THE ATMOSPHERE OF BRATISLAVA. 55. 2020.
 21. Soldevilla C. G., González, P. C. Teno, P. A. & Vilches E. D. (2007). *Manual de calidad y gestión de la Red Española de Aerobiología*. Córdoba: Universidad de Córdoba.
 22. Vijay HM, Abebe M, Kurup VP (2005) *Alternaria* y *Cladosporium* alérgenos y alergia. En: Kurup VP (ed) *Alergia al moho, biología y patogénesis*. Research Signpost, Kerala, India, págs. 51–67

Utilidad de modelos para pruebas preclínicas antitumorales in vitro

Autor: Rodríguez Soto Dana. Estudiante de Químico Fármaco Biólogo, Facultad de Química, UAQ, Santiago de Querétaro, Qro., México; drodriguez120@alumnos.uaq.mx

Anfitrión: Dra. Carmen Mejía Vázquez. Facultad de Ciencias Naturales, UAQ, Campus Juriquilla, Santiago de Querétaro, Qro., México; maría.c.mejia@uaq.mx

Resumen

El cáncer es una enfermedad causada por la multiplicación de un grupo de células de manera incontrolable y autónoma, invadiendo tejidos y órganos. Esto es ocasionado por la alteración del ADN de la célula, la cual provoca mutaciones que afectan al crecimiento y división normal de las células, multiplicándose de manera acelerada, formando un tumor.

La biología molecular permite el estudio de las células desde sus constituyentes moleculares, como proteínas y ácidos nucleicos, mediante los cuales se pueden analizar los organelos de la célula, su estado y comportamiento. Las alteraciones genéticas en tumores pueden ser divididas en cuatro categorías de acuerdo con Pérez, R.(2017): cambio en secuencia del gen, alteraciones en el número de cromosomas, traslaciones cromosómicas y ampliaciones genéticas, las cuales pueden ser analizadas empleando técnicas de biología molecular, mejorando y detallando este análisis. Durante la estancia se realizaron distintas técnicas de biología molecular como PCR, electroforesis en gel, análisis microscópico, etc., las cuales se busca detallar en este trabajo, junto a la explicación de los inconvenientes presentados y

resultados obtenidos. El procedimiento correcto para estas técnicas es de gran importancia para el diagnóstico y el estudio del cáncer, por lo tanto, se buscó realizarlos de forma exacta, con el menor porcentaje de error posible.

Abstract

Cancer is a disease caused by the multiplication of a group of cells in an uncontrollable and autonomous way, invading tissues and organs. This is caused by the alteration of the cell's DNA, which causes mutations that affect the normal growth and division of cells, multiplying rapidly, forming a tumor.

Molecular biology allows the study of cells from their molecular constituents, such as proteins and nucleic acids, through which the cell's organelles, their state and behavior can be analyzed. Genetic alterations in tumors can be divided into four categories according to Pérez, R. (2017): change in gene sequence, alterations in the number of chromosomes, chromosomal translations and genetic extensions which can be analyzed using molecular biology techniques, improving and detailing this analysis. During the stay, different molecular biology techniques were carried out, such as PCR, gel electrophoresis, microscopic analysis, etc., which are sought to be detailed in this work, together with the explanation of the inconveniences presented and the results obtained. The correct procedure for these techniques is of great importance for the diagnosis and study of cancer, therefore, it was sought to perform them accurately, with the lowest possible error rate.

Introducción

De acuerdo con el Instituto Nacional del Cáncer, la tasa de casos nuevos por año de cáncer es de 442,4 por 100 000 habitantes, convirtiéndose en la segunda causa de muerte a nivel mundial. Este impacto sobre la tasa de mortalidad provoca un elevado impacto socioeconómico y de salud a nivel nacional e internacional, por lo que su diagnóstico, tratamiento y estudio representan un reto para la ciencia. La biología molecular es una rama de la ciencia utilizada

en el estudio de esta enfermedad, ya que permite conocer y analizar de forma precisa aspectos moleculares de las células y los mecanismos químico-moleculares que intervienen en la formación y desarrollo de esta enfermedad, mediante diferentes vías de señalización y caracterización.

En el ciclo celular, especialmente la interfase, se subdivide en: G1(aumento en el tamaño celular), S (replicación ADN) y G2 (preparación para mitosis). Una correcta regulación del ciclo celular es fundamental para que las células lleven a cabo un ciclo normal, replicando adecuadamente su material genético y dividiéndose. En un organismo multicelular, es necesario que exista un equilibrio entre la división celular para reemplazar aquellas que sufrieron de muerte celular. Estas son las bases del cáncer, es decir, en el desequilibrio del aumento de proliferación celular se forma un tumor. Otra forma en la que las células comienzan a proliferar es al no lograr una apoptosis correcta, provocando un ciclo celular más rápido, y después de un cierto número de divisiones celulares, se obtiene mayormente células atípicas.

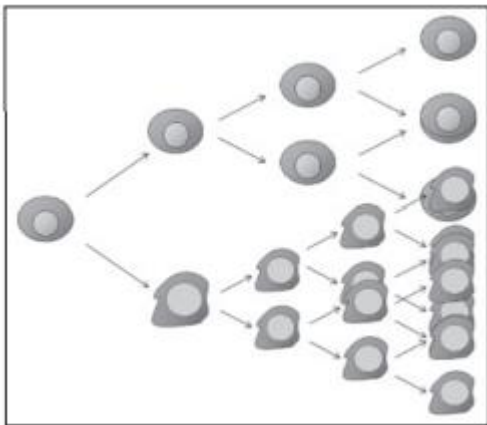


Figura 1. Alteración en el curso de la división celular.

(Rev.R.,Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. 2015;107)

Estos procesos de proliferación acelerada e incorrecta es el resultado de mutaciones en los genes que controlan estos procesos. Algunos tipos de alteraciones genéticas en el cáncer son:

- Cambio en secuencia del gen: Son inserciones de nucleótidos en la secuencia del gen. Se detecta mediante PCR en tiempo real.
- Alteraciones en el número de cromosomas: Pérdida o ganancia de cromosomas.
- Amplificaciones genéticas: Se encuentran múltiples copias de amplicones (0.5-10 mega bases de ADN).

(Pérez-Cabeza & Cardenas-Cardenas, 2017)

Estas alteraciones junto a otros cambios y reacciones moleculares, especialmente modificaciones a nivel genético son estudiadas mediante técnicas de biología molecular, la cual permite describir y concluir de manera precisa y detallada fenómenos celulares presentes en enfermedades.

Objetivos

Explicar y definir el fundamento de distintas técnicas de biología molecular utilizadas en el laboratorio para el estudio de células y ADN; así como la metodología adecuada, materiales y posibles inconvenientes durante la práctica. También se busca realizar un análisis y justificación breve de los resultados obtenidos durante estas pruebas.

Metodología

Las pruebas y técnicas realizadas en el laboratorio en su mayoría se basan en el uso del ADN y células, por lo que todo el material utilizado se sometió a un tipo de esterilización y limpieza, adecuada dependiendo el tipo de materia prima de la cual están hechos. La importancia de la esterilización del material radica en la eliminación de microorganismos y restos de material en el equipo a utilizar, ya que estos pueden ocasionar resultados erróneos y complicaciones en otras técnicas, interviniendo en las conclusiones de la experimentación. El material de plástico y vidrio que tendrá contacto directo con las muestras a utilizar en la práctica son esterilizados en un autoclave, envolviéndolos con papel Kraft, para posteriormente ser introducidos en el autoclave, ajustando las medidas de temperatura y presión acuerdo al fabricante y a la capacidad de resistencia del material

introducido. Una vez realizado esto, el material es colocado en la secadora, la cual actúa mediante convección forzada, secando el material en su interior, eliminando toda la humedad posible.

Una vez esterilizado el material a utilizar en las técnicas relacionadas con pruebas moleculares, se realizó la limpieza adecuada de la campana para cultivo celular, utilizando soluciones de limpieza adecuadas (etanol al 70 %) y luz ultravioleta durante 40 minutos. La limpieza del material como de la campana de cultivo es realmente importante para cada técnica de laboratorio, especial cuando se trabaja con células, ya que la contaminación de un cultivo celular se debe a la introducción de microorganismos que dañan o destruyen las células presentes.

Cultivos celulares

Durante la realización de varias pruebas en el laboratorio, se observaron distintos cultivos celulares con contaminación, la cual se observaba mediante el microscopio; en donde las células presentaban granulación en su estructura, así como en el medio se observaban algunas impurezas, las cuales podían ser bacterias.

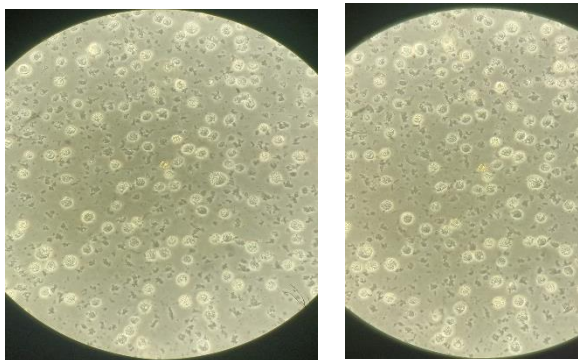


Figura 2. Células al microscopio con contaminación.

Para confirmar la presencia de bacterias en el cultivo se realizó una tinción Gram, la cual se basa en el fundamento de la coloración de microorganismos buscados de acuerdo a la presencia de peptidoglucanos en su pared celular; las bacterias Gram negativas cuentan con una capa fina de peptidoglucanos, tiñéndose de color rosado, mientras

que las bacterias Gram positivas cuentan con una pared celular compuesta principalmente por peptidoglucanos, reteniendo el colorante y tiñéndose de color morado. Como primer paso para realizar la tinción, se centrifugó varias veces el tubo con la muestra, decantando el sobrenadante; una vez que se observaba el precipitado libre de medio de cultivo, este se colocó sobre un portaobjetos junto a una gota de agua destilada, la cual se evaporó cuidadosamente con la flama de un mechero. Una vez listo el portaobjetos se agregó colorante violeta de genciana durante 30 segundos, enjuagando con agua destilada, después se agregó yodo durante 1 minuto, se enjuagó con alcohol al 70% y finalmente se agregó safranina durante 30 segundos, enjuagando con agua destilada. Una vez lista la tinción, se observó al microscopio con ayuda del objetivo de 100X y aceite de inmersión. Al microscopio se podían observar algunos cocos, estreptococos y estafilococos, confirmando la presencia de bacterias en el cultivo. Las muestras contaminadas no eran de utilidad, ya que los microorganismos presentes podían intervenir en los resultados y análisis.

Para continuar con la confirmación de la contaminación se descongeló otra muestra de células, las cuales se encontraban suspendidas en dimetilsulfóxido (DMSO), para evitar la formación de hielo dentro del tubo. Para eliminar el DMSO de la muestra se colocaron en 2 ml de células con 8 ml de medio de cultivo EMEM, el cual está compuesto por concentraciones adecuadas de sustancias requeridas para el crecimiento celular. El tubo que contenía ambos compuestos se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos a 26 °C. Una vez finalizada el periodo de centrifugación, se decantó el sobrenadante y se le agregaron 4 ml de PBS al 1% al sedimento, el cual se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. Este último paso se realizó varias veces hasta observar el mínimo medio de cultivo presente. Cuando la muestra estaba lista, se decantó el PBS, y al sedimento se le agregaron 2 ml de medio de cultivo EMEM, una vez homogénea la mezcla, se agregó lentamente a una caja Petri, junto a 2 microlitros adicionales de medio de cultivo. El fundamento del uso del buffer fosfato salino (PBS) se centra en el mantener un pH

fisiológico y concentración electrolítica constantes para las células, facilitando su estabilidad. Para finalizar el proceso de “enjuague” del cultivo celular, se guardó la caja Petri en la incubadora, la cual se encuentra a 35-36°C. Esta incubadora cuenta con gasificación de CO₂ el cual es útil para controlar la humedad y pH del medio, creando una condición adecuada para las células en el cultivo.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Mediante la clonación de ADN en la biología molecular se pueden replicar copias idénticas de un fragmento. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de laboratorio que permite replicar muchas veces una determinada región de ADN de forma in vitro. La PCR se basa en el cambio de temperaturas de manera rápida para desnaturar el molde de ADN y separar sus cadenas.

En esta técnica de laboratorio se utilizó como cebador el Forward Primer y el Reverse Primer, los cuales son regiones de ADN de cadena sencilla que permiten flanquear la región a replicar. Los Primer se unen al molde de ADN mediante complementariedad de bases, para después ser extendidos por la polimerasa, copiando la región que se encuentra entre ellos. El paso seguido para la PCR fue colocar en dos tubos las cantidades siguientes:

	AM	BM
Primer FW	1 µL	1µL
Primer RV	1 µL	1µL
cDNA SK	0.53 µL (1:20)	8 µL
H₂O DEPC	7.47µL	

El tubo BM actúa como control negativo, ya que contiene todos los reactivos excepto el ADN molde, esto sirve para detectar posibles errores.

Una vez listos los tubos se introdujeron al termociclador, el cual fue programado de la siguiente forma:

- **Desnaturalización inicial** (98°C durante 10 segundos): Se rompen los puentes de hidrógeno, quedando una cadena molde para

la síntesis de una nueva cadena complementaria.

- **Desnaturalización** (98°C durante 4 segundos).
- **Alineamiento** (60°C durante 5 segundos): Los iniciadores se alinean a sitios específicos de las cadenas a amplificar.
- **Extensión** (72°C durante 15 segundos): Se sintetiza una nueva cadena, uniéndose la ADN polimerasa a los iniciadores comenzando la replicación.
- **Extensión final** (72°C durante 60 segundos).
- **Hold** (4°C).

La desnaturación, alineamiento y extensión se repite durante 30 ciclos, tardando 2-4 horas aproximadamente. Una vez terminada la programación del termociclador, los resultados se visualizaron mediante electroforesis.

Electroforesis en gel

La electroforesis en gel es una técnica de laboratorio que permite separar fragmentos de ADN según su tamaño. Esta técnica permite observar si la PCR fue correcta, en este procedimiento buscaba la secuencia de ADN de genes MYC, especialmente el gen N-MYC, el cual es asociado a neuroblastomas y linfomas. Para confirmar la presencia de esta secuencia se realizó la PCR, para posteriormente realizar la electroforesis. Esta técnica se basa en aplicar una corriente eléctrica a través de gel que contiene las moléculas de interés, y éstas en base a su carga y tamaño se desplazan a través del gel y sus poros.

Para la realización de este procedimiento se preparó un gel con 0.2 gr de agarosa, 2.5 µL de SYBR Safe y 25 ml de TBE 1X; una vez solidificada la mezcla, se colocó en la cámara para electroforesis, de manera que los pozos quedarán en la misma dirección que el ánodo negativo donde se agregaron 250 µL de TBE 10X hasta cubrir el gel. Como siguiente paso, se colocaron gotas de 1 µL sobre un papel Parafilm; utilizando una micropipeta se tomó 1 µL de las muestras a analizar y se mezclaron con las gotas de colorante. Una vez homogenizada la mezcla de

sustancias, se agregaron a los pozos del gel. En esta técnica es necesario el uso de un marcador de peso molecular, el cual es una escala de tamaño conocido, con la que se pueden comparar las otras muestras. Para su preparación, se usó 1 μL de marcador mezclado con 0.5 1 μL de colorante; esta mezcla se colocó en el último pozo del gel. Finalmente, se colocó la tapa de la cámara y se encendió la corriente eléctrica durante 40 minutos. Debido a los grupos fosfato del ADN, éste tiene una carga negativa, por lo que con la energía eléctrica comienzan a desplazarse a través del gel hacia el polo positivo de la cámara. Los fragmentos más pequeños viajan más rápido por los poros del gel, llegando más cerca al polo positivo, mientras que los fragmentos más grandes no se moverán mucho, quedando cerca de los pozos. Una vez finalizado el tiempo de la corriente eléctrica, los fragmentos fueron separados, formándose bandas de distintos tamaños, los cuales fueron visibles al colocar el gel bajo luz UV dentro del fotodocumentador.

Resultados y discusión

Cultivos celulares

Los cultivos celulares visualizados al microscopio presentaban contaminación; se podían observar pequeños granulaciones tanto en las células como en el medio de cultivo. La tinción Gram llevada a cabo para confirmar la presencia de bacterias, fue exitosa, ya que al microscopio se observaron bacterias en forma de cocos y estreptococos principalmente. Durante distintas pruebas, revisiones, preparación de cultivos y análisis de muestras se observaron microorganismos contaminantes, indicando que durante el procedimiento y en el uso de material y equipo se encuentra la fuente principal de contaminación.

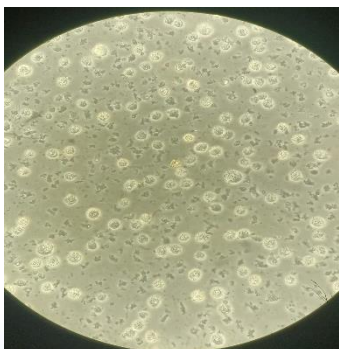
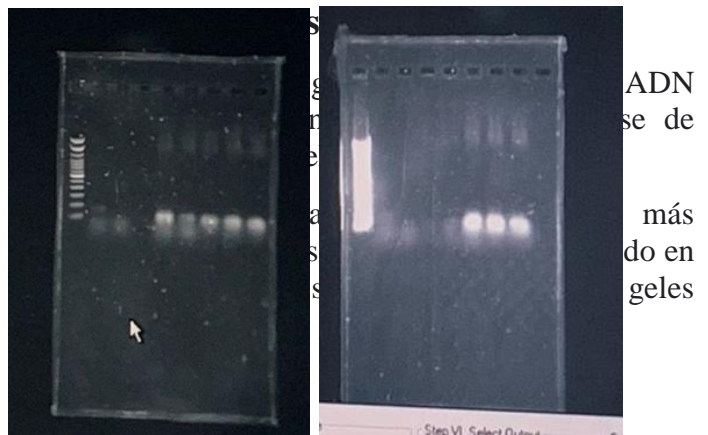


Figura 3. Muestra al microscopio



ADN
se de
más
do en
geles

Figura 5. Revelación de geles en luz UV.

La revelación de los geles realizados indica que ocurrieron algunos errores; en el gel de la derecha el marcador de peso molecular que se encuentra en la último pozo no se observa en forma de bandas claras, si no que se observa una sola banda larga. Los demás carriles del gel no se observaron con claridad, indicando que durante el procedimiento pudieron ocurrir algunas contaminaciones, problemas con la carga del pozo, problemas con la corriente eléctrica o una mala visualización con el fotodocumentador. Dentro de los pozos de este mismo gel se observan dos puntos, los cuales indican un posible error al descargar la muestra dentro del pozo, especialmente una perforación del gel con la micropipeta; este error interfiere en la distribución de la muestra, así como en su visualización ante la luz UV.

El gel de la izquierda presenta una distribución de las bandas más uniforme; el marcador de peso molecular

se visualiza en formas de pequeñas bandas delgadas. Las demás bandas del gel se observan de manera más clara, mostrando su separación de acuerdo a su tamaño y carga eléctrica. La comparación de la muestra se realizó con el marcador del peso molecular, el cual indica cadenas de peso conocido, y con este es posible saber si la PCR fue correcta, así como la presencia de cadenas de interés.

Conclusiones

La realización de las distintas técnicas de biología molecular junto a sus resultados obtenidos me permiten entender la importancia de estos procesos durante las investigaciones realizadas a nivel celular y molecular.

Las técnicas *in vitro* del laboratorio de biología molecular como el cultivo celular requieren de condiciones especiales y precisas para su correcto almacenamiento y desarrollo. Todo este procedimiento realizado para el manejo de los cultivos celulares y muestras de células me permitieron comprender y aprender la sensibilidad e importancia de las células y el material genético en el área de la investigación sobre el cáncer.

La PCR y electroforesis realizadas fueron en general exitosas, ya que las muestras corrieron de manera correcta y su revelación a luz ultravioleta. Durante la realización de esta técnica comprendí la importancia del ADN, junto a las características de las cadenas de tamaño específico, y su contribución a las investigaciones sobre el ADN, sus cadenas, interacciones y mutaciones.

Durante el proceso de estas técnicas se presentaron algunos errores, los cuales retrasan la investigación, sin embargo, ayudan a buscar mejorar en el proceso de limpieza, esterilización, manejo y precauciones con las muestras de células y materiales usados.

Todas las técnicas *in vitro* realizadas junto a los errores aprendidos y resultados forman parte del

laboratorio de investigación, así como contribuyen en el estudio sobre las células y el cáncer, ya que permite buscar interacciones de interés entre las moléculas, células, ADN y ARN para poder avanzar en la comprensión e investigación del cáncer a nivel celular.

Referencias

R. Pérez-Cabeza, E. Cárdenas- Cárdenas, P. Mondragón-Terán, A. A. Erazo- Valle Solís. “Biología molecular del cáncer y las nuevas herramientas en oncología”, Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas, vol.22, pp. 171-181, 2017.

Espinosa L. 2007. Guía práctica sobre la técnica de PCR. En: Eguiarte L., V. Souza y X. Aguirre (comps.). Ecología molecular. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad e Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F., México, pp. 517-526.

López-Durán, M., Campo-Trapero, J., Cano-Sánchez, J., Díez-Pérez, R., & Bascones-Martínez, A. (2010). Aplicación de las técnicas de biología molecular en oncología oral. *Avances en Odontostomatología*, 26(4), 189-196. Recuperado en 27 de julio de 2022, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852010000400003&lng=es&tlng=es.

L. Franco-Vera. “Las bases moleculares del cáncer”, Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp). Vol. 107, N.º. 1-2, pp 161-176, 2014. XVI Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica.

O. Monzón., E. Mora-Padilla., L. Torres-Tobar., L. Dary-Gutiérrez. R. Cladelis. “Bases moleculares del

cáncer”, Repertorio de Medicina y Cruzía. Vol. 20 N°4, 2011.

Lauer, J.L., Battles, D.R. & Vesley, D. (1982). Decontaminating infectious laboratory waste by autoclaving. Applied and Environmental Microbiology, 44(3), 690-694.

Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina UASLP. (2008). “Preparación de Phosphate Buffered Saline (PBS) ”, abril 2, 2008.

Biocombustibles: producción, cadena de suministro y perspectivas en México.

Diana Patricia Pacheco Sóstenes, Claudia Gutiérrez-Antonio

Facultad de Química y Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Cerro de las Campanas S/n, Col. Las Campanas, Querétaro, Querétaro, 76010, México.

Autor de correspondencia. Correo electrónico: dpacheco17@alumnos.uaq.mx

Resumen

Desde hace algunos años se han buscado alternativas renovables, sostenibles y además económicamente viables para sustituir el combustible fósil. A estas energías renovables se les conoce como biocombustibles, no obstante, aún hay muchos factores a considerar; para garantizar que los procesos involucrados sean, por antonomasia, biorenovables. Las fuentes potenciales de aceite que se exploran en este estudio son de segunda y tercera generación: aceite de re-uso y aquel proveniente de microalgas (*Chlorella vulgaris*); se analizaron sus características físicas como bioquímicas; los bioprocesos involucrados, la viabilidad y su relación con la cadena de suministro para maximizar el rendimiento sin eludir los parámetros establecidos.

Palabras clave: biocombustible, microalgas, aceites de re-uso, producción en México.

Abstract

For some years there has been a search for renewable, sustainable, and economically viable alternatives to replace fossil fuels. These renewable energies are

known as biofuels, however there are still many factors to consider so that the processes involved are guaranteed to be, par excellence, biorenewable.

The potential sources of oils that are explored in this study are of second and third generation: reused oil and that which proceeds from microalgae (*Chlorella vulgaris*); the physical and biochemical characteristics, bioprocesses involved, the viability and the relationship with the supply chain were analyzed to enhance the performance without bypassing the established parameters.

Keywords: biofuels, microalgae, reused oils, production in México.

Introducción

En México, el consumo de energía procedente de combustibles fósiles representó un 90.4% (Banco Mundial) durante el 2015, generando un alto impacto ambiental; en el mismo año el país emitió 683 millones de toneladas de bióxido de carbono (*Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero - INEGYCEI*), de las cuales el 64% correspondió al consumo de combustibles fósiles. Tomando en cuenta que se tiene previsto un incremento en el uso de combustibles en todos los sectores, la elevación de sus costos, las crisis energéticas, entre otros factores como las emisiones antropogénicas de gases y compuestos de efecto invernadero con altas repercusiones al cambio climático. Por lo anteriormente expuesto, se han buscado alternativas renovables a esta situación en cuestión dando paso a lo que se conoce como biocombustibles, alternativa energética renovable obtenida mediante el procesamiento de biomasa; no obstante, la creación de estos productos considera procesos que aún hoy en día son difíciles de realizar, además de involucrar muchos factores que igualmente tienen un alto impacto ambiental como lo es la seguridad alimentaria, emisiones de gases nocivos, deforestación, entre muchos otros aspectos tanto económicos como sociales.

México tiene un alto potencial como productor dentro de la industria de biocombustibles (Gomez-Castro, 2019) debido a su amplio territorio con potencial

agroindustrial y alta cantidad de residuos que pueden emplearse para los bioprocesos. La evaluación de la efectividad de la producción de biocombustibles depende mucho de la cadena de suministro además de un análisis puntual sobre el ciclo de vida para cuantificar los factores secundarios con alto impacto en varias esferas de la sociedad antes mencionadas.

Algunas de las alternativas consideradas para este proyecto son: utilización de aceites residuales y la producción de microalgas (*Chlorella vulgaris*); siendo estos aceites de segunda y tercera generación respectivamente.

En particular, se tomará en cuenta la cadena de suministro de biocombustibles dado que esta presenta uno de los grandes aspectos a considerar. La concatenación de procesos implica un alto obstáculo a vencer en cuanto a minimizar el impacto ambiental y que, adicionalmente, se pueda cubrir la demanda nacional de manera efectiva relacionando las áreas de cultivo, donde se obtiene la materia prima, con las biorefinerías y plantas de procesamiento, y estas a su vez; con lo anterior para llegar al mercado esperado sin ignorar todos los criterios básicos que dotan a este producto de su carácter sustentable.

Objetivos

Reducir los costos y emisiones en la cadena de suministro en cuanto a la producción de biomasa para lograr un menor impacto ambiental y al mismo tiempo eficientizar los procesos involucrados en la producción de biocombustibles; esto a través de un análisis sobre los recursos, materias primas, características bioquímicas, ambientales, sociales y económicas de cada estado de la república mexicana.

Metodología

Se realizó una amplia investigación en cuanto a las propiedades de los dos tipos de aceites utilizados para la producción de biocombustibles: aceite de re-uso y microalgas; además de una recolección de datos de los 32 estados de la federación mexicana para eventualmente hacer una relación de acuerdo con los factores a considerar para la cadena de suministro.

Respecto a las microalgas, dado que su crecimiento implica varios factores, tal como: intensidad de luz,

tipo de estructura empleada para su crecimiento (estanque abierto o fotobiorreactor), temperatura, nutrientes, fuentes de agua, entre otros parámetros; se tomó en consideración la relación que existe en cada estado respecto a temperatura media y la viabilidad de usar aguas residuales. Enlazado a estos factores se contempló la posibilidad de integrar la producción a partir de microalgas con otras plantas industriales.

Para los aceites de reuso se hizo un resumen de la cantidad de los residuos peligrosos generados en el país, las empresas destinadas a su recolección, además de abordar ciertos factores que limitan su carácter sustentable.

Resultados

Microalgas

Las microalgas son organismos unicelulares fotosintéticos, su hábitat de crecimiento es bastante versátil, pueden proliferar desde lagos hasta aguas residuales, evitando así competir con el suelo destinado a agricultura alimentaria; tienen aplicaciones en biorremediación, fijación del CO_2 ; los combustibles a base de estos organismos producen niveles de oxígeno entre el 10-45% y niveles bajos de emisiones de sulfuro (Khan et al. 2018). A diferencia de los biocombustibles de segunda generación, presentan muchas ventajas: el crecimiento acelerado proyecta el potencial de convertir 9-10% de energía solar en biomasa, produciendo, a menor escala, aproximadamente 280 ton/ha/año (Melis, 2009). Las microalgas carecen de materiales lignocelulósicos lo cual permite que el proceso de pretratamiento sea más sencillo y por ende se reduzcan los costos de producción (Khan et al, 2018). Asimismo, no solo producen altas cantidades de lípidos sino glucógeno, agar, celulosa y otros compuestos orgánicos que pueden ser empleados en la síntesis de bioetanol.

Pareciera que las microalgas tienen un futuro prometedor, no obstante, algunos de los obstáculos que han ralentizado su desarrollo involucran la cadena de producción, fuente de nutrientes ideales, temperatura, rango de luz y mezclado constante, eficientizar el proceso para reducir costos, el pretratamiento de la biomasa, extracción y

refinamiento de la biomasa residual, etc. (Hannon et al. 2010)

Uno de los principales aspectos a considerar es decidir si el cultivo de biomasa se realiza a lago abierto o mediante fotobiorreactores. Algunos de los factores clave para el crecimiento a lago abierto son la luz, temperatura y contaminación. Para la *Chlorella vulgaris* el rango de temperatura idóneo para maximizar su producción de lípidos y carbohidratos es de 25°C, sin sobrepasar los 30°C (Converti et al. 2009), de acuerdo con los registros de temperatura media promedio anual del 2021 en la República Mexicana los estados que se encuentran en dicho rango son: Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Nayarit, Quintana Roo, Sinaloa, Tabasco y Yucatán (Tabla 1).

Tabla 1. Temperatura media anual por estado

Estado	Temperatura media anual 2021 (°C)
Aguascalientes	17.4
Baja California	20
Baja California Sur	23.4
Campeche	27.5
Coahuila	22.4
Colima	26.8
Chiapas	25.2
Chihuahua	19.1
Ciudad de México	17.9
Durango	18.6
Guanajuato	19.1
Guerrero	25.5
Hidalgo	18.8
Jalisco	21.5
México	15.1
Michoacán	20.3
Morelos	22.1
Nayarit	25.5
Nuevo León	22.6
Oaxaca	23.4
Puebla	18.6
Querétaro	20.1
Quintana Roo	27.6
San Luis Potosí	23.7
Sinaloa	25.8
Sonora	23
Tabasco	27.5
Tamaulipas	25
Tlaxcala	15.1
Veracruz	23.1
Yucatán	27.1

Zacatecas	18.2
-----------	------

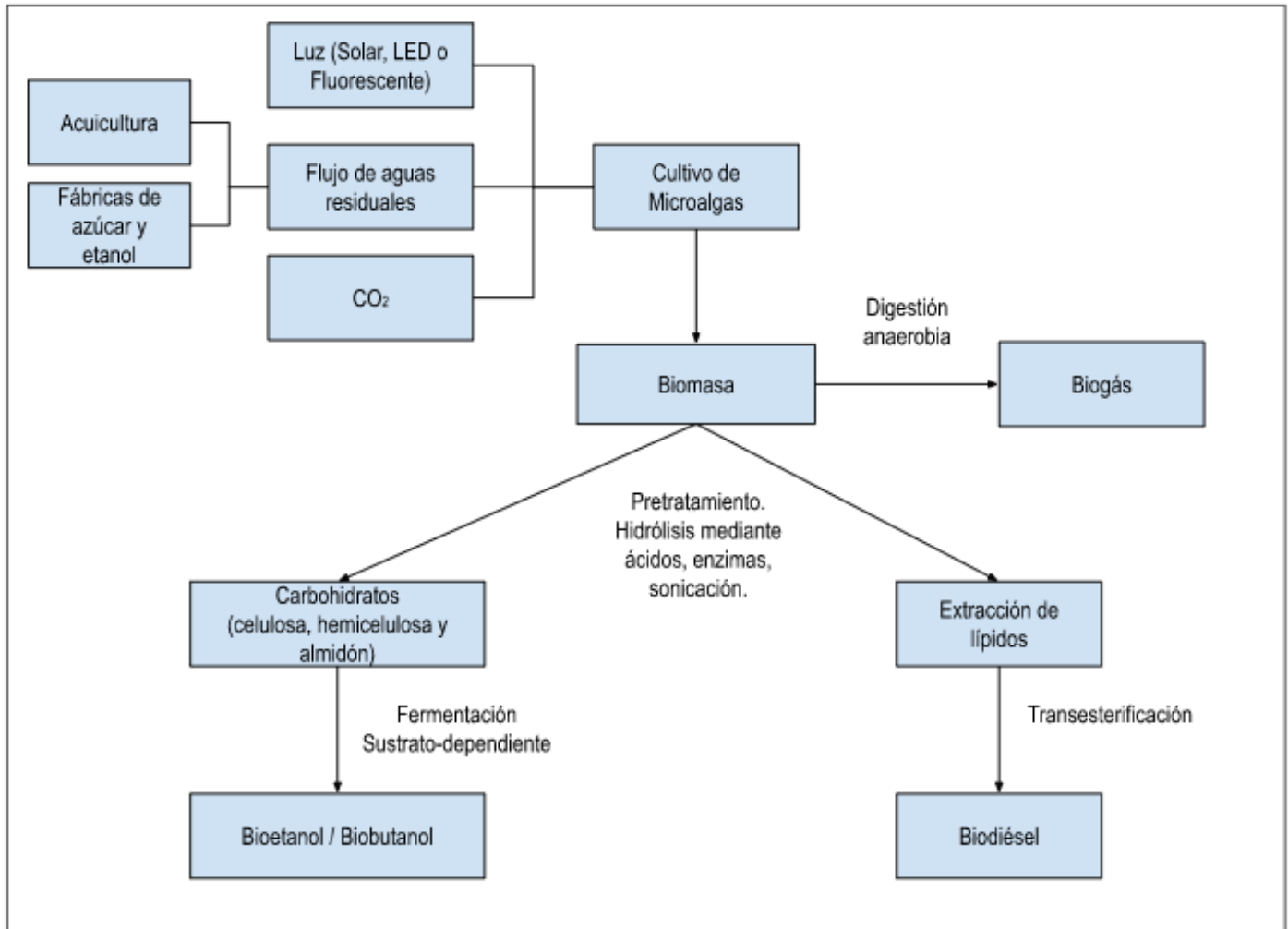
Si bien el cultivo a lago abierto presenta una mayor rentabilidad dado la reducción de costos en mantenimiento, se ha observado que es más difícil llevar un control de crecimiento y son propensos a contaminarse mediante bacterias competitivas, parásitos u otros depredadores acuáticos, generando un problema de sustentabilidad. Sin bien las microalgas pertenecientes a la familia de las *Chlorella* presentan características antibacteriales inhibiendo bacterias tanto gram-positivas como gram-negativas, se podría considerar desarrollar un ambiente simbiótico con otros microorganismos que presenten características antimicrobianas y creen sinergia con la alga de interés para potenciar la producción de biodiesel (Hannon et al, 2010).

En cuanto a los fotobiorreactores se debe tomar en consideración igualmente la intensidad de luz en un rango de 5000-7000 lx para *Chlorella vulgaris*, con un intervalo de 16 h luz/8h oscuridad, intercalando 3 días con luz azul y dos días con luz roja o viceversa (Daliry et al, 2017), esto puede ser fácilmente regulado con luz de LED o tubos fluorescentes para incrementar la producción tanto de biomasa como de lípidos (Huanyang, 2016); aunado a esto se debe considerar un buen proceso de mezclado para que la distribución sea uniforme y no se dé lugar a una fotoinhibición. La agregación de nutrientes dentro del flujo de los reactores es imprescindible para maximizar el rendimiento; como cualquier microorganismo es importante analizar los medios de cultivo adecuados para su desarrollo y controlar los procesos metabólicos para obtener los productos requeridos. Puntualmente se ha observado en algunos estudios como el de Khan et al. (2018) que el crecimiento de *Chlorella* se vio afectado por bajas concentraciones de nitrógeno y fósforo; de manera específica el nitrógeno se presenta como un reactivo esencial para potenciar la síntesis de carbohidratos y lípidos, 0.5 g/l es la concentración reportada como eficaz para *Chlorella vulgaris*.

El uso de fertilizantes para nutrir el flujo de los biorreactores compromete incrementar los costos de la cadena de producción; esto sin considerar la inversión en el pretratamiento de la biomasa, por

ende, se ha explorado la viabilidad de acoplar la producción a otras plantas industriales tal como granjas acuícolas, fábricas productoras de azúcar o etanol (**Fig. 1**).

proceso, igualmente puede ser utilizado como una fuente de nutrientes para las algas que se encuentran en los lagos o fotobiorreactores (Zewdie, 2020). Según datos de la CONADESUCA, en México hay



En México hay más de 9,325 granjas acuícolas localizadas alrededor de los 32 estados de la federación, según datos de la SAGARPA; siendo Sonora, Sinaloa y Baja California las principales entidades generadoras con un 79% de la producción nacional. Los efluentes provenientes de la acuicultura tienen una gran cantidad de materia orgánica, además de altas concentraciones de nitrógeno y fósforo.

De manera conjunta el agua residual utilizada para los molinos de azúcar presenta una alta cantidad de nutrientes; si sumado a esto se toma en consideración las plantas que tienen acoplada una fábrica de producción de etanol la vinaza, subproducto del

más de 40 ingenios de producción de la caña de azúcar, la mayoría ubicadas en zona centro.

Desechos

En México de 2004 a 2016 se desecharon aproximadamente 478,838 toneladas de aceites, representando 19.9% del total de volúmenes de residuos peligrosos y según datos del INECC en el país se desechan 325 millones de litros por año. La **Tabla 2.** presenta el total de los diferentes tipos de aceites gastados en un periodo de 2004-2020.

Tabla 2. Aceites gastados en toneladas periodo 2004-2020 (SEMARNAT)

Tipo de aceite	Toneladas
Dieléctricos	94,326.45
Lubricantes	303,027.19
Hidráulicos	58,663.13
Solubles	15,923.99
Templado de metales	383.72
otros	98,687.28

Aunado a esto se debe tomar en cuenta que en algunos estados ya existen empresas encargadas de recolectar o reciclar aceites usados: Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Veracruz, Yucatán y Zacatecas. Siendo Nuevo León, Estado de México y Baja California los estados con mayor cantidad de empresas destinadas al control de estos desechos peligrosos.

Tabla 3. Generación estimada de residuos peligrosos en la industria alimenticia por entidad federativa en un periodo del 2004-2020

Entidad federativa	Generación estimada de residuos peligrosos (Toneladas)
Aguascalientes	2,790.53
Baja California	409.17
Baja California Sur	55.93
Campeche	67.84
Coahuila	1,060.46
Colima	108.88
Chiapas	233.78
Chihuahua	557.37
Ciudad de México	41,595.25
Durango	244.29
Guanajuato	1,044.61
Guerrero	65.64
Hidalgo	244.07
Jalisco	22,459.22
México	531.85
Michoacán	495.72
Morelos	193.87
Nayarit	519.36
Nuevo León	3,518.60
Oaxaca	92.61
Puebla	390.42
Querétaro	196.46
Quintana Roo	117.95
San Luis Potosí	221.15
Sinaloa	800.02

Sonora	383.82
Tabasco	1,157.43
Tamaulipas	555.73
Tlaxcala	31.25
Veracruz	1,480.60
Yucatán	365.60
Zacatecas	94.89

Los desechos generados por el uso de aceite de cocina representan un gran peligro ambiental dado su extenso uso en la industria y el pobre control sobre su descarga, además el re-uso directo en la industria alimentaria provoca grandes daños a la salud, aumentando la posibilidad de desarrollar cáncer. La **Tabla 3.** presenta la generación de residuos peligrosos únicamente por la industria alimentaria.

Si bien el aceite de re-uso contiene partículas suspendidas y ácidos grasos libres (AGL), es posible producir biodiésel mediante una purificación; esterificación, en dado caso de tener una alta concentración de AGL; y una sencilla reacción de transesterificación. Este proceso se lleva a cabo con ayuda de filtrados y uso de catalizadores, siendo estos últimos de carácter ácido, básico o enzimático; creando una solución sustentable, económicamente viable, con impacto positivo hacia el manejo y almacenamiento de estos desechos.

El único problema en cuanto a este proceso es la huella hídrica generada al limpiar el producto y eliminar los catalizadores, creando un alto consumo de agua, además de generar contaminantes per se, puesto que algunos de estos sustratos tienen un carácter corrosivo; si bien se han abordado soluciones a este conflicto mediante el uso de catalizadores heterogéneos o nanopartículas de óxido de calcio que suponen un menor impacto ambiental, facilidad en su manejo y reducción de costos (Degfie et al, 2019).

Discusión y conclusiones

Las aguas residuales provenientes de las granjas acuícolas o aquellas de fábricas de etanol podrían integrarse a las plantas de producción de microalgas para aportar los nutrientes necesarios y así reducir de manera considerable los costos dentro de la cadena de suministro, tanto en el uso de fertilizantes como en el desplazamiento de recursos.

Respecto a los aceites de re-uso, su integración a plantas de transesterificación es sumamente viable dado que ya existen redes de recolección de residuos peligrosos en varios estados del país; sin embargo, quedan varias lagunas donde el proceso requiere mayor área de investigación para que su desarrollo sea sustentable, involucrando principalmente el uso de catalizadores eficientes y no contaminantes.

Si bien aún queda un largo camino que recorrer para que la biomasa empleada en la producción de biodiésel sea aprovechada a su máximo potencial y que los procesos involucrados en todo el ciclo de la vida generen alto rendimiento y menor impacto ambiental respecto a los combustibles fósiles; en México ya existen bastantes bases donde se pueden crear redes de recolección, desarrollo y suministro de biocombustibles. Por último, es importante reconocer que las nuevas biotecnologías son un factor integral en el descubrimiento de nuevos procesos y mejoramiento de las técnicas ya empleadas.

Agradecimientos

Especial mención a la Facultad de Ingeniería y la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Referencias bibliográficas

Banco Mundial. (2015). Consumo de energía procedente de combustibles fósiles (% del total) – México. Disponible en: <https://datos.bancomundial.org/indicador/EG.USE.COMM.FO.ZS?locations=MX>

Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E., Perego, P., Del Borghi, M. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, Volume 48, Issue 6, 2009, Pages 1146-1151, ISSN 0255-2701, <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.03.006>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255270109000415>)

Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. (2013). *Acuicultura en México.*, Distrito Federal, 2013. [Microsoft PowerPoint - 01_Conf_Magistral_1_Alfredo_Aranda.ppsx \(conapesca.gob.mx\)](https://www.conapesca.gob.mx/01_Conf_Magistral_1_Alfredo_Aranda.ppsx)

Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar "CONADESUCA". (2022). Directorio de Ingenios de México, zafra

2021/22. Disponible en: https://www.siiba.conadesuca.gob.mx/geoportalconadesuca/Directorio_De_Ingenios.aspx

Dailry, S., Hallajisani, A., Mohammadi Roshandeh J., Nouri, H., & Golzary, A. (2017). Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 3(2), 217-230.

Degfie, T.A., Mamo, T.T. & Mekonnen, Y.S. Optimized Biodiesel Production from Waste Cooking Oil (WCO) using Calcium Oxide (CaO) Nano-catalyst. *Sci Rep* 9, 18982 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55403-4>

Gómez Castro, F. I., Gutiérrez Antonio, C., Hernández, S., Conde Mejía, C., López Molina, A., & Morales Rodríguez, R. (2019). Producción de biocombustibles en México: Parte 2. Procesos de producción y áreas de oportunidad. *Digital Ciencia@UAQRO*, 12(2), 51-60. Recuperado a partir de <https://revistas.uaq.mx/index.php/ciencia/article/view/31>

Hannon M, Gimpel J, Tran M, Rasala B, Mayfield S. Biofuels from algae: challenges and potential. *Biofuels*. 2010 Sep;1(5):763-784. doi: 10.4155/bfs.10.44. PMID: 21833344; PMCID: PMC3152439.

Huanyang Wu, "Effect of Different Light Qualities on Growth, Pigment Content, Chlorophyll Fluorescence, and Antioxidant Enzyme Activity in the Red Alga *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)", *BioMed Research International*, vol. 2016, Article ID 7383918, 8 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7383918>

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (2018). Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero (INEGYCEI). Disponible en <https://cambioclimatico.gob.mx/estadosmunicipios/Emisiones.html>

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). (2015). Primer Informe Bienal de Actualización ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. INECC/Semarnat, México. Disponible en: <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero>

Khan, M.I., Shin, J.H. & Kim, J.D. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microb Cell Fact* 17, 36 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>

Melis, A. Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: Minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency, *Plant Science*, Volume 177, Issue 4, 2009, Pages 272-280, ISSN 0168-9452, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.06.005>.

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945209001861>)

Secretaría de economía "SE". (2013). Análisis de la situación económica, tecnológica y de política comercial del sector edulcorantes

en México, Febrero 2013. Disponible en:
https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/Analisis_Sectorial_Mercado_Edulcorantes.pdf

Secretaría del medio ambiente y recursos naturales "SEMARNAT". (2016). Informe de la situación del Medio Ambiente en México. Disponible en:
<https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/cap7.html#tema3>

Secretaría del medio ambiente y recursos naturales "SEMARNAT". (2021). Compendio de Estadísticas Ambientales 2021, Residuos Peligrosos. Disponible en:
https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/compendio_2021/01_ambiental/residuosPeligrosos.html

Secretaría del medio ambiente y recursos naturales "SEMARNAT". (2022). Empresas autorizadas para el manejo de residuos peligrosos. Disponible en: <https://www.gob.mx/semarnat/documentos/empresas-autorizadas-para-el-manejo-de-residuos-peligrosos>

Zewdie, D.T., Ali, A.Y. Cultivation of microalgae for

Zewdie, D.T., Ali, A.Y. Cultivation of microalgae for biofuel production: coupling with sugarcane-processing factories. *Energy Sustain Soc* 10, 27 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13705-020-00262-5>

Evaluación de una vacuna contra el virus hemorrágico del conejo.

Gerardo Omar Pérez Vázquez, estudiante de verano de la ciencia y estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia, gperez48@alumnos.uaq.mx. Universidad Autónoma de Querétaro

Juan Joel Mosqueda Gualito, Investigador anfitrión y asesor del proyecto. Joel.mosqueda@uaq.mx. Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen:

La enfermedad viral hemorrágica de los conejos (EHVC2) se reportó en México por primera vez en el año 2020. Esta afecta tanto al conejo doméstico como a las especies silvestres (conejos y liebres), siendo un peligro potencial para el ecosistema como a la cunicultura del país.

Por lo cual una vacuna resulta necesaria además de que genere una respuesta inmune adecuada en contra del virus y que a su vez permita su uso en distintos esquemas de vacunación (SADER 2020, Fernández, et al., 2015).

La producción de la proteína quimérica VP60 de la enfermedad hemorrágica del conejo fue expresada de manera recombinante en la bacteria *E. coli* (producida en el laboratorio LINVAS), por lo que se empleó un proceso de purificación de proteínas.

Para comprobar que el proceso de purificación de la proteína quimérica recombinante fue adecuado se realizaron varias técnicas para la cuantificación de dicha proteína se empleó el uso de electroforesis en geles de poliacrilamida los cuales se tiñeron con azul de Comassie y poder realizar la visualización de la proteína en el gel, posteriormente se realizó un Bradford para obtener una cuantificación precisa de la proteína.

Seguido de esto, se comenzó con el proceso de diálisis de las fracciones resultantes de la purificación de la proteína quimérica recombinante, en el cual se hicieron diversos recambios de solución, para dejar a la proteína con la menor cantidad de urea posible resultado de los búfers utilizados en procesos anteriores a este

Posteriormente se realizó la preparación de las dosis para cada grupo (cuatro variantes de la vacuna para los cuatro grupos). Se preparó un total de 6ml por variante de vacuna para cada grupo y se le administró a cada individuo 1ml de la dosis respectiva por grupo.

Abstract:

The viral haemorrhagic disease of rabbits (EHVC) type 2 was reported in Mexico for the first time in 2020. It affects both the domestic rabbit and wild species (hares), being a potential danger to the ecosystem such as rabbit farming. from the country.

Therefore, a vaccine is necessary to generate an adequate immune response against the virus and that in turn allows its use in different vaccination schemes (SADER 2020, Fernández, et al., 2015).

The production of the chimeric protein VP60 of the rabbit hemorrhagic disease expressed recombinantly in the bacterium *E. Coli* (produced in the LINVAS laboratory), for which protein purification was used.

To verify that the purification process of the recombinant chimeric protein was adequate, techniques were carried out for the quantification of that protein, the use of electrophoresis in polyacrylamide gels was used, which were stained with Comassie blue for the visualization of the protein in the gel. , subsequently a Bradford was performed to obtain a precise quantification of the protein.

Following this, the dialysis process of the fractions resulting from the purification of the recombinant chimeric protein began, in which several changes of solution were made, to leave the protein with the least amount of urea possible as a result of the buffers. used in processes prior to this

Subsequently, the preparation of the doses for each group (four variants of the vaccine for the four groups) was carried out. A total of 6ml per vaccine variant was prepared for each group and each individual was administered 1ml of the respective dose per group.

Introducción:

La enfermedad hemorrágica del conejo o VEHC es una enfermedad exótica en nuestro país, dicha enfermedad es muy contagiosa y en la mayoría de los casos resulta ser fatal por lo que su índice de mortalidad es elevado y va de 40% al 100% (Gobierno de México). El virus que causa dicha enfermedad es del género *Lagovirus* de la familia *Caliciviridae* y afecta tanto a conejos silvestres como a domésticos.

Existen distintas fuentes de infección como son: Fomites, pelos, alimento, cama, agua y vectores mecánicos (generalmente moscas), es por dichas fuentes de infección que la enfermedad es muy contagiosa y en un medio de producción debido a la mortalidad causa pérdidas importantes o totales. La enfermedad fue detectada en China por primera vez en 1984 y llegó a México en 1988 debido a la venta ilegal de canales infectadas (Plan de emergencia para la atención de un brote de la enfermedad hemorrágica viral del conejo en los Estados Unidos Mexicanos).

El mejor método de prevención es la vacunación, se tiene registro de una efectividad entre el 70% y el 100%. En el laboratorio de Inmunología y Vacunas de la UAQ se desarrolló una vacuna, dicha vacuna fue desarrollada usando como adyuvante Montanide ISA 206 dicha vacuna se aplicó vía subcutánea mostrando ser segura e inmunogénica. La vacuna contra el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo tipo 2 con adyuvante oleoso estimuló una respuesta inmune humoral temprana y significativa, dicha respuesta inmune humoral confirmó un nivel significativo de protección (Abido Ola Y- 2020).

Objetivos:

Evaluar una vacuna en contra del virus hemorrágico del conejo con distintos adyuvantes comerciales los cuales son: Adju Phos y Rehydragel comparando su efectividad y capacidad de la vacuna desarrollada para generar una respuesta inmune similar o superior con el adyuvante ya establecido el cual es Montanide.

Inmunizar a un total de veinte conejos con la proteína quimérica recombinante, dividiendo a estos mismos en cinco grupos iguales.

Metodología:

Primeramente, se realizó la planificación sobre la realización de la vacuna y los periodos para aplicar y evaluar a la misma.

Para este experimento se utilizó la proteína quimérica recombinante VP60 la cual fue evaluada con anterioridad en conejos de semejantes características a los utilizados en este estudio en el laboratorio LINVAS, con lo cual es segura y causa una respuesta inmune eficiente a una concentración de 60 µg.

Para este estudio se utilizará dicha proteína a la misma concentración (60 µg por dosis).

Esta proteína cuenta con cinco péptidos y una cola de histidinas y se encuentra expresada de manera recombinante en un cultivo bacteriano de *E.coli* BL21-AI

El primer paso fue la extracción de dicha proteína VP60 de un cultivo bacteriano de *E. coli*, para comenzar la extracción se comenzó con la lisis de las células de *E. coli*

las cuales albergaban la proteína recombinante, para la lisis se utilizó el método de congelación y descongelación el cual es un método físico y permitió lisar la membrana celular haciéndola más permeable y permitiendo así la liberación de la proteína recombinante VP60.

Dicho método físico empleado constaba en congelar y descongelar el cultivo de *E.Coli* BL21-AI (contenido en un pellet), posteriormente se sonicó el cultivo para así lisar finalmente la membrana celular este método se basa en la rotura de las membranas mediante ultrasonido con una sonda vibratoria sumergida en líquido, en este proceso se aplica energía sonora para cumplir con la tarea de lisar la célula y liberando el contenido celular al medio.

Posteriormente se centrifugó el extracto a 9000 gravedades por minuto, con el objetivo de que las moléculas de mayor peso molecular se acumulen en el fondo del recipiente, esto nos permitió separar a los restos celulares resultado del proceso de lisis celular previamente hecho. Este proceso se denomina clarificar.

Para comenzar con el proceso de purificación de la proteína es necesaria la preparación de tres buffers con sales y pH específicos, los cuales se deben de establecer según sea el caso de la proteína que se quiere purificar, dichos buffers contienen Urea, cloruro de sodio, fosfato de sodio e imidazol, pero estos se encuentran a un pH distinto debido a la función que realizan.

La cromatografía realizada fue por afinidad a níquel (IMAC) fue realizada en un cromatógrafo AKTA pure.

Al momento del rompimiento de la membrana la proteína VP60 es liberada pero también distintas proteínas que conforman a la célula por lo que se requiere un buffer de unión a un pH 8.0, este buffer permite mantener la unión molecular de las proteínas, mientras que el buffer de elución a un pH de 4.5 permitió eluir las proteínas creando de este modo creando un ambiente hidrofóbico y gracias a este modo logrando equilibrar la columna en el cromatógrafo. Mientras que el buffer de lavado que se encontraba a un pH de 6.3 cumple la función de eliminar moléculas con carga distinta a la de la proteína VP60, haciendo que dichas moléculas no se adhieran a la columna y así obtener la mayor concentración pura de la proteína buscada.

La técnica empleada para purificar la proteína consta de dos fases: estacionaria y móvil, en las cuales se separa las moléculas. La fase estacionaria consta de una capa delgada de un adsorbente (polímero), esta se coloca en un cilindro en la parte superior se coloca la muestra. Por otro lado, la fase móvil consta de un fluido que se utiliza como portador de la mezcla y se hace pasar a través de la columna cromatográfica y la fase estacionaria. Las moléculas se desplazan a través de la fase estacionaria gracias al bombeo de la fase móvil para ello se emplea el buffer de elución, las propiedades de cada molécula

determinan el tiempo de permanencia o retención en la fase estacionaria, al final de cada proceso de cromatografía se debe de tener un mantenimiento por lo que es empleado el búfer de lavado. Mientras que la proteína que sale de la fase móvil es detectada mediante un software, en dicha fase las moléculas pasan a través de un detector UV arrojando información al software antes mencionado, posteriormente los resultados son arrojados en forma de una gráfica la cual muestra columnas, en el punto más alto (cresta) es donde se encuentra mayor concentración de proteína buscada mientras que en la parte más baja (valle) es donde se encuentra menor concentración de proteína.

Lo que se hizo fue tomar fracciones de la columna para tener una mayor concentración de proteína.

Cuantificación de la proteína:

Para corroborar los resultados de la purificación de la proteína se empleó la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida es uno de los métodos más utilizados para la purificación, análisis y caracterización de proteínas. La técnica permite separar moléculas cargadas debido a las diferencias de movilidad sometidas a un campo eléctrico.

Se hicieron geles de 1mm de grosor por lo que se emplearon vidrios largos y cortos de dicha medida, los geles contaban con diez pozos en los cuales se depositaron las fracciones resultantes de la purificación, también se empleó una caja de electroforesis así como una fuente de poder y por último se elaboró buffer de corrida, se realizaron dos tipos de geles un concentrador y un separador dichos geles se encontraban en el mismo cristal, esto permite que el gel funcione como una especie de tamiz dejando en la parte superior a las proteínas de mayor tamaño mientras que las de menor tamaño recorrerán todo el gel.

Al haber preparado los geles y una vez montados en la caja de electroforesis con el buffer de corrida se depositaron las fracciones en los pozos correspondientes y se dejó correr a 90 volts durante aproximadamente dos horas.

Posteriormente los geles se mantuvieron en agitación en solución de tinte y posteriormente de destinte durante ocho horas aproximadamente. Seguido de esto se analizaron los geles y se seleccionaron las fracciones con mayor presencia de concentración de proteína.

A continuación, se realizó un proceso de diálisis de las fracciones seleccionadas ya purificadas, este es un proceso que separa moléculas de acuerdo con su tamaño, mediante el empleo de membranas semipermeables que contienen poros de dimensiones inferiores a las macromoleculares. Este proceso se basa en la diferencia osmótica de los diferentes medios empleados, se busca que por medio de difusión pasiva a través de la membrana

semipermeable se elimine la mayor cantidad de urea y de otras sales empleadas en los buffers anteriormente utilizados para así dejar alícuotas de proteína lo más pura posible.

Para este proceso se preparó una solución inicial de Tris base, $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$, NaCl, y $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, se adaptaron diversos tubos Ependorf en los cuales se depositó la proteína purificada y seleccionada, posteriormente se les añadió a cada uno de dichos tubos una membrana semipermeable y se colocaron en la solución inicial (previamente esterilizada), posteriormente se hicieron un total de trece recambios cada treinta minutos con el objetivo de bajar paulatinamente la concentración de urea de los tubos Ependorf, en el sexto recambio se utilizó agua tridestilada estéril.

Debido a que existe la posibilidad y el riesgo de perder proteína en el proceso de diálisis se realizó nuevamente una electroforesis en geles de poliacrilamida, a su vez se empleó otro método para la cuantificación de proteína, pero este es una técnica colorimétrica que lleva por nombre Bradford. La determinación de proteínas por el método de Bradford consiste en la cuantificación de la unión de un colorante, el Azul de Coomassie G-250, a la proteína, comparando esta unión con la de diferentes cantidades de una proteína estándar (Albúmina de Suero Bovino (BSA)). Se decidió utilizar esta técnica para la cuantificación de la proteína debido a su practicidad.

La cuantificación se realiza midiendo la absorbancia en una placa de 96 pozos (placa ELISA). La técnica se realizó por duplicado cada concentración y se colocó una cantidad de 5 μl por pozo, se realizó una escalera de concentraciones de BSA 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5 y 2 $\mu\text{g/mL}$ (cada una por duplicado) posteriormente se añadieron las fracciones seleccionadas de la electroforesis y se agregaron igualmente por duplicado en otros pozos en una concentración de 5 μl , posteriormente a cada duplicado se le añadió 245 μl del reactivo de Bradford y se llevó a leer la placa a un lector de placas para medir la absorbancia a 595nm por medio de un espectrofotómetro, con los resultados obtenidos se realizó una gráfica comparando la concentración y la absorbancia dando como resultado una gráfica de dispersión con puntos de tendencia, a su vez se requiere de la ecuación de dicha gráfica y de R^2 ya que esta no debe de pasar de un valor de 1 ni estar por debajo de 0.95, teniendo este valor en rango la técnica es válida.

Dosificación:

Se aplicaron un total de dos dosis en cada individuo con un periodo de veintiún días entre dosis, para el día cero se obtuvieron muestras sanguíneas de cada individuo con el fin de obtener suero para comparar el título de anticuerpos más adelante, dichas muestras se obtuvieron en tubos rojos sin anticoagulante con el fin de obtener el suero

mencionado, se realizó la toma de muestra en las venas mediales y laterales auriculares según fuera el caso a su vez se rotularon cada una de las muestras, se identificó a cada individuo con un número y se tomaron sus constantes fisiológicas, como lo son temperatura, peso y algunas observaciones.

Posteriormente se aplicaron las diferentes vacunas a sus respectivos grupos, esta se aplicó vía intradérmica cercana a un ganglio linfático, esto último para obtener una respuesta inmune de mayor rapidez y eficacia gracias a las células dendríticas que se encuentran en la zona intradérmica y estas a su vez harán posible una mejor opsonización de la proteína inoculada.

Se determinó que para este trabajo se evaluarán dos tipos de adyuvantes: AdjuPhos y Rehydrigel LV, comparando a estos últimos con el adyuvante Montanide que fue utilizado con anterioridad obteniendo una eficacia en la respuesta inmune del 70% al 100%, buscando así una respuesta inmune humoral similar con los dos adyuvantes anteriormente mencionados. Para ello se adquirieron un total de 20 conejos con aproximadamente seis semanas de edad, los cuales se dividieron en cuatro grupos con cinco individuos cada uno.

A un grupo se le administró el adyuvante AdjuPhos añadido con la proteína, a otro grupo solamente se le administró el adyuvante sirviéndonos como nuestro control negativo para este adyuvante. A otro grupo se le administró la vacuna con la proteína y el Rehydrigel, mientras que, a otro grupo de la misma forma, solamente se le administró el adyuvante Rehydrigel solo sirviendo de igual manera como control negativo para este adyuvante. Al último grupo se le administró la vacuna con el adyuvante Montanide más la proteína, en este caso no se requiere un control negativo debido a que la efectividad de la vacuna con dicho adyuvante ya está comprobada.

Como se mencionó anteriormente la concentración de todas las dosis de la vacuna fue de 60 µl.

Para realizar la dosificación fue necesario el uso de ciertos cálculos matemáticos los cuales se basaron en los resultados del Bradford, calculando así la concentración de proteína de cada fracción, apoyándonos con el Bradford y los datos arrojados de este, a su vez fue necesario realizar cálculos para el adyuvante, se realizaron un total de 6 ml para cada grupo y se le aplicó a cada individuo 1 ml.

Se empleó la fórmula $V1C1=V2C2$ (V es volumen y C es concentración), en la cual se sustituyeron los valores. V1 por 1ml C1 equivale a 60 µl (la concentración de la proteína), por otro lado, C2 es el valor de la concentración de cada fracción (obtenido con el Bradford). Posteriormente se realizó un despeje para conocer V2, con este resultado obtuvimos la cantidad necesaria de cada proteína para completar la concentración de 60 µl.

Seguido de esto se realizaron cálculos para saber la cantidad de adyuvante necesaria.

Para los dos adyuvantes que se evaluaron en este trabajo (AdjuPhos y Rehydrigel) fue necesario realizar una investigación para conocer la concentración de aluminio que estos poseen y se llegó a la conclusión que una concentración de 500 µl no resulta perjudicial para el estudio ni repercute en el estado de salud del individuo inmunizado. Debido a esto fue necesario realizar cálculos para estos dos adyuvantes empleando la misma fórmula $V1C1=V2C2$.

Todo el proceso de dosificación se repitió un total de dos veces para cumplir con el cuadro de vacunación. En el día 0 se tomaron muestras de sangre (previamente mencionadas) y se inmunizó, se dejaron pasar 21 días para que el sistema inmune de los individuos generara anticuerpos opsonizantes.

En el día 21 se aplicó segunda dosis y toma de muestras sanguíneas que se procesaron posteriormente en el laboratorio LINVAS con el objetivo de medir el título de anticuerpos generado a partir de la primera inmunización, en el día 31 se hará nuevamente toma de muestras para evaluar todo el cuadro de vacunación y comprobar la efectividad de las vacunas desarrolladas.

Resultados:

Para comprobar la presencia de proteína resultante del proceso de purificación se realizó una electroforesis en geles de poliacrilamida, como se mencionó anteriormente se dividieron fracciones de la proteína para obtener una mayor concentración de esta por fracción, se seleccionaron las fracciones 1 y 2 para seguir con el proceso de diálisis de dichas fracciones ya que como se puede observar en la figura 1 dichas fracciones son las que presentan una mayor presencia de la proteína VP60.

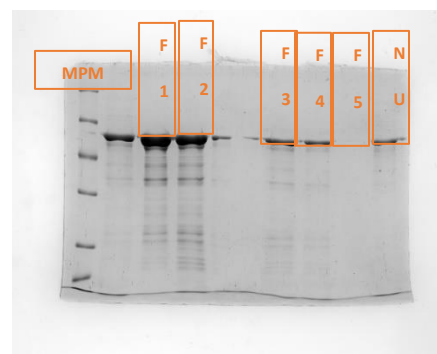


Figura 1: Gel de poliacrilamida realizado posteriormente del proceso de purificación “MPM” (Marcador de peso molecular) “N.U” (fracción no unida).

Una vez seleccionadas las fracciones 1 y 2 se dividieron en alícuotas en tubos Eppendorf para posteriormente pasar con el proceso de diálisis Figura 2.



Figura 2: Diálisis de las fracciones 1 y 2 para la extracción de urea mediante fuerzas osmóticas.

Posteriormente se realizó otra electroforesis en gel de poliacrilamida (Figura 3 y 4) para verificar que en el proceso de diálisis no se haya perdido proteína. Gracias a esta última electroforesis fue posible una nueva selección y se descartaron de la Fracción 1 la alícuota 4 mientras que de la fracción 2 se descartaron las alícuotas 3 y 6.

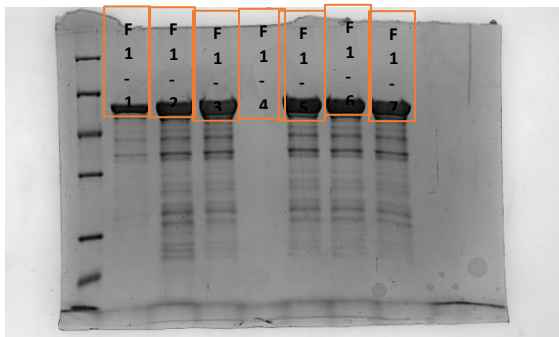


Figura 3: Electroforesis de las alícuotas de la fracción 1 posterior a la diálisis.

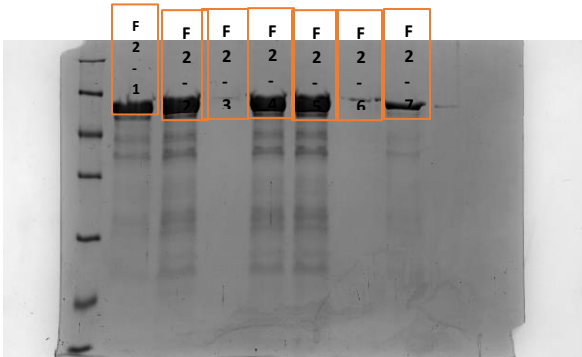


Figura 4: Electroforesis de las alícuotas de la fracción 2 posterior a la diálisis.

Posteriormente se realizó una técnica de cuantificación colorimétrica (Bradford) en una placa Elisa, los resultados de la lectura de absorbancia y concentración son los siguientes.

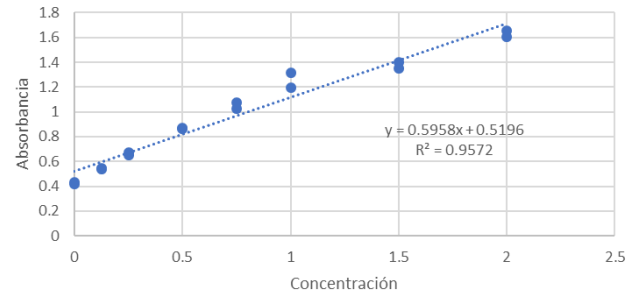


Figura 5: gráfica de la curva estándar de BSA donde se muestra R^2 y a su vez la ecuación de la recta.

Se observa el resultado de R^2 (0.95) por lo cual los resultados de la técnica son confiables. También se observa la ecuación de la gráfica la cual posteriormente se sustituyó por valores de la absorbancia para encontrar "x", para posteriormente hacer el cálculo de la proteína utilizando la formula $V1C1=V2C2$ con el fin de obtener $V2$.

Fracción	Absorbancia	Concentración
F1-2	0.6865	0.28012756
F1-3	0.953	0.727425311
F1-5	0.865	0.57972474
F1-6	0.945	0.713997986
F1-7	0.9175	0.667841558
F2-1	0.8425	0.541960389
F2-2	0.838	0.534407519
F2-4	0.73	0.353138637
F2-5	0.7685	0.417757637
F2-7	0.572	0.087948976
F2-3	0.4285	-0.152903659
F1-4	0.4435	-0.127727425
F2-6	0.459	-0.101711984

Figura 6: concentración de la proteína de las fracciones F1 y F2.

Se seleccionaron a partir de su concentración las Fracciones F2-2 y F2-1 que fueron utilizadas para las dosis de Rehydrigel y AdjuPhos respectivamente y para las dosis de Montanide se empleó la fracción F2-5.

Para la dosis de Montanide fue necesaria una homogenización del adyuvante junto con la proteína en intervalos que duraron 10 minutos este proceso se repitió alrededor de 11 veces con el objetivo de obtener partículas menores a $5 \mu\text{m}$ (figura 7).

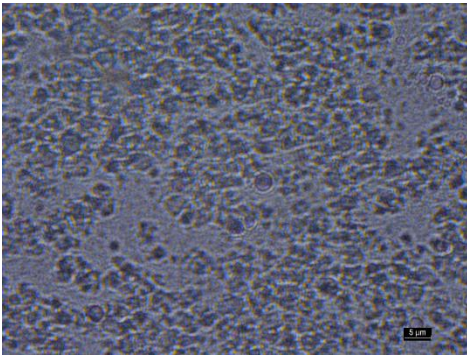


Figura 7: Muestra de Montanide vista al microscopio después de las series de homogenización.

Discusión y conclusiones:

Se consiguió desarrollar e inmunizar a los 20 individuos seleccionados y repartidos en 5 grupos completando así el periodo de vacunación sin embargo por cuestiones de tiempo no fue posible sacar resultados sobre la eficacia de los dos adyuvantes evaluados (AdjuPhos y Rehydrigel).

Sin embargo se logró el objetivo principal el cual era desarrollar una vacuna contra el virus hemorrágico del conejo con la proteína VP60 extraída de un cultivo de *E.coli* BL21-A1 del laboratorio LINVAS y se consiguió inmunizar a cada uno de los ejemplares, lo cual es importante ya que dimos el primer paso para probar distintos adyuvantes de menor costo y más fácil adquisición.

Se aplicaron distintas técnicas para el desarrollo de dicha vacuna y se comprendió la importancia de cada paso que se realizaba dentro y fuera del laboratorio. Comprendimos la importancia de la capacitación de todo el personal de laboratorio y el orden que lleva una investigación de este tipo para llegar a una meta.

Galería de fotos:



Carga de muestras en geles de poliacrilamida para electroforesis.



Diálisis de proteína VP60



Elaboración de dosis.



Aplicación de la vacuna en contra del virus hemorrágico del conejo,

Agradecimientos:

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito le agradezco la oportunidad de formar parte del proyecto así mismo el conocimiento impartido y asesoramiento a lo largo del proyecto. A Iván Corona Guerrero técnico encargado del laboratorio LINVAS quien día a día nos enseñaba todo lo relacionado al laboratorio y por su paciencia y asesoramiento, MSPAS Alma Cárdenas Flores quién depositó desde el principio confianza en nosotros y nos acompañó durante el proyecto asesorándonos, Sergio Nieves y Mariana Rocha por apoyarnos durante en muestreo e inmunización y finalmente a Jessica Agraz, Irvin Rufino y Ana Rivera quienes me acompañaron durante este proyecto e hicieron de este verano una experiencia inolvidable.

Referencias:

- Rosenberg, I. M. (2005) Protein analysis and purification: benchtop techniques, Second edition, Birkhäuser Verlag, Boston
- Duong-Ly, K. C., and Gabelli, S. B. (2014) Using ion exchange chromatography to purify a recombinantly expressed protein. *Methods Enzymol.* 541, 95–103
- Urh, M., Simpson, D., and Zhao, K. (2009) Chapter 26 Affinity Chromatography: General Methods. in *Methods in Enzymology* (Burgess, R. R., and Deutscher, M. P. eds), pp. 417–438, *Guide to Protein Purification*, 2nd Edition, Academic Press, 463, 417–438
- Gupta, M. N. (2019) Electrophoresis | Gel Electrophoresis: Polyacrylamide Gels ☆ . in *Encyclopedia of Analytical Science* (Third Edition) (Worsfold, P., Poole, C., Townshend, A., and Miró, M. eds), pp. 447–456, Academic Press, Oxford, 10.1016/B978-0-12-409547-2.14434-8
- Campion, E. M., Loughran, S. T., and Walls, D. (2017) Protein
- Quantitation and Analysis of Purity. *Methods Mol Biol.* 1485,225–255

Aplicaciones biomédicas y farmacológicas de nanomateriales hechos a base de hidroxiapatita dopada.

Autor: Heidi Segundo Malagón. Estudiante de Química Farmacéutica Biológica, Facultad de Química, UAQ, Santiago de Querétaro, Qro., México; hsegundo26@alumnos.uaq.mx

Anfitrión: Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo, UAQ, Campus Aeropuerto, Santiago de Querétaro, Qro., México; rodrigo.velazquez@uaq.mx

Resumen

La hidroxiapatita (HAP) es un biocristal, formado por átomos de calcio, fósforo, e hidrógeno en una matriz proteica, de acuerdo con la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{HO})_2$. La HAP es el componente fundamental de los huesos y dientes ya que les confiere su dureza característica y, al estar acompañada de colágena, hace que los huesos adquieran una elasticidad determinada. Sin embargo, la hidroxiapatita natural contiene porcentajes mínimos de sodio, cloro, carbonatos y magnesio, los cuales juegan un papel preponderante en la función remodeladora del hueso.

Es entonces que la Nanotecnología permite estudiar las propiedades físicas, químicas y de biocompatibilidad de las nanoestructuras de la HAP, con el fin de optimizar su aplicación biomédica. Pues, al investigarse como biomaterial, se ha descubierto que la hidroxiapatita de diferentes orígenes da resultados distintos.

Por esta razón, la convergencia de la Nanotecnología con otras disciplinas como la Biología Celular y Molecular, las Ciencias Farmacéuticas y la Medicina resulta en una revolución tecnológica en el tratamiento de enfermedades, reparación de tejidos y diseño de nanosistemas de liberación de fármacos.

Durante la estancia se realizó la síntesis de hidroxiapatita dopada con magnesio y se observaron los resultados obtenidos en la síntesis de la HAP con diferentes elementos químicos como sodio, gadolinio, europio y titanio, que se buscan detallar en el presente trabajo, del mismo modo que se busca discutir los resultados observados y los inconvenientes presentes.

La importancia de la hidroxiapatita como biomaterial es de gran relevancia en áreas como Cirugía maxilofacial, Reumatología, Odontología, Oftalmología, Ortopedia, etc. Es por ello que la investigación y desarrollo de la hidroxiapatita es de gran interés para el autor del presente artículo.

Abstract

Hydroxyapatite (HA) is a biocrystal consisting of calcium, phosphorus and hydrogen atoms in a protein matrix, according to the formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{HO})_2$. HA is the fundamental component of bones and teeth, as it gives them their characteristic hardness and being accompanied by collagen, gives bones a certain elasticity. However, natural hydroxyapatite contains minimal percentages of sodium, chloride, carbonates and magnesium, which play a major role in the remodeling function of bone. Nanotechnology allows the study of the physical, chemical and biocompatibility properties of HA nanostructures to optimize their biomedical application. Well, when investigated as a biomaterial, it has been found that hydroxyapatite from different origins gives different results. For this reason, the convergence of Nanotechnology with other disciplines such as Cell and Molecular Biology, Pharmaceutical Sciences and Medicine results in a technological revolution in the treatment of diseases, tissue repair and design of nano

systems for drug delivery. During the stay, the synthesis of hydroxyapatite doped with magnesium was performed and the results obtained in the synthesis of HA with different chemical elements such as sodium, gadolinium, europium and titanium were observed, which are sought to be detailed in the present work, in the same way that the results observed and the drawbacks present are sought to be discussed. The importance of hydroxyapatite as a biomaterial is of great relevance in areas such as maxillofacial surgery, rheumatology, dentistry, ophthalmology, orthopedics, etc. This is why the research and development of hydroxyapatite is of great interest to the author of this article.

Introducción

Antes de hablar sobre el comportamiento complejo de la HAP en los tejidos estructurados, es necesario comprender su origen. Todo comienza por el calcio, pues en los humanos ocupa el quinto lugar en importancia de los elementos que lo componen. La relevancia del calcio en el cuerpo humano no radica únicamente en la estructura y funcionamiento de los tejidos mineralizados como los huesos y dientes. El 1% del calcio en los humanos se haya en el líquido extracelular. Este porcentaje se encuentra regulado de forma muy precisa debido a que el calcio es el catión más importante en el líquido extracelular para mantener la constancia homeostática, así como el transporte de sustancias, bombas metabólicas, actividades excitables y mecánicas en nervios y músculos (García. M. & Reyes. J. (2006).

En consecuencia, el fósforo tiene una participación esencial en las funciones de las células ya que conforma la estructura del ATP; almacena y traduce la energía química a través de la fosforilación y la desfosforilación de proteínas. Asimismo, los fosfatos son indispensables en la transmisión y codificación genética al formar parte del ADN y ARN, y AMPc; que es un segundo mensajero indispensable para la formación de hormonas. Mientras que la importancia

del magnesio en tejidos mineralizados se debe a que, a pesar de existir en pequeñas cantidades, el ion divalente del magnesio es indispensable en diversas reacciones que se llevan a cabo solo en su presencia, donde funciona como un segundo mensajero o traductor.

En la actualidad, la práctica de cirugías adicionales y el abastecimiento deficiente de los bancos de hueso aunado a los riesgos asociados de transmitir infecciones se configuran como las razones fundamentales de la generación de biomateriales sintéticos que puedan sustituir al injerto de hueso en cirugías reconstructivas (González, R. 2005).

Cuando la hidroxiapatita se implanta en un sitio óseo, se reabsorbe lentamente, dejando así una reserva de fosfato y calcio disponible para los procesos de biomineralización y regeneración ósea. Para que ocurra la regeneración del tejido óseo se necesitan de tres componentes claves: una señal osteoinductiva, un sustrato que actúa como andamio para la nueva formación ósea y finalmente, células del huésped capaces de diferenciarse en células óseas (Mangano et al., 2003).

Objetivos

Explicar y definir el fundamento de la hidroxiapatita como biomaterial, así como las técnicas de nanotecnología implementadas en el laboratorio para el estudio de las propiedades fisicoquímicas y de biocompatibilidad de la HAP; así como la metodología adecuada, materiales y posibles inconvenientes durante el desarrollo de la investigación. También se busca realizar un análisis y justificación objetiva de los resultados obtenidos durante estas pruebas.

Metodología

Durante la primera semana, el doctor anfitrión capacitó a los alumnos que colaboraron en el proyecto sobre el manejo del equipo de laboratorio que comprende las tres fases de la experimentación: uno, la síntesis de la hidroxiapatita pura; dos, la síntesis de la hidroxiapatita dopada con magnesio y; tres, la caracterización por Rayos X y SEM. La importancia de esta capacitación reside en que, sin ella, no se podrían llevar a cabo experimentos de forma segura y autónoma, ni tener control sobre los procesos y la calidad de los mismos. Aunado a esto, se ofrecieron cátedras universitarias donde el doctor anfitrión y sus colaboradores de investigación compartieron los avances de la investigación, así como sus alcances en el sector médico y farmacobiológico. Durante este periodo también se llevaron a cabo visitas guiadas por las instalaciones y se proporcionaron materiales didácticos como artículos y revistas sobre el estudio y la aplicación de la hidroxiapatita como un biomaterial y nanoacarreador farmacológico.

En la etapa uno, donde se sintetizó la hidroxiapatita pura, como equipo de laboratorio se utilizó un plato caliente con agitador para la obtención de las soluciones iniciales y un Horno Microwave; compuesto por un brazo mecánico que introducía los viales con las soluciones contenidas para, posteriormente, someterlos a las condiciones programadas con el objetivo de sintetizar finalmente la HAP.

Para la elaboración de la primera solución inicial se usaron 4.29 g de ácido glutámico, el cual desempeñó un papel en la orientación cristalina de la hidroxiapatita, junto con 1.16 g de nitrato de calcio que se disolvieron en 300 mL de agua destilada. La solución resultante se sometió a una agitación magnética de 500 rpm con un calentamiento de aproximadamente 80°C y una temperatura interna de 40 °C, dichas temperaturas se monitorearon constantemente durante 90 minutos, con el objetivo

de obtener una reacción exotérmica que diera lugar a una solución de color blanco traslucido y con aspecto cristalino. Finalmente, se midió el pH de la solución, para asegurarse de que este tuviera un valor de 3.

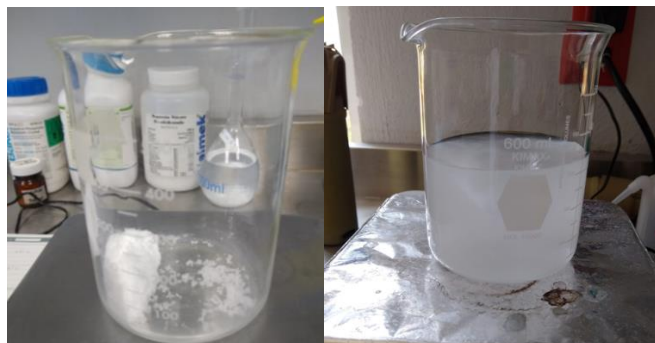


Figura 1. Primera reacción: ácido glutámico y nitrato de calcio.

En la segunda reacción se utilizaron 0.78 g de hidróxido de potasio y 1.11 g de fosfato de potasio que se disolvieron en 100 mL de agua desionizada. La solución obtenida se sometió a una agitación magnética de 500 rpm con un calentamiento de aproximadamente 80°C y una temperatura interna de 40 °C, dichas temperaturas se monitorearon repetidamente durante 10 a 15 minutos, con el objetivo de obtener una solución traslucida con aspecto cristalino y con un pH de 11.



Figura 2. Segunda reacción: hidróxido de potasio y fosfato de potasio.

Posteriormente, ambas soluciones se mezclaron a 35°C, con una agitación de 500 rpm por 10 minutos para obtener una disolución de 400 ml con un pH de 4 y temperatura interna de 35°C.



Figura 3. Hidroxiapatita pura.

Para la etapa dos, donde se sintetizó la hidroxiapatita dopada con magnesio, se disolvieron 0.01 g de magnesio nitrato en 10 mL de agua, la solución obtenida se incorporó a la hidroxiapatita pura y se agitó a 500 rpm por 5 minutos, sin necesidad de calentar.

Posteriormente, se colocaron 20 mL de la solución final en viales de cuarzo para después introducirlos al Monowabe y programar el horno a una potencia de 1200 W y un aumento de presión de 0.8 bar/s, con una presión máxima de 80 bar para elevar la solución a 170° C en 10 minutos, con el fin de que las moléculas de las soluciones reaccionaran entre sí y se pudiera formar la hidroxiapatita dopada con magnesio.

Después, los viales de cuarzo se dejaron enfriar durante 10 minutos antes de ser filtrados, con el objetivo de purificar el precipitado. Una vez que el líquido residual fue filtrado y el papel filtro se secó, se raspó el precipitado obtenido para recolectar la hidroxiapatita dopada con magnesio.

Resultados y discusión

Las HAP sintéticas tienen diferentes formas estructurales: la hexagonal y la monoclinica, las cuales tienen muy pocas diferencias estructurales. Sin embargo, estudios realizados confirmaron que hidroxiapatitas de distinto origen no se puede utilizar en todo tipo de restauración, ni en las diferentes edades, ya que cambia la respuesta fisiológica ante la dinámica de respuesta en los diferentes sujetos.

Es por ello que, durante la experimentación, las cantidades de nitrato de calcio, fosfato de potasio e hidróxido de potasio se ajustaron según la estequiometría de la HAP, con el fin de obtener nanofibras de hidroxiapatita que fueran utilizadas en la regeneración de huesos más rígidos y extensos.

Aunque, durante la estadía de verano, solo se logró sintetizar hidroxiapatita pura y dopada con magnesio, así como observar la síntesis de la hidroxiapatita dopada con otros elementos químicos, sin formar parte de las técnicas de caracterización o de las fases de experimentación biológica-bioquímica; el doctor anfitrión compartió algunos de los resultados que se han obtenido hasta el momento, entre los cuales se encuentran:

- La biocompatibilidad, funcionalidad y eficacia de los tratamientos que han sido comprobados, siguiendo todas las investigaciones y estudios preclínicos exigidos por las autoridades competentes.
- La demostración práctica de la conversión del biomaterial en nuevo hueso con el transcurso del tiempo cuando funciona como implante óseo en pruebas con ratones y conejos.

Estos resultados en general han sido muy buenos si se tiene en cuenta que durante la síntesis de la hidroxiapatita ocurrieron incidentes que entorpecieron el flujo de la investigación, entre los cuales se pueden mencionar el fallo del horno debido a un mal uso del mismo por parte de los alumnos – ajenos a la investigación- de la universidad.

Conclusiones

Estoy agradecida con las autoridades organizadoras de este verano y con el doctor Rafael Velázquez, pues estos programas son de gran utilidad en mi carrera profesional. Además de permitirme conocer de manera experimental los alcances y aplicaciones de mi carrera, me permiten desarrollar y mejorar mis habilidades en el laboratorio, así como conocer nuevas técnicas y herramientas que me serán de gran utilidad a lo largo de mi carrera, tanto académica como profesional.

El desarrollo de nanomateriales a base de hidroxiapatita dopada con aplicaciones potenciales como acarreadores de fármacos es un tema de especial interés para mí ya que en él convergen todas mis áreas de interés; es un proyecto que pone la ciencia en servicio de la sociedad para mejorar la calidad de la vida de los pacientes clínicos.

Referencias

González, R. (2005). Hidroxiapatita Porosa Coralina Hap-200. 15 Años de Aplicaciones Clínicas. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, vol. 36). Recuperado el 03 de agosto de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220525027.pdf>

García. M. & Reyes. J. (2006). La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, vol. 9). Recuperado el 03 de agosto de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/432/43211937005.pdf>

G, P. Á. (s. f.). Eficacia de la Hidroxiapatita en la Cicatrización de Injertos Óseos e Implantes Dentales:

una Revisión Sistemática de la Literatura. SCielo. Recuperado 15 de agosto de 2022, de https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2014000300017

Síntesis de nanopartículas de óxidos y sulfuros metálicos

Dra. Sandoval Cárdenas Diana Issell, Torres Pérez Dante Eliazar, Estrada Serrano Iñaki.

Abstract

The biological synthesis of nanoparticles has been one of the most relevant research branches on environmental remediation, reflecting the fact of microbiological control properties. To the experimental research, the silver and magnetite nanoparticles are important because they have anti microbiological and magnetism effects. The experimental methodology is applied on the efficient synthesis and production of different nanoparticles with a low cost and low environmental impact, including maximizing quantities and characterizing microbiological control.

Resumen

La síntesis biológica de nanopartículas ha sido una de las ramas principales de investigación en el campo de la remediación ambiental al identificar y conocer las diferentes propiedades de control biológico en microorganismos. Dos nanopartículas de interés son las nanopartículas de plata y magnetita, por sus propiedades antimicrobianas y magnéticas respectivamente. Encontrar métodos que permitan obtener concentraciones mayores con un menor costo e impacto ambiental, es uno de los principales objetivos de su síntesis; además de caracterizarlas y evaluar su actividad

antimicrobiana para su aplicación es uno de los puntos clave en la metodología propuesta.

Introducción

Los métodos de síntesis y preparación de nanopartículas metálicas son agrupados por el estado de agregación o forma en que estas se encuentren, sean sólidas, moléculas en fase gaseosa o en solución. Otra clasificación es por los materiales empleados, como la síntesis biológica, para ella se utilizan extractos de plantas y microorganismos como bacterias y hongos; sus más destacables ejemplos son la biorreducción, método empleado en este experimento, y la biosorción.

Las nanopartículas de plata (AgNP's) son de principal interés ya que exhiben propiedades antimicrobianas, añadiendo los virus y hongos. Este efecto depende del tamaño, forma y carga de las partículas involucradas; las AgNP's que tienen un menor diámetro poseen una mayor actividad antimicrobiana ya que ingresan al núcleo de las células, afectando el DNA y las enzimas, generando una necrosis o muerte celular (Gamboa et al., 2019).

La síntesis de AgNP's será por medio de la reducción química biológica; al poseer las plantas gran cantidad de polifenoles, flavonoides, antocianinas, azúcares y alcaloides, son capaces de reducir los iones metálicos, y a su vez, estabilizar las nanopartículas por medio de las proteínas, enzimas y carbohidratos. La planta más utilizada para este tipo de síntesis particular es la *Ocimum Basilicum* o albahaca, que permite obtener partículas de entre 2 a 20 nm de diámetro (Pirtarighat et al., 2019; Yugal et al., 2017).

Las nanopartículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NP}$), están formadas por un compuesto de coordinación; poseen propiedades de biocompatibilidad, toxicidad baja y menor sensibilidad de oxidación,

además del paramagnetismo (Popescu et al., 2019). Estas nanopartículas magnéticas poseen actividad antimicrobiana debido a la presencia de especies reactivas de oxígeno, esto induce un estrés oxidativo con las proteínas de la membrana y la bicapa externa de bacterias, actuando inclusive con bacterias muertas (Niculescu et al., 2022).

Se hace uso de un método de coprecipitación *in situ* que requiere de algún polímero que recubra las nanopartículas, como agente surfactante, ligante o material inorgánico (en este caso se hará uso de quitosano). El método de síntesis consiste en una mezcla de iones férricos y ferrosos junto con el polímero en un medio ácido, para después ser cambiados a un pH básico provocando la precipitación de iones metálicos e hidroxilo que permitirán una nucleación homogénea (Facundo et al., 2017)

El quitosano es un polisacárido compuesto por unidades de glucosamina y N-acetilglucosamina, con una gran cantidad de grupos aminos distribuidos de tal manera que permiten protonarse por ácidos, siendo solubles en soluciones ácidas. (Romero et al., 2020).

Objetivos

1. Sintetizar y caracterizar nanopartículas de plata (AgNP's) y magnetita (Fe_3O_4NP) con una metodología establecida.
2. Aprender técnicas instrumentales para la caracterización de las nanopartículas, así como los fundamentos que estas sustentan.
3. Analizar y comprender los resultados obtenidos tras la experimentación
4. Modificar y relacionar aquellos errores e impedimentos tras la discusión de los resultados.

Metodología

▪ Nanopartículas de plata

La síntesis de *AgNP's* siguió el procedimiento descrito por Flores-Suárez (2021). El experimento se dividió en la producción de dos lotes de nanopartículas con el objetivo de obtener diferentes concentraciones a partir de una variación en la metodología.

La preparación del primer lote de *AgNP's* inició con la infusión de las hojas de albahaca en una solución 10% (w/v); el agua añadida para la infusión fueron 124 mL junto con 12.4 g de hojas de albahaca. El agua se llevó a ebullición y la infusión se realizó durante 2 minutos. La infusión se sometió a un baño de hielo para evitar la pérdida completa de moléculas termosensibles. Al momento de encontrarse a temperatura ambiente, se filtró con papel para eliminar partículas suspendidas.

La infusión se basificó con una solución 2.5 M de NaOH, se añadieron 20 mL gota a gota hasta alcanzar un pH de 12.26, medido con un potenciómetro calibrado. La presencia de hidróxido de sodio en abundancia dentro del extracto puede ser una interferencia para la precipitación de la plata metálica por la oclusión de iones sodio y su próxima reducción (Flores-Suárez, 2021).

A su vez, se preparó una solución 63 mM de $AgNO_3$ en un volumen de 10 mL, colocada en un frasco ámbar para evitar su oxidación con los rayos UV.

La infusión basificada de la planta de albahaca y el nitrato de plata 63 mM se esterilizaron dentro de una autoclave a 121 °C y 15 psi, durante 15 minutos. Tras la esterilización del material se introdujeron 2 mL de la solución 63 mM $AgNO_3$ a 124 ml de la infusión estéril debido a la relación 62:1 reportada. El precipitado metálico se recubrió

completamente con papel aluminio y se incubó a temperatura ambiente, 160 rpm por 18 h.

Un segundo lote de nanopartículas se preparó con un mismo procedimiento, modificando la cantidad de NaOH usado para la basificación a 10 mL de una solución 3.5 M de NaOH para una infusión de 248 mL con 4 mL de la solución 63 mM $AgNO_3$.

Ambos lotes se diluyeron en relación 1:20 para realizar un barrido con el espectrofotómetro UV-VIS. El barrido se evaluó en longitudes de onda en un intervalo de 200 a 800 nm, esperando una banda de absorbancia en los 288 nm que representaría una concentración mayoritaria de nanopartículas con un diámetro de 10 nm (Flores-Suárez, 2021).

▪ Nanopartículas de magnetita

La síntesis de 10 lotes de nanopartículas de magnetita se realizó siguiendo la metodología de Díaz y col. (2018). Se utilizaron las sales: cloruro férrico ($FeCl_3$) y cloruro ferroso ($FeCl_2$), en una proporción 2:1 hasta una concentración de 3.6×10^{-3} mol. Para la preparación de los primeros cinco lotes, se diluyeron las sales en volúmenes correspondientes de 25 mL, donde 0.38928 g de $FeCl_3$ y 0.1521 g de $FeCl_2$ se agregaron consecutivamente, es decir, hasta la solubilización del cloruro férrico se agregó el cloruro ferroso. Las soluciones se calentaron hasta los 70 °C y 100 rpm. Se añadieron 5 mL de una solución 3% (v/v) de ácido acético con 2.7069×10^{-3} g de quitosano, que representa un 0.5% (w/w) respecto a las masas de las sales.

Tras la disolución de los compuestos salinos y orgánicos, se ultrasonicaron las muestras al 70% en amplitud, con pulsos 1:1 durante 10 minutos; este paso tiene la principal función de homogenizar las soluciones para una próxima precipitación y así obtener una mayor cantidad de nanopartículas con paramagnetismo.

Las soluciones homogéneas se llevaron a un pH de 12 con aproximadamente 6 mL de una solución 20% (w/v) NaOH– 70% (v/v) etanol en una relación 4:1, permitiendo la precipitación del hierro-quitosano. El control del pH se realizó con un gotero y un potenciómetro calibrado. Al finalizar, se sometieron las muestras a un vórtex durante 30 segundos para ser traspasadas a una incubadora durante 18 h con una frecuencia de 60 rpm.

Posteriormente, inició la recuperación del precipitado, para ello las muestras se centrifugaron a 1600 x g por 15 minutos durante cada ciclo después de los lavados con 2 mL de un amortiguador de fosfatos 50 mM pH 7 y 96% (v/v) etanol en relación 1:1 llevando cada muestra a la neutralización. El secado de la muestra no se realizó por medio del calentamiento como se tiene propuesto en el procedimiento de Díaz y col. (2018); las muestras se dejaron en cajas Petri en un desecador durante 3 días verificando el nivel de humedad del agente desecante. Finalmente, se caracterizaron las muestras secadas con la cantidad de masa retenida por un imán de neodimio con una fuerza electrostática de 0.39 T; para ello, las muestras se pulverizaron con un mortero de porcelana seco, la molienda se colocará en 3 tubos Eppendorf con una cantidad de 0.5g para evitar una completa magnetización. La cantidad de sustancia no retenida en el tubo se pesó y por medio de su diferencia se calcularon los niveles de magnetización de la muestra con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de masa atraída} = \frac{\text{masa retenida (100)}}{\text{masa inicial}}$$

Los últimos 5 lotes de nanopartículas fueron preparados siguiendo el procedimiento descrito anteriormente, adicionando una ultrasonificación a pulso constante sin intervalos a una amplitud del 70%. Añadiendo que el pesado de las muestras

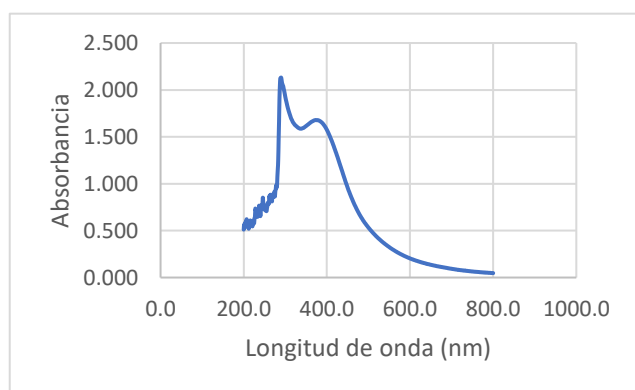
retenidas se hizo con una cantidad total de 1.5 g en tres diferentes tubos Eppendorf. Ambas modificaciones se plantearon con la finalidad de obtener un mayor grado de retención priorizando una homogeneidad durante cada paso del experimento.

Resultados

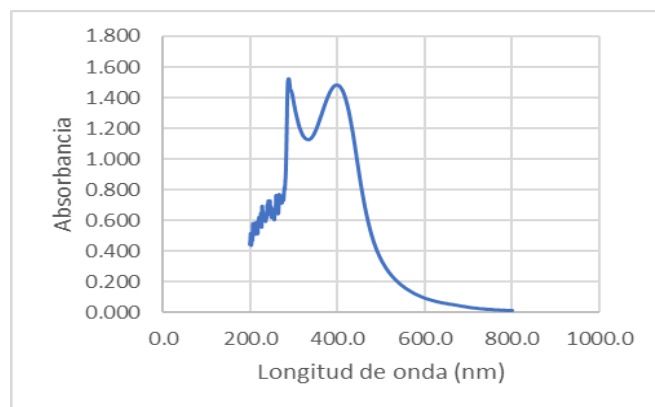
Caracterización y concentración de las nanopartículas de plata

De acuerdo con los resultados presentados por Flores-Suárez (2021), la presencia de nanopartículas de plata con el diámetro de 10 nm puede ser visualizada, a través de un barrido en un espectrofotómetro, una banda de absorbancia a los 288 nm en una muestra. Los dos barridos son correspondientes a lotes número uno y dos, con sus correspondientes gráficas anexadas posteriormente.

La longitud de onda a la que se encontró el mayor nivel de absorbancia del lote 1 fue de 290 nm, teniendo una absorbancia de 2.132. La banda de absorbancia del segundo lote se encontró a los 289 nm con una absorbancia de 1.525. Ambos lotes tuvieron el mismo tamaño de partícula, pero el primer lote tuvo una mayor concentración de AgNP's.



Gráfica 1 Espectro UV-Vis del lote 1 de AgNP's.



Gráfica 2 Espectro UV-Vis del lote 2 de AgNP's.

Caracterización de las nanopartículas de magnetita

El factor de la polaridad distribuida interfiere con la determinación de masa atraída, si no se cuenta con la cantidad correcta de muestra a analizar, el valor de masa retenida por magnetismo resultaría un error.

% de masa atraída		
Tubo	Repetición	Masa atraída
1	1	83.07%
	2	85.02%
	3	84.96%
2	1	88.09%
	2	87.26%
	3	87.06%

Tabla 1 Porcentaje de masa atraída de dos diferentes lotes de nanopartículas de magnetita.

La magnetita atraída de dos lotes, diferenciados en su producción por el uso de la sonicación con pulsos en un intervalo 1:1 (lote 1) y la sonicación sin pulsos (lote 2), fue mayor al 80 %. La retención por medio del imán de neodimio incrementó en el lote donde la sonicación procedió sin pulsos y de manera continua; lo cual puede atribuirse a la mejor distribución de los iones que precipitan en

medio básico formando el óxido de interés con un estado de oxidación alternado.

Bibliografía

1. Gamboa SM, Rojas ER, Martínez VV, et al. Synthesis and characterization of silver nanoparticles and their application as an antibacterial agent. *Int J Biosen Bioelectron*, 2019. 5(5):166-173. doi: 10.15406/ijbsbe.2019.05.00172
2. Pirtarighat, S., Ghannadnia, M., & Baghshahi, S. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum basilicum* cultured under controlled conditions for bactericidal application. *Materials Science and Engineering: C*, 2019.
3. Yugal M., Sujogya P., Akshaya B., Tapan M. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Protium serratum* and investigation of their potential impacts on food safety and control. *Frontiers in Microbiology*, 2017. 8. doi=10.3389/fmicb.2017.00626
4. Popescu R., Andonescu E., Vasile B. Recent Advances in Magnetite Nanoparticle Functionalization for Nanomedicine. *MDPI*, 2019. 9 (12): doi: 10.3390/nano9121791
5. Niculescu A., Chircov C., Mihai A. Magnetite nanoparticles: synteshis methods- A comparative review. *Elservier*, 2022. 199: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2021.04.018>
6. Romero A., Pereira J. Estado del Arte: quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. *UC*, 2020. 27 (2):

<https://www.redalyc.org/journal/707/70764230002/html/>

7. Facundo I., Trejo M. Revisión. Magnética nanoparticulada y métodos más utilizados de obtención. *UAC*, 2017. 52. Disponible en: <http://www.cienciacierta.uadec.mx/articulos/c52/MagnetitaNanoparticula.pdf>
8. Flores-Suárez, A.G. Caracterización de nanopartículas de plata sintetizadas con infusión de hoja de *Ocimum basilicum*. Tesis. Universidad Autónoma de Querétaro, 2021.
9. Gracida, J., Regalado, C., Amaro-Reyes, D., col. *Characterization of magnetic nanoparticles Coated with chitosan: A potential approach for enzyme immobilization. Journal of Nanomaterials*, 2018. 1-11. doi: 10.1155/2018/9468574.

Gráfica 3 Espectro UV-Vis del lote 2 de AgNP's.

98. doi: 10.1016/j.msec.2018.12.090

Evidencias

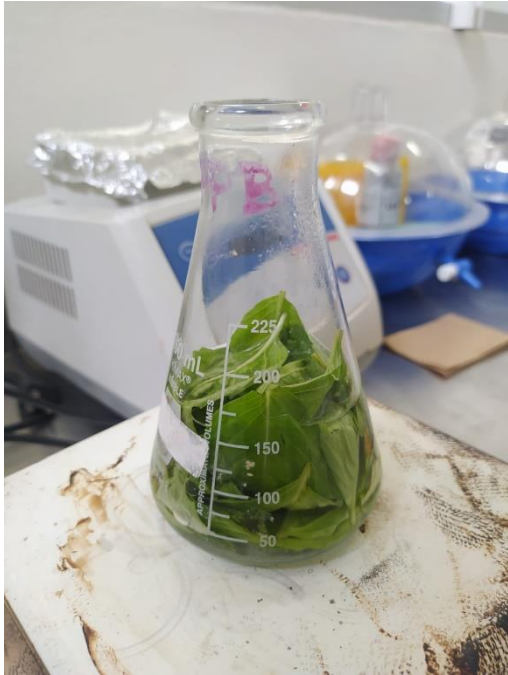


Imagen 1 Infusión del lote 1 para la producción de AgNP's



Imagen 2 Infusión con solución 63mM de AgNO₃

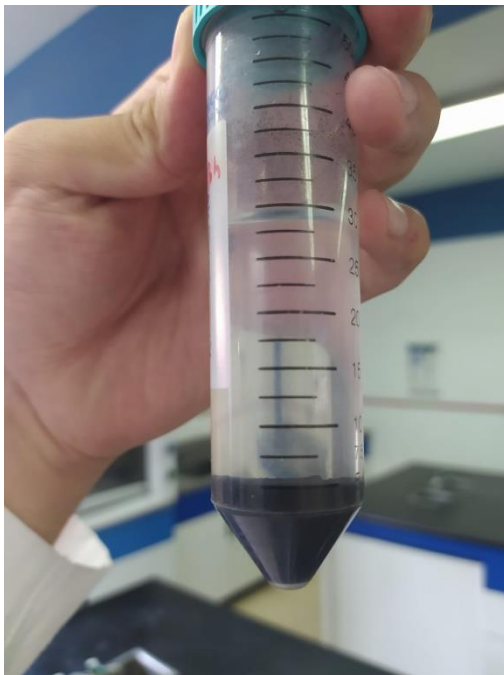


Imagen 4 Nanopartículas de magnetita precipitadas tras la incubación



Imagen 3 Medio de cultivo cerebro-corazón para las bacterias Listeria y E. faecalis



Imagen 6 Sistema de filtración al vacío para la separación física de la infusión de la albahaca

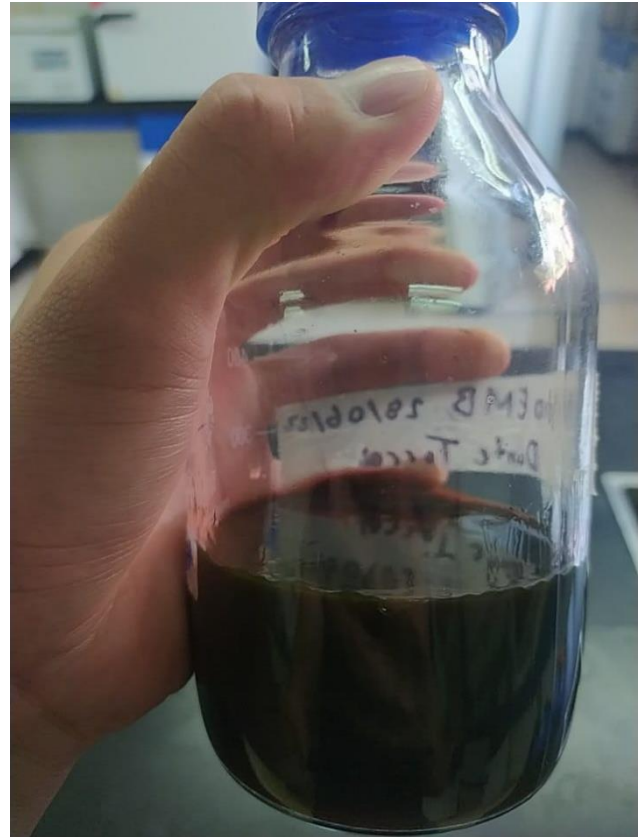


Imagen 5 Medio de cultivo para la bacteria E. coli

Evaluación de dos adyuvantes para una vacuna contra la Enfermedad Hemorrágica Viral del Conejo tipo 2.

Irvin Aradt Rufino Martinez, Estudiante de verano de la ciencia, irufino31@alumnos.uaq.mx.

Juan Joel Mosqueda Gualito, Investigador anfitrión y asesor del proyecto, joel.mosqueda@uaq.mx

Laboratorio de Investigación en Inmunología y Vacunas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

Resumen.

La enfermedad hemorrágica del conejo es una de las principales patologías clínicas que afectan a esta especie. En estudios anteriores realizados en el Laboratorio de investigación en inmunología y Vacunas (LINVAS), se desarrolló una vacuna proteica multiepitópica recombinante basada en péptidos de la proteína estructural VP60 y de la cual se sabe que con una concentración de 60 µg de proteína es segura e induce inmunogenicidad. La proteína recombinante fue expresada en bacterias *E. coli* BL21-AI. Se usaron técnicas de purificación de proteínas tomando como base el conocimiento de las propiedades de estas biomoléculas para determinar el protocolo de purificación. Para evaluar la pureza y concentración, se realizó electroforesis en gel de poli-acrilamida y se tiñó con azul de Coomassie; posteriormente se realizó el método de Bradford, con el cual se cuantificó la proteína obtenida durante la purificación y de esta manera obtener las dosis. Se prepararon 20 dosis con una concentración de 60 µg en un volumen de 1 ml por dosis. Se inmunizaron 20 conejos de 6 semanas de edad con dos dosis al día cero y 21 y un sangrado final al día 31 y se obtuvo el suero antes de cada inmunización.

Abstract.

Rabbit haemorrhagic disease is one of the main clinical pathologies affecting this species. In previous studies carried out at the Immunology and Vaccines Laboratory (LINVAS), a recombinant multiepitopic protein vaccine was developed based on peptides of the VP60 structural protein and it is known that a concentration of 60 µg of protein is safe and induces immunogenicity. The recombinant protein was expressed in *E. coli* BL21-AI bacteria. Protein purification techniques based on the knowledge of the properties of these biomolecules were used to determine the purification protocol. To assess purity and concentration, polyacrylamide gel electrophoresis was performed and stained with Coomassie blue; Subsequently, the Bradford method was performed, with which the protein obtained during purification was quantified and in this way the doses were obtained. 20 doses were prepared with a concentration of 60 µg in a volume of 1 ml per dose. Twenty rabbits of six weeks of age were immunized with two doses on days zero and 21 and a final bleed on day 31, and serum was obtained before each immunization

1. Introducción.

La enfermedad hemorrágica viral del conejo (RHDV, por sus siglas en inglés: Rabbit Hemorrhagic Disease Virus) es una enfermedad hemorrágica causada por el virus de ARN del género Lagovirus de la familia Caliciviridae, extremadamente contagiosa, con un alto porcentaje de letalidad (75-80%) en periodos de dos a tres días y puede aparecer en animales a partir de 10 a 15 días de edad.

La reaparición en México en abril de 2020 de RHDV con la presencia del virus serotipo RHDV2 (Rabbit Hemorrhagic Disease Virus Serotype 2). El RHDV2 aparece tanto en especies nativas de conejos (*Sylvilagus*) y liebres (*Lepus*) silvestres, como en especies no nativas como los conejos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) que fueron originalmente traídos de Europa. La presencia del RHDV2 se ha

observado primeramente en granjas cuya actividad económica es la cunicultura o la cría de conejos domésticos.

El RHDV2 es muy resistente a temperaturas extremas y se propaga fácilmente por diferentes vías: a través de los canales de conejos destinadas al consumo humano, al contacto directo o por la exposición a las excreciones, fomites, a partir de cadáveres y su consumo por depredadores o carroñeros, por las moscas, en las heces de los depredadores, o a través de ropa y zapatos de personas que tengan contacto con los ejemplares muertos por este virus. Es por ello por lo que la transmisión de este tipo de fiebre hemorrágica viral puede ocurrir rápidamente en las granjas y el hábitat natural de conejos silvestres y liebres.

En el laboratorio de Investigación en Inmunología y Vacunas (LINVAS), se logró el desarrollo de una vacuna proteica multiepitópica recombinante basada en péptidos de la proteína estructural VP60. Esta vacuna es inmunogénica y segura en conejos con una concentración de 60 µg de proteína. Y puede ser evaluada en un desafío controlado.

La vacunación tiene como finalidad generar una respuesta inmune específica frente a RHDV; para mejorar esta respuesta, se van a utilizar dos Adyuvantes de sales de aluminio distintos (Adju-phos y Reydragel IV) para de esta manera determinar si alguno de ellos iguala o supera la respuesta obtenida con el adyuvante Montanide.

2. Objetivos.

El objetivo general fue evaluar la inmunogenicidad de una vacuna contra la EHVC2 con dos adyuvantes comerciales.

Los objetivos específicos fueron:

Purificar y cuantificar la proteína recombinante.

Preparar las dosis vacunales

Inmunizar conejos y obtener el suero.

3. Metodología.

Se determinó que para este experimento se evaluarán dos Adyuvantes los cuales son Adju-phos el cual es un adyuvante de fosfato de aluminio, el otro es Reydragel IV el cual es un adyuvante de Hidróxido de aluminio. Este experimento se adquirieron 20 conejos con una edad aproximada de 6 semanas, se dividieron en 5 grupos de conejos con 4 conejos cada grupo.

Con anterioridad se demostró en otro experimento hecho en el LINVAS que la proteína Recombinante basada en la proteína VP60 es segura de usar y causa inmunogenicidad a una cantidad de 60 µg de concentración (M. Rocha, 2022) por lo que en este nuevo experimento en 3 grupos se dosificara 60 µg de proteína más el adyuvante. Cada grupo tendrá que ser inmunizado con una vacuna distinta, en donde se dividieron de la siguiente manera. Un grupo con Montanide más 60 µg de proteína, este será el control positivo, debido a que se sabe que este tiene una efectividad entre el 70% al 100% en cuanto la generación de una respuesta inmune sobre un grupo de individuos. En otro grupo se inmunizará con Adju-phos más la concentración de la proteína de 60 µg, mientras que el siguiente grupo se usó de control negativo el Adju-phos sin la proteína. Los últimos dos grupos se aplicará el adyuvante Reydragel IV, uno con la concentración de proteína 60 µg y otro sin proteína, de igual manera este nos servirá como control negativo.

Los controles negativos permiten medir la variabilidad de la respuesta hacia el adyuvante o la proteína.

El periodo de vacunación, en donde se planeó una vez obteniendo la vacuna ya dosificada se llevaría a cabo de la siguiente manera. Día 0, día en cual se tomará la muestra preinmune y se vacunarán a los 20 conejos con su respectiva vacuna donde ese mismo día se tomarán datos fisiológicos de cada individuo, durante dos siguientes a primer inmunización (día 1 y 2) se deberán observar y analizar sus datos fisiológicos, así como su estado de salud. Al día 20 se tendrán que tomar nuevamente muestras

de sangre de los conejos con las cuales veremos el título de anticuerpos resultado de la primera inmunización. El día 21 se les aplicará una segunda dosis exactamente igual que la primera, aplicándola a los mismos grupos que con anterioridad se les aplicó. El día 31 se va a tomar nuevamente una última muestra.

3.1 Obtención y purificación del extracto proteico

Las proteínas son biomoléculas abundantes en los sistemas vivos, realizan una gran variedad de funciones esenciales, por lo que se les considera como protagonistas en gran número de procesos bioquímicos para el mantenimiento y función de cada organismo.

La proteína utilizada es una proteína expresada por la bacteria *E. coli* BL21-AI, la cual está basada en la estructura de la proteína VP60 (Proteína principal de la cápsida del calicivirus) la cual tiene 5 pepitos y una cola de histidinas. Para la purificación de esta proteína se utilizó un protocolo estandarizado por el mismo laboratorio.

La purificación de una proteína parte de las características del sistema biológico donde se sintetice (produzca), sea una célula eucariota o procariota, así como la localización de la proteína dentro de la célula, citoplasma, membrana celular, organelo, periplasma (espacio existente entre la pared y membrana plasmática de las bacterias Gram negativas) (Cutler, 2004).

La preparación de un extracto se inicia al determinar el amortiguador o solución química con sales específicas y pH definido, los cuales se establecen a partir de las propiedades bioquímicas y función de la proteína, en este caso se utilizaron 3 Buffer con sales y Ph específicos, los cuales son de unión, elusión y lavado. Los tres Buffer contienen: $\text{CH}_4 \text{N}_2 \text{O}$ (Urea), NaCl (Cloruro de sodio), $\text{Na}_3 \text{PO}_4$ (Fosfato de sodio) e $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$ (Imidazol); cada uno tiene un Ph distinto, este se debe a la función por la se utilizará. El rompimiento de las membranas celulares

permite la interacción de la proteína de interés con proteínas de la misma célula que tienen la capacidad de romper los enlaces peptídicos (enzimas proteasas). Por lo que es fundamental añadir en el buffer de unión con 8 de Ph, para mantener la integridad de las proteínas. El Buffer de elusión el cual debe estar definido a 4.5 Ph en el cromatógrafo equilibró la columna, va a eluir las proteínas reduciendo de manera gradual el ambiente hidrofóbico y regenerar la columnata ya que afectó las cargas de la fase estacionaria y las proteínas de la fase móvil. El buffer de lavado el cual debe estar a 6.3 de Ph tiene la función de que las moléculas que no se unen a la columna (es decir, que tienen la misma carga que la columna) saldrán de la columna pasando algunos volúmenes de la fase móvil.

Para lisar la membrana celular se emplearon dos métodos físicos los cuales son: Ciclos de congelado y descongelado, Involucra el congelamiento de las células en un baño de nitrógeno líquido siguiendo el descongelamiento del material a temperatura ambiente o a 37°C . La formación de los cristales de hielo generan la ruptura de la membrana celular haciéndola más permeable y potenciando la liberación de su contenido. Se requieren de múltiples ciclos para que la lisis se lleve a cabo de manera eficiente. El siguiente método empleado es la sonicación En la sonicación se aplica energía sonora (ultrasonido) mediante una sonda vibratoria sumergida en el líquido donde se encuentra la suspensión celular. Este tipo de energía mecánica agita las partículas en el líquido generando la ruptura de las membranas celulares y la liberación del contenido celular al medio. Es importante mantener la muestra en hielo para evitar que el calor generado durante el procedimiento desnaturaliza las proteínas. El siguiente paso es clarificar el extracto, es decir, si nuestra proteína es soluble en el amortiguador, los restos celulares se separan mediante la centrifugación. La centrifugación consiste en someter la muestra a una fuerza centrípeta a una velocidad determinada, en este caso fue a gravedades, las cuales se centrifugo

a una fuerza de 9000 gravedades, con lo que se logrará que las partículas más pesadas se concentren al fondo del contenedor de la mezcla. Finalmente, la muestra se decanta agregando 1 ml del buffer de unión para separar la parte soluble (donde se encuentra la proteína) de los fragmentos celulares, se vuelve a medir 200 ml de buffer de unión, se decanta en otro recipiente donde tenemos la proteína y se vacía todo el contenido en un recipiente enjuagado dos veces con agua destilada. Es importante mantener la muestra a 4°C esto es con la finalidad de reducir la actividad de las proteasas y procesos químicos que desencadenan la ruptura del enlace peptídico.

Una vez completado el método de extracción de la proteína sigue purificando la cromatografía con afinidad a las colas de polihistidina. Es una técnica que se basa en la separación de moléculas a través de su distribución entre dos fases, estacionaria y móvil. Las propiedades de cada molécula determinarán su tiempo de permanencia (se retenga) en la fase estacionaria (tiempo de retención). La fase estacionaria (polímero) es empaquetada dentro de un cilindro, y en la parte superior se coloca la muestra. En esta técnica una proteína del extracto se une a un ligando inmovilizado en la columna. Las moléculas se desplazan a través de la fase estacionaria mediante el bombeo de la fase móvil (Buffer de elusión) con un flujo a velocidad controlada. Para detectar las proteínas que salen de la columna, la fase móvil pasará por un detector UV (280 nm), generando una señal hacia un software, que finalmente se representará como una gráfica (cromatograma), donde los picos o montañas representan la presencia de proteínas, y los valles la ausencia de éstas. Al final de cada proceso de cromatografía, la fase estacionaria debe tener un proceso de mantenimiento (buffer de lavado).

3.2 Cuantificación de la proteína.

La electroforesis en gel de poliacrilamida es una técnica de separación ampliamente empleada debido a que es fácil de realizar, es sencilla, con alto poder de resolución, y bajo costo.

Existen variantes de esta técnica, elegir una de ellas dependerá de la característica bioquímica de la proteína con la que se basará su análisis. Esto es, si se analiza la muestra por el peso molecular de las proteínas o por carga, o ambas. El análisis de las proteínas con base en su peso molecular se realiza mediante electroforesis en condiciones desnaturizantes. Para la elaboración de la electroforesis se requirió de vidrios cortos y largos, una fuente de poder para la corrida de la electroforesis, elaborar un gel separador de poliacrilamida al 12%, elaborar gel concentrador, junto con moldes para los posos de 1 mm para 10 pozos y elaborar un buffer de corrido. Con una fuente de poder dejarlo correr durante dos horas a 90 Volts.

En la electroforesis en condiciones desnaturizantes, las proteínas se ponen en contacto con un detergente catiónico que despliega estas cadenas y les confiere carga negativa a todas las proteínas de la muestra, por lo que las proteínas migrarán hacia la misma dirección, hacia el polo positivo. El gel funciona como un tamiz, con poros microscópicos de tamaño definido, a través de los cuales las proteínas de mayor tamaño permanecerán en la parte superior del gel, mientras que las de menor tamaño migrarán en la parte inferior de la matriz, y las de tamaño intermedio se distribuirán en la mayor parte del gel. De esta manera, la separación de las proteínas dependerá de su tamaño.

Para conocer aproximadamente la cantidad de proteínas que están presentes en la muestra, así como el tipo de proteínas con base en su peso molecular y carga, las proteínas que conforman el extracto se pueden analizar mediante la técnica de electroforesis en gel. Esta técnica se basa en el movimiento de las proteínas en respuesta a un campo eléctrico a través de un gel de poliacrilamida, dando como resultado la separación de las proteínas.

Posteriormente se realizó una diálisis de proteínas. La diálisis es el proceso de separar las moléculas en una solución por la diferencia en sus índices de difusión o presión osmótica a través de una membrana semipermeable por medio de la difusión pasiva, para ello se preparó una solución inicial que contiene $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ (Tris base), NaCl, y $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, sobre tubos eppendorf previamente cortados y esterilizados en el autoclave se colocó la proteína, junto con una membrana semipermeable la cual tiene el propósito de dejar salir la urea, sin dejar salir a la proteína, la solución inicial va a ser la que haga un papel fundamental en esta diálisis, ya que por medio de las gradientes de concentración la urea saldrá del contenedor que tiene la membrana y dejará sin mucha urea a las fracciones obtenidas anteriormente. De recambio, el cual contiene Tris base, NaCl a un Ph de 7 el cual se esterilizó en el autoclave. Se realizaron 13 recambios, donde el volumen que se extrae de la solución inicial debe ser reemplazado por la solución de recambio cada 30 minutos, hasta el quinto recambio, en donde a partir del sexto se usará agua tridestilada.

Posteriormente se realizó otra electroforesis para determinar si nuestra proteína no se perdió junto con la urea durante la diálisis.

Los métodos para cuantificar a la proteína se clasifican en colorimétricos y no colorimétricos. Ambos métodos se fundamentan en la ley de Beer y Lambert, la cual se basa en la transmisión y absorbancia de la incidencia de un haz de luz a través de una muestra. Los métodos colorimétricos más comunes son los ensayos de Bradford, Lowry y ácido bicinónico (BCA) [10–12]. Cada método se convierte en un análisis cuantitativo al medir la intensidad de color mediante la absorbancia de luz visible a una longitud de onda determinada.

Debido a la practicidad de esta técnica (Bradford) se utilizó para cuantificar esta proteína. La determinación de proteínas por el método de Bradford consiste en la cuantificación de la unión de un

colorante, el Azul de Coomassie G-250, a la proteína, comparando esta unión con la de diferentes cantidades de una proteína estándar (Albúmina de Suero Bovino (BSA)). La cuantificación se hace midiendo la absorbancia en una placa Elisa por duplicado en una medida de 5 μl de las siguientes medidas de BSA .25, .50, .75, 1, 1.5, 2 $\mu\text{g/mL}$, agregando 245 μl de reactivo de Bradford, de igual manera se agregaron cada poso un duplicado de 5 μg con 245 μg de reactivo de Bradford se medirá en un espectrofotómetro a 595 nm, y graficando la absorbancia vs la concentración de proteínas, obteniendo una curva de calibración de la proteína estándar. Con esta curva de calibración, se puede interpolar la concentración de proteínas en una muestra al medir su absorbancia a 595 nm. Posteriormente gráfico los resultados de medidas de la BSA, la gráfica debe tener líneas de tendencia, esta debe mostrar la ecuación de la gráfica y mostrar su valor R^2 el valor de esta no debería de pasar de 1 ni ser menor a .95, si no es así da a entender que esta técnica Bradford no fue bien hecha o hubo errores en algo y por ende se debería de repetir.

3.3 Dosificación

Para este proceso se realizaron cálculos matemáticos los cuales fueron basados en los resultados del Bradford, con base a esos datos, se calculó la absorbancia que tiene cada fracción sacando un promedio del duplicado de las fracciones que se colocaron en la placa ELISA. Posteriormente se calculó la concentración de cada fracción, esta se calculó despejando la fórmula que obtuvimos al graficar los resultados de BSA, en donde “x” será el valor a encontrar e “y” la absorbancia obtenida anteriormente. Debido a que esta vacuna deberá ir a una concentración de la proteína de 60 μg es necesario saber cuánta cantidad de ésta debemos colocar debido a que la cantidad de adyuvante deberá ser igual calculada ya que pueden traer efectos secundarios si estas se pasan de la dosis adecuada. Para calcular el volumen que se usará de cada oración, tendremos

que usar esta fórmula $V_1C_1=V_2C_2$ (V es volumen, C concentración). V_1 es 1ml (esto es el volumen total de la dosis), mientras que C_1 sería equivalente a la concentración de proteína la cual debe de tener la dosis ósea 60 μg , Como queremos obtener el volumen que se requiere para tener una concentración de 60 μg de proteína no sabemos el volumen, así que V_2 se queda así momentáneamente, pero C_2 si sabemos su valor y este dependerá del valor que nos haya salido en cada concentración. El siguiente paso de esta operación, es despejar la fórmula, por lo que quedaría de esta manera $:(V_1C_1)\div C_2=V_2$. De esta manera sabremos el volumen que tendremos que tomar de cada fracción, ahora seguirá los cálculos para saber el volumen que tendremos que poner de cada adyuvante.

En el caso del Montanide, datos del fabricante mencionan que su uso para esta especie es en una relación de 70% de Adyuvante y 30% de proteína con PBS estéril, por lo que 700 μL por dosis serían de Adyuvante, mientras que 300 μL serían de la proteína completándolos con PBS. A esta solución no se le midió el Ph, también se tuvo que homogeneizar esta solución debido al tamaño .

En en caso de los Adyuvantes basados en sales de aluminio, debido a que un exceso de estos puede ser perjudiciales, por lo que se tuvo que hacer una investigación en donde se llegó a la conclusión que una concentración 500 μg de aluminio no es peligrosa de administrar para los conejos. Donde de igual manera se utilizó la misma fórmula que se usó para la concentración de proteína ($V_1C_1=V_2C_2$), su Ph tiene que llegar hasta 7, en el caso de las dosis que no llevan proteína el restante fue sustituido por agua inyectable estéril.

Todo este proceso se realizó dentro de la campana de flujo laminar, todo el material el cual fue usado fue esterilizado en autoclave y con rayos UV.

Una vez teniendo la vacuna ya hecha, se guardó en refrigeración a 4°C hasta el día el cual va a ser utili-

zada. Todos estos procesos a partir de la cuantificación de proteínas se volverán a realizar para la segunda dosis (antes del día 21).

Llegado el día (0, 21 y 31) se tendrá que llegar la facultad de ciencias naturales campus Amazcala, donde en estas instalaciones se tienen a los conejos, se les checo su estado fisiológico y posteriormente se tomó las muestras de sangre las cuales se les obtendrá la muestras de sangre de la vena marginal o auricular con vacutainer rojo con agujas calibre 20 a 22, se inyectó la vacuna de manera intradérmica, se monitoreo a los conejos por dos días siguientes, este proceso se repetirá el día 21 mientras que el día 31 solo se tomarán nuevas muestras de sangre. Con la sangre se obtendrá el suero, el cual el vacutainer será centrifugado a 3500 revoluciones por minuto durante 5 minutos, se separa con una micropipeta el suero de la parte coagulada de la sangre, se congela a -20°C.

Al día siguiente se empezó a realizar una placa ELISA, la elisa es un inmuno ensayo absorbente ligado a enzimas, esta prueba utiliza complejo Ag-Ac para medir la presencia de un analito específico en la muestra. El complejo Ag-Ac (Antígeno-Anticuerpo) genera una señal que puede medirse. La base de esta prueba son los anticuerpos que poseen una alta afinidad por un antígeno específico. Se planifica cuantificar y detectar componentes que están en algunos de nuestros líquidos biológicos que se encuentran a muy bajas concentraciones. Usa enzimas como marcador de la reacción inmunológica las enzimas conjugadas se seleccionan con base a su capacidad para la conversión de un sustrato en un producto. Para este experimento se utilizó Elisa indirecta, mide anticuerpos en el suero vamos a tener analito los pozos (Ag) se incubó a 37°C media hora, se lava 3 veces con una solución de PBS-Twen 20 y dejamos la placa en un refrigerador a 4°C durante 8 horas, se le añade Leche al 5% baja en grasa para bloquear la placa, se incubó a 37°C durante 30 minutos, se realizan nuevamente 3 lavados con PBS-

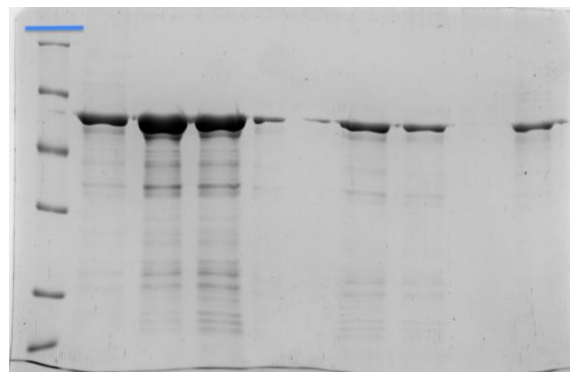
Twen 20, se añade el Ac primario, se agita con pequeños golpes de tal manera que no se salga el líquido de los pozos y nuevamente se hacen 3 lavados con PBS-Twen 20. Aquí tenemos que esperar a que llegue el anticuerpo secundario para así hacer el anticuerpo secundario, ya que este se obtendrá tras la segunda toma de muestra. Posterior a ello se va agregar este Ac secundario, y se le agrega una solución de revelado (nitrato de sodio + H₂O + OPD) si se tiñe de amarillo intenso hay la probabilidad de que el experimento sea un éxito.

4. Resultados.

Se usaron métodos físicos para la extracción de la proteína de las células de *E. coli* de cultivo, se usó nitrógeno líquido para los ciclos de congelamiento, mientras que se dejaba descongelar en hielo, este método sensibiliza la membrana celular, de tal manera que permite que en la sonicación rompa las membranas celulares y libere el contenido celular al medio. En este momento se notó un cambio en el medio, ya que el color pasó a ser más blanquecino, tras la centrifugación notamos que se habían separado la fracción soluble de los restos celulares, por lo que se da a entender que la extracción de la proteína se hizo correctamente.

Durante la cromatografía se notó que después de agregar el buffer de elusión, este cambió el Ph de la solución y por ello también cambió la fuerza iónica y polaridad de las proteínas, haciendo que las moléculas se unen a la columna.

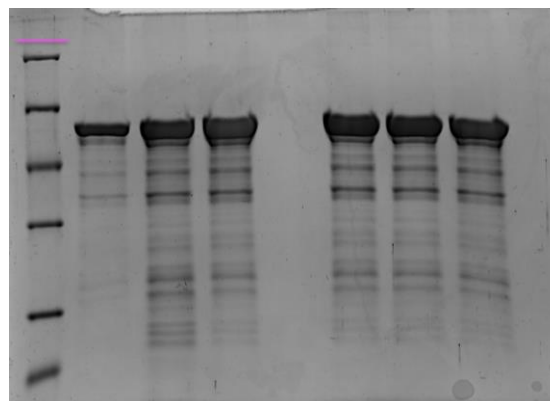
Para conocer si realmente tenemos proteínas de nuestro interés y saber qué fracciones tenemos que dialisar ya que no podemos dialisar todas por motivos de la capacidad de nuestros instrumentos de trabajo.



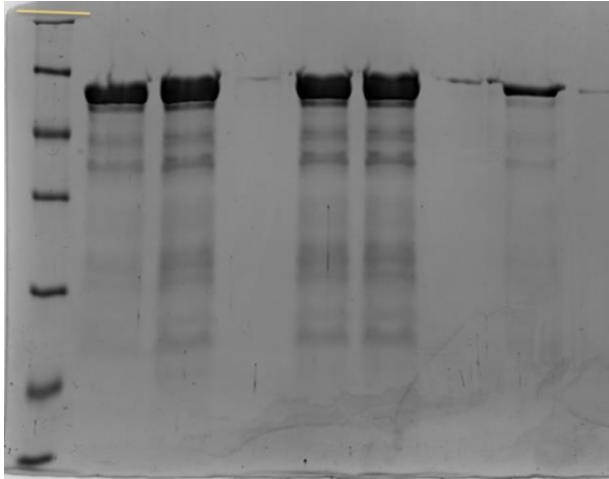
En la parte superior izquierda una línea color azul, esa nos indica el marcador de peso molecular, el cual es una referencia para de alguna manera compararla con las fracciones, con ella sabremos si realmente está presente. Algunas fracciones resultaron no tener tanta proteína como pensábamos, pero otras como la fracción 2 y 1 serán las que vamos a dialisar.



Durante el proceso de la diálisis debemos ver si realmente la membrana era permeable, por lo que cuidadosamente se colocó en un tubo eppendorf, en este se tenía que ver un pequeño cambio de densidad, y significa que está bien colocada y funciona adecuadamente.



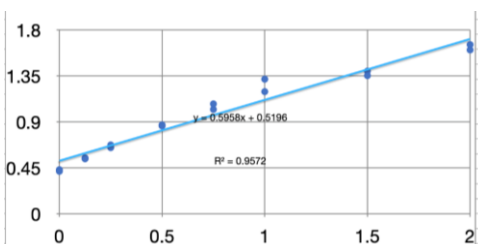
Como podemos notar la fracción 1 se dividió en 6 partes, tuvo un buen proceso de diálisis, ya que casi no perdió proteína. su concentración es notoriamente buena.



La fracción dos se dividió en 5 partes, pero solo 4 tienen la concentración la cual buscamos, hubo una que se precipitó.

BSA	Valor 595 nm
0	0.432
0	0.417
0.125	0.548
0.125	0.539
0.25	0.674
0.25	0.648
0.5	0.871
0.5	0.86
0.75	1.022
0.75	1.076
1	1.196
1	1.318
1.5	1.397
1.5	1.353
2	1.604
2	1.656

Estos fueron los resultados de los estándares de BSA que se usaron para el Bradford. Estos resultados fueron obtenidos con el espectrómetro, se graficaron.



El valor R^2 es 0.9572 por lo que es confiable, la ecuación la cual debemos despejar es $y=0.5958x+0.5196$ esta fórmula es la que nos ayudará a obtener la concentración.

Se sustituyó la fórmula para encontrar “x” y quedó de esta manera $x=(y-0.5196)/0.5958$ y se sustituye el valor y por la absorbancia (la absorbancia es el promedio de los duplicados de cada fracción que obtuvimos con el espectrómetro. Posteriormente se hizo el cálculo de cuanto proteína usado la fórmula $V1C1=V2C2$ y sustituyendo $(60*1)$ la concentración de cada fracción y eso es igual a $V2$.

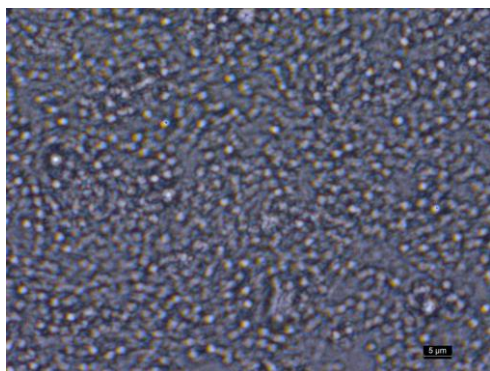
Fracción	Absorbancia	Concentración	Proteína 60 mg.
F1-2	0.6865	0.280127559583753	214.188136608748
F1-3	0.953	0.727425310506882	82.4826949700046
F1-5	0.865	0.579724739845586	103.49739432542
F1-6	0.945	0.713997985901309	84.0338504936531
F1-7	0.9175	0.667841557569654	89.8416687609953
F2-1	0.8425	0.541960389392414	110.709197894085
F2-2	0.838	0.534407519301779	112.273869346734
F2-4	0.73	0.353138637126553	169.904942965779
F2-5	0.7685	0.41775763679087	143.623945359582
F2-7	0.572	0.0879489761664989	682.213740458015
F2-3	0.4285	-0.152903658945955	-392.403951701427
F1-4	0.4435	-0.127727425310507	-469.750328515111
F2-6	0.459	-0.10171198388721	-589.900990099013

Con esto sabremos que cantidad de solución que tendremos que ocupar para completar los 60 µg de concentración de proteína.

Solo falta la cuantificación del aluminio que no sea mayor a 500 µg, el montanide ya está estandarizado. utilizando la fórmula $V1C1=V2C2$ que sustituyendo los valores quedaría de esta manera Reydragel LV $(500*1000)/2000$ (la cual es la concentración que maneja el fabricante µg/ml) dando como resultado 25 µl de adyuvante por dosis. mientras que el adju-phos sería la concentración de 5000 µg/ml por lo quedaría $(500*1000)/5000= 100$ µl de adyuvante por cada dosis.

Para la dosificación primero se hicieron las dosis de los adyuvantes de sales de aluminio, todo este proceso se realizó en la campana de flujo laminar, que de igual manera todo el material utilizado fue desinfectado por autoclave o por irradiación UV.

Primero se agregó el Adyuvante a un beaker esteril, se agregó la proteína para completar los 60 µg y el restante fue completado con agua inyectable esteril. a ambos adyuvantes se estableció el Ph a Ph 7. En el montanide el fabricante menciona que el 70% de la solución de la vacuna debe ser adyuvante y el resto proteína con PBS. En este adyuvante se tiene que usar un Homogenizador molecular, que de manera mecánica homogeniza la muestra. se homogeneiza en intervalos de 10 minutos en hielo.



El tamaño de las partículas del montanide tienen que ser igual a 5µm, para tener este resultado se homogeneizó la muestra por aproximadamente 100 minutos (10 veces).

Llegado el día de la inmunización y toma de muestras, se llegó al campus Amazcala FCN, donde se tomaron datos fisiológicos y se inmunizan. Estos datos se les continuó dando seguimiento durante 2 días más.

Numero de conejo	Adyuvante	Peso día 0	Temperatura día 0	Observaciones día 0	Inflamación adyuvante Infiltración Día 1	Estado de la oreja Día 1	Temperatura Día 1	Peso Día 1	Observaciones Día 1
3	Rehydragel + proteína	1.730 Kg	38,5 °C		Poca inflamación.	Poco lastimada.	39,0 °C		respecto al día de prueba.
4	Rehydragel + proteína	1.680 Kg	38,8 °C		Poca inflamación.	No esta lastimada.	39,6 °C		
5	Rehydragel c-	1.850 Kg	38,3 °C		Poca inflamación.	No esta lastimada.	39,5 °C		
6	Rehydragel c-	1.730 Kg	39,5 °C		Poca inflamación.	No esta lastimada.	39,6 °C		
7	Rehydragel c-	1.770 Kg	38,8 °C	Claras	No hay inflamación.	Lastimada.	39,5 °C		Claras.
8	Rehydragel c-	1.735 Kg	38,5 °C		No hay inflamación significativa.	No esta lastimada.	39,7 °C		
9	Adju-phos c-	1.445 Kg	39,7 °C		Poca inflamación.	Poco lastimada.	39,7 °C		
10	Adju-phos c-	1.580 Kg	39,2 °C		Poca inflamación.	Poco lastimada.	39,5 °C		
11	Adju-phos c-	1.280 Kg	39,1 °C	Con líquido entado, pabas untadas.	No hay inflamación.	No esta lastimada.	39,2 °C		Con líquido cuando totalmente pabas untadas.
12	Adju-phos c-	1.290 Kg	39,1 °C		Poca inflamación.	Poco lastimada.	39,8 °C		Desaparición en el párpado superior izquierdo.
13	Adju-phos + proteína	1.140 Kg	39,2 °C		Si hay infación.	Lastimada.	39,1 °C		Trazo, temperatura alta.
14	Adju-phos + proteína	1.425 Kg	37,2 °C		No hay inflamación.	No esta lastimada.	39,7 °C		
15	Adju-phos + proteína	1.575 Kg	38,9 °C		No hay inflamación.	No esta lastimada.	39,7 °C		
16	Adju-phos + proteína	1.225 Kg	38,8 °C		No hay inflamación.	No esta lastimada.	39,5 °C		
17	Montanide	1.335 Kg	39,7 °C		No hay inflamación.	No esta lastimada.	39,8 °C		
18	Montanide	1.255 Kg	39,4 °C		No hay inflamación.	No esta lastimada.	39,3 °C		
19	Montanide	1.300 Kg	38,4 °C		Poca inflamación.	Poco lastimada.	39,5 °C		
20	Montanide	1.625 Kg	39,7 °C		Si hay infación.	No esta lastimada.	39,6 °C		

Se centrifugó la sangre para obtener el suero, éste se guardó mientras se preparaban las placas ELISA

para hacer una ELISA indirecta, donde el analito que se colocó es un antígeno propio de la RHDV, se incubó, se lavó con PBS-Twen 20 tres veces, se bloqueó con leche, y se repite el proceso de incubación y lavado, para dejarlo bloqueado, posteriormente se dejó en un refrigerador a 4°C durante 12 horas, agregó Ac primario (suero) y se ha dejado en un refrigerador esperando la segunda toma de muestras para el Ac secundario. Debido al poco tiempo por el cual nos resto, no pudimos concluir el experimento

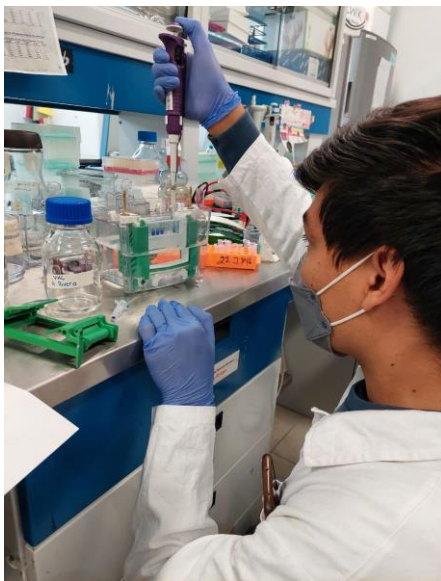
5. Discusión y conclusiones.

Sin duda alguna la preparación de la vacuna fue todo un reto, debido a que el protocolo el cual fue desarrollada es muy estricto, y tiene procesos largos, como prácticamente todos los procesos utilizan la unidad µ incluso el más mínimo error puede ser perjudicial (como en la cuantificación de proteína o, el cálculo de la solución de los Adyuvantes), la sanidad y precaución con la que se deben trabajar los reactivos y productos es especialmente cuidadosa, la inmunización de los 20 conejos se logró realizar, y entendemos que para ello es importante la capacitación del personal el cual extraerá las muestras, debido al bienestar animal que conlleva realizar una vacunación. Hasta el momento se tiene conocimiento que usar los Adyuvantes Adju-phos como Rehydragel, es seguro de usar a una concentración de 500µg de aluminio. Desafortunadamente debido al tiempo que se tardó en realizar las dosis de vacunas ya no se pudo obtener una conclusión a tiempo del propósito del experimento (evaluar la inmunogenicidad de las vacunas aplicadas), sin embargo Durante estas semanas se llevaron a cabo trabajos tanto en el laboratorio como fuera de él, durante estas semanas logramos relacionar ampliamente la importancia de cada uno de ellos, ya que si el trabajo realizado en cualquier campo es malo, perjudica el trabajo que se realiza o realizó.

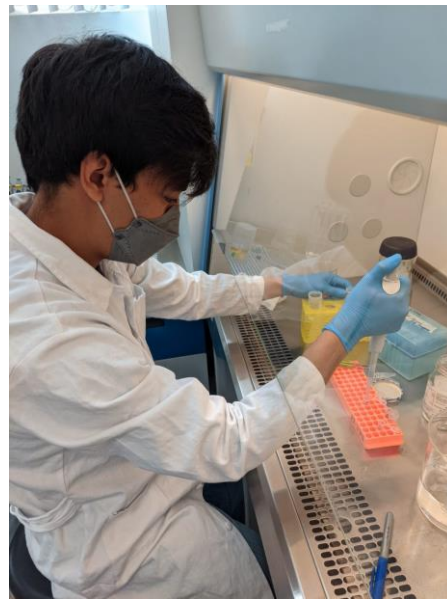
6. Agradecimientos

Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito, le agradezco su conocimiento impartido, el apoyo, el tiempo, las enseñanzas y la gran amistad que se dio durante esta estadía es algo que siempre recordaré. Al técnico del laboratorio Ivan Corona Guerrero por la paciencia que nos tuvo, por enseñarnos muchos conocimientos nuevos, y la confianza que nos depositó. MSPAS Alma Cardenas Flores por siempre confiar en nosotros y mostrarnos su apoyo en todo momento. Mariana Rocha y Sergio Nieves, por su apoyo durante el proceso de la Purificación así como el apoyo durante el muestreo. Al personal del laboratorio LINVAS por su apoyo durante toda esta estadía. Finalmente le agradezco a mis compañeros de verano, por haber hecho divertida y emocionante estas semanas.

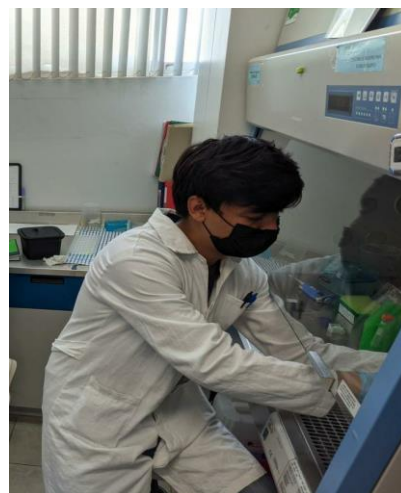
7. Galleria fotográfica.



Electroforesis en gel de poliacrilamida



Difusión de proteínas.



Dosificación de la vacuna.



Toma de muestra de conejos.

8. Bibliografía citada.

Abrantes J, Lopes AM, Dalton KP, Melo P, Correia JJ, Ramada M, Alves PC, Parra F y Esteves PJ (2013). New Variant of Rabbit Hemorrhagic Disease Virus, Portugal.

Cima, G. Rabbit hemorrhagic disease virus serotype 2 spreading among wild rabbits, hares. JAVMA News. 2020. Disponible en: <https://www.avma.org/javma-news/2020-07-15/virus-killing-rabbits-western-us>. [Consultado el 21 de Julio de 2022].

Cooke BD (2002). Rabbit haemorrhagic disease: field epidemiology and the management of wild rabbit populations. Rev Sci Tech Off Int Epiz, 21: 347-358 2012-2013. Emerg Infect Dis, 19: 1900-1902.

Cutler, P. (ed.) (2004) Protein Purification Protocols, 2nd Ed., Methods in Molecular Biology, Humana Press, 10.1385/159259655X

OIE (2016). Terrestrial manual. Chapter 2.6.2: Rabbit haemorrhagic disease. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.06.02_RHD.pdf. [consultado el 22 de Julio del 2022].

LA NIÑA BLANCA: UN ESTUDIO CRIMINOGRÁFICO DEL CULTO A LA SANTA MUERTE EN EL ESTADO DE QUERÉTARO

Jessica Paloma Hernández Landaverde
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Derecho, Licenciatura en Criminología
jhernandez419@alumnos.uaq.mx
Querétaro, México

Resumen

En la zona centro-norte de México se encuentra el Estado de Santiago de Querétaro, donde a lo largo de los años han incrementado los creyentes devotos a la Santa Muerte, sin embargo, persisten posiciones divididas respecto a la práctica de este culto, en varios casos forma parte de la cotidianidad religiosa dentro de la rutina de los individuos e incluso a nivel económico, razón por la cual también se ha visto involucrada en la acción social criminal, por lo que para este estudio cualitativo y cuantitativo fue necesaria una investigación desde el enfoque criminográfico.

Palabras clave

Culto, crimen, conducta, criminología, criminografía cultural, Querétaro, violencia.

Abstract

In the north-central zone of Mexico is placed the State of Santiago de Queretaro, where over the years the believers devoted to Santa Muerte have

increased, however, divided positions persist regarding the practice of this cult, in several cases is part of religious daily life within the routine of individuals and even at the economic level, which is why it has also been involved in criminal social action, so for this quantitative study an investigation from the criminographic approach was necessary.

Key words

Cult, crime, conduct, criminology, cultural criminography, Queretaro, violence

Introducción

El propósito de esta investigación ha sido la realización de un análisis criminográfico para comprender el fenómeno sociocultural del culto a la Santa Muerte en el Estado de Querétaro, por lo que se abordó su desarrollo social-religioso, así como el estudio de la conducta y la percepción del mismo en la cotidianidad Queretana con la participación de informantes.

Objetivo

Conocer las motivaciones de las personas del municipio de Querétaro para participar, fomentar o comercializar el culto a la santa muerte.

Método

La metodología empleada en el desarrollo de esta investigación es la propuesta de Criminografía Cultural (Posadas, 2019, p. 15), la cual parte de una visión antropológica y etnográfica enfocada en los ámbitos de violencias cotidianas y el hecho social criminal, siendo un método de carácter cualitativo, a través de la consulta de entrevistas semiestructuradas e historias de vida y *rapport*, los cuales se aplicaron a diversos individuos involucrados en el culto de la Santa Muerte, ya sea porque comercializan, son seguidores o en casos

más concretos, ocupan una jerarquía dentro de organizaciones del culto en Corregidora, Querétaro. Además, en la presente investigación se comentará el contexto diacrónico-sincrónico y el cultural implícito.

Resultados

Contexto diacrónico-sincrónico

El desarrollo social en Querétaro en cuanto a la religión se ha reconocido por ser un Estado devoto a la religión católica, no obstante, en los últimos años un culto religioso que tiene prácticas similares y hasta inspiradas en la misma religión católica ha ganado cierto reconocimiento y seguidores, visto por las personas que no conocen el culto de “La Santa Muerte”, a sus devotos han sido catalogados como antisociales y hasta delincuentes practicantes de la *magia negra*, sin adelantarse demasiado, se podría decir que los seguidores de “La Santa Muerte” son un grupo *parasocial* (Manzanera, 1981, p. 23) que no sigue la religión establecida por la mayoría pero que tan poco atenta contra ella, por lo cual, es importante llevar a cabo este nivel de análisis diacrónico-sincrónico en la sociedad del Estado de Querétaro a partir del S.XX, para comprender cómo se introdujo esta figura de la muerte en un territorio católico y cómo con el tiempo hasta nuestra actualidad ha ganado tanta presencia y seguidores.

Y en cuanto a la discusión de la conducta, que es un aspecto sustancial que nos atañe en criminología, independientemente del abordaje, sabemos que la conducta en sí trata de la acción u omisión de una acción en un contexto social, ciertamente tendría que ser una conducta seguida y adoptada por la mayoría del colectivo, de tal modo que el ejemplo que discutimos aquí, el culto a “La Santa Muerte”, es la evidencia de la NO aceptación de los valores adoptados por un conjunto de personas, no obstante, sin destruir (en la gran mayoría de los casos, o al menos de este

bajo estudio) los ya preestablecidos por el sistema dominante, con esto me refiero a una conducta de tipo parasocial.

Debido a que no se tiene un registro histórico preciso que indique de qué manera el culto de “La Santa Muerte” se desplazó desde su lugar de origen en Ciudad de México, hasta Querétaro, la investigación y análisis diacrónico-sincrónico de información obtenida se realizó vía periódicos locales y relatos, así como experiencias personales de ciudadanos del Estado de Querétaro que son seguidores devotos y proveedores de productos de “La Niña Blanca”.

Para novedad de muchos no solo Querétaro, sino, en todo México, la figura de la Muerte como deidad ha estado más presente y mucho antes que la figura de Dios en la iglesia católica, Frago Lugo (2007, p. 25) formula la hipótesis del origen del culto hacia “La Santa Muerte” en tradiciones prehispánicas, relacionándolo con prácticas mexicas y con las deidades nahuas del inframundo: Mictlantecuhtli y Mictecacihuatl. Sin embargo, con la llegada de los españoles en 1492 y con la imposición de la religión católica, toda figura religiosa ajena a la católica fue suprimida de la cultura Mexica. Actualmente:

Homero Aridjis, en su novela *La Santa Muerte*, afirma que en este culto se hacen evidentes los dos México que concurren ante el fenómeno: El de la gente que pide favores o milagros para tener trabajo, salud, comida, y el de los hombres del poder económico, político o criminal, quienes curiosamente le solicitan venganzas o muertes (Fragoso, 2007, p. 22).

Dado que, la figura de la “Santísima Muerte” está satanizada y ha sido fuertemente rechazada, ex certa scientia no se sabe cómo es que resurge dicho culto en México, ya que varios periodistas

han intentado darle una explicación en la que argumentan que esta se inició de manera clandestina entre grupos que se encontraban en conflicto con la ley, por otro lado, antropólogos argumentan que fue primero un culto familiar que posteriormente se extendió a los ámbitos criminales. A finales de los noventa se emprendieron reformas de Ley, referentes a las Asociaciones Religiosas y de Culto Público, esto con la finalidad de mejorar las relaciones entre el gobierno y la diversidad de culto de la población mexicana. Para inicios del siglo XXI, la Iglesia Católica Tradicionalista mexicana-estadounidense solicitó de manera formal su propio registro en la Secretaría de Gobernación (SEGOB), sin embargo, la imagen de “La Santa Muerte” fue omitida y para el 2003 que el registro es otorgado, se vislumbra un crecimiento considerable de aceptación al culto, en parte, por el poder de la influencia de los medios de comunicación. Más tarde, a mediados del mismo año, se declaró como una figura de veneración. Fragoso Lugo (2007, p. 20-21) menciona que en el 2005 se le retiró del registro de Asociación Religiosa a la iglesia católica tradicional, debido a que violó el artículo 29 de la Ley de Asociaciones Religiosas, al cambiar su objetivo religioso del catolicismo tradicional.

A pesar del rechazo social, religioso e incluso político, sus seguidores han permanecido fieles a su adoración, puesto que, la base social de dicho culto está integrada principalmente por grupos sociales que se encuentran en un estado de “vulnerabilidad”, ya sea por cuestiones ideológicas-culturales o económicas:

La identidad de “La Santa Muerte” es heterogénea y ambigua porque esta deidad refleja y es expresión de sectores excluidos por la sociedad como es el mundo de la economía informal, la base social del culto está integrada por personas que comparten una condición de fragilidad

o vulnerabilidad social y son excluidas de los mercados formales de la economía, de la seguridad social, del sistema jurídico y del acceso a la educación, o que forman parte de un amplio sector urbano y semirural empobrecido. (Fragoso, 2007, p. 22).

Asimismo, para el estado de Querétaro, específicamente, la autora Claudia Reyes menciona el siguiente referente: “en el pueblo de Amoles, hoy Querétaro, por el año de 1793 (...) se presentó a un ídolo de nombre Justo Juez, cuya figura es un esqueleto de cuerpo entero coronado, portando arco y flecha en manos, que está sobre una superficie colorada” (Reyes, 2011, p.53). Esto haciendo una clara referencia a lo que podría ser considerada hoy en día la interpretación de “Niña blanca” o “La Santa Muerte”.

Por otro lado, a 37km del municipio de Corregidora, en Pedro Escobedo, se realizan ceremonias de veneración y agradecimiento en el templo de “La Santa Muerte” con ubicación en Prolongación Reforma, sin número. Estas fiestas dan inicio el 31 de octubre con la peregrinación y el 2 de noviembre con actividades continuas.

En el municipio de Corregidora, el representante de la iglesia de “La Santa Muerte” fue consagrado obispo en el año del 2011 en Pedro Escobedo, quien a día de hoy es encargado del nuevo templo ubicado en la población de la Negreta y a razón de ello, el pastor comenta que tuvo que instruirse aún más para que los futuros seguidores de “La Niña Blanca” no se unan por moda, sino más bien, por fe. Es uno de los retos a los que se ha enfrentado al llegar al municipio de Corregidora, la aceptación y el rechazado de las personas. (Miguel, Pastor de la Iglesia de la Santa Muerte en el municipio de Corregidora, Querétaro, Julio 2022).



Imagen.1, Templo de la Santa Muerte en La Negreta, el Pueblito, Corregidora, Querétaro a cargo del obispo Miguel.

Además, comentó que cada templo lleva a cabo sus propias prácticas y/o rituales, pues depende del enfoque en el que trabaje cada pastor. En su caso, él sigue las prácticas de la cultura zoque, una antigua etnia ubicada en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, que suele realizar ceremonias y ritos prehispánicos para invocar la abundancia, la salud y el bienestar de la comunidad originaria, comenta, que desde hace más de 5 mil años. (Miguel, Pastor de la Iglesia de la Santa Muerte en el municipio de Corregidora, Querétaro, Julio 2022).

La forma de iniciación en esta religión puede ser muy variada, ya que hay quienes se hacen devotos a esta figura por decepción de su religión actual, o hay quienes lo hacen para darle más fortalezas a sus creencias. Tal como lo explica una de los informantes, donde en la entrevista menciona que empezó a finales del 2020: “Yo empecé hace un año, porque mira tengo más hijos, pero mi hijo que tiene el don empezó mucho antes, ya que se preparó y con su don puede ayudar a las personas que lo necesitan” (Daniela, comerciante, El Pueblito, Corregidora, Querétaro, Julio 2022).

Los colores y vestimentas tienen un gran significado para los creyentes de esta religión, por lo que, tal como comentó la informante, ella sugiere que se cambie la túnica de la figura cada 1° de cada mes, en símbolo de respeto. “Cada primero de mes yo la cambio, le quitó su túnica y se la cambio, por ejemplo, ahorita en Semana

Santa se cerró porque son días santos, la vestí de morado y le tapé la cara de negro, porque se respeta” (Daniela, comerciante, El Pueblito, Corregidora, Querétaro, Julio 2022).

Todos los colores tienen un significado y cada uno de ellos representa el hecho benefactor, como lo podría ser el azul; que representa sabiduría e inteligencia, es recomendada para los estudiantes, la dorada o plateada; para la abundancia y prosperidad, es recomendada para trabajadores que buscan aumentar sus ingresos o personas que pasan por alguna crisis económica, la túnica negra; es para la protección total, para evitar ser víctima de algún “trabajo”, “*magia negra*” o “malas vibras”, el rojo; es para el amor y la pasión, la verde; está relacionada para solucionar problemas legales o relacionados con la justicia, por ello se le conoce como “La Santa Justa”, ya que, según la explicación de los informantes: *brinda su luz en donde hay oscuridad*. (Claudia, comerciante y seguidora, La Negreta. Querétaro, Julio 2022)

Contexto cultural implícito

En esta segunda y última parte de la investigación se aborda el contexto cultural implícito, básicamente referente al análisis del conjunto de valores y representaciones simbólicas propias del culto que son las proyectadas en la acción social.

Por lo que se refiere a un índice de población específico, el culto a “La Santa Muerte” carece de estas cifras, al menos de manera comprobable, no obstante, la investigación se llevó a cabo con los datos de campo *in situ*, obtenidos de los informantes en el Estado de Querétaro.

La integración al culto, desde el testimonio propio de los informantes se puede clasificar en los siguientes aspectos:

1. Por tradición-costumbre impuesta. Uno de ellos, mencionó que su familia era creyente desde hace más de dos décadas y así fue como se inició en el culto.
2. Por otro lado, la alucinación religiosa o el delirio místico, ya que hubo informantes que mencionaron haber sido parte de una experiencia superior, donde estos fueron llamados o elegidos por la imagen de “La Santa Muerte” para ser un “*médium*”, una vía entre su don y la vida terrenal-humana.
3. La decepción de su religión. Hubo quienes comentaron haberse sentido menos abandonados e incluso sanados al acercarse a la veneración icónica de “La Santa Muerte”.

Discusión y conclusiones

No obstante, los milagros o favores son remunerados con ofrendas, los participantes lo comentan con respeto y seriedad, e incluso temor, uno de ellos mencionó: “Si pides dinero así, te da las alternativas, pero eso sí, cuando le pides algo tienes que ponerle un cigarro diario o darle agua, fruta, dulces, cerveza...Nosotros mismos nos castigamos por prometer cosas que no podemos cumplir”. (Juan, padre de familia, Emiliano Zapata, Corregidora, Querétaro, Julio 2022).

Finalmente, otro de los puntos importantes para reconocer, es que erróneamente se ha considerado que la mayoría de seguidores de este culto son criminales, narcotraficantes, los desviados, ya se había comentado, “los malos” que ponen en peligro la seguridad pública. Ciertamente no lo es. Así como son inexistentes las cifras que contabilicen el número de seguidores y/o creyentes, también lo son las estadísticas que nos puedan proporcionar información acerca de cuántas personas dedicadas al hecho social criminal son seguidores.

El culto a “La Niña Blanca” ha sido vinculado al narcotráfico, una generalización si bien, descuidada, que no puede ser aplicada en todos los contextos, por argumentos como el anterior es que se pretende poner en tela de juicio si en verdad la imagen de “La Santa Muerte” está relacionada únicamente con el narcotráfico, pues si bien no se niega que pueda existir cierta aceptación y reconocimiento, esto no determina que sea un culto exclusivo de ciertos criminales.

Ya lo comentaba Gaytán (2008) “Durante mucho tiempo se creyó que sólo aquellos que viven al límite de su vida profesan tal creencia: policías, narcotraficantes, prostitutas, delincuentes. Pero el culto es transversal a distintos grupos sociales y niveles socioeconómicos quienes ahora lo muestran públicamente” (p. 40).

En conclusión, el culto a “La Santa Muerte” contiene innumerables elementos de códigos visuales, rituales y sistemas de creencias heterogéneos, los cuales son el resultado de diversos factores:

- I. Debido al panorama religioso en México, el cual fue conformado por la interacción de sistemas diversos de creencias y prácticas religiosas de orígenes: indígena y cristiano, entre otros.
- II. Prácticas asociadas al catolicismo y al carácter individual de la actuación curativa de los curanderos, que tiene un gran auge en nuestro país, como lo es la *medicina alternativa*.
- III. No existe un canon formal o esquema litúrgico que limite la variedad de prácticas de dicho culto, en realidad, pretende ser una práctica libre de juicios morales que acepte a sus adeptos tal y como son,

idealmente, sin ninguna distinción y libre de imposiciones y órdenes.

- IV. La imagen de la muerte (pues como se explicó) tiene diversos significados simbólicos e interpretaciones dependiendo del contexto y del sujeto que lo interprete.
- V. Finalmente, la cultura globalizada ha facilitado su creciente popularidad en esta actual sociedad de hiperconsumo, de ahí su aceptación o desaprobación con los estándares morales dominantes.

Posadas, A. (2019). Criminografía cultural. Guía de investigación de campo para criminólogos. Universidad Autónoma de Querétaro.

Reyes, C. (2011). Historia y actualidad del culto a la Santa Muerte. El Cotidiano, núm. 169, pp. 51-57.

Tavárez, G. "'Creyentes de la 'Santa Muerte', y de Dios; peregrinan a santuario en Pedro Escobedo'". Diario de Querétaro.

Agradecimientos

En primera instancia, agradecer la participación de las personas que decidieron brindar de su tiempo y disponibilidad para el motivo de la investigación, a mis compañeras y amigas por inspirarme a escribir, y, por último, pero no menos importante, al Dr. Alberto Posadas por guiarme con su conocimiento, respeto, valor y humanidad.

Referencias bibliográficas

Fragoso, L. "La muerte santificada: el culto a la Santa Muerte en la ciudad de México", Revista de El Colegio de San Luis, vol. 26(27), pp. 9-37, 2007.

Gaytán, F. (2008). Santa entre los malditos. Culto a la Santa Muerte en el México del siglo XXI. LiminaR. Estudios Sociales y Humanísticos, 6(1), pp. 40-51.

Manzanera, L. R. (1981). CRIMINOLOGIA (1.a ed.). Editorial Porrúa México.

Galería fotográfica



Imagen. 2, Ubicación templo de la Santa Muerte en La Negreta, el Pueblito, Corregidora, Querétaro. Fuente: *Google Maps*.



Imagen. 3, La Negreta, Corregidora, Qro.



Imagen. 4, Base de autobuses de la Negreta, Corregidora, Qro.



Imagen. 5, Exterior del templo de “La Santa Muerte” en el municipio de Corregidora.



Imagen. 6, Interior del Templo de “La Santa Muerte”, Corregidora, Qro.



Imagen. 7, Entrevista a Miguel, obispo del Templo de “La Santa Muerte”, La Negreta, Corregidora, Qro.

Bromatología de Plantas Comestibles de Huimilpan

Laura Daniela Lona Sandoval, Luis Hernández Sandoval, José Guadalupe Gómez Soto, Aurora Jauregui Mejía.

Laboratorio de Nutrición Animal, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

Correspondencia: lona12@alumnos.uaq.mx

Resumen. El propósito de este estudio es realizar un análisis químico proximal de plantas comestibles del municipio Huimilpan, para determinar materia húmeda, materia seca, extracto etéreo, cenizas, proteínas, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno. Se hizo un muestreo y colecta de plantas ya reportadas como comestibles en la base de datos de la colección del Herbario de Querétaro (QMEX) dentro de una zona de Huimilpan llamada Camino al Paraíso el día 29 de junio del 2022. Se recolectaron cinco especies de plantas comestibles: Mezquite (*P. leavigata*), Nabo (*Brassica rapa*), Verdolaga (*Portulacea* sp.), Quelite (*Amaranthus* sp.) y Granjeno (*Condalia velutina*). En el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Naturales, UAQ. Se realizaron los análisis químicos proximales pertinentes para este estudio. El aprovechamiento registrado de las muestras colectadas va desde únicamente la alimentación hasta la fabricación de herramientas, tintura, medicina, combustible, entre otros. El impulso del aprovechamiento de estas especies categorizadas como nativas fomenta su conservación, lo que no sólo es beneficioso hablando de la disponibilidad, sino que su consumo tiene bajo impacto en el equilibrio ecológico.

Palabras clave: Especies silvestres, etnobotánica, bromatología, análisis químico proximal.

Key Words: Wild species, ethnobotany, bromatology, proximate chemical analysis.

Abstract. The purpose of this study is to perform a proximate chemical analysis of edible plants from Huimilpan to determine fresh matter, dry matter, ethereal extract, ash, crude fiber and free nitrogen extract. Sampling and collection of plants already registered as edible in the database of the Queretaro Herbarium (QMEX) collection was carried out inside a zone of Huimilpan called Camino al Paraíso the day 29 of June of 2022. There were collected five species of eddible plants: Mezquite (*P. leavigata*), Nabo (*Brassica rapa*), Verdolaga (*Portulacea* sp.), Quelite (*Amaranthus* sp.) and Granjeno (*Condalia velutina*). At the laboratory of Animal Nutrition there where performed the proximate chemical analysis appropriate for this study. The approachment reported comes from only food to the fabrication of tools, dye, medicine, fuel, among others. The promotion of the usage of this species categorized as natives encourage their conservation, which it is not only beneficial talking about disponibility, but also the consume has low impact at the ecological equilibrium.

Introducción

La bromatología, etimológicamente, se refiere a “la ciencia de los alimentos” (Cortés Castillo & Hernández *et al.* 2010). Su definición, aspectos o enfoques han variado históricamente de acuerdo con las necesidades alimenticias del hombre. Son los conocimientos sistematizados que evalúan la composición química y los comportamientos bajo diferentes condiciones. En pocas palabras y en lo que respecta a este proyecto: analizar el contenido nutricional, tal como las proteínas, las fibras, minerales, carbohidratos, azúcares, entre otros. No obstante, esta ciencia tiene en cuenta todos los factores involucrados y puntos de vista con respecto al estudio de los alimentos; por lo que es multidisciplinar (Gutiérrez, 2000).

La etnobotánica, por su parte, es la manera en la que se relacionan las plantas y el hombre. Esta relación

viene siendo el producto de la interacción de los saberes culturales, sociales, tecnológicos y los procesos ecológicos en el espacio y tiempo de determinada región. Su importancia radica en rescate de saberes tradicionales que pueden ser base para nuevas prácticas, componentes y nuevos usos (Caballero & Cortés, 2001). La etnobotánica es integrativa y multidisciplinaria, puesto que pueden emplearse enfoques fitoquímicos, biotecnológicos, médicos, bromatológicos (como es el caso) para la aplicación de estos conocimientos (Hernández Sandoval, *et al.* 1991). Se considera que, evolutivamente, las plantas domésticas y cultivadas sufren más cambios en contraste a las plantas útiles silvestres. Cabe resaltar que esto es debido a la manipulación de las poblaciones, pero no induce diferenciación genética, sino que se aprovecha la plasticidad genética de las especies.

Se consideran como plantas útiles, todas aquellas que tienen cierta funcionalidad para el hombre, tales como fuente de alimento, materia prima de productos, ornamentación, etcétera. Se estima que hay aproximadamente siete mil especies de plantas útiles en México de las cuales, la mayoría son comestibles. Es decir, las plantas útiles representan desde 1/5 hasta 1/3 del total de plantas vasculares conocidas en el país. Durante este proyecto se evaluarán el contenido nutrimental de diferentes plantas reportadas como comestibles en regiones colindantes con el municipio de Huimilpan. Las cuales, también, forman parte de la colección del herbario y base de datos de Querétaro (QMEX). Entre los cuales destacan los géneros *Opuntia*, *Agave*, *Citrus* y familias como *Amaranthaceae*, *Solanaceae*, también algunas cucúrbitas y fabáceas (Pardo, 2005).

Promover el conocimiento con respecto a la biodiversidad de plantas comestibles nativas, le brinda a la sociedad las herramientas necesarias para buscar alternativas de alimentación con la ventaja de que estas especies van acorde a las condiciones ambientales de la región. Promover su consumo, además, permite diseñar estrategias de propagación y cultivo, disminuyendo el riesgo que pudieran tener algunas especies de desaparición. En cuanto al uso de las plantas útiles, también existen estrategias y prácticas de protección de estas, algunas de ellas involucran la exclusión de depredadores y la remoción de competidores. Las diferentes formas de manejo, manipulación, la tolerancia, protección y fomento de individuos permite aumentar la disponibilidad de recursos vegetales silvestres. Para ejemplificar esto, se puede mencionar que, en la región centro de maya de Yucatán, *Sabal mexicana* y *S. yapa* se utilizan diferentes formas de manejo secuencial y simultáneamente; la palma de guano ha sido cultivada en huertos familiares desde hace más de tres mil años y actualmente es empleada como techado de viviendas o artesanías. Destacando que, hoy en día, a causa de las deforestaciones, ha

desaparecido casi por completo del medio natural pero no en los huertos familiares, ya que una de las prácticas más comunes ha sido dejarlas en pie una vez se establecieron los huertos, a razón de que las palmas de guano brindan protección a las plántulas de guajolotes. Los mixtecos y nahuas de Puebla y Guerrero, suelen llevar a cabo recolección selectiva de Quelites, gracias a los saberes tradicionales distinguen entre alaches o chipiles machos y hembras, recolectando únicamente hembras ya que sus hojas son más anchas, suaves, de buen sabor y no pubescentes. Además, obtienen únicamente hojas jóvenes a manera de que se prevenga lo más posible el deterioro de la plantas.

De acuerdo con estudios llevados a cabo en Querétaro, en La Barreta particularmente. Se han encontrado 47 especies de plantas útiles comestibles. Logrando posicionarlas en seis categorías gastronómicas: 11 quelites, ocho postres, siete condimentos y salsas, cuatro bebidas, 16 golosinas, 15 frutas. Todas estas especies son consumidas acorde a la temporada en la que se formen las estructuras comestibles. Los quelites son las únicas que se consideran un recurso alimentario relevante. A continuación, se muestra una tabla con plantas nativas, silvestres y comestibles reportadas en Huimilpan (Martínez & Díaz, *et al.* 2021).

Familia	Especie	Estructura/s comestibles
Asparagaceae	<i>Agave americana</i>	Tallos florares tiernos, savia
Asparagaceae	<i>Agave salmiana</i>	Penca
Cactaceae	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Cladodio, penca, fruto
Cactaceae	<i>Opuntia lasiacantha</i>	Fruto
Cactaceae	<i>Opuntia streptacantha</i>	Cladodio, penca, fruto
Cactaceae	<i>Opuntia tomentosa</i>	Cladodio, fruto
Portulacaceae	<i>Portulaca mexicana</i>	Tallos, hojas, flores y semillas
Fabaceae	<i>Prosopis laevigata</i>	Frutos

Fig. 1 Tabla de Especies comestibles reportadas en Huimilpan con familia y estructura comestible

Como puede constarse, las especies comestibles reportadas dentro de Huimilpan son principalmente Cactáceas y Asparagáceas. Por esto se consideran también aquellas encontradas previamente en regiones colindantes a Huimilpan para la colecta.

Objetivos

Identificar y reportar plantas comestibles del Municipio de Huimilpan, Querétaro.

Realizar estudios bromatológicos que permitan analizar el contenido proteico, de carbohidratos, fibras y minerales en plantas comestibles en el municipio de Huimilpan, Querétaro.

Materiales y métodos

Tomando como referencia la base de datos de plantas comestibles de la colección del Herbario de Querétaro (QMEX) se hizo un listado de plantas ya reportadas como comestibles en Huimilpan y municipios colindantes. Se realizó el muestreo el día 29 de junio, orientados por un locatario de la zona, quien además de darnos un recorrido en las cercanías de un sitio llamado Camino al Paraíso con coordenadas 20°29'2" N 100°20'52" O; comentó acerca de los usos de aquellas plantas útiles que fueron localizadas durante el recorrido. Se recolectaron las siguientes especies: vaina de Mezquite (*P. laevigata*), vaina y flor de Nabo (*Brassica rapa*), Verdolaga (*Portulaca mexicana*), Quelite (*Amaranthus* sp.) y fruto rojo del Granjeno (*Condalia velutina*). Las cuales fueron preparadas, se depuraron de las estructuras que no se consumen, se pesaron en fresco y posteriormente se pusieron a secar durante cuatro días, en el caso de las vainas de mezquite, cinco (Corona-Castuera, *et. al.* 2014).

Para las determinaciones del análisis químico proximal se utilizaron las metodologías señaladas en los manuales facilitados en los laboratorios. Cabe mencionar que no se pudo determinar todas las

muestras por todos los análisis, puesto que no se contó con la cantidad suficiente para llevar a cabo los procedimientos. Para la determinación de la Humedad y Materia Seca se utilizó el método de la estufa de secado, en este caso, todas las muestras fueron analizadas y se calculó de la siguiente manera:

$$\%H = 100 - \left(\frac{\text{Peso Seco} * 100}{\text{Peso de la Muestra Inicial}} \right)$$

$$\%H = \frac{(\text{Peso Muestra Húmeda} + \text{Charola}) - (\text{Peso Muestra Seca} + \text{Charola})}{\text{Peso de la Muestra Inicial}} * 100$$

$$\%Materia\ Seca = 100 - \%H$$

Para la ceniza se hizo uso del método de incineración haciendo uso de los crisoles. No pudo determinarse el fruto del Granjeno. Utilizando la siguiente fórmula para realizar los cálculos:

$$\%C = \frac{\text{Peso de la muestra calcinada} * 100}{\text{Peso de la muestra inicial}}$$

$$\%C = \frac{(\text{Peso Crisol} + \text{Cenizas}) - (\text{Peso crisol a Peso Constante})}{\text{Peso de la Muestra Inicial}} * 100$$

La determinación de extracto etéreo se hizo en extractor BUCHI y fue únicamente del Quelite, Verdolaga y el Mezquite. Se calculó de la siguiente manera:

$$\%EE = \frac{(\text{Peso de Vaso Con Residuo Lipídico}) - (\text{Peso Constante del vaso})}{\text{Peso de la Muestra}} * 100$$

Todos los cálculos de las determinaciones de análisis químico proximal fueron promediados, se obtuvo su desviación estándar y su coeficiente de variación, finalmente se corrigió a base seca y base húmeda.

Resultados

Muestra	%Materia Seca 55°C	% Humedad	% Materia Seca 100°C
Mezquite	72.3262	27.6737	92.2485
Nabo	4.8788	95.1211	93.9151
Verdolaga	6.0024	93.9975	95.19431
Quelite	12.9432	87.0567	95.2665
Granjeno	49.0358	50.96418	-

Fig 2 Tabla de % MS a 55°C, % Humedad % MS 100 °C

Muestra	% Fibra Cruda BS	% Fibra Cruda BH
Nabo	16.5461	0.75813
Quelite	14.3411	1.76834
Verdolaga	11.6381	0.66499
Mezquite	12.5231	8.35499

Fig. 3. Tabla de porcentaje de Fibra Cruda en base seca y base húmeda

Muestra	% E.E. en BS	% E.E. en BH
Quelite	2.59658	0.32017
Verdolaga	2.29416	0.13108
Mezquite	1.00810	0.67257

Fig. 5 Tabla de Extracto Etéreo (lípidos) en base seca y base húmeda

Muestra	Extracto Libre De Nitrógeno
Quelite	32.6650
Verdolaga	35.3347
Mezquite	75.4127

Fig. 7 Tabla de Extracto libre de Nitrógeno

Discusión y conclusión

Durante siglos, la alimentación humana se ha basado en prácticas y conocimiento empírico, encontrando así, formas de cubrir estas necesidades. Eventualmente se fueron incorporando puntos de vista, datos y otras ciencias que permiten facilitar el entendimiento de los alimentos. Las consideraciones científicas resultan ser empeños relativamente recientes, pese a que hay antecedentes desde la época de Hipócrates, cuyos fundamentos se basaron en los trabajos de Lavoisier, adquieren cierto apogeo a partir de los descubrimientos de Pasteur. Es en ese momento, que se considera el punto de partida de la ciencia bromatológica.

Sólo se encuentra información relevante sobre análisis químico proximal del mezquite

Muestra	% Cenizas en BS	% Cenizas en BH
Nabo	7.57366	0.36950
Quelite	20.8558	2.69943
Verdolaga	25.7333	1.54462
Mezquite	3.76884	2.72586

Fig. 4 Tabla de Ceniza (minerales totales) en base seca y base húmeda

Muestra	% Proteína Cruda BS	% Proteína Cruda BH
Quelite	29.5413	3.64262
Verdolaga	26.9270	1.53859
Mezquite	7.28720	4.86177

Fig. 6 Tabla de Proteína Cruda en base seca y base húmeda

Existe información con respecto de las variaciones según si fue periodo de poda o no poda con respecto a los días de fructificación. Los valores reportados sobre humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra cruda y proteína son ligeramente distintos a los expuestos durante este reporte, esto se debe a que para la investigación realizada no se consideró este aspecto además de que se trata de *Prosopis glandulosa*. Las determinaciones enfocadas a nuestra especie y/o géneros de interés son más comúnmente respecto a harinas a base de estas plantas. Por lo que se considera relevante esta información presentada a lo largo del reporte.

Por otro lado, se deben de tener en cuenta que estas determinaciones pueden sobre o subestimar el contenido nutricional. Como lo podría ser en el caso del Extracto Etéreo donde la verdolaga y el quelite al tener gran cantidad de pigmentos, son estos los que representan un valor significativo dentro del porcentaje. Otro ejemplo es en la fibra cruda donde durante la digestión se pierde parte de la lignina presente además de que durante el procedimiento se suelen solubilizar las paredes celulares lo que ocasiona que se subestime. En la

determinación de humedad, se sobreestiman los alimentos con gran cantidad de compuestos volátiles ya que al perderse se consideran como si fueran H₂O. Mientras que en el caso de los minerales totales igualmente se sobreestiman a causa de que se pueden incluir contaminantes como tierra, polvo, arena, etc. El Extracto Libre de Nitrógeno es el valor más inexacto es subestimado ya que las fracciones que lo componen están sobrestimadas.

Agradecimientos

Se agradece al Dr. José Guadalupe Gómez Soto director de la Facultad de Ciencias Naturales campus Juriquilla por hacer posible este proyecto de investigación y la oportunidad de hacer uso del laboratorio de Nutrición Animal. Al Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval por participar como Investigador Anfitrión, formulando el proyecto, facilitando la base de datos del Herbario de Querétaro, información referente al mismo y la colección de ejemplares como proceso, bibliografía sobre etnobotánica, organizar y llevar a cabo la salida a colecta. A la Lic. Aurora Jauregui, por los manuales para la realización de cada una de las determinaciones de análisis químico proximal, la instrucción sobre el procedimiento, equipo de laboratorio y acompañamiento durante el proceso de los estudios bromatológicos, además del asesoramiento para la elaboración de los cálculos de la determinación.

Bibliografía

- [1] Caballero, J., & Cortés, L. (2001). Percepción, uso y manejo tradicional de los recursos vegetales en México. *Plantas, cultura y sociedad. Estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI*. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa y Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. México, DF, México, 79-100.
- [2] Corona-Castuera, F., Gómez-Lorence, F., & Ramos-Ramírez, E. (2014). Análisis químico proximal de la vaina del mezquite. Kipdf.Com. https://kipdf.com/analisis-quimico-proximal-de-la-vaina-del-mezquite_5ad3ba027f8b9abd828b45dc.html
- [3] Cortés-Castillo, C. E., Quiñones-Méndez, L. M., & Hernández, C. (2010). Caracterización fitoquímica y bromatológica de *Dichapetalum spruceanum* vell. *affinis* planta silvestre de la Orinoquia Colombiana y sus potencialidades de uso. *Orinoquia*, 14, 49-57.
- [4] Gutiérrez, J. B. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos*. España: Ediciones Díaz de Santos.
- [5] Hernández Sandoval, L., Romo, C. E. G., & Medrano, F. G. (1991). Plantas útiles de Tamaulipas. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 62(1), 1-38.
- [6] Martínez Pardo, S., Aguilar-Galván, F., Hernández Sandoval, L. (2021). Plantas silvestres comestibles de La Barreta, Querétaro, México y su papel en la cultura alimentaria local. *Revista Etnobiología. Vol*, 19(1), 41-62.
- [7] Pardo, O. (2005). El agave americano (*Agave americana* L.): uso alimentario en el Perú. *Chloris Chilensis*. Año 8 N° 2. URL: <http://www.chlorischile.cl>

Galería Fotográfica:

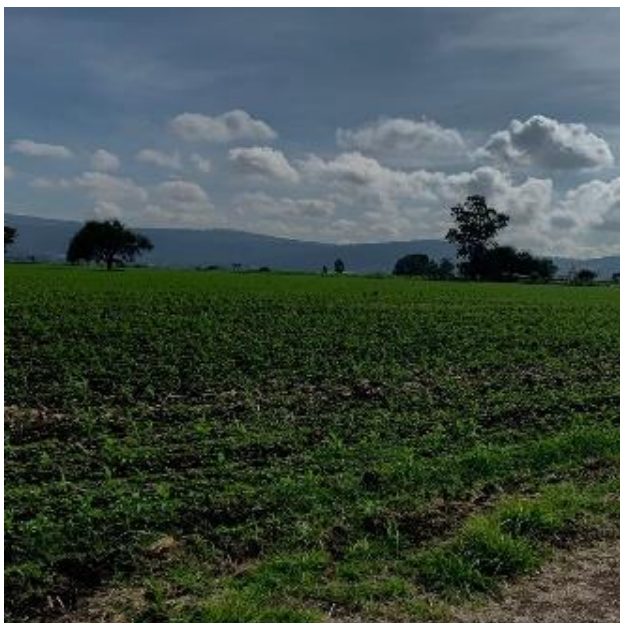


Imagen 1. Sitio donde se llevó a cabo el muestreo.



Imagen 2. Crisoles en desecador con 2.5 g de muestra



Imagen 3 y 4. Parte del procedimiento para la determinación de Extracto Etéreo

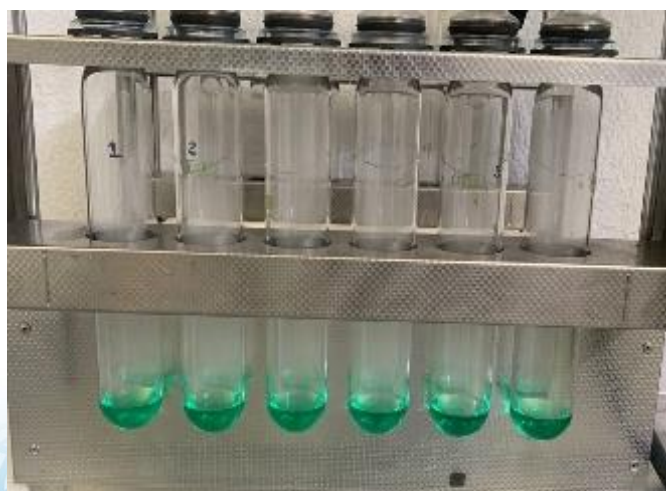


Imagen 5 y 6. Parte del procedimiento para la determinación de Proteína Cruda

Violencia hacia las Mujeres en Espacios Públicos en Uriangato

Melissa García Guzmán
mgarcia267@alumnos.uaq.mx

Resumen

En la presente investigación se describe la manera en la que se ven afectados los usos que las mujeres hacen del espacio público a partir de la relación existente entre las pautas de comportamiento que forman parte de la cultura patriarcal, el acoso sexual callejero y las medidas de seguridad que como consecuencia emplea la población femenina. El método utilizado es la criminografía cultural en el contexto del municipio de Uriangato, Guanajuato. A través tanto de la recopilación de información de gabinete como de la exploración de campo, fue posible constatar que incluso cuando el espacio público se plantea como una dimensión inherente al desarrollo personal y social de las mujeres, a partir de las variables mencionadas dicho espacio se constituye de forma más reducida para su desarrollo en los distintos ámbitos de su vida.

Palabras clave: Cultura, patriarcado, espacio público, medidas de seguridad, pautas de comportamiento, acoso sexual callejero, violencia de género.

Abstract

This research describes the way in which the uses that women make of public space are affected based on the relationship between the patterns of behavior that are part of the patriarchal culture, street sexual harassment and the measures of

security that as a consequence uses the female population. The method used is cultural criminography in the context of the municipality of Uriangato, Guanajuato. Through both the collection of cabinet information and the field exploration, it was possible to verify that even when the public space is considered as an inherent dimension of the personal and social development of women, based on the variables mentioned, said space constitutes in a smaller way for their development in the different spheres of their lives.

Keywords: Culture, patriarchy, public space, security measures, behavior patterns, street sexual harassment, gender violence.

Introducción

En la presente investigación se indagará acerca de la relación entre las pautas de comportamiento que forman parte de la cultura patriarcal, el acoso sexual callejero, las medidas de seguridad asumidas por la población femenina y el impacto que ello genera en el uso de los espacios públicos por las mujeres. Para ello se recurrirá a la criminografía cultural como método, el cual incluirá tanto la investigación de gabinete como la entrevista abierta e historia de vida como herramienta para la recopilación de información.

Objetivo:

Describir la manera en que se relacionan las pautas de comportamiento establecidas por la cultura patriarcal en las mujeres, las formas de acoso sexual callejero y las medidas de seguridad empleadas por la población femenina con la manera en que ésta hace uso del espacio público en contextos de violencia de género en Uriangato, en el año 2022.

Metodología

El método empleado será la criminografía cultural debido a que permite el abordaje del tema de investigación desde un enfoque tanto cuantitativo

como cualitativo. El primero de los enfoques contiene la recolección de datos duros del contexto general y particular de la problemática abordada, lo cual brindará el conocimiento sobre los factores sociales, culturales y económicos, además de los datos acerca de la incidencia delictiva y la criminalidad relacionadas con el fenómeno estudiado. Por otro lado, el segundo enfoque consiste en la valoración de las experiencias, percepciones, sentimientos y valores concernientes a la problemática referida que conforman el contexto cultural implícito y que se han desarrollado a lo largo de la vida de las informantes, viéndose reflejados en el contexto diacrónico-sincrónico que se revisará.

Contexto general

Como punto de partida es fundamental contemplar algunas de las características del contexto general en el país que se encuentran vinculadas con el objeto de estudio de esta investigación y que forman parte del espacio público en el cual se desarrolla parte de la cotidianidad, estilos de vida, usos y prácticas de las mujeres, mismas que se ven influidas por las circunstancias descritas en las cifras proporcionadas a continuación.

La prevalencia de violencia comunitaria a lo largo de la vida de las mujeres es de 38.7% y de 23.3% en los últimos doce meses registrados de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2017, p. 11). A su vez 34.3% de la violencia que se registra en este ámbito es de tipo sexual a lo largo de su vida, mientras que de 20.2% en los últimos doce meses, de forma tal que es el tipo de violencia con mayor prevalencia en el ámbito comunitario (INEGI, 2017, p. 24).

Los espacios en los que se ejerció violencia comunitaria contra las mujeres en los últimos doce meses fueron: la calle y el parque con 65.3%, microbús con 13.2%, el metro con 6.5% y finalmente en sitios como el mercado, plaza, calles en las que se instalan mercados ambulantes más pequeños conocidos como tianguis, así como centros comerciales con 5.2%. Consecuentemente

las agresiones sufridas por las mujeres en dichos sitios fueron principalmente de tipo sexual con 66.8%, consistiendo en conductas como piropos groseros u ofensivos, intimidación, acecho, abuso sexual, violación e intento de violación (INEGI, 2017, p. 26).

Algunas de las reacciones que se reconocen como consecuencia de la violencia recibida por las mujeres en relación con el espacio público tiene que ver con acciones tomadas que pueden ser justificadas debido al hecho de intentar proteger e incrementar su seguridad. De esta forma se registra que 48% de la población de 18 años y más cambió sus hábitos sobre caminar por los alrededores de su vivienda, pasadas las ocho de la noche; 46.5% realizó modificaciones en lo referente a permitir que sus hijos menores salgan de su vivienda y 30.3% alteró sus rutinas relacionadas con visitar parientes o amigos (INEGI, 2022, p. 16). Aunado a este aspecto hubo una disminución en actividades como ir al cine o al teatro, salir a comer, ir al estadio, usar transporte público, viajar por carretera a otro estado o municipio, frecuentar centros comerciales, llevar teléfono móvil o celular e ir a la escuela (INEGI, 2021, p. 55). En dichas conductas se puede notar una disminución del uso del espacio público al dejar de hacer actividades que lo involucran.

Con respecto al objeto de estudio de la presente investigación, resulta sustancial rescatar que en lo relativo a los roles y estereotipos de género, 47.6% de las mujeres opina que aquellas que trabajan descuidan a sus hijos e hijas, mientras que 69.6% de éstas piensa que las mujeres deben ser igual de responsables que los hombres en traer dinero a la casa (INEGI, 2017, p. 51). Lo cual contiene una transición importante hacia la legitimidad del uso del espacio público por las mujeres al llevar a cabo actividades productivas, las cuales pueden surgir en el espacio público o bien éste puede ser una parte del medio transitado para la realización de sus actividades laborales.

Respecto de lo registrado por encuestas sobre actividades y uso del tiempo que involucran

ámbitos del espacio tanto públicos como privados las actividades a las que las mujeres destinan mayor cantidad de horas a la semana en contraste con el tiempo destinado por los hombres son actividades de estudio, así como de convivencia familiar y social (INEGI, 2019, p. 30). Mientras que la asistencia a eventos culturales, deportivos y de entretenimiento se observó el mismo promedio de horas utilizadas por semana tanto por hombres como por mujeres (INEGI citado en Flores, 2020, p. 305). Lo cual habla de una actividad que en gran medida implica el aumento en la apropiación del espacio público hasta ser más paralela entre ambos géneros.

Contexto particular

Aunque la presente investigación se realiza concretamente en Uriangato el registro estadístico del municipio es limitado, por lo que se recurrió a cifras del Estado al que pertenece, no obstante, es necesario señalar algunos de sus datos sociodemográficos más importantes. Según el INEGI (2020, s/p) el municipio de Uriangato se encuentra ubicado en las siguientes coordenadas: longitud 101°12'43.20"W, 101°04'48.00"W, y latitud 20°02'04.20" N, 20°12'01.08" N; ocupa el 0.38% de la superficie del Estado de Guanajuato, cuenta con 44 localidades y su población total es de 61,494 personas registradas hasta el 2020.

Como parte del abordaje del contexto particular es relevante tomar como punto de partida la percepción social sobre inseguridad pública de Guanajuato, que es de 67.8% (INEGI, 2022, p. 2). Posteriormente se requiere recorrer las condiciones locales en lo relativo a las conductas delictivas que presentan una mayor relación e implicación con la violencia de género. De acuerdo con tal premisa se retoma el registro de las siguientes cifras respecto a delitos cuyas víctimas son predominantemente mujeres: 7 feminicidios; 107 presuntas víctimas mujeres de homicidio doloso, con lo cual Guanajuato ocupa el primer lugar con relación al resto de las entidades federativas; 153 presuntas víctimas mujeres de homicidio culposo, ocupando

nuevamente el primer lugar en esta categoría; 2107 presuntas víctimas mujeres de lesiones dolosas, ocupando el segundo lugar en este apartado; así como 109 presuntas víctimas mujeres de corrupción de menores, categoría en la cual Guanajuato también ocupa el primer lugar acorde al Secretariado Ejecutivo del Sistema Nacional de Seguridad Pública (SESNSP) (2022, p. 14-28).

De acuerdo con la Encuesta Nacional sobre la Dinámica de las Relaciones en los Hogares el promedio de violencia contra las mujeres en Guanajuato es de 63.2%, siendo ligeramente menor al porcentaje nacional; mientras que en lo referido a la violencia escolar contra las mujeres el porcentaje es de 25.2, de forma muy paralela al porcentaje nacional; en tanto que la violencia laboral contra las mujeres es de 25.4% (INEGI, 2017, p. 10).

Y debido al tema central de la presente investigación se debe considerar que en el Estado de Guanajuato el porcentaje de violencia comunitaria contra las mujeres es de 37.8, siendo apenas un punto por debajo del porcentaje nacional (INEGI, 2017, p. 25). A partir de los datos proporcionados se puede verificar que Guanajuato contiene alta incidencia en delitos que causan gran daño social y particularmente que pueden guardar una relación con la violencia de género, cuya ocurrencia involucra factores tanto del espacio privado como del público, siendo este último un punto de intersección que concierne a esta investigación.

Contexto diacrónico-sincrónico

Un aspecto en común en las narrativas de las entrevistadas indica que pasaron los primeros años de su vida, aproximadamente hasta la edad en que se cursa la primaria (6 años), desarrollando sus actividades cotidianas dentro de sus hogares. Salían muy esporádicamente solo con la finalidad de comprar alimentos en una tienda cercana como lo indica una de ellas: “todo el tiempo estaba adentro, si nada más cuando ella (su prima) iba, que íbamos a comprar alguna cosa, algunas

Sabritas (alimento que se consume como botana o refrigerio), una paleta, era de que salíamos, pero casi siempre estábamos en la casa” (Sofía, vendedora, julio de 2022); otro motivo para salir a la calle según Sofía (vendedora, julio de 2022) consistía en realizar actividades de juego y esparcimiento con niños de su edad, siendo éstos familiares suyos, primos y hermanos específicamente, sin embargo dicha actividad se mantenía limitada a la calle donde estaba ubicada la casa donde residían y dependía en gran medida de compartir el vecindario con otros niños de su edad, lo cual redujo dicha práctica, ya que en la mayor parte de los casos las entrevistadas vivían en colonias habitadas predominantemente por adultos.

Hasta este punto se observa que el uso del espacio público como lugar de encuentro y socialización era reducido y generaba poca interacción y conocimiento tanto de los miembros de su comunidad como de los espacios a su alrededor, la interacción social se desarrollaba primordialmente en el entorno privado del hogar, lo cual tiene repercusiones en relación con la cohesión social vivida por ellas en ese momento de sus vidas, ya que: “La apropiación de los espacios públicos puede conducir a un cierto apego a dichos lugares y a crear mayores oportunidades de tener contacto y, con ello, generar una mayor cohesión social” (Flores, 2020, p. 300). Hecho social que se puede observar disminuido con mayor frecuencia en las mujeres, al tener durante las primeras etapas de sus vidas una participación reducida en las prácticas que tienen lugar en el espacio público.

Dentro de la dinámica del juego también resultó evidente en todas las entrevistadas que sus prácticas constituían una imitación de algunas labores reproductivas desempeñadas tradicionalmente por el género femenino dentro de la cultura patriarcal, por lo que desde esta etapa se identifica una dinámica que propicia en ellas el conocimiento sobre tales conductas, tal como lo expresa una de las entrevistadas:

Recuerdo que con mi hermana la que sigue después de mí nos llevábamos muy bien y siempre nos la pasábamos jugando todo el día a la comidita o a que yo era mamá y ella también era otra mamá y nuestras hermanas las más chiquitas eran nuestras hijas (Magui, estudiante, julio de 2022).

Tales valores, dinámicas y pautas de comportamiento que se replican en el hogar como parte de los roles de género, generan un esquema que afecta la presencia de las mujeres en el espacio público debido a: “La fuerte división sexual del trabajo que persiste y sitúa a las mujeres en el espacio privado y reproductivo del hogar y a los hombres en el espacio público y productivo” (Soto, 2018, p. 17). Es así que el juego en este caso constituyó un medio para el conocimiento y la posible (no determinante) introyección de las prácticas de género con posterioridad en su vida adulta.

De esta forma se reconoce un patrón en el que según Magui (estudiante, julio de 2022) durante su infancia, su reducida presencia en entornos públicos se encontraba delimitada por las siguientes prácticas: asistir al mercado, además de a negocios familiares de venta de ropa para colaborar trabajando, así como visitar a compañeras de clase para llevar a cabo tareas académicas; de forma tal que el uso del espacio público fue principalmente como de conectividad entre destinos.

Con posterioridad a las experiencias hasta ahora registradas, se puede identificar que aunque su socialización fuera de la esfera familiar comenzó a ampliarse durante la primaria (de los 6 a los 12 años aproximadamente), fue a partir de la secundaria (de los 12 a 15 años) y preparatoria (de los 15 a 18 años) que aumentó el uso de espacios públicos como lugar de encuentro y socialización entre personas de su misma edad que ya no eran necesariamente sus familiares, tal como lo describe una de ellas: “me gustó porque era cuando ya empezábamos a salir ya estábamos más grandes y empezábamos a salir más a la calle. Ahí sí ya nos

dejaban ir con las amigas un rato al jardín” (Rosa, comerciante, julio de 2022). Por lo tanto, se reconoce la importancia del espacio inclusive como un recurso que permite el desarrollo individual de la identidad en conjunto con la colectividad a lo largo de sus experiencias e historias personales.

Contexto cultural implícito

Un aspecto que se debe enfatizar es el requerimiento de la compañía para hacer uso de los espacios públicos que mencionan las entrevistadas durante toda su vida, en primer lugar, con hermanas u otros familiares y posteriormente con amigas o parejas, característica que permanece hasta la actualidad y en gran medida se sustenta en que:

En las plazas, parques y paseos es donde ellas se perciben más como acompañantes de familiares u otras personas, porque tampoco son un destino privilegiado a donde ir sin compañía, lo mismo pasa con los lugares semicerrados, como restaurantes, cafés, bares, cines y centros nocturnos, donde la presencia de una mujer sola enuncia disponibilidad para quien desee abordarla (Zúñiga, 2014, p. 84).

Respecto de las diferentes formas de acoso sexual callejero, se encontró que las entrevistadas han sufrido de cada uno de sus tipos, los cuales incluyen miradas, contacto o intimidación física, así como verbal, sin embargo las miradas son las que se presentan con mayor frecuencia haciéndolas sentir incómodas al transitar por ciertas calles, jardines públicos e incluso lugares de encuentro como cines o cafés, tal como se indica: “Pues cuando anda uno en la calle sí, a veces sí pues, han hecho comentarios como que te hacen sentir incómoda o miradas como que sí te incomodan” (Ana, vendedora, julio de 2022).

No obstante es relevante advertir que pese a las sensaciones negativas surgidas ante la

intimidación que sufren a través de miradas y comentarios, todas las mujeres entrevistadas coincidieron en que su reacción es ignorar tales situaciones y que únicamente ante las experiencias que implican mayor acercamiento hacia sus cuerpos o la amenaza de una acción posterior más grave, suelen emplear medidas de seguridad, de lo contrario dichas conductas parecen no afectar a largo plazo sus actividades y su forma de ejercerlas en el espacio público.

Aunque la frecuencia con que se presentan tales formas de acoso puede conducir a su normalización, no por ello dejan de ser un elemento del espacio que afecta en distintos niveles la actividad de las mujeres en él debido a que la restringen: “A la mujer se le segrega de los espacios públicos al no permitírsele circular libremente, en la medida en que se invade su privacidad mediante contactos físicos no consentidos, o se le violenta de forma verbal cuando no física” (Páramo y Burbano, 2011, p. 67). Esta dinámica de agresión hacia las mujeres contiene características que conforman una práctica de violencia de género que propicia la inclinación de las mujeres a que el espacio público sea primordialmente un lugar de conectividad entre destinos y de extensión de las actividades del ámbito reproductivo.

Las pautas de comportamiento también son desplegadas en la relación de los usos-horarios por las mujeres, reflejándose en su preferencia por transitar durante horarios en los cuales los sitios son concurridos debido a que aumenta la posibilidad de recibir ayuda en caso de experimentar una situación de inseguridad, aunado al hecho de evitar lo más posible transitar en espacios públicos durante la noche y en sitios alejados de sus residencias. Por otro lado, se constata la apropiación del espacio público por las mujeres en la medida en que reconocen los riesgos a los que se enfrentan, pero los asumen al desarrollar parte de su cotidianidad a través del constante contacto con el espacio público en sus actividades tanto productivas como reproductivas,

como lo menciona una entrevistada: “De vez en cuando sí también vamos porque de todos modos cómo te diré donde quiera hay pues inseguridad, donde quiera que vayas vas a correr riesgos y pues tienes que salir” (Rosa, comerciante, julio de 2022).

La constante interacción que se reitera suscita hacer un análisis de los procesos simbólicos surgidos en dichos escenarios, tales como los considerados por Suri (2017, p. 157) en lo concerniente a la naturalización de relaciones de poder en dichos espacios, la consideración neutral de la presencia de ciertas personas en relación con sus actividades bajo ciertos horarios, así como la exposición y ocultamiento del cuerpo.

Discusión y conclusiones

Los contextos de violencia de género, particularmente de acoso sexual callejero y las pautas de comportamiento que forman parte de la cultura patriarcal establecen una relación que disminuye los ámbitos en los que las mujeres incorporan el uso de los espacios públicos a su cotidianidad y conllevan a medidas de seguridad que las mujeres emplean como parte de su actividad en dichos entornos al ser una parte inherente a su desarrollo personal y social.

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar tanto a la universidad como a mi maestro asesor por brindarme la instancia para llevar a cabo el presente trabajo de investigación; y en segundo lugar a las personas que directa e indirectamente participaron y me brindaron apoyo durante la realización de esta investigación.

Referencias bibliográficas

Flores, J. (2020). “Mujeres y Usos de los Espacios Públicos en México”. En *Revista Mexicana de Ciencias Políticas y Sociales*, vol. 65, no. 240, p. 293-326.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-19182020000300293.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2022). Encuesta Nacional de Seguridad Pública Urbana Primer Trimestre de 2022. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2022/ensu/ensu2022_04.pdf.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Instituto Nacional de las Mujeres. (2019). Encuesta Nacional sobre el Uso del Tiempo 2019. <https://www.inegi.org.mx/programas/enut/2019/>.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2017). Encuesta Nacional sobre la Dinámica de las Relaciones en los Hogares 2016. <https://www.inegi.org.mx/programas/endireh/2016/>.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021). Encuesta Nacional de Victimización y Percepción sobre Seguridad Pública 2021. <https://www.inegi.org.mx/programas/envipe/2021/>.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). México en Cifras, Uriangato, Guanajuato. En la página de internet del Instituto Nacional de Estadística y Geografía. <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=11#collapse-Resumen>

Páramo, P. y A. Burbano. (2011). “Género y Espacialidad: Análisis de Factores que Condicionan la Equidad en el Espacio Público Urbano”. En *Revista Universitas Psychologica*, vol. 10, no. 1, p. 61-70. <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revPsycho/article/view/700>.

Secretariado Ejecutivo del Sistema Nacional de Seguridad Pública. (2022). Información sobre Violencia contra las Mujeres, Incidencia Delictiva y Llamadas de Emergencia 9-1-1. <https://www.gob.mx/sesnsp/articulos/informacion-sobre-violencia-contra-las-mujeres-incidencia-delictiva-y-llamadas-de-emergencia-9-1-1-febrero-2019>.

Soto, P. (2018). "Hacia la Construcción de unas Geografías de Género de la Ciudad. Formas Plurales de Habitar y Significar los Espacios Urbanos en Latinoamérica". En *Revista Perspectiva Geográfica*, vol. 23, no. 2, p. 13-31. <http://www.scielo.org.co/pdf/pgeo/v23n2/0123-3769-pgeo-23-02-13.pdf>.

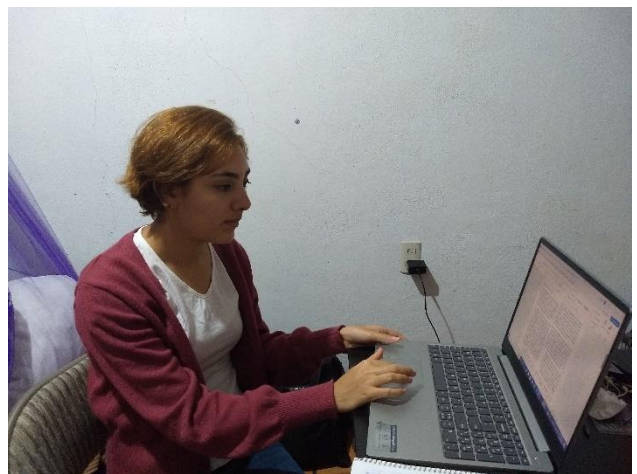
Suri, K. (2017). "Género y Espacio Público. Claves Conceptuales para el Estudio de los Derechos Urbanos de las Mujeres". En Ramírez, P.

(coord.), *La Erosión del Espacio Público en la Ciudad Neoliberal*. México: UNAM, Instituto de Investigaciones Sociales, Facultad de Arquitectura.

Zúñiga, M. (2014). "Las Mujeres en los Espacios Públicos: entre la Violencia y la Búsqueda de Libertad". En *Revista Región y Sociedad*, no. 4, p. 77-100.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-39252014000600004&script=sci_abstract.

Galería Fotográfica



Regulación epigenética del gen de adiponectina en tejido adiposo.

Autora: Solís Reséndiz Paula Noemí
psolis03@alumnos.uaq.mx
Facultad de Ingeniería de la UAQ
Ingeniería Biomédica de la UAQ

Coautor: José Bernardo Rodríguez Hernández
jrodriguez167@alumnos.uaq.mx
Facultad de Química de la UAQ
Ingeniería en Biotecnología de la UAQ

Asesores: Mtra. Paulina Estrella Ibarra
pestrella24@alumnos.uaq.mx

Dr. Pablo García Solís
pablo.garcia@uaq.mx

ABSTRACT

Adiponectin is an adipocytokine synthesized and secreted exclusively by adipose tissue, in addition to being one of the hormones with the greatest insulin-sensitizing properties. However, the alteration of it is affected when an individual raises his BMI (body mass index) since his adipose tissue increases. The objective of this research was to describe the bases of the epigenetic regulation of the adiponectin gene in adipose tissue. Overweight and obese patients (BMI greater than 30) and patients with normal weight (BMI less than 30) were included, since in them it was possible to see the difference in adipose tissue present. The patients were classified, performing a DNA extraction. Then, a standardization with 2 controls was recorded to continue with the adiponectin methylation PCR. Our results indicate that upon sodium bisulfite conversion of all DNA samples with the kit, unmethylated cytosines change to uracils, while methylated cytosines remain unchanged, which is because a person with Obesity prevents the existence of an adequate concentration of adiponectin, that is, a low level, while a person with

normal weight has a high concentration of adiponectin.

Key words: Adiponectin, adipose tissue, DNA, obesity, epigenetic regulation.

RESUMEN

La adiponectina es una adipocitoquina sintetizada y secretada exclusivamente por el tejido adiposo, además de ser una de las hormonas con mayores propiedades sensibilizadoras de la insulina. Sin embargo, la alteración de ella se ve afectada cuando un individuo eleva su IMC (índice de masa corporal) ya que aumenta su tejido adiposo. El objetivo de esta investigación fue describir las bases de la regulación epigenética del gen de adiponectina en el tejido adiposo. Se incluyeron pacientes con sobrepeso y obesidad (IMC mayor a 30) y pacientes con peso normal (IMC menor a 30) ya que en ellos se logró ver la diferencia de tejido adiposo presente. Se clasificaron los pacientes, realizando una extracción de DNA. Después, se registró una estandarización con 2 controles para continuar con la PCR de metilación de adiponectina. Nuestros resultados indican que al momento de la conversión por bisulfito de sodio de todas las muestras de DNA con el kit de que las citosinas no metiladas cambien a uracilos, mientras que las citosinas metiladas no se modifican, lo cual se debe a que una persona con obesidad impide que exista una concentración adecuada de adiponectina, es decir, un nivel bajo, mientras que un persona con peso normal cuenta con una alta concentración de adiponectina.

Palabras claves: Adiponectina, tejido adiposo, DNA, obesidad, regulación epigenética.

INTRODUCCIÓN

La mayoría del tiempo muchas personas no nos cuestionamos los alimentos que consumimos y eso afecta a nuestro cuerpo, tanto físicamente, emocionalmente e incluso químicamente, un claro ejemplo es que cada vez existen más alimentos con niveles calóricos elevados y grasas saturadas, lo cual genera que el número de personas que desarrollen

sobrepeso u obesidad tiene un aumento exponencial, debido a esto la obesidad es considerada no solo un problema estético sino que también médico, debido a la cantidad de enfermedades que desencadena, ya que muchas personas solo se quedan por el lado visual en donde se preocupan mas por toda la cantidad de grasa corporal que al final de cuentas es un exceso de tejido adiposo perjudicial para nuestra salud.

A lo largo de los años el tejido adiposo fue considerado principalmente como un reservorio de lípidos, asimismo como un tejido endocrino ya que produce y secreta péptidos con diferentes efectos que ejercen su acción en tejidos, puesto que sintetiza la leptina y adiponectina las cuales son de las principales encargadas de generar una homeostasis energética en nuestro cuerpo, pero como era de esperarse al momento de que una persona que tenga obesidad desarrollará una codificación a dichas encargadas, es decir, afectando las en su función. Debido a lo anteriormente mencionado la adiponectina es un factor primordial en la regulación del peso corporal de las personas por lo que se debe de tener mucho cuidado con los niveles de ella, por esta razón es que uno se percata de la importancia de la presente investigación para comprender mejor que existen diversos factores presentes en el gen de adiponectina en el tejido adiposo.

OBJETIVOS

- Describir las bases de la regulación epigenética del gen de adiponectina en el tejido adiposo.

METODOLOGÍA

Existen diferentes parámetros iniciales para la realización de la investigación, entre los cuales destacan el tejido adiposo a trabajar es el tejido adiposo visceral (TAV), el cual es un tejido graso localizado en una región profunda del abdomen y alrededor de los órganos internos, (*Tejido adiposo visceral | Clinical Info*, s. f.) la razón por la que trabajamos con dicho tejido es que el incremento o disminución de adiponectina solo se produce en la adiposidad visceral mas no en la subcutánea.

Asimismo, requerimos un parámetro estandarizado de cuantificación de dicha grasa corporal para garantizar la presencia o carencia de adiponectina, según sea el caso del sujeto.

Por lo tanto, nos basamos en el IMC (índice de masa corporal) y la relación que tiene sobre el estado físico de los sujetos, por ello es que se realizó una clasificación pertinente de los sujetos de acuerdo con su IMC que nosotros tomaremos como base (tabla 1), debido a que existe una clasificación establecida por la OMS como se puede observar en la tabla 2.

Clasificación de acuerdo al IMC	
Condición	IMC $\left(\frac{kg}{m^2}\right)$
Persona Normal	Menor a 30
Obesidad	Mayor a 30

Tabla 1: Clasificación para el diagnóstico de peso normal y obesidad en la población establecida por los investigadores.

Clasificación de IMC según la OMS	
Condición	IMC $\left(\frac{kg}{m^2}\right)$
Bajo peso	Por debajo de 18.5
Peso normal	18.5 - 24.9
Sobrepeso	25.0 - 29.9
Obesidad clase I	30.0 - 34.9
Obesidad clase II	35.0 - 34.9
Obesidad clase III	Por encima de 40

Tabla 2: Clasificación para el diagnóstico del estado físico en la población según la OMS. (World Health Organization, 2010).

Dicha diferencia de clasificación de estado físico de los sujetos radica en que en la forma número 1 nos permite tener un mayor campo de análisis y asegurar un margen de error con respecto a la proporcionalidad de tejido adiposo existente en cada sujeto.

Conociendo los diferentes parámetros iniciales podemos continuar con la cronología de la regulación epigenética del gen de adiponectina en tejido adiposo.

1. Extracción de DNA

Con respecto a la extracción de DNA de la investigación, se realizó tiempo antes e independientemente debido a que es un proceso demasiado demandante e indispensable, puesto que se emplean kits y buffers específicos para lograr conseguir una muestra limpia de impurezas.

Se realizaron varias extracciones exitosas de DNA, las cuales se pueden observar en los carriles 3, 4, 5, 6 y 7 de la figura 1, mientras que en la figura 2 corresponden a los carriles 6, 7 y 8.



Fig. 1 Extracción de DNA.

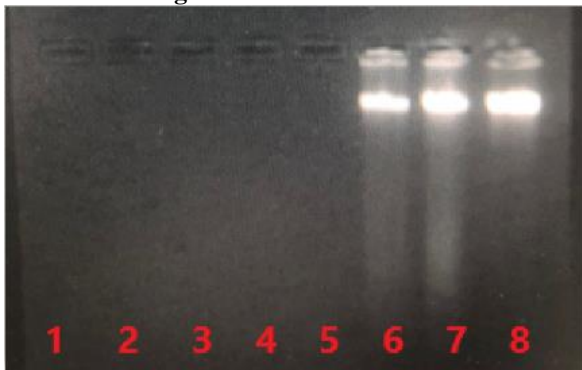


Fig. 2 Extracción de DNA.

2. Proceso de estandarización del promotor de adiponectina

En esta parte se realiza una PCR específica de metilación para analizar el estado de metilación de los dinucleótidos preseleccionados en la región promotora del gen de adiponectina, en la cual se estandarizaron diferentes parámetros como las temperaturas y tiempos.

Para dicha estandarización se implementó el AllTaq Master Mix Kit con un control negativo y una muestra aleatoria como control positivo, puesto que

lo que realmente nos interesa es saber que el proceso a realizar sea el correcto y de igual forma que el control negativo no exista una amplificación mientras que en el positivo si se logre apreciar.

Como se mencionó anteriormente se realizará la prueba PCR para dos reactivos por lo que eso será la base de la proporcionalidad que indica el AllTaq Master Mix Kit, sin embargo un punto a resaltar es que debido a que las cantidades son demasiado diminutas se recomienda tener un esquema de error al momento de la experimentación. Tal como se muestra en la tabla 3.

Proporcionalidad reacciones-AllTaq Master Mix Kit	
Número de reacciones	Factor agregado
Menor a 5 reacciones	+ 0.5
Mayor a 5 reacciones	+ 1

Tabla 3: Proporcionalidad de reacciones como margen de error.

Por lo tanto, se tuvieron que realizar los pertinentes cálculos con una proporcionalidad de 2.5 con la configuración de reacción de AllTaq Master Mix Kit la cual se muestra en la tabla 4, dejando ese 0.5 como un seguro anti errores.

Componente	Establecido		1 reacción	2.5 Reacciones
	Volumen/ reacción	Concentración final		
AllTaq Master Mix	5µl	1x	5µl	12.5µl
Primer A	Variable	0.25µM	0.5µl	1.25µl
Primer B	Variable	0.25µM	0.5µl	1.25µl
Agua libre de nucleasa	0.16µl	1x	3µl	7.5µl
Volumen total de la reacción	20µl	-	9µl	22.5µl

Tabla 4: Configuración de reacción para AllTaq Master Mix Kit.

Posteriormente, se depositó 9µl de Master Mix y 1µl de muestra (control + y control -), respectivamente en los contenedores.

Luego se programó el termociclador de acuerdo con las instrucciones del fabricante, utilizando la siguiente configuración (tabla 5).

Paso	Tiempo	Temperatura
Activación PCR inicial	2 min	95°C
Desnaturalización	5 s	95°C
Alineamiento	15 s	55°C
Extensión	10 s	72°C
Número de ciclos	40	

Tabla 5: Condición 1 de ciclo de AllTaq para amplicones menores a 1 kbp.

Luego se realiza un análisis electroforético de los productos de PCR obtenidos en gel de agarosa al 1.5%, el cual permite un rango de resolución de 200 bp - 4 kb y teñido con el buffer TAE 50X.

3. PCR de metilación de adiponectina

3.1. Reconstrucción de Oligonucleótidos

Se reconstruyen los oligonucleótidos de adiponectina para que se encuentren a una concentración de 100 μ M agregando la respectiva cantidad de agua libre de nucleasa especificada en el envase correspondiente y después se colocan en la centrifugadora.

3.2. Conformación de muestras

De las diferentes reconstrucciones de oligonucleótidos únicamente se tomaron 100 μ M y se agregó 95 μ L de agua libre de nucleasa, dando un volumen final de 100 μ L en cada muestra.

3.3. Determinación de factor de proporcionalidad de reacciones

En total se realizarán 10 reacciones:

- 4 reacciones de adiponectina en altas concentraciones.
- 4 reacciones de adiponectina en bajas concentraciones.
- 2 controles negativos.

Por lo tanto, se tuvieron que realizar los pertinentes cálculos con una proporcionalidad de 11 para la configuración de reacción de AllTaq Master Mix Kit la cual se muestra en la tabla 6.

Componente	Establecido		1 reacción	11 Reacciones
	Volumen/ reacción	Concentración final		
AllTaq Master Mix	5 μ L	1x	5 μ L	55 μ L
Colorante	0.16 μ L	-	0.16 μ L	1.76 μ L
Primer A	Variable	0.25 μ M	0.5 μ L	5.5 μ L
Primer B	Variable	0.25 μ M	0.5 μ L	5.5 μ L
Agua libre de nucleasa	0.16 μ L	1x	2.84 μ L	31.24 μ L
Volumen total de la reacción	20 μ L	-	9 μ L	99 μ L

Tabla 6: Configuración de reacción para AllTaq Master Mix Kit.

Posteriormente, se depositó 9 μ L de Master Mix y 1 μ L de muestra, respectivamente en los contenedores. Dando como resultado 10 muestras, tal como se observa en la figura 3.

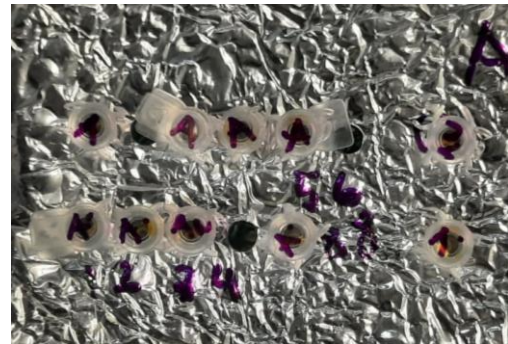


Fig. 3 8 muestras de adiponectina en altas y bajas concentraciones y 2 controles.

3.4. Programación del termociclador

Luego se programó el termociclador de acuerdo con las instrucciones del fabricante, utilizando la siguiente configuración 2 (tabla 7 y figura 4).

Paso	Tiempo	Temperatura
Activación PCR inicial	2 min	93°C
Desnaturalización	0.05 s	93°C
Alineamiento	0.15 s	64°C - 53°C
Extensión	0.10 s	72°C
Número de ciclos	40	

Tabla 7: Condición 2 de ciclo de AllTaq para amplicones menores a 1 kbp.

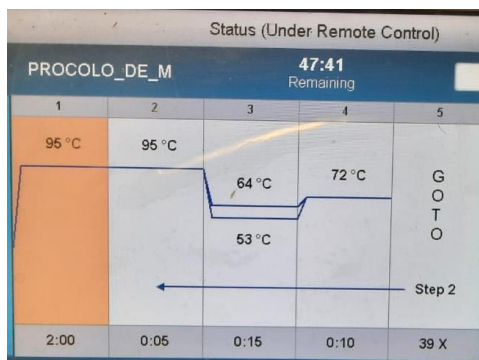


Fig. 4 Proceso del termociclador y los 40 ciclos por transcurrir.

Asimismo, existen 4 temperaturas previamente seleccionadas (64°C, 60°C, 57.3°C y 53°C), entre las cuales se acomodaron las 10 respectivas muestras, dicho acomodo se ilustra en la tabla 8 y figura 5. Dicha selección de temperaturas se hace con la finalidad de ahorrar costos, debido a que ya se comprobó que esas 4 temperaturas son las más óptimas.

Acomodo de muestras							
64.0°C	63.4°C	62.2°C	60.0°C	57.3°C	55.2°C	53.7°C	53.0°C
Adiponectina alta			Adiponectina alta	Adiponectina alta			Adiponectina alta
Adiponectina baja			Adiponectina baja	Adiponectina baja			Adiponectina baja
			Control 1	Control 2			

Tabla 8: Representación del acomodo de las 10 muestras en el termociclador.

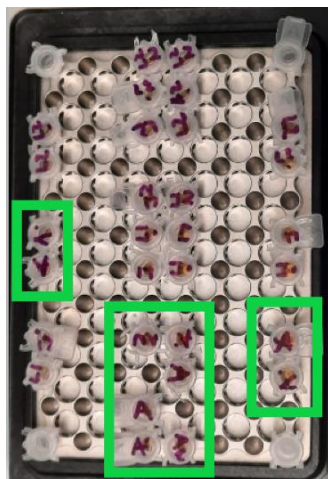


Fig. 5 Acomodo real de las 10 muestras (marcadas con un rectángulo verde) en el termociclador.

3.5. Cámara de electroforesis.

Luego se realiza un análisis electroforético de los productos de PCR obtenidos en gel de agarosa al 1.5%, el cual permite un rango de resolución de 200 bp - 4 kb y teñido con el buffer de carga (azul). Se

genera una mezcla homogénea entre 3 μ l de buffer y 3 μ l de muestra, luego se coloca dicha mezcla en los contenedores del gel, tal como se muestra en la figura 6.

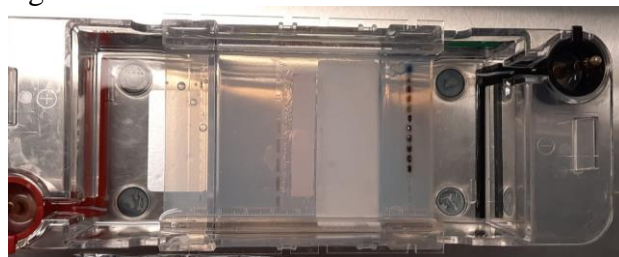


Fig. 6 Cámara de electroforesis.

Finalmente se ingresa el gel a un fotodocumentador y se obtiene la ilustración de las bandas generadas.

RESULTADOS

• Proceso de estandarización del promotor de adiponectina

Con respecto al análisis electroforético de los productos de PCR obtenidos se logró obtener que el control negativo no amplificó una región del promotor de adiponectina, mientras que sucede lo opuesto con el control positivo, ya que este sí amplificó, lo cual era lo esperado para la estandarización.

• Gel promotor de Adiponectina

En la prueba realizada de 10 muestras se obtuvo los siguientes resultados (figura 7), en la cual se observa que en los controles negativos no existe banda alguna tanto el que se encuentra en 60°C como el de 57.3°C. Sin embargo, cuando observamos las bandas con una alta concentración de adiponectina se logra observar que existe una banda en las 4 diferentes temperaturas, por otro lado en las concentraciones bajas de adiponectina existen 2 temperaturas con banda (57.3°C y 53°C) y 2 que carecen de ella (64°C y 60°C).

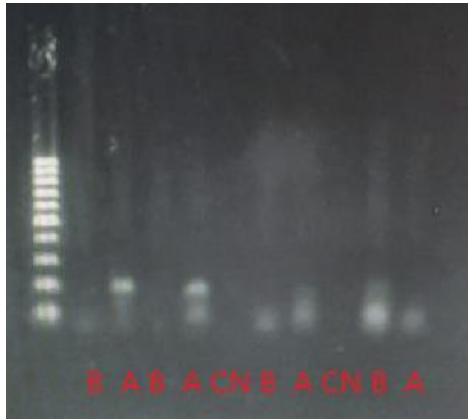


Fig. 7 Prueba 1 con 8 muestras y dos controles negativos.

En una segunda prueba se obtuvo que la Isla CpG 1 del promotor de adiponectina se encuentra a 283 pb del sitio de inicio de la transcripción, mientras que el tamaño del amplicón es de 181 pb. Las concentraciones de los 2 pacientes fueron las siguientes:

- Paciente 1: 0.57 ng/mL
- Paciente 2: 1.85 ng/mL

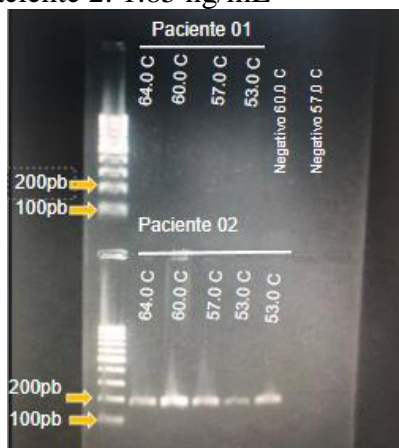


Fig. 8 Prueba 2 con 2 pacientes, 9 muestras en total y 2 controles negativos.

El comportamiento ideal de la adiponectina dependiendo del estado físico del paciente se muestra en la tabla 9.

Adiponectina				
Estado físico	Nivel de adiponectina	Metilado o no metilado	Presencia de bisulfito de sodio	Presencia de banda
Peso Normal	Alta	Citosinas no metiladas	Citosinas no metiladas cambian a uracilos	NO
Obesidad	Baja	Citosinas metiladas	Citosinas metiladas no se modifican	SI

Tabla 9: Comportamiento de la adiponectina dependiendo del estado físico del paciente en un caso ideal.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Un punto aspecto a llamar la atención es el cambio de banda presente en las altas y bajas concentraciones de adiponectina de ambas pruebas, ya que se presentan de manera invertida. Debido a que no se realizó la conversión por bisulfito de sodio de todas las muestras de DNA con el kit, con la finalidad de que las citosinas no metiladas cambien a uracilos, mientras que las citosinas metiladas no se modifican.

Asimismo, el termociclador juega un papel muy importante debido a que propicia que con las temperaturas que nosotros elijamos nos permitirá la existencia de una mejor amplificación y lectura. De igual forma en la cámara de electroforesis se lleva a cabo una parte fundamental del proceso en la cual se realiza el barrido de las bandas debido a que el DNA tiene carga negativa por lo que va a tender a ir al polo positivo dando como resultado la aparición o ausencia de banda en el caso de los controles negativos.

Las personas que presentan obesidad son más propensas a desarrollar una resistencia a la insulina, todo a raíz de ese desbalance que existe en la adiponectina debido al incremento o disminución de tejido adiposo que tenemos las personas.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primera instancia al Dr. Pablo García Solís y a la Mtra. Paulina Estrella Ibarra por ser mis asesores, puesto que gracias a ellos logré comprender ciertos temas teóricos pasados a la práctica de los cuales no estaba tan inmersa en los temas. En segunda instancia a su apoyo brindado en la investigación y su habilidad para enseñar tan extraordinaria que tienen los dos asesores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abellà, C. R. I. (2013, 24 abril). *Dipòsit Digital de la Universitat de Barcelona: Expresión de adiponectina y sus receptores en tejido adiposo. Regulación epigenética en la adipogénesis*. Universidad de Barcelona.

Domínguez Reyes, C. A. (2007, 3 octubre). *Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía*. Medigraphic.

Haro Acosta, M. E. (s. f.). *OBESIDAD Y TEJIDO ADIPOSEO*. Universidad Autónoma de Baja California.

Martínez-Hernández, J. J. E. A. S. (s. f.). *Papel de la adiponectina en obesidad y diabetes tipo 2 – Medicina Interna de México*. Medicina interna de México.

Palomer, X. (2005, 19 marzo). *Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular | Medicina Clínica*. Elsevier.

Regulación Epigenética | Concise Medical Knowledge. (s. f.). Lecturio.

Sandoval, G. H. (2017, 15 mayo). *ADIPOSIDAD VISCERAL, PATOGENIA Y MEDICIÓN*. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Venezuela.

Tejido adiposo visceral | Clinical Info. (s. f.). Clinical Info.

World Health Organization. (2010, 6 mayo). *A healthy lifestyle - WHO recommendations*. OMS.

Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales de grillo con diferentes tratamientos postcosecha.

Autoría: Alexandro Escobar Ortiz , Ximena Salazar Carranza

Resumen

El uso de insectos como alimento ha incrementado en las últimas décadas, debido a su contenido nutricional, además de lo anterior, existen reportes recientes, donde se ha demostrado que los insectos comestibles, así como sus extractos tienen una alta capacidad antioxidante. En el procesamiento postcosecha de los insectos, generalmente se aplican tratamientos térmicos para reducir su carga bacteriana. Debido a que se ha reportado que tratamientos térmicos potentes pueden degradar rápidamente los compuestos antioxidantes y actualmente se desconoce el efecto de los tratamientos postcosecha de los insectos en su capacidad antioxidante. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de 4 tratamientos postcosecha que generalmente son aplicados en los insectos, con diferente severidad térmica; liofilizado, deshidratado, hervido y hervido y horneado sobre su capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos, posteriormente se comparó su capacidad antioxidante con productos antioxidantes como té verde y frutos rojos y se realizó un perfil de metabolitos de bajo peso molecular por GS-MS, para evaluar si a alguno de los compuestos se les puede atribuir parcialmente la capacidad antioxidante. Como resultados se encontró que los tratamientos térmicos más severos (hervido y horneado y horneado), presentan un ligero incremento

en la capacidad antioxidante por DPPH y en el contenido de compuestos fenólicos, sin embargo, este incremento no fue significativo estadísticamente, por otro lado, en cuanto al contenido de fenoles y capacidad antioxidante, la harina de grillo presentó valores similares al de la mora azul, esta capacidad antioxidante puede estar parcialmente relacionada a metabolitos como aminoácidos libres y ácidos orgánicos.

Abstract

The use of insects as food has increased in recent decades, due to their nutritional content, in addition to the above, there are recent reports, where it has been shown that edible insects, as well as their extracts have a high antioxidant capacity. In the post-harvest processing of insects, heat treatments are usually applied to reduce their bacterial load. Because it has been reported that powerful heat treatments can rapidly degrade antioxidant compounds and the effect of insect post-harvest treatments on their antioxidant capacity is currently unknown. The objective of this work was to evaluate the effect of 4 post-harvest treatments that are generally applied in insects, with different thermal severity; lyophilized, dehydrated, boiled and boiled and baked on its antioxidant capacity and content of phenolic compounds, subsequently its antioxidant capacity was compared with antioxidant products such as green tea and red fruits and a profile of low molecular weight metabolites was made by GS-MS, to evaluate if any of the compounds can be partially attributed the antioxidant capacity. As results it was found that the most severe heat treatments (boiled and baked and baked), present a slight increase in the antioxidant capacity by DPPH and in the content of phenolic compounds, however, this increase was not statistically significant, on the other hand, in terms of phenol content and antioxidant capacity, cricket flour presented values similar to that of blueberry, this antioxidant capacity may be partially related to

metabolites such as free amino acids and organic acids.

Keywords: *Acheta domestica*, capacidad antioxidante, liofilizado, cromatografía, fenoles.

Introducción

Los insectos comestibles han demostrado gran potencial para ser fuente de nutrientes como grasas y proteínas para cubrir el requerimiento nutricional de la población sin causar un alto impacto ambiental. Por lo tanto, es de importancia la exploración de los tratamientos poscosecha y saber cual genera mayor incremento en la cantidad metabolitos para posteriormente aprovechar el potencial de alimentos basados en insectos. El propósito de la investigación es evaluar la capacidad antioxidante con diferentes tratamientos poscosecha y comparar la capacidad antioxidante del grillo con otros alimentos de alta capacidad antioxidante y medir el contenido de metabolitos de bajo peso molecular y su relación con la actividad antioxidante. Usando las técnicas de cuatificación de fenoles Folin-Ciocalteu, determinación de capacidad antioxidante por ABTS y DPPH e identificación de metabolitos de bajo peso molecular por cromatografía de gases accoplado a masas.

Objetivo general

Evaluar el impacto del tratamiento poscosecha del grillo *Acheta domestica* sobre su contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante medida por ABTS Y DPPH y su perfil de metabolitos de bajo peso molecular.

Específico

Determinar el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante y de grillos con diferentes pretratamientos postcosecha.

Comparar la capacidad antioxidante de la harina de grillo con otros productos antioxidantes.

Determinar cromatografía de gases, el perfil de metabolitos de bajo peso molecular de la harina de grillo.

Metodología

Material y equipo.

Vasos de precipitado, matraces erlenmeyer, matraces aforados, microplacas, micropipetas, puntillas para micropipetas, frascos ambar, microespátulas, tubos falcon, tubos erpendor, centrifugadora Hermle, lector de microplaca Termocientific, agitador, mariposa magnética, balanza analítica, software Chem-Station (Agilent Technologies), cromatógrafo de gases Agilent GC Serie 7890A (Wilmington, DE, EE. UU.) y un detector de MS de cuadrupolo simple Agilent (modelo 5975C), columna capilar HP-5MS (30 m, 0,25 mm y 0,25 μ m) y un inyector split/splitless (2 mm).

Reactivos y soluciones.

Grillo liofilizado, grillo deshidratado, grillo hervido, grillo hervido y horneado, Trolox, DPPH, ABTS, metanol, H₂O destilada, , FOLIN, ácido gálico, NaCO*H₂O, BSTFA, trimetilclorosilano.

Procedimientos.

Compuestos fenólicos totales

Se preparó una solución de ácido gálico (10 mg/mL) De esta solución se tomo 1 mL y se aforó a 10 mL con H₂O destilada. Se preparó el reactivo de Folin a una concentración 1 N y NaCO₃ al 20%. Con los reactivos, se realizó una curva de calibración (Tabla 1).

Tabla 1. Curva de calibración de compuestos fenólicos totales.

Curva Estándar	H ₂ O	Folin	NaCO ₃
0	75	37.5	187.5
3	72	37.5	187.5
6	69	37.5	187.5
9	66	37.5	187.5
12	63	37.5	187.5
15	60	37.5	187.5
18	57	37.5	187.5
21	54	37.5	187.5
24	51	37.5	187.5
27	48	37.5	187.5
30	45	37.5	187.5

Posteriormente midió la absorbancia a 765 nm en el lector de microplacas.

Capacidad antioxidante por DPPH.

Preparación del radical.

En un frasco ambar se añadió una pizca de DPPH y se agregó 100 ml de metanol. Se colocó en el agitador por 5 min . Se tomaron 200 uL y se colocaron en la microplaca, se leyó a 517 nm y se ajustó la absorbancia a 0.75 .

Preparación Trolox.

Se pesaron 2.5 mg de Trolox y se aforó a 10 mL con metanol. En microtubos se realizaron las diluciones de acuerdo a la **Tabla 2**. Agregando los respectivos uL de la solución de Trolox y el metanol.

Tabla 2. Diluciones de Trolox para la curva de calibración de DPPH

Solución Trolox	Metanol
25	975
50	950
75	925
100	900
125	875
150	850
175	825
200	800
400	600

Procedimiento para la curva estandar de DPPH

De cada tubo con dilución de Trolox se tomaron 20 uL y se colocó en una microplaca, por triplicado. Posteriormente se agregaron 200 uL de DPPH a cada pocillo. Se dejó 6 minutos en reposo y se midió la absorbancia a 517 nm en el lector de microplacas.

Capacidad antioxidante por ABTS.

Se pesaron 19.2 mg de ABTS y se aforó a 5 mL de H₂O destilada. Se preparó una solución de persulfato de potasio 189.2 mg K₂O₄S₂ en 5 mL de H₂O destilada. Se mezclaron 5 mL de ABTS con 88 uL de K₂S₂O₄ y se colocó en un recipiente cubierto con aluminio. se dejó reposar 12-14 hrs. Después el ABTS se ajustó a 0.7 de absorbancia (734 nm) con 100 mL de etanol.

Preparación de trolox.

Se pesaron 2.6 mg de trolox y se diluyeron en 10 mL de metanol. Después se realizaron diferentes concentraciones para hacer la curva estándar de acuerdo a la **Tabla 3**.

Tabla 3. Diluciones de Trolox para la curva de calibración de ABTS.

Concentración mm	Trolox uL	Metanol uL
50	30	570
75	60	540
100	75	525
125	90	510
150	105	495
175	120	480
200	135	465

Procedimiento para la curva estandar de ABTS.

Se agregaron 20 uL de cada una de las concentraciones y se añadieron 230 uL de ABTS. Después se preparó el blanco 1 y 2 y los controles. Se leyeron a 734 nm y se realizó la curva. Después se hizo la prueba con las muestras de grillo, recuperadas de la prueba de DPPH utilizando 10 uL de cada muestra más 230 uL de ABTS.

Perfil de metabolitos de bajo peso molecular por cromatografía de gases acoplada a masas.

Se preparó una solución de grillo (1 mg/mL) en metanol durante 1 h, el metanol se evaporó al vacío, posteriormente se derivatizó con 50 μ L de agente derivatizante, BSTFA (N,O-bis[trimetilsilil]trifluoroacetamida) + 1% TMCS (trimetilclorosilano) y se agitó durante 2 min a temperatura ambiente. Finalmente, 1 μ L de la muestra derivatizada se inyectó en un sistema GC-MS.

El sistema consiste de un cromatógrafo de gases Agilent GC Serie 7890A (Wilmington, DE, EE. UU.) y un detector de MS de cuadrupolo simple Agilent (modelo 5975C), con la energía de los electrones establecida en 70 eV y el rango de masas en 50–700 m/z. Una columna capilar HP-5MS (30 m, 0,25 mm y 0,25 μ m) y un inyector split/splitless (2 mm). El inyector se fijó a 250 °C y la inyección se realizó en el modo splitless. La temperatura inicial del horno se mantuvo a 100 °C durante 1 min y se elevó a 220 °C a 6 °C/min, se mantuvo durante 1.23 min, luego se elevó a 290 °C a 10 °C/min y se elevó a 310 °C a 40 °C/min, y se mantuvo durante 7.5 min. El flujo de gas (helio) se mantuvo a 1 mL/min. El procesamiento de los datos se realizó con el software Chem-Station (Agilent Technologies)

Análisis estadístico

Los resultados se reportaron como la media \pm desviación estándar, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%. La comparación entre todos los tratamientos se realizo con la prueba de Tukey. Los datos se analizaron con el paquete estadístico utilizando el software JMP.

Resultados.

Compuestos fenólicos

La serie de tratamientos poscosecha demostró que entre mayor tratamiento térmico se le de al grillo mayor cantidad de compuestos fenólicos se identificaron, siendo el tratamiento hervido con

mayor cantidad de fenoles presentes en mg equivalentes de ácido gálico/ mg de muestra de grillo sobre los demás tratamientos (**Figura 1**). Sin embargo, el análisis estadístico indicó no tener un cambio significativo entre los tratamientos poscosecha. Por lo tanto el tratamiento poscosecha no genera impacto en la cantidad de compuestos fenólicos totales.

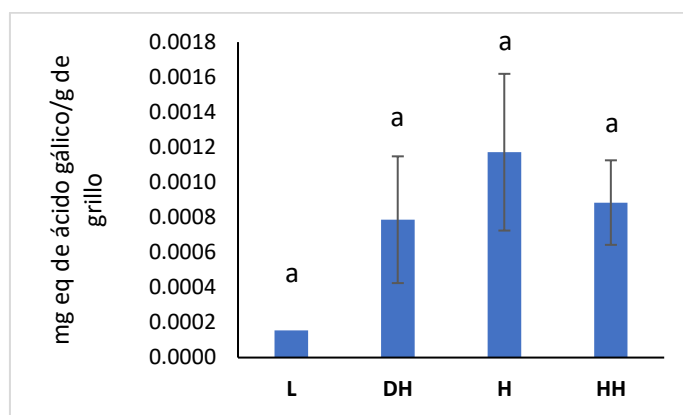


Figura 1. Compuestos fenólicos totales de grillo con diferentes tratamientos poscosecha. L: Liofilizado. DH: Deshidratado. H: Hervido. HH: Hervido y horneado

Capacidad antioxidante método DPPH

La evaluación de capacidad antioxidante por DPPH demostró que el tratamiento de deshidratación desarrolla mayor capacidad antioxidante que los demás tratamientos (**Figura 2**). Sin embargo, aunque se vean tendencias de incremento en la capacidad antioxidante en el tratamiento deshidratado en el análisis estadístico este no fue significativo, esto significa que los cambios en la capacidad antioxidante fueron similares.

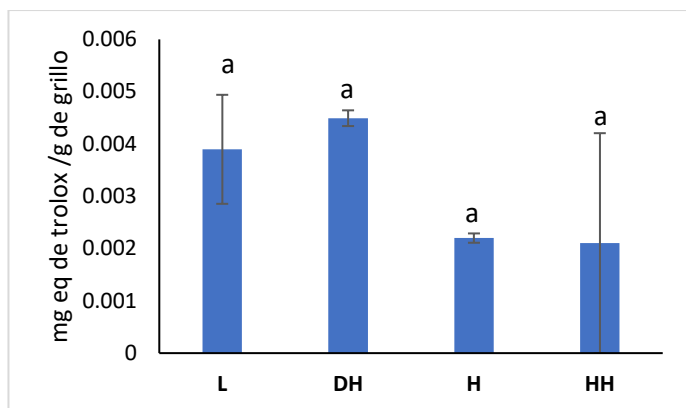


Figura 2. Capacidad antioxidante medida por el radical DPPH de grillos con diferentes tratamientos postcosecha. L: Liofilizado. DH: Deshidratado. H: Hervido. HH: Hervido y horneado

la capacidad antioxidante del grillo *Acheta domesticus* fue 4.1 y 3.0 veces menor al té verde (Figura 4). Sin embargo, se presentó un comportamiento similar al de mora azul.

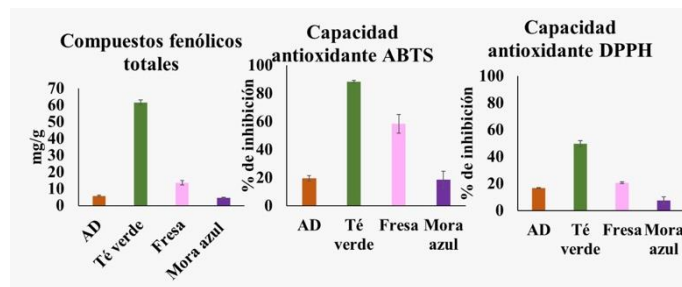


Fig. 4 Gráficas compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante ABTS y capacidad antioxidante DPPH.

Capacidad antioxidante método ABTS

La evaluación de actividad antioxidante por ABTS demostró que la capacidad antioxidante no tiene cambios significativos entre los tratamientos poscosecha. (Fig. 3). De igual forma el análisis estadístico indicó no tener un cambio significativo, demostrando que la capacidad antioxidante se dio igual en los cuatro tratamientos.

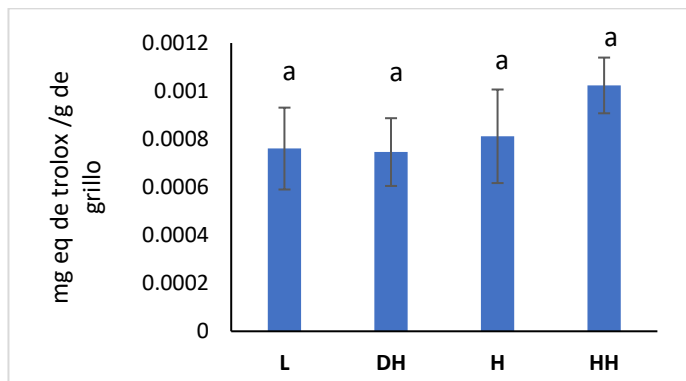


Figura 3. Capacidad antioxidante medida por el radical ABTS de grillos con diferentes tratamientos postcosecha. L: Liofilizado. DH: Deshidratado. H: Hervido. HH: Hervido y horneado

Cromatografía de gases

Los resultados del perfil de bajo peso molecular de la harina de *Acheta domesticus* demuestran que los metabolitos mayoritarios en porcentaje de área son el ácido glucónico 25.96%, el ácido fosórico 14.53%, la prolina 17.37%, L-leucina 10.53%, L-valina 9.13%. En cuanto al grupo de la naturaleza del compuesto los aminoácidos se llevan el porcentaje mayoritario presente en el grillo acumulando un 47.7% (Tabla 4).

Al comparar la cantidad de compuestos fenólicos totales presentes en otros alimentos como la mora azul, la fresa y el té verde, el grillo *Acheta domesticus* muestra una cantidad de 5 a 10 mg de compuestos fenólicos totales por gramo de grillo. En comparación

Tabla 4. Perfil de metabolitos de bajo peso molecular de *Acheta domesticus*.

Naturaleza del compuesto	Compuesto propuesto	RT (min)	Área	% Área
Aminoácidos	L-Leucina	5.22	189011593	10.53
	L-Valina	6.1	174743882	9.13
	L-Serina	8.8	79709569.5	4.47
	Treonina	9.3	82220132	4.58
	Prolina	11.9	321244096	17.37
	Fenilalanina	13.8	30317562.5	1.66
Carbohidratos	Galactopiranosido	10.1	13382771.5	0.74
	Glucopiranosido	10.9	31590814.5	1.76
Ácidos orgánicos	Ácido fosfórico	5.86	260377157.5	14.53
	Ácido glucónico	20.6	467551332.5	25.96
Ácidos grasos	Ácido caprico	10.4	28308132.5	1.59
Otros	Pirimidina	8.35	55560694	3.22

De acuerdo con un estudio publicado por Navarro Del Hierro y col. (2020). La mayoría de los extractos, principalmente en los extractos etanólicos, predominaron, aminoácidos, ácidos orgánicos, carbohidratos y esteroides. Todos los extractos demostraron tener capacidad antioxidante, siendo los extractos etanólicos los más efectivos. Esto es similar al perfil de metabolitos de *Acheta domesticus* resultante de este estudio. El estudio también describe la presencia de compuestos fenólicos y polifenólicos y demuestra bioactividad multifuncional.

Otro estudio reportado por Di Mattia y col. (2019), que los insectos comestibles e invertebrados representan una fuente potencial de ingredientes redox inexplorados con un bajo impacto ecológico, con una capacidad antioxidante eficaz relacionada con su taxonomía y hábitos alimenticios.

Conclusiones

Los tratamientos poscosecha de grillo no presentó diferencias en cuanto al contenido de compuestos fenólicos y las capacidades antioxidantes. El grillo presenta capacidades antioxidantes similares a la

mora azul y este contiene gracias a los metabolitos encontrados en la cromatografía de gases.

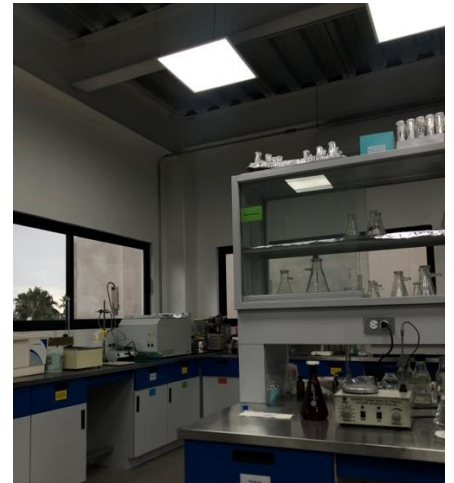
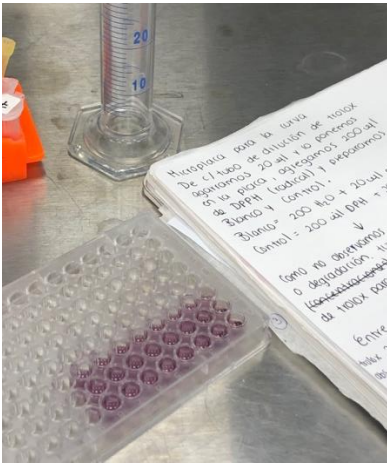
Agradecimientos

Esta investigación fue posible gracias al Doctorante Alexandro Escobar Ortiz y al licenciado Hugo Esteban y a mis compañeros de laboratorio, que nos dieron las bases de sus conocimientos y nos brindaron las herramientas necesarias para la realización del proyecto.

Referencias bibliográficas

- David-Birman T., Rayten G., Lesmes U. 2018. "Effects of thermal treatments on the colloidal properties, antioxidant capacity and in-vitro proteolytic degradation of cricket flour". *Food Hydrocolloids*. 79: 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.044>
- Muñoz-Bernal O., Torres-Aguirre G., Núñez-Gestélum G. 2017. "New approach to the interaction between Folin-Ciocalteu reactive and sugars during the quantification of total phenols" *TIP*. 20:23-28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Brummelhaus de Menezes B., Mironuk Frescura L., Duarte R. 2021. "A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV-Vis spectroscopy". *Analytica Chimica Acta*. 1157. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338398>
- Navarro Del Hierro J., Gutiérrez-Docio A., Otero P., Reglero G. 2020. "Characterization, antioxidant activity, and inhibitory effect on pancreatic lipase of extracts from the edible insects *Acheta domesticus* and *Tenebrio molitor*". *Food Chem*. 30;309:125742. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125742
- Di Mattia C., Battista N., Sacchetti G. 2019. "Antioxidant Activities in vitro of Water and Liposoluble Extracts Obtained by Different Species of Edible Insects and Invertebrates". *Front. Nutr*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00106>

Galería de fotos.



Biocombustibles: implementación de higuerilla como materia prima en la producción de biodiesel

Hernando Osuna Avalos, Claudia Gutiérrez -Antonio

Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Cerro de las Campanas S/n, Col. Las Campanas, Querétaro, Querétaro, 76010, México.

Autor de correspondencia. Correo electrónico:
hosuna12@alumnos.uaq.mx

Resumen

Los combustibles fósiles son el principal enemigo del medio ambiente, para no prescindir de ellos durante varios años se ha innovado en las energías renovables como los biocombustibles, en esta investigación se ha estudiado un aceite de segunda generación (aceite de higuerilla), este aceite es no comestible y posee una gran ventaja la cual es poder crecer en terrenos no aptos para cultivos alimenticios. Se mostrarán las características de crecimiento de la planta y el porcentaje de rendimiento del aceite para la producción de biodiesel. También se incluirá un análisis entre las condiciones de los suelos destinados al cultivo en el territorio mexicano con el fin de estimar la viabilidad de la higuerilla como materia prima.

Palabras clave: biocombustible, aceite higuerilla, cultivo en México

Abstract

Fossil fuels are the main enemy of the environment, in order not to do without them for several years, innovations have been made in renewable energies such as biofuels, in this research a second-generation oil (castor oil) has

been studied, this oil is inedible and has a great advantage, which is to grow on land not suitable for food crops. The growth characteristics of the plants and the percentage of oil yield for biodiesel production are shown. An analysis will also be carried out between the conditions of the soils destined for cultivation in the Mexican territory to estimate the viability of the castor as raw material.

Keywords: biofuel, castor oil, cultivation in Mexico

Introducción

Las actividades humanas han aumentado considerablemente las emisiones de gases de efecto invernadero. En el 2015, México emitió 683 millones de toneladas de bióxido de carbono, de las cuales el 64% corresponde al consumo de combustibles fósiles, considerando que nos encontramos en un punto crítico del calentamiento global, se debe de buscar una alternativa a este tipo de combustibles. El biodiesel se considera una alternativa viable para reemplazar a los combustibles fósiles, debido a que tiene baja toxicidad derivada de la ausencia de compuestos de azufre y aromáticos (Conceicao et al., 2007; De Lima et al., 2006). El problema principal para cualquier que cualquier biocombustible pueda competir contra los combustibles fósiles, es el costo de la producción, por lo cual el principal reto es lograr disminuir costos en la cadena de suministros para ello la implementación como materia prima de un aceite de segunda generación como la higuerilla presenta una posible esperanza.

La higuerilla (*Ricinus communis*) es un cultivo no comestible que crece de manera silvestre en distintas regiones de nuestro país. La implementación de la higuerilla como base del aceite para la producción de biodiesel ofrece ciertas ventajas como su fácil crecimiento en cualquier tipo de suelo, pero también hay una desventaja, ya que el fin de los biocombustibles es

ser amigables con el ambiente, el cultivo de higuierilla supone un consumo elevado de agua.

Objetivos

Disminuir los costos en la cadena de suministros para la producción de biodiesel a partir de aceites vegetales.

Con el fin de estimar la viabilidad del aceite de ricino obtenido de la higuierilla como materia prima para la cadena de suministros se realizará una investigación acerca las características del clima y el suelo del territorio mexicano para determinar si es posible un manejo del cultivo adecuado.

Metodología

Se llevó a cabo una exhaustiva investigación con el fin de recabar datos sobre la implementación de la higuierilla como materia prima para la producción de biodiesel, la recolección de datos se enfocó en las características de crecimiento adecuadas para el cultivo de higuierilla en el territorio mexicano, se estudiaron distintos aspectos los 32 estados de la república como las condiciones climatológicas, la cantidad de hectáreas dedicadas al cultivo, entre otras.

Resultados

Para el cultivo de higuierilla es necesario un suelo con pH de entre 6 y 6.5, se requiere un buen drenaje debido a que es un cultivo sensible al exceso de agua. Con respecto a la altitud la higuierilla puede prosperar desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm, pero conforme la altitud sea mayor el contenido de aceite decrecerá, a pesar del amplio rango de crecimiento, lo adecuado para una buena producción es una altitud no mayor a los 1500 msnm, ya que ambientes fríos alteran el crecimiento, el desarrollo vegetal y disminuyen la cantidad de

aceite. En promedio el aceite obtenido de la higuierilla es del 50% del peso total.

La temperatura límite para el proceso de germinación es de 14 a 15°C, con un óptimo de 31°C y un máximo de 35 a 36°C (Moshkin, 1986).

Tabla 1. Temperatura media anual por entidad federativa

Entidad	Temperatura media
Aguascalientes	17.4
Baja California	20
Baja California Sur	23.4
Campeche	27.5
Coahuila	22.4
Colima	26.8
Chiapas	25.2
Chihuahua	19.1
Ciudad de México	17.9
Durango	18.6
Guanajuato	19.1
Guerrero	25.5
Hidalgo	18.8
Jalisco	21.5
México	15.1
Michoacán	20.3
Morelos	22.1
Nayarit	25.5
Nuevo León	22.6
Oaxaca	23.4
Puebla	18.6
Querétaro	20.1
Quintana Roo	27.6
San Luis Potosí	23.7
Sinaloa	25.8
Sonora	23
Tabasco	27.5
Tamaulipas	25
Tlaxcala	15.1
Veracruz	23.1
Yucatán	27.1
Zacatecas	18.2
Aguascalientes	17.4

Como se puede observar en la fig. 1 todos los estados de la república mexicana superponen la

temperatura mínima para el crecimiento de la higuierilla. Aunque se ha comprobado que la higuierilla puede adaptarse a regiones subtropicales, a temperaturas bajas reduce la calidad de aceite y la producción de semillas, esto se debe a que se ha demostrado que el contenido de aceite en la semilla guarda una proporción con respecto al calor acumulado por el cultivo durante todo su ciclo de crecimiento. La higuierilla es una planta heliófila que puede adaptarse a periodos cortos de sol no menores a 9 horas; para lograr un mejor desarrollo del cultivo es prescindible una exposición solar prolongada (mayores a 12 horas), esto contribuye a un elevado contenido de aceite. Esta planta se adapta de buena forma a distintos tipos de suelos a excepción de aquellos con elevados niveles de arcilla y aluminio.

La higuierilla presenta dos grandes desventajas, una de ellas es su alto consumo de agua, y la otra es que la cantidad de aceite que se obtiene por hectárea de semilla es muy baja, se estiman 1,413 litros de aceite por hectárea anuales (Atabani y col., 2012).

De acuerdo con el INIFAP, en nuestro país contamos con 8,001,417 hectáreas con potencial alto y 9,912,719 hectáreas con potencial medio (Diaz padilla y col., 2012).

Para el cultivo de higuierilla la mayor proporción de potencial alto se encuentra en Tamaulipas (20.85%), Sinaloa (17.83%) y Jalisco (11.31%); para potencial medio, los estados con mayor contribución son Zacatecas (11.15%), Guanajuato (10.07%) y Jalisco (8.52%). Para higuierilla, Tamaulipas, Sinaloa y Jalisco aportan el 50% de superficie con alto potencial.

Durante su etapa vegetativa necesita precipitaciones de entre 600 a 800 mm anuales, aunque también tolera precipitaciones que van de los 200mm a 14000 mm; Precipitaciones de 700 mm proporcionan rendimientos superiores de 1,5 t

ha de grano, logrando llegar hasta las 5 t ha de grano, bajo condiciones de irrigación; donde la mayor exigencia de agua en el suelo ocurre en la fase del inicio de la etapa vegetativa. (Amorim et al., 2001).

Tabla 2. Precipitación anual (mm) por entidad federativa

Entidad	Temperatura media
Aguascalientes	672.3
Baja California	99.1
Baja California Sur	173.5
Campeche	1218.7
Coahuila	246.5
Colima	2280.7
Chiapas	1807.2
Chihuahua	410.6
Ciudad de México	637.1
Durango	469.9
Guanajuato	780.3
Guerrero	1278.2
Hidalgo	632.4
Jalisco	1106.4
México	933.8
Michoacán	974.1
Morelos	1795.1
Nayarit	1393.1
Nuevo León	497.7
Oaxaca	1236.8
Puebla	1252.5
Querétaro	648.3
Quintana Roo	1303.7
San Luis Potosí	615.0
Sinaloa	952.9
Sonora	502.7
Tabasco	1836.1
Tamaulipas	740.2
Tlaxcala	710.0
Veracruz	1501.2
Yucatán	1172.6
Zacatecas	532.9
Aguascalientes	672.3

En la tabla 2 se puede observar que una gran cantidad de estados cumplen con la cantidad de

precipitaciones anuales ideales para el cultivo de esta planta.

Discusiones y conclusiones

Para concluir podemos analizar que la higuerilla supone una gran facilidad para su cultivo y esto lo hace una opción considerablemente viable para su implementación como materia prima en la producción de biodiesel, ya que hay varios estados con alto potencial de cultivo y esto permite reducir costos de transporte en la cadena de suministros.

Uno de los problemas de la higuerilla era su alto consumo de agua, pero como se pudo observar en la tabla dos, hay varios estados como Tamaulipas, Sinaloa, Jalisco, Veracruz, entre otros. Que cumplen con el promedio de precipitaciones anuales, lo cual elimina una de las principales desventajas.

Agradecimientos

Nuestro más sincero agradecimiento a la Facultad de Ingeniería y la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Bibliografía

Amorim N., M. da S., Araujo, A. E., de., Beltrão, N. E. de M. 2001. Clima e solo.

Atabani, A.E., Silitonga, A.S., Badruddin, I.A., Mahlia, T.M.I., Masjuki, H.H. y Mekhilef, S. (2012). A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4), 2070-2093.

Conceição, M. M., Candeia, R. A., Silva, F. C., Bezerra, A. F., Fernandes, V.J., Souza, A.G., 2007.

Díaz Padilla, G., y cols. (2012). Potencial productivo de especies agrícolas de importancia

socioeconómica en México. Ciudad de México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Moshkin, V. A. (1986). Botanical and biological properties of castor.

Thermoanalytical characterization of castor oil biodiesel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*